

Editorial Board

Editor-in-Chief

Boris Topor, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova

Editors

Ion Ababii, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Andrei Usatii**, MD, PhD, Associate Professor, Chisinau, the Republic of Moldova

Emeritus Editor

Gheorghe Ghidirim, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova

Emeritus Editor-in-Chief

Stanislav Groppa, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova

Managing Editor

Anatol Calistru, MD, PhD, Associate Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Editorial Advisory Board**

- Ion Bahnarel**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Alin Bour, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Olga Cernetchi, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Gheorghe Ciobanu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Valentin Friptu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Susan Galandiuk, MD, Professor, Louisville, KY, USA
Mihai Gavriluc, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Victor Ghicavai, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Nicolae Gladun, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Aurel Grosu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Eva Gudumac, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Gabriel M. Gurman, MD, Emeritus Professor, Beer Sheva, Israel
Eugen Gutu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Raymund E. Horsch, MD, Professor, Erlangen, Germany
Vladimir Hotineanu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Hisashi Iwata, MD, PhD, Emeritus Professor, Nagoya, Japan
Sawa Kostin, MD, PhD, Professor, Bad Nauheim, Germany
Vitalie Lisnic, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Ion Lupan, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Sergiu Matcovschi, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Ion Moldovanu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Petru Moroz, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Anatol Nacu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Anatoliy V. Nikolaev, MD, PhD, Professor, Moscow, Russia
Igor Iu. Olijnyh, MD, Professor, Chernivtsi, Ukraine
Hiram C. Polk, Jr., MD, Emeritus Professor, Louisville, KY, USA
Irinel Popescu, MD, PhD, Professor, Bucharest, Romania
Mihai Popovici, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Viorel Prisacari, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
William B. Rhoten, PhD, Professor, Macon, Georgia, USA
Gheorghe Rojnovanu, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Valeriu Rudic, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Sergio Serrano, PhD, Professor, Milan, Italy
Larisa Spinei, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Eugen Tarcoveanu, MD, PhD, Professor, Iasi, Romania
Gheorghe Tabarna, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Valeriy M. Zaporozhan, MD, PhD, Professor, Odessa, Ukraine

Emeritus Members of the Editorial Advisory Board

- Ion Corcimaru**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Constantin Etco, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Filip Gornea, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Valentin Gudumac, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Ion Marin, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Nicolae Opopol, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova
Ieremie Zota, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova

Editorial Staff

- Valentina Bureatinscaia** Editorial assistant
Ludmila Covalschi Romanian copy editor
Ludmila Martinenko English copy corrector

Curierul medical

SCIENTIFIC MEDICAL JOURNAL

Ministry of Health of the Republic of Moldova
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and PharmacyMinisterul Sănătății
al Republicii Moldova.
Universitatea de Stat de Medicină și
Farmacie „Nicolae Testemitanu”Министерство здравоохранения
Республики Молдова.
Государственный университет медицины и
фармации им. Н. А. Тестемитану

Issued bimonthly

Vol. 58, No 2
April, 2015**Welcome to the scientific and medical journal
Curierul Medical!**

From its debut in 1958 the journal has striven to support the interests of Moldovan medicine concerning the new concepts of its development. The Editorial Board warmly welcomes both the readers of and the authors for the journal, all those who are enthusiastic in searching the new and more effective ways of solving numerous medicine problems. We hope that those who want to make their contribution into the science of medicine will find our journal helpful and encouraging.

The journal is accredited by the National Council for Accreditation and Attestation. The journal publishes official papers, scientific articles, editorials, clinical studies and cases, lectures, methodological guides, reviews, brief reports and correspondence. The journal welcomes articles in English, Romanian and Russian. The journal editorial policy provides the prompt publication of papers within 12 weeks after receiving them.

**Bine ați venit la revista științifică medicală
Curierul Medical!**

De la prima apariție în 1958, revista susține și dezvoltă noile idei în domeniul medicinei, în Republica Moldova. Colegiul de redacție agreează cu multă considerație atât cititorii cât și autorii articolelor, pe toți acei care cu mult entuziasm caută noi și mult mai efective metode de soluționare a multelor probleme ale medicinei. Sperăm, că toți acei care doresc să-și aducă aportul la dezvoltarea științelor medicale, vor găsi revista noastră utilă și atractivă.

Revista este acreditată de către Consiliul Național de Acreditare și Atestare. Revista publică comunicări oficiale și, totodată, sunt editate diverse publicații, inclusiv independente: articole științifice, editoriale, cercetări și prezentări de cazuri clinice, prelegeri, îndrumări metodice, articole de sinteză, relatări scurte, corespondențe și recenzii. Revista publică articole în limba engleză, română și rusă. Politica de editare a revistei prevede examinarea operativă și publicarea articolelor timp de 12 săptămâni după înaintare.

**Добро пожаловать в научно-медицинский журнал
Curierul Medical!**

С первого дня своего выпуска в 1958 году журнал стремится поддерживать и развивать новые идеи в области медицины в Молдове. Редакционная коллегия всегда рада как читателям, так и авторам статей, всем тем, кто с энтузиазмом ищет новые, более эффективные способы решения многочисленных задач медицины. Мы надеемся, что все те, кто хотят внести свой вклад в медицинскую науку, найдут наш журнал полезным и вдохновляющим.

Журнал аккредитован Высшей Аттестационной Комиссией Республики Молдова. В журнале печатаются официальные материалы, научные статьи, наблюдения из клинической практики, обобщающие статьи, краткие сообщения, методические указания, рецензии и корреспонденция. В журнале публикуются статьи на английском, румынском и русском языках. Издательская политика журнала предусматривает оперативное рассмотрение и публикацию статей в среднем в течение 12 недель после поступления.

Address of the Editorial Office

192, Stefan cel Mare Avenue, Chisinau, MD-2004
the Republic of Moldova
Phone: (+37322) 244751, (+37322) 205209
Fax: (+38322) 295384

www.curierulmedical.org
editor@curierulmedical.org, secretary@curierulmedical.org
Index for subscription – 32130



Printing House “Tipografia Sirius”
2, A. Lapusneanu str., Chisinau, MD-2004
the Republic of Moldova
www.sirius.md

RESEARCH STUDIES

L. Ratiani, M. Dgebuadze, T. Sanikidze, N. Intskirveli	3
Some peculiarities of lipid and hormonal metabolism and mechanical properties of the blood in menopausal women	
M. I. Herasymyuk	6
The structural and immunological features of the tonsils papilloma with chronic tonsillitis	
V. G. Dubinina, O. V. Lukyanchuk, O. A. Demydova	10
Modern aspects of radiation diagnosis in cancer of uterus neck	
V. Sirbu, L. Ciobanu, G. Guagliumi, O. Valsecchi, I. Popovici, M. Popovici	16
In-stent restenosis in the drug eluting stent assayed by optical coherence tomography	
C. Ciobanu, E. Diug, T. Calalb, I. Tomuta, M. Achim	23
Optimisation of ultrasound-assisted extraction method of biologically active compounds from <i>Cynara scolymus</i> L.	
V. Babiuc	29
Hydroelectrolytic disorders in patients with combustions in different climatic conditions	

REVIEW ARTICLES

C. Curca	36
Visual disturbances in migraine – differential diagnosis with other pathologies	
G. Bezer, L. Vudu, C. Dumanschi, L. Simionov	40
Clinical presentation, diagnosis and treatment of primary hypothyroidism including statins	
S. Stratulat, L. Spinei	45
Some epidemiological aspects of diabetes at international and national levels	
S. Parii, V. Valica, A. Ungureanu, C. Scutari, L. Turcan, L. Rusnac, E. Nicolai	51
The importance of the principles of good laboratory practice in quality assurance of preclinical studies	
D. Lisii, O. Tagadiuc, V. Sardari	56
Glucose metabolism in cancer and the role of ketogenic diet	
E. Tcaciuc	65
Hepatorenal syndrome	
A. Cotelea, M. Gamaniuc	71
Investigations evolution in the supervision and control of tuberculosis	

ANNIVERSERIES

Nicolae Gladun la 70 de ani.....	76
Alin Bour la 50 de ani	77

IN MEMORIAM

Constantin Matcovschi (1930-2015)	78
--	-----------

GUIDE FOR AUTHORS	79
--------------------------------	-----------

RESEARCH STUDIES

Some peculiarities of lipid and hormonal metabolism and mechanical properties of the blood in menopausal women

L. Ratiani¹, *M. Dgebuadze², T. Sanikidze¹, N. Intskirveli¹

¹Department of Medical Physics and Biophysics, ²Department of Human Normal Anatomy
State Medical University of Tbilisi, Georgia

*Corresponding author: illusion_ia2001@yahoo.com. Manuscript received February 12, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: Many aspects of age-related correlation and causal relationship between the mechanical properties of red blood cells (RBCs) and parameters of lipid and hormonal metabolism in women are unclear till now.

Material and methods: 58 reproductive-aged (less than 45 years) and 32 menopausal (more than 45 years) women admitted to the Central Clinic of Tbilisi State Medical University, Georgia were investigated. In each group we studied blood estradiole, free nitric oxide (NO) content, density of inactive form of β_2 -adrenergic receptors (β_2 ARs) and mechanical property of RBCs membrane.

Results: In the blood of menopausal women NO content and deviation of volume (DV) of RBCs, reflecting their deformability, with lower density of inactivated β_2 ARs on the surface of RBCs membranes was greater than the corresponding parameter in the reproductive-aged women. DV of RBCs rapidly decreased at low HDL (high-density lipoprotein) in reproductive-aged women and wasn't sensitive to HDL content in menopausal women.

Conclusions: Lack of blood estrogens content in menopausal women causes the development of dislipidemia, impairment of renewal of phospholipids in RBCs membranes, decreased activity of adrenergic structures and the subsequent decrease in the NO production. These factors contribute to reducing deformability of RBCs membrane and impairment of mechanical properties of the blood.

Key words: menopause, metabolism, red blood cells.

Introduction

In the period of clinical manifestation of cardiovascular diseases lesions in blood vessels are irreversible; identification of early diagnostical markers of cardiovascular diseases, types and quality of metabolic disorders causing their development is very actual for determination the key spots of pathogenesis of these diseases, planning preventive measures, elaboration a strategy that would be more focused on the prevention of irreversible pathological changes and complications associated with alterations of cardiovascular tissues.

There is a significant gender and age difference between reproductive-aged women and age-matched men and/or menopausal women in the frequency of induced by cardiovascular diseases mortality and disability [1], which is associated with differences in mechanical properties of their blood – an insufficient blood supply due to altered mechanical properties of blood, particularly RBCs. It is proposed that the remarkable dissimilarity in morbidity and mortality due to cardiovascular diseases in pre-menopausal women versus men and post-menopausal women could be related to the increased amount of “young” red blood cells (RBCs) caused by monthly bleeding in pre-menopausal women [2].

It was shown that the chemical composition of RBCs membranes affects their mechanical properties and alterations of lipid composition of membranes as well as serum lipids alterations would contribute to the atherosclerosis progression and can be considered as a new risk factor for atherosclerosis [3].

Several studies have confirmed a direct correlation between β_2 -adrenergic receptors (β_2 ARs) density in peripheral blood cells (lymphocytes, erythrocytes) and those in cardiovascular tissues. Therefore, β -adrenoceptors in peripheral blood RBCs might be an indirect index of cardiovascular tissues [4].

In many studies it was shown that activation of different intracellular signaling pathways, including the adenylyl-cyclase–cAMP (adenosine 3'-5'- cyclic monophosphate) and adrenergic regulation systems are related to the alterations of mechanical properties (aggregation and deformation) of RBCs. Exposure of RBCs to catecholamine (stimulation of membrane's β -adrenoreceptors, or adenilatcyclase) led to the change in their micro rheological properties, elevation of deformability and decreased aggregation [5]; β_2 AR mediate increase in intra-erythrocyte c AMP synthesis with farther ATP release from erythrocytes, which join to purinergic receptors of endothelium resulting in the production of endothelial vasodilators (such as nitric oxide), stimulating vessel diameter and blood flow in the microcirculation [6].

The aim of our study was to establish the correlation and causal relationship between the mechanical properties of RBCs and parameters of lipid and hormonal metabolism of women in reproductive and menopausal ages.

Material and methods

58 reproductive-aged (less than 45 years) and 32 menopausal (more than 45 years) women with dislipidemia, arte-

rial hypertension, obesity, metabolic syndrome and other symptoms, who had been admitted to the Central Clinic of Tbilisi State Medical University, Georgia during 2009-2011, were investigated and compared with each other. A subject with cystic disease, ovariectomy, or using hormonreplacement therapy was excluded from this target group.

In each group we investigated blood estradiole, nitric oxide (NO) content, and density of inactive form of β_2 ARs and mechanical property of RBCs membrane. NO content and density of inactive form of β_2 ARs on the membrane of RBCs were measured by Electron Paramagnetic Resonance (EPR) method. EPR spectres of blood were registered on rediospectrometre PE-1307 (Russia). Density of inactive form of β_2 ARs was detected according to the intensity of EPR signal $g = 2.01$ [7]. Free nitric oxide was measured with spin-trap natrium diethildithiocarbamate (DETC) (Sigma). EPR spectres of $\text{NO-Fe}^{2+}\text{-(DETC)}_2$ complexes were measured at the temperature of liquid nitrogen at microwave power 20 mVt. Mechanical properties of RBCs were studied according to the derivate of their volume (DV) determined by spectrophotometric method. Lipid spectrum in peripheral blood from patients was investigated by enzyme-colorimetric method. Estrogens content in blood was measured by ELISA method.

Statistical analyses of the obtained results were performed by SPSS (version 10.0) program package. The result was obtained in the form of standard deviation of average values. The difference between groups was assessed by student t+ criterion. In all cases statistical confidentiality was defined according to < 0.05 index.

The research complies with the norms of the Foundation of Bioethics. The local ethics committee approved the protocol, and informed consent was obtained from all participants.

Results and discussion

Our study showed that in the blood of menopausal women estradiole content is statistically significantly lower than in the reproductive-aged women (0.41 ± 0.024 versus 0.52 ± 0.034) (fig. 1), free Nitric Oxide was statistically significantly lower than in the reproductive age (1.89 ± 0.050 versus $2.26 \pm$

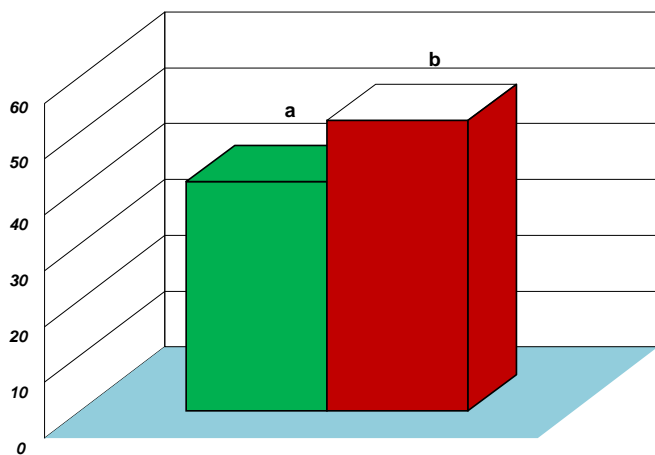


Fig. 1. Blood estradiole content in menopausal (a) and reproductive-aged (b) women.

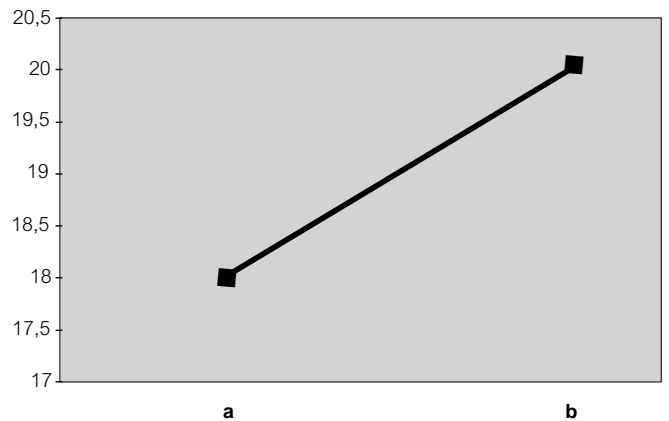


Fig. 2. Blood free nitric oxide content in menopausal (a) and reproductive-aged (b) women.

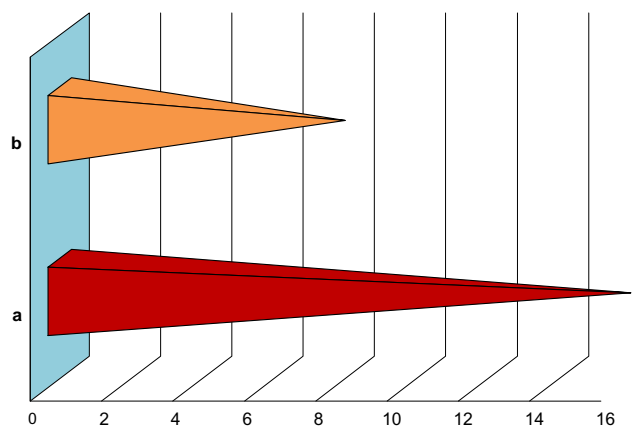


Fig. 3. Density of inactivated β_2 AR on the surface of erythrocyte membranes in menopausal (a) and reproductive-aged (b) women.

0.112) (fig. 2). At the same time, density of inactivated β_2 AR (corresponding to the intensity of the EPR signal $g = 2.01$ [7]) on the surface of RBCs membranes in menopausal women was greater than the corresponding parameter in women of reproductive age (1.6 ± 0.3 versus 0.8 ± 0.2) (fig.3). This result indicates the decreased activity of adrenergic regulation during menopause. β -adrenoreceptors are involved in regulation of mechanical properties of RBCs, through the influence on the deformability of the membrane integral/skeleton proteins; β -adrenergic agonists may improve in the RBCs passage through microvasculature [8].

The fluidity of blood, 45% volume of which is occupied by RBCs, strongly depends on its behavior in flow, which is a key factor of proper tissue perfusion [9]. The mechanical property (deformability) of RBCs depends on many parameters [10]. Parameter DV reflects the spherulation quality of RBCs in patient's blood. Due to the high deformability of the RBCs they easily change their form and are translocated in the thin capillaries. Senescent RBCs' membrane is characterized by low deformability, which causes high spherulation quality of this population. So, according to the numerical value of DV of RBCs we can detect their spherulation quality and therefore distribution according to the chronological age. In our study

it was revealed, that in menopausal women DV of RBCs is lower than in reproductive-aged women; that indicates the dominance of young RBCs in blood of this age group patients. In menopausal women dominate senescent RBCs, which are revealed by their high spherulation quality.

Maintenance of normal RBCs deformability also depends critically on the metabolic state of the cell – its metabolic energy. In order to find feedback between parameters of lipid metabolisms and physical properties of the RBCs membrane, we carried out a correlation analysis between blood HDL content and RBCs spherulation parameter (DV). It should be noted that HDL content in blood from women of menopause-aged group was statistically significantly lower, than in blood of women from reproductive-aged group (menopausal women – 3.01 ± 0.24 versus reproductive-aged women – 5.40 ± 0.32). Our research revealed the existence of dependence between the spherulation quality of RBCs and parameters of lipid metabolism – HDL content. Our data show that spherulation degree (or volume) of RBCs is rapidly decreased at low HDL in women of reproductive age and is not sensitive to HDL content in women of menopause age. This indicates the existence of estrogen-related dependence between those two parameters. The difference in incorporation of fatty acids in RBCs membrane phospholipids in reproductive-aged and menopausal women is defined by other authors as well [11]; estrogen-dependent acylation of phospholipids occurs predominantly in PE of senescent cells, increases as a function of cell age.

Conclusions

1. As it seems from the results of our study, lack of blood estrogens content in menopausal women is one of the major causes of the development of dislipidemia, impairment of renewal of phospholipids in RBCs membranes, decreased activity of adrenergic structures and the subsequent decrease of the β_2 -AR-stimulated NO production.

2. These factors contribute to reducing deformability of

RBCs membrane and impairment of mechanical properties of the blood.

3. These results do not give us the opportunity to get a complete picture of the development of cardiovascular diseases in menopausal women, but provide important novel information regarding the particularly physiological mechanisms underlying β -adrenergic regulation of vascular tone in menopausal women.

References

1. Schnatz PF, Nudy M, Shively CA, et al. A prospective analysis of the association between cardiovascular disease and depression in middle-aged women. *Menopause*. 2011;18(10):1096-1100.
2. Kameneva MV, Garrett KO, Watach MJ, et al. Red blood cell aging and risk of cardiovascular diseases. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 1998;18:67-74.
3. Sands SA, Reid KJ, Windsor SL, et al. The impact of age, body mass index, and fish intake on the EPA and DHA content of human erythrocytes. *Lipids*. 2005;40(4):343-347.
4. Peng Y, Ma S, Zhang S, et al. Clinical significance of changes in β -adrenoreceptors in peripheral lymphocytes in patients with essential hypertension. *Chinese Medical Journal*. 2000;113(12):1064-1067.
5. Muravyov AV, Tikhomirova IA, Maimistova AA, et al. Extra- and intracellular signaling pathways under red blood cell aggregation and deformability changes. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2009;43(3):223-232.
6. Adderley Shaquria P, Sprague Randy S, Stephenson Alan H, et al. Regulation of cAMP by phosphodiesterases in erythrocytes. *Pharmacological reports*. 2010;62(3):475-482.
7. Pulatova MK, Rchireva GT, Kuroptieva ZV. EPR in radiobiology. 1989 (in russian).
8. Tuvia S, Moses A, Gulayev N, et al. β -Adrenergic agonists regulate cell membrane fluctuations of human erythrocytes. *The Journal of Physiology*. 1999;516(3):781-792.
9. Dupire J, Socol M, Vialat A. Full dynamics a red blood cell in shear Flow. *Proc nat Acad Sci USA*. 2012;109(51):20808-20813.
10. Erikssen GK, Liestøl JV, Bjørnholt H, et al. Erythrocyte sedimentation rate: a possible marker of atherosclerosis and a strong predictor of coronary heart disease mortality. *European Heart Journal*. 2000;21(19):1614-1620.
11. Le Petit-Thevenin B, Lericque ON, Boyer J. Estrogen modulates phospholipid acylation in red blood cells: relationship to cell aging. *Am J Physiol Cell Physiol*. 1991;261(3):423-427.

The structural and immunological features of the tonsils papilloma with chronic tonsillitis

M. I. Herasymyuk

Department of Otorhinolaryngology, Ophthalmology and Neurosurgery
I. Ya. Gorbachevski National Medical University of Ternopol, Ukraine

Corresponding author: university@tdmu.edu.te.ua. Manuscript received February 10, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: The complex immunological, morphological and morphometric characteristics of the tonsil papilloma.

Material and methods: Patient with the tonsil papilloma was determined by flow cytofluorometer the state of apoptosis and necrosis, and their ratio in lymphocytes and neutrophils in tonsils homogenate and peripheral blood. Were determined the levels of lymphocyte subpopulations and their ratio. The morphometric analysis of histological sections was performed.

Results: In the patient with the tonsil papilloma, the multiplicity ratio of apoptosis/necrosis was higher than 14 (decompensated form of chronic tonsillitis). At the same time, the increase of number of layers and the basal surface of cells was noticed. The cells of papillomatoze outgrowth and its neighboring areas were exposed to hyperplasia. However, the peripheral parts of the tonsil mucosa looked thinner, the number of cell layers were no more than 13-15, the thickness of the capsule was increased to 85 micrometers [(25.17 ± 1.01) mm under the compensated shape], the diameter of the follicles did not exceed more than 170-190 m (281.83 ± 14.91) mat the compensated form). The glycogen content in the epithelium of the papilloma was high. The quantitative reduction of lymphocyte subpopulations CD3, CD4, CD8 and CD16, while maintaining the level of CD19 was noted.

Conclusions: Thus, at chronic tonsillitis the sharp decrease of cell immunity and to a certain extent the conservation of humoral immunity is present. One of the components of the pathogenesis of the disease may be autoimmune processes, which create favorable conditions for the development of papillomatosis of the tonsils.

Key words: chronic tonsillitis, papilloma, morphology, immunity.

Структурные и иммунологические особенности папилломы небной миндалины на фоне хронического тонзиллита

Введение

Папилломы принадлежат к числу частых доброкачественных новообразований ЛОР-органов. Актуальность проблемы респираторного папилломатоза обусловлена склонностью папиллом к рецидивированию, бурному росту и нередко – к малигнизации [1, 2].

Как известно, существуют две формы поражения гортани папилломатозом: ювенильный, или папилломатоз детей и подростков (проявляется до 14 лет) и папилломатоз взрослых. Папилломатоз взрослых бывает, преимущественно, продолжением рецидивирующего ювенильного папилломатоза. В настоящее время в литературе имеются многочисленные указания на роль в этиологии респираторного папилломатоза вирусов папилломы человека (папиллома-вирусов – ПВ), особенно 6-го и 11-го серотипов. Есть также и данные об определенной эффективности комплексного лечения, включающего противовирусные препараты [3, 4].

Кроме того установлено, что важную местную роль на начальных стадиях ПВ-инфекции играет Т-клеточный иммунный ответ, в то время как гуморальный иммунный ответ уменьшает распространение вируса по всему организму инфицированного и таким образом сужает возможности реинфекции. Иммунная защита бывает, скорее, типоспецифической, что позволяет объяснить наличие большого количества типов ПВ [5].

Однако, в доступной научной литературе нам не удалось найти детальной морфометрической характери-

стики папилломы небной миндалины (НМ) в сопоставлении с иммунологической характеристикой хронического тонзиллита.

Цель исследования: дать комплексную иммунологическую, морфологическую и количественную морфометрическую характеристику папилломы небной миндалины.

Материал и методы

Материалом для данного исследования послужила солитарная папиллома небной миндалины, которая была обнаружена у больной во время тонзиллэктомии. Больной было проведено определение состояния апоптоза и некроза, их соотношение AN/PI (по маркерам апоптоза – «ANNEXIN V FITC» и некроза PI – пропидий йодид) в лимфоцитах и нейтрофилах гомогената НМ, а также в периферической крови на проточном цитофлюориметре «Becton Culter Epix XL» (USA). Полученные данные сравнивали с результатами наших предыдущих исследований [6]. Кроме того, определяли уровень различных субпопуляций лимфоцитов (с CD3 – рецепторами, которые содержатся во всех субпопуляциях, с CD4 – рецепторами, которые содержатся в хелперах, с CD8 – рецепторами, которые содержатся в супрессорах, с CD16 – рецепторами, которые содержатся в натуральных киллерах и с CD19 – рецепторами, которые содержатся в специфических в-клетках, влияющих на гуморальный иммунитет) [7] и вычисляли их

соотношение. При этом за точку отсчета брали количественно наименьший у больных данного контингента уровень CD8 и сравнивали с нормой, установленной фирмой-производителем для используемого прибора, а также с данными научной литературы [8].

Морфологические исследования кусочков НМ с расположенной на ней папилломой проводили после фиксации материала в 10% растворе нейтрального формалина, жидкости Карнуа и в 96° спирте. Парафиновые срезы толщиной 5-8 мкм, проводимые в трех взаимно перпендикулярных плоскостях, окрашивали гематоксилином и эозином, резорцин-фуксином по Вейгерту, а также по Ван Гизон. Для выявления гликогена использовали ШИК-реакцию.

Морфометрическую оценку тканей на гистологических срезах осуществляли с помощью окуляр-микрометра МОВ-1-15^х. При этом измеряли диаметр фолликулов, толщину слизистой оболочки, количество слоев эпителия в ней, а также толщину соединительнотканной капсулы.

Результаты

Как нами было установлено ранее при гистологическом исследовании НМ в тех случаях, когда у больных соотношение апоптоз/некроз было сравнительно невысоким (кратность соотношения 2-3, по предложенной нами градации – компенсированный хронический тонзиллит [6]) в препаратах четко визуализировалась хорошо выраженная слизистая оболочка, которая была представлена призматическим у основания и многослойным плоским неороговевающим эпителием в поверхностных слоях (рис. 1) и которая довольно активно воспринимала ШИК-красители. Количество слоев эпителиальных клеток при этом составляло $18,50 \pm 1,08$. Собственная пластинка слизистой углублялась в эпителиальный слой в виде многочисленных сосочков.

В отличие от этого у больной с хроническим тонзиллитом, осложненным папилломой миндалина, кратность соотношения апоптоз/некроз была выше 14 (по нашей градации – декомпенсированная форма хронического тонзиллита). При этом макроскопически папиллома представляла собой объемное ворсинчатое образование бледно-розового цвета с сероватым оттенком, размерами 3 x 4 мм, которое на 1,5-2 мм выступало над уровнем слизистой оболочки миндалина (рис. 2).

При гистологическом исследовании папилломы и сопоставлении ее с гистологическими срезами слизистой оболочки НМ пациентов с невысоким соотношением AN/PI обращало на себя внимание увеличение количества слоев как базальных, так и поверхностных клеток, которых суммарно насчитывалось до 23-25 и которые локализовались вокруг гиперпластически вытянутых и разветвленных сосочков собственной пластинки слизистой оболочки (рис. 3).

Причем следует отметить, что гиперплазии подвергались не только клетки слизистой оболочки самого па-

пилломатозного выроста, но и соседних с ним участков размеры которых от основания папилломы к периферии примерно соответствовали высоте ворсинок самого новообразования. Как под базальным слоем слизистой оболочки папилломы, так и в соседних с ней участках наблюдалось усиление лимфо-лейкоцитарной инфильтрации элементов соединительнотканной капсулы миндалина (рис. 4). Такие морфологические особенности следует принимать во внимание при хирургическом лечении папилломы небных миндалин для определения объема оперативного вмешательства.

Вместе с тем, периферические отделы слизистой оболочки выглядели истонченными, количество слоев клеток в них не превышало 13-15, а толщина соединительнотканной капсулы, наоборот, возрастала до 85 мкм ($(25,17 \pm 1,01)$ мкм при компенсированной форме), диаметр фолликулов при этом не превышал 170-190 мкм ($(281,83 \pm 14,91)$ мкм при компенсированной форме) (рис. 5). Все это также свидетельствовало о декомпенсации хронического тонзиллита на фоне которого и развивалась папиллома.

Кроме того, обращало на себя внимание довольно высокое содержание гликогена в эпителии слизистой оболочки самой папилломы, что свидетельствовало о его достаточно высокой функциональной активности в то время как в соседних участках содержание гликогена было сравнительно небольшим (рис. 6).

При исследовании иммунного статуса у данной больной были установлены следующие показатели, которые отражены в таблице 1. Как видно из таблицы хронический тонзиллит в этом случае за уровнем AN/PI согласно предложенной нами градации [6] также отвечал стадии декомпенсации.

Обсуждение

Анализ уровня каждой из субпопуляций лимфоцитов и сопоставление их соотношения между собой позволил установить общее количественное снижение субпопуляций CD3, CD4, CD8 и CD16 с одновременным сохранением уровня CD19 у данной больной. Однако, соотношение между отдельными субпопуляциями имело своеобразный характер. Это нашло свое отражение в смещении показателей в пользу CD16 и CD19 (табл. 2). Такой характер иммунограммы свидетельствует о резком снижении уровня общего иммунитета. Кроме того, тенденция к снижению CD3 может характеризовать воспаление и хронизацию процесса, а также свидетельствовать о развитии аутоиммунных изменений. Что касается роста удельного веса CD16, то согласно современным представлениям это клетки, которые обладают способностью уничтожать другие клетки-мишени, инфицированные микроорганизмами, а также любые чужеродные клетки аллогенного или ксеногенного происхождения. Важной функцией CD16-клеток является также участие в общем каскаде синтеза цитокинов, принадлежащих к медиаторам воспаления, а относительно

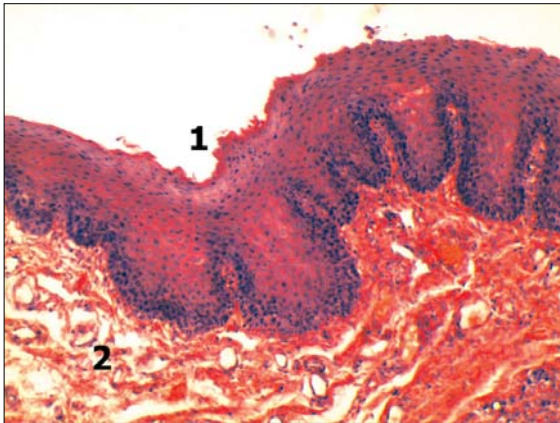


Рис. 1. Поверхность слизистой оболочки небной миндалины с поверхностно расположенным многослойным плоским, а у основания - призматическим эпителием - 1, подслизистая основа - 2, которая формирует соединительнотканную капсулу миндалины.

Гистологический срез небной миндалины при соотношении апоптоз/некроз в лимфоцитах гомогената 2,53. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.

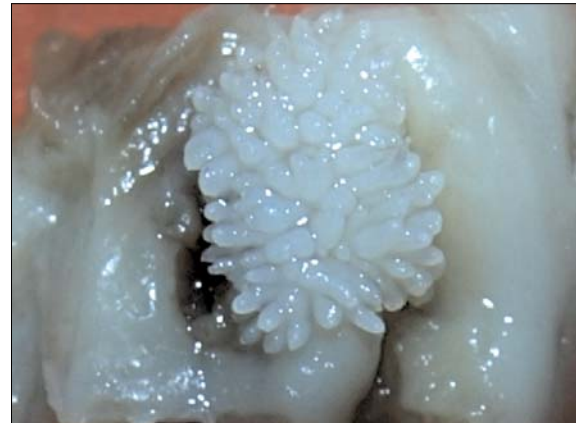


Рис. 2. Папиллома небной миндалины, вид сверху. Фото с натурального препарата.

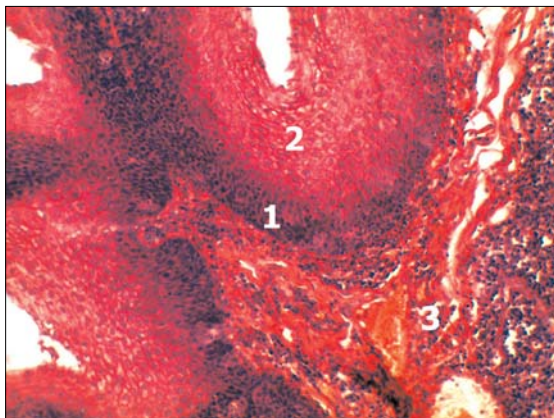


Рис. 3. Слой базальных клеток слизистой оболочки небной миндалины в области ножки папилломы - 1; слой поверхностных клеток и койлоциты (большие светлые клетки с эксцентрично расположенными ядрами) - 2; сосочковый слой из соединительной ткани - 3. Гистологический срез папилломы небной миндалины. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.

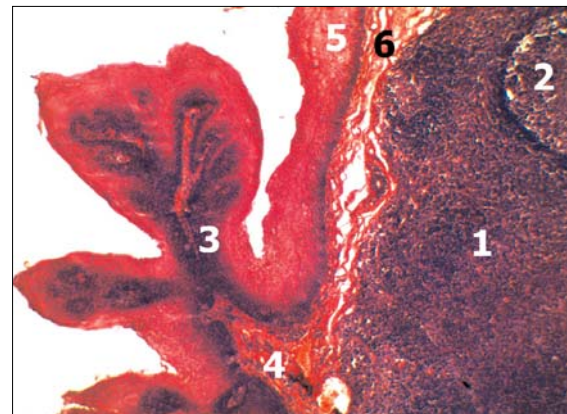


Рис. 4. Диффузная лимфоидная ткань небной миндалины - 1; лимфоидный фолликул - 2; ворсинки папилломы - 3; соединительнотканная ворсинка папилломы с лимфолейкоцитарной инфильтрацией - 4; неповрежденная часть слизистой оболочки - 5; соединительнотканная капсула миндалины - 6. Гистологический срез папилломы небной миндалины. Окраска гематоксилином и эозином. x 140.

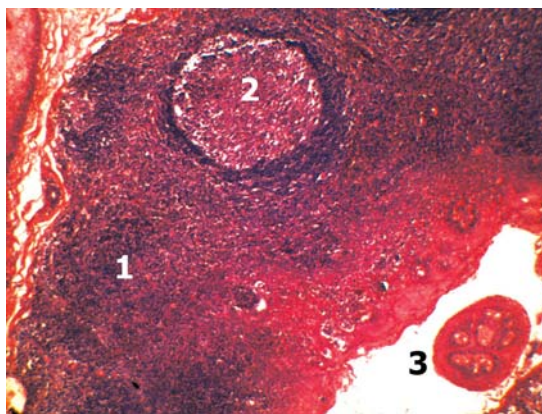


Рис. 5. Диффузная лимфоидная ткань небной миндалины - 1; просветленный лимфоидный фолликул - 2; срез ворсинки папилломы - 3. Гистологический срез небной миндалины с ворсинки папилломы. Окраска гематоксилином и эозином. x 140.

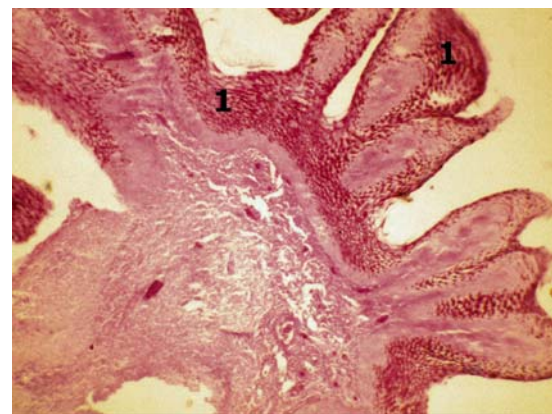


Рис. 6. Повышенное накопление гликогена в слизистой основания ножки и ворсин папилломы небной миндалины - 1. Гистологический срез папилломы небной миндалины. ШИК-реакция. x 140.

высокий уровень этой субпопуляции может свидетельствовать об обострении хронического процесса [9].

Сохранение абсолютного уровня и повышения удельного веса CD19, который присутствует на В-клетках, может быть отражением определенной активации гуморального иммунитета с усилением аутоиммунных реакций [7].

Таким образом, полученные нами данные вполне согласуются с современными представлениями о том, что хроническая папилломавирусная инфекция возникает в случае, когда вирус поражает нижние слои эпидермиса – базальные клетки, причем попадает вирус туда, как правило, через травматические повреждения верхнего слоя. И хотя механизм возникновения папиллом не выяснен, но считается, что экспрессия гена E5 в супрабазальных клетках, расположенных в среднем слое, может стимулировать продукцию цитокинов, которые активируют рост базальных клеток, что и приводит к изменению структуры эпителия в целом. Указанные явления чаще всего возникают при хроническом тонзиллите именно в стадии декомпенсации [5, 10].

Поэтому, подытоживая изложенное, можно сказать, что при хроническом тонзиллите идет резкое снижение клеточного и в определенной мере сохранение гуморального иммунитета. Одной из составляющих патогенеза заболевания могут быть аутоиммунные процессы о чем и свидетельствуют результаты проведенного нами исследования. Все это вместе создает благоприятные условия для развития папилломатоза миндалин.

Выводы

1. Хронический тонзиллит в стадии декомпенсации создает благоприятные условия для развития папилломавирусной инфекции в слизистой небных миндалин за счет снижения местного клеточного иммунитета.

2. При папилломавирусной инфекции морфологические изменения обнаруживаются не только в слизистой оболочке непосредственно над папилломой, но и в прилегающих к ней участках с размерами равными высоте самой папилломы, что нужно учитывать при объеме оперативного вмешательства при хирургическом лечении папиллом небных миндалин.

Таблица 1

Уровень и соотношение показателей апоптоза и некроза в лимфоцитах и нейтрофилах гомогената небных миндалин больной с хроническим тонзиллитом, осложненным папилломой миндалин

Показатели					
AN (%)		PI (%)		AN/PI	AN/PI
L	N	L	N	L	N
15,7	14,9	1,08	16,18	14,54	0,92
Примечание: L – лимфоциты; N – нейтрофилы					

Таблица 2

Количественный и относительный уровень субпопуляций лимфоцитов у больной хроническим тонзиллитом, осложненным папилломой миндалин

Ткань и степень компенсации	Субпопуляции лимфоцитов				
	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19
Норма для данного прибора (в %)	61-85	35-55	19-35	12-17	7-17
Полученные результаты (в %)	16,2	10,1	7,3	7,8	14,3
Норма для данного прибора (в относительных величинах)	2,43-3,21	1,57-1,84	1,00	0,49-0,63	0,37-0,49
Полученные результаты (в относительных величинах)	2,21	1,38	1,00	1,06	1,95

Библиография

1. Urazova LN, Shilova OYu, Mukhamedov MR, et al. Onkogennye virusy v patogeneze khronicheskikh zabolevaniy i raka gortani [Oncogenic viruses in the pathogenesis of chronic diseases and cancer of the larynx]. *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale*. 2007;4:341-342.
2. Yasumatsu R, Nakashima T, Kuratomi Y, et al. Serum squamous cell carcinoma antigen is a useful biologic marker in patients with inverted papillomas of the sinonasal tract. *Cancer*. 2002;94(1):152-158.
3. Zur Hausen H, de Villiers EM. Human papillomaviruses. *Ann. Rev. Microbiol.* 1994;48:427-447.
4. Zaytsev VT, Tsinzerling VA, Tsvetkov EA. Kliniko-morfologicheskaya kharakteristika papillomatoza gortani u detey [Clinico-morphological characteristics of laryngeal papillomatosis in children]. *Arkhiv patologii [Archives of Pathology]*. 2005;67(2):27-29.
5. Lowy R, Howley M. Papillomaviruses. In: Fields Virology / D. M. Knipes, P. M. Howly (eds.). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001;2236-2238.
6. Yashan OI, Herasymyuk MI. Apoptoz ta yogo morfologichni paraleli u khvorykh na khronichnyy tonzylit [Apoptosis is the Yogo morfologichni paraleli from ailing to khronichny tonzilit]. *Rynologia [Rinologiya]*. 2013;1:24-30.
7. Tvorko MS, Klymnyuk SI, Tkachuk NI. Osnovy imunologii (teoriya i praktyka) [Bases of immunology (theory and practice)]. Ternopil: Ukrmedknyha [Ternopil: Ukrmedkniga]. 2009.
8. Budchanov YuI. Kletochnyy immunitet. Tipy kletochnoy tsytotoksichnosti. Retseptory i markery, subpopulatsii limfotsytov [Cell-mediated immunity. Types of cellular cytotoxicity. Receptors and markers, lymphocyte subpopulations] *Uchebno-metodicheskoe posobie po obschey immunologii [Teaching aid for general immunology]*. Tver, 2008.
9. Cherniy VI, Nesterenko AN. Narusheniya immuniteta pri kriticheskikh sostoyaniyakh: osobennosti diagnostiki [Immune dysfunction in critical conditions: diagnostic features]. *Vnutrennyaya meditsina [Internal medicine]*. 2007;2(2); <http://www.mif-ua.com/archive/article/516>
10. Baryshev VV, Andreev VG, Popuchiev VV, et al. Sovremennye aspekty izucheniya respiratornogo papillomatoza. Chast I. Etiologiya, patogeneza, diagnostika [Modern aspects of the study of respiratory papillomatosis. Part I. Etiology, pathogenesis, diagnostika]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal [Siberian Journal of Oncology]*. 2009;5(35):67-72.

Modern aspects of radiation diagnosis in cancer of uterus neck

V. G. Dubinina, O. V. Lukyanchuk, *E. A. Demydova

Department of Oncology, Radiation Therapy and Diagnosis, National Medical University of Odessa, Ukraine

*Corresponding author: demidowa@ukr.net. Manuscript received February 10, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: For the first time on a large clinical material it is studied the possibility of a comprehensive survey of radiation diagnosis of patients with advanced cervical cancer. The role of the modern methods of radiation survey in determining the prevalence of cancer was clarified. A comparative analysis of the information content of the ultrasound, CT and MRI in the diagnosis of specific lesions and retroperitoneal lymph node involvement in the pathological process of the urinary system was made. The place of diagnostic imaging in the evaluation of the effectiveness of treatment for cervical cancer was established. It was studied in detail radiation pattern of complete and partial remission stabilization of disease progression as well.

Material and methods: The present paper summarizes the results of studies conducted at the radiology department clinic of Odessa National Medical University. The work is based on a survey of 120 patients with advanced cervical cancer. Diagnosis of the disease in all cases was verified histologically. The age of 66.6% of patients accounted for 4-5 decades of life. The majority of the examinees was established stage III cervical cancer (66.7%), double-sided involvement of the parametrium (56%), mixed form of tumor growth (57.5%). According to the histological structure squamous cancer constituted 44.2%.

Results: Algorithm of the diagnosis was formulated according to the radial semiotics stage of the disease, has been developed clear MRI/CT - criteria characterizing infiltration parametrial tissue, tumor invasion into the bladder and rectum, the spread of tumors in the body of the uterus and vagina.

Conclusions: On the basis of the results was formulated algorithm of ray examination, practical recommendations for gynecologists.

Key words: cervical cancer, radiation semiotics, MRI, CT, ultrasound, invasion, bladder, uterus, vagina, rectum.

Современные аспекты лучевой диагностики рака шейки матки

Актуальность темы

Рак шейки матки занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической заболеваемости у женщин, стабильно находясь на втором месте после рака эндометрия среди злокачественных поражений органов женской репродуктивной системы [24, 25, 28, 29]. Ежегодно в мире более 600 тысяч женщин заболевает раком шейки матки [12-15].

В последние годы возросла частота инвазивного рака шейки матки у женщин репродуктивного возраста, особенно заметно повышение заболеваемости в группе женщин до 30 лет [10, 11, 32, 36].

К сожалению, в настоящее время в нашей стране наблюдается значительное количество запущенных случаев инвазивного рака шейки матки [7, 8, 9].

Традиционно, диагностика и стадирование рака шейки матки (РШМ) осуществляется с помощью бимануального гинекологического обследования и морфологических исследований [5, 16, 17, 27, 28, 32, 34]. Изменение размеров, структуры, визуальных характеристик влагалищной части шейки матки, инфильтрация параметральной клетчатки и гистологическая верификация позволяют установить диагноз и определить стадию патологического процесса [5, 16, 17, 33, 34, 41, 42]. Доступность и относительная простота постановки клинического диагноза РШМ привели к сравнительно редкому использованию методов лучевой диагностики в этом разделе онкогинекологической патологии [1, 2, 6, 37, 38, 21, 22].

Эхография (ЭГ), компьютерная (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), являясь неинвазивными методами лучевой диагностики, могут значительно

облегчить оценку распространенности злокачественного процесса данной локализации, позволяя повысить точность клинического стадирования и оценить эффективность выбранного метода лечения [4, 18, 19, 29, 39, 40].

Для оптимизации обследования женщин с гистологически подтвержденным РШМ, необходимо решить вопрос о роли, последовательности применения и взаимозаменяемости различных методов лучевой диагностики в комплексном обследовании данной категории больных [3, 41, 42]. Проведенный анализ позволит повысить эффективность клинического обследования и качественно влиять на тактику ведения больных в зависимости от полученных результатов [3, 21, 22, 31, 32].

Цель исследования: совершенствование диагностики и стадирования опухолевого процесса у больных распространенным РШМ с помощью радиологических методов исследования.

Задачи исследования:

1. Изучить ЭГ – семиотику распространенного РШМ.
2. Изучить КТ – семиотику распространенного РШМ.
3. Изучить МРТ – семиотику распространенного РШМ.
4. Оценить возможности комплексной лучевой диагностики в определении распространенности опухолевого процесса, сопоставив информативность ЭГ, КТ, МРТ.
5. Разработать алгоритм использования лучевых методов исследования при распространенном РШМ.
6. Изучить эффективность методов лучевой диагностики в оценке динамики патологического процесса.

Научная новизна

Впервые на большом клиническом материале изуче-

ны возможности комплексной лучевой диагностики в обследовании больных распространенным раком шейки матки. Разработана ЭГ, КТ, МРТ – семиотика инвазивного РШМ соответственно стадиям патологического процесса. Уточнена роль современных методов лучевого обследования в определении распространенности опухолевого процесса. Изучены возможности ЭГ, КТ, МРТ в оценке первичного опухолевого очага, инвазии РШМ во влагалище и тело матки, распространении опухоли в параметральную клетчатку, мочевого пузыря и прямую кишку. Проведен сравнительный анализ информативности ЭГ, КТ и МРТ в диагностике специфического поражения забрюшинных лимфатических узлов и вовлечении в патологический процесс органов мочевыводящей системы.

Определено место методов лучевой диагностики в оценке эффективности лечения РШМ. Детально изучена лучевая картина полной и частичной ремиссии, стабилизации, а также прогрессирования заболевания.

Практическая ценность работы

Уточненная с помощью лучевых методов исследования семиотика распространенного РШМ повышает эффективность лучевой диагностики. Выполненный сравнительный анализ возможностей различных методов лучевой диагностики (ЭГ, КТ и МРТ) в оценке распространенности РШМ способствует раннему назначению адекватного лечения.

Разработанный алгоритм лучевого обследования пациенток со злокачественным поражением шейки матки обеспечивает улучшение диагностики заболевания и сокращение времени обследования пациента.

Материал и методы

Настоящая работа обобщает результаты исследований, проведенных в отделениях лучевой диагностики клиники Одесского национального медицинского университета.

Работа основана на результатах обследования 120 больных распространенным РШМ. Диагноз заболевания во всех случаях верифицирован гистологически. 66,6% больных приходился на 4-5 декады жизни. У большинства обследованных больных была установлена III стадия РШМ (66,7%), двухсторонний параметральный вариант (56%), смешанная форма роста опухоли (57,5%). По гистологической структуре преобладал плоскоклеточный неороговевающий рак (44,2%).

Для обследования пациенток применялись следующие методы:

1. **Клинико-anamnestический.** Каждой пациентке, помимо сбора анамнеза, выполняли бимануальное ректовагинальное обследование, осмотр в зеркалах, цитологическое исследование соскобов с шейки матки и из цервикального канала, биопсию шейки матки с последующим гистологическим исследованием полученного материала.

2. **Инструментальный.** Всем пациенткам выполняли цистоскопию и ректороманоскопию для исключения

прорастания опухоли в мочевой пузырь и прямую кишку, а также лабораторные исследования.

3. **Лучевой.** Лучевая диагностика включала эхографическое исследование и компьютерную томографию органов брюшной полости, забрюшинного пространства и органов малого таза; магнитно-резонансную томографию органов малого таза.

ЭГ органов брюшной полости, забрюшинного пространства и органов малого таза проводили на аппаратах УЗИ экспертного класса в режиме реального времени абдоминальными конвексными датчиками с частотой 3,5-5,0 мГц, вагинальным и/или полостным датчиками с частотой 6,5-7,5 мГц.

Компьютерная томография живота и малого таза была выполнена на спиральном рентгеновском компьютерном томографе «Toshiba Aquillion 16». КТ проводилась после предварительного контрастирования перорально раствором «Триомбраса», ЖКТ - водорастворимым рентгеноконтрастным препаратом «Триомбрас» 60 или 76% – 20 ml. Во влагалище вводили смоченный в водном растворе урографина ватный тампон. У 18 пациенток нативная КТ была дополнена в/венным болюсным усилением с помощью автоинжектора «Medrad».

МРТ проводилась на МР – томографе «Magnetom - Avanto» (Siemens) с напряженностью магнитного поля 1,5 T, линейной приемной катушкой для туловища (*torso phasd array coil*) (табл. 1).

Исследование осуществляли с использованием T2FSE импульсной последовательности в аксиальной, корональной и сагиттальной плоскостях, T1SE – в аксиальной плоскости, T2FatSet – в сагиттальной и аксиальной плоскостях. Во влагалище вводили пропитанный масляным раствором ватный тампон.

Таблица 1

Клинико-лучевое обследование больных распространенным РШМ

Методы исследования	п/п	в %
Исследование в зеркалах	120	100%
Бимануальное ректовагинальное исследование	120	100%
Кольпоскопия	5	4,2%
Цитологическое исследование соскобов с влагалищной порции шейки матки, из зоны переходного эпителия и из цервикального канала	120	100%
Гистологическое исследование материала, полученного при биопсии шейки матки	120	100%
Фиброцистоскопия	120	100%
Ректороманоскопия	120	100%
Эхография (ЭГ) органов брюшной полости и забрюшинного пространства	120	100%
Эхография (ЭГ) органов малого таза	120	100%
Цветовое доплеровское картирование органов малого таза	120	100%

Энергетическое доплеровское картирование органов малого таза	120	100%
Спиральная рентгеновская компьютерная томография (КТ органов брюшной полости и органов малого таза)	120	100%
КТ органов брюшной полости и органов малого таза с в/в болюсным усилением с помощью автоинжектора	18	15%
Магнитно-резонансная томография (МРТ) органов малого таза	20	16,7%
ЭГ контроль	120	100%
КТ контроль	27	22,5%

Все методы лучевой диагностики использовались для оценки первичного опухолевого очага, окружающих органов и выявления специфических изменений со стороны органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Кроме того, при КТ все полученные срезы оценивались в «костном» режиме (*bone window*) с применением специальных фильтров для исключения вторичных изменений со стороны костных структур.

Результаты и обсуждение

В настоящей работе можно выделить три основных раздела. Первый посвящен разработке лучевой семиотики первичного опухолевого очага соответственно стадиям патологического процесса.

Для I стадии РШМ в лучевом изображении характерны следующие признаки:

- 1) Патологический очаг, окруженный неизменной стромой шейки – 100%;
- 2) ШМ нормального размера (80%) или незначительно увеличена (20%);
- 3) Форма ШМ не изменена – 100%;
- 4) Контуры ШМ четкие и ровные – 100%.

Кроме того, эхографически были выявлены следующие особенности IV стадии:

- ◆ очаг в толще стромы в виде гипо- или изоэхогенного участка с нечеткими, неровными контурами, широким основанием прилежащий к наружному зеву или нижней трети цервикального канала (100%);
- ◆ граница ШМ с окружающей клетчаткой не изменена (100%);
- ◆ эхогенность ткани шейки вокруг очага не изменена ИЛУ: незначительно снижена (100%);
- ◆ изображение цервикального канала не изменено при эксцентричном расположении узла (40%) или смещено при центральном его расположении (60%);
- ◆ гиперваскуляризация патологического очага (80%).

Нативная КТ была неэффективна в оценке первичного опухолевого очага у больных IV стадией.

Болюсное контрастирование в 80% случаев IV стадии позволило отчетливо визуализировать опухолевый узел. Наиболее информативным было исследование в паренхи-

матозную фазу. При этом значимого изменения показателей денситометрической плотности получено не было.

МРТ была высокоэффективна в оценке первичного опухолевого очага у больных IV стадией РШМ. Опухолевый узел характеризовался умеренно гиперинтенсивным сигналом на T2ВИ и гипоинтенсивным сигналом на T1ВИ. Необходимо отметить, что интенсивность сигнала от опухоли напрямую зависела от ее размера: так, наиболее высокий сигнал давали маленькие опухоли, при опухолях большого размера интенсивность сигнала снижалась до умеренной. Во всех случаях наблюдалось исчезновение изображения переходной зоны в месте локализации опухоли.

Для II стадии РШМ в лучевом изображении характерны следующие признаки:

- ◆ практически полное замещение стромы шейки матки опухолевыми массами;
- ◆ умеренное увеличение размеров ШМ, преимущественно передне-заднего (100%);
- ◆ форма шейки матки округлая (100%);
- ◆ наружные контуры ШМ достаточно четкие, могут быть неровными;
- ◆ отсутствуют изображения кист эндоцервикса (100%).

Кроме того, эхографически были выявлены следующие особенности II стадии: структурные изменения ШМ в виде:

1) Очага – гипо- или изоэхогенного участка с нечеткими, неровными контурами, широким основанием прилежащего к наружному зеву или нижней и средней трети цервикального канала (42,9%);

2) Диффузного поражения (57,1%), сопровождающегося повышением зернистости изображения, диффузным снижением (70%) или повышением (30%) эхогенности измененной ШМ; граница ШМ с окружающими тканями подчеркнута; могут выявляться локальные скопления гиперэхогенных включений в ткани шейки; изображение цервикального канала деформировано (25,7%), может быть фрагментарным (74,3%); выраженная гиперваскуляризация опухоли (80%).

Значительные трудности представляла собой оценка структуры измененной шейки при нативной компьютерной томографии. В большинстве случаев структура измененной шейки матки представлялась однородной. Помимо увеличения размеров и изменения формы ШМ, КТ позволила выявить нарушение целостности контуров ШМ и инвазию опухоли в параметральную клетчатку.

МРТ позволила в полной мере оценить структуру измененной ШМ у больных со II стадией. Все опухоли не большого размера имели однородную структуру.

Для III стадии РШМ в лучевом изображении характерны следующие признаки:

- 1) Неизменная ткань ШМ не прослеживается (77,5%), видна фрагментарно (22,5%);
- 2) Размеры ШМ резко увеличены – 100%;
- 3) Форма ШМ бочкообразная или неправильная – 100%;

4) Контуры ШМ неровные – 100%, могут быть нечеткими.

Кроме того, эхографически были выявлены следующие особенности III стадии РШМ:

- ◆ структурные изменения шейки в виде диффузного поражения (относительно однородная структура – 83,7%, резко гетерогенная – 16,3%);
- ◆ граница ШМ с окружающими тканями подчеркнута, постепенно становится смазанной; гиперэхогенные включения без акустической тени, располагающиеся диффузно или локальными скоплениями (33,8%);
- ◆ изображение цервикального канала отсутствует (67,5%), может быть фрагментарным (32,5%);
- ◆ значительно выражена гиперваскуляризация опухоли (93,7%).

Мелкие гиперденсные включения в толще шейки (29 человек) или кистовидные включения с денситометрической плотностью воздуха – участки дегенерации и некроза, выявленные у 26,7% пациенток с III стадией – те немногочисленные изменения, которые были выявлены при КТ.

При помощи МРТ у пациенток с III стадией заболевания на Т2ВИ неизменная строма шейки определялась либо в виде тонкой полоски с низким сигналом, окружающей опухоль (5 наблюдений – 25%) или же не определялась вовсе, что свидетельствовало о полном замещении шейки опухолью (45%). Все опухоли большого размера были неоднородными на МРТ.

Также нами были изучены возможности различных методов лучевой диагностики в оценке распространенности опухолевого процесса.

Инфильтрация параметральной клетчатки

Эхография была малоинформативным методом оценки состояния параметральной клетчатки. Достоверным эхографическим признаком распространения патологического процесса в параметрий является видимое нарушение целостности наружных контуров шейки в случаях распада опухоли, выявленное только у 4 пациенток с III стадией – 5%. При использовании цветового и энергетического доплеровского картирования не было выявлено достоверных признаков инвазии в параметрий. Гиперваскуляризация параметральной клетчатки чаще всего была обусловлена варикозным расширением вен малого таза.

При КТ инфильтрация проявлялась тяжистыми уплотнениями структуры параметральной клетчатки и повышением денситометрической плотности тканей на 40-70 ед. X. Если выявленная инфильтрация определялась в виде минимальной сетчато-ячеистой деформации параметрия (в виде «дымки»), ее расценивали как минимальную, при более выраженном уплотнении жировой клетчатки как умеренную, в случаях интенсивного уплотнения – как выраженную. При переходе изменений на крестцово-маточные связки изображение последних становилось подчеркнутым. При проведении

компьютерной томографии во всех случаях была выявлена двусторонняя инфильтрация, при этом поражение одной из сторон в ряде случаев значительно превосходило по выраженности противоположное. Инфильтрация параметральной клетчатки была выявлена в 72,2% – у пациенток с II и III стадиями рака шейки матки.

Для оценки состояния параметральной клетчатки с помощью МРТ максимально информативными были Т2FSE в аксиальной и коронарной плоскостях. Использование Т2ВИ в аксиальной и сагиттальной плоскостях позволило более достоверно оценить четкость контуров шейки.

Надежным признаком отсутствия параметральной инвазии является сохранение вокруг опухоли неразорванного кольца цервикальной стромы, сохраняющего свой низкоинтенсивный сигнал. Явным признаком инвазии служит изменение интенсивности сигнала от параметрия. Протрузия опухоли через нарушенное кольцо цервикальной стромы вначале невелика и имеет треугольную форму. Широким основанием прилежит непосредственно к опухоли, инвазия острием направлена в сторону костных стенок таза. В дальнейшем инфильтрация параметрия протекает по типу ракового лимфангита, в виде «тяжистой» извитой деформации структуры параметральной клетчатки. Интенсивность изменения сигнала от параметральной клетчатки соответствует степени выраженности инфильтрата.

Инвазия в мочевой пузырь и прямую кишку

У 3 пациенток (2,5%) из 120 обследованных по данным ультразвукового исследования было заподозрено и в 2 случаях морфологически подтверждено прорастание РШМ в мочевой пузырь. Инвазия опухоли в прямую кишку была заподозрена в 4 случаях, и только в 1 случае была верифицирована при ректороманоскопии. Ложно-положительные эхографические признаки прорастания чаще были обусловлены спаечным процессом и выраженным метеоризмом.

Чувствительность ЭГ в диагностике инвазии в мочевой пузырь составила 66,7%, специфичность 99,1%, точность 98,3%. Чувствительность ЭГ в диагностике инвазии в прямую кишку составила 50%, специфичность 97,5%, точность 96,7%.

С помощью КТ инвазия в мочевой пузырь в виде локального неравномерного утолщения его стенки была заподозрена в 7 случаях (5,8%) и подтверждена при цистоскопии в 2 случаях из 120 (1,7%). Наличие признаков инфильтрации прецервикальной клетчатки не является доказательством инвазии в мочевой пузырь. Инфильтрация параректальной клетчатки была выявлена у 40 (33,3%) пациенток. Прорастание опухоли в прямую кишку было заподозрено в 4 случаях и подтверждено при ректороманоскопии в 2 случаях (1,6% от общего числа обследованных).

Чувствительность КТ в диагностике инвазии в мочевой пузырь составила 66,7%, специфичность 95,7%, точность 95,0%. Чувствительность КТ в диагностике инва-

зии в прямую кишку составила 97,7%, специфичность 98,3%, точность 98,3%.

Достоверным признаком прорастания опухоли в мочевой пузырь или прямую кишку при МРТ было распространение гиперинтенсивного сигнала опухоли на стенку прилежащего органа. При этом клетчатка, располагающаяся между шейкой и пораженным органом, была истончена и сигнал от неё отсутствовал. Наиболее демонстративными вышеописанные изменения были на T2FSE и T2FatSet в сагиттальной и аксиальной плоскостях. Достоверным признаком отсутствия инвазии являлось наличие неизменной, равномерно выраженной клетчатки в виде прослойки между шейкой и стенкой мочевого пузыря или прямой кишки. У пациенток с III стадией заболевания, обследованных с помощью МРТ, прорастание в мочевой пузырь было заподозрено в 1 случае, в прямую кишку – у 2 пациенток. Чувствительность МРТ в диагностике инвазии в мочевой пузырь составила 98,7%, специфичность 96,1%, точность 96,6%. Чувствительность МРТ в диагностике инвазии в прямую кишку составила 97,2%, специфичность 89,4%, точность 90,0%.

Распространение опухоли в тело матки и влагалища

Достоверно выявить распространение опухоли на стенки влагалища не удалось ни на одном этапе ультразвукового исследования. В 36,7% (у 44 пациенток) с II и III стадией РШМ была обнаружена инвазия в тело матки, в виде гипоехогенного участка клиновидной формы, широким основанием исходящего непосредственно из опухолевого очага, острием направленного в сторону дна матки.

При нативной рентгеновской компьютерной томографии отчетливо выделить границу между опухолью и здоровыми тканями влагалища или тела матки не удалось. Реконструкции в сагиттальной плоскости позволили предположить распространение опухоли на тело матки у 4 пациенток с III стадией РШМ из 120 обследованных 3,33% случаев. Только в 10,8% случаев при нативной компьютерной томографии была заподозрена инвазия во влагалище. Чувствительность КТ в оценке распространения опухоли во влагалище – 46,2%, специфичность – 93,8%, точность – 88,9%.

Максимально информативными для выявления инвазии в тело матки оказались T2ВИ в коронарной плоскости и T2FSE, T2FatSet - в сагиттальной плоскости. Верхняя граница патологического процесса отчетливо определялась благодаря различной интенсивности сигнала миометрия и опухолевой ткани. Форма инвазии на МР – томограммах близка к клиновидной. Граница с неизменным миометрием имела четкие, волнообразные контуры. Распространение рака шейки матки на влагалище было обнаружено у 4 пациенток и проявлялось локальным утолщением стенки влагалища с потерей низкоинтенсивного сигнала на T2ВИ. Как и при оценке маточного варианта, наиболее информативными были сагиттальные срезы.

Чувствительность МРТ в определении инвазии во

влагалище составила 80%, специфичность – 94,1% и точность – 90,9% соответственно. Распространение опухоли на тело матки с помощью МРТ диагностировано в 36,7% наблюдений.

Диагностика забрюшинной лимфаденопатии

Все методы лучевой диагностики были сопоставимо информативны в оценке поражения забрюшинных лимфатических узлов. С помощью ЭГ забрюшинные ЛУ были выявлены в 29,1%, КТ – 37,5%.

Минимальные размеры обнаруженных с помощью ЭГ забрюшинных лимфатических узлов составили 8 мм, максимальный размер одиночных ЛУ не превышал 45 мм в диаметре. В серии представленных наблюдений для РШМ были более характерны одиночные метастатические ЛУ или пакеты увеличенных ЛУ. Как для первой, так и для второй группы пораженных ЛУ, была свойственна округлая или овоидная форма, четкие и ровные контуры, однородная структура и пониженная эхогенность.

КТ была особенно эффективна в выявлении увеличенных ЛУ, располагающихся вдоль брюшного отдела аорты и нижней полой вены. Однако, в ряде случаев, КТ не позволила выявить увеличенные ЛУ подвздошных групп.

Любая из выполненных импульсных последовательностей при МРТ позволяла визуализировать измененные ЛУ, однако для уточнения объема поражения более информативным оказалось T1ВИ, где контраст ЛУ с окружающей их клетчаткой был максимальным, в то время как на T2ВИ лучше удавалось оценить их структуру.

Также нами была оценена роль методов лучевого исследования в оценке эффективности лечения больных распространенным раком шейки матки.

Лучевые признаки ремиссии РШМ характеризовались исчезновением или значительным уменьшением проявлений опухолевого поражения, стабилизация – уменьшением их менее чем на 50% от исходного. Прогрессирование РШМ наблюдалось в различные сроки после окончания лечения и проявлялось в лучевом изображении признаками, идентичными проявлениям первичной опухоли (локализованные в полости малого таза – 29, лимфатические узлы – 10, отдаленные метастазы – 6 случаев).

На основании результатов проведенного обследования были разработаны алгоритм лучевого обследования первичных пациенток со злокачественным поражением шейки матки и алгоритм динамического обследования больных РШМ.

Алгоритм лучевого обследования больных распространенным раком шейки матки

1. Комплексное применение лучевых методов обследования больных обеспечивает успешную диагностику и стадирование РШМ. Эхография органов брюшной полости, забрюшинного пространства и органов малого таза является скрининговым методом в оценке распространенности опухолевого процесса и служит методом отбора для последующей МРТ и КТ.

2. При IВ стадии размеры, форма и контуры ШМ не изменены. При ЭГ патологический очаг имеет понижен-

ную экзогенность, при ЦДК и ЭДК отмечается гиперваскуляризация опухоли. На МР томограммах опухолевый узел характеризуется стандартными изменениями МР-сигнала. КТ позволяет визуализировать патологический очаг только при болюсном усилении.

3. II стадия РШМ характеризуется умеренным увеличением размеров ШМ и изменением ее формы на округлую. При ЦДК и ЭДК структурные изменения ШМ сопровождаются выраженной гиперваскуляризацией. МРТ и КТ достоверно выявляют нарушение целостности контуров ШМ и степень инфильтрации параметральной клетчатки.

4. Для III стадии характерно значительное увеличение размеров ШМ с одновременной ее деформацией. Данные ЭГ свидетельствуют о диффузном изменении структуры ШМ (66,2%), сопровождающимся значительным снижением ее экзогенности с одновременной гиперваскуляризацией. МРТ и КТ выявляют распространение инфильтратов в параметрии до стенок малого таза.

5. Все методы лучевого исследования с высокой степенью достоверности выявляют инвазию опухоли ШМ в мочевого пузыря. Для оценки прорастания опухоли во влагалище и прямую кишку предпочтительно использовать МРТ и КТ (чувствительность МРТ 80,1% и 86%, КТ 46,2% и 78% соответственно).

6. Распространение опухолевого процесса на тело матки диагностировано с помощью ЭГ и МРТ в 36,7% наблюдений. Все методы лучевого обследования сопоставимо информативны в диагностике поражения забрюшинных ЛУ. По данным ЭГ специфическое поражение забрюшинных ЛУ выявлено в 28%, МРТ – в 35%, КТ – в 37,5% наблюдений.

7. Скрининговым методом выявления профессии РШМ, эффективности проводимой терапии и выявления отдаленных рецидивов является ЭГ. Выполнение МРТ и КТ целесообразно при сомнительных и отрицательных результатах ЭГ.

Практические рекомендации

1. При злокачественном поражении шейки матки обязательно радиологическое исследование органов малого таза, брюшной полости и забрюшинного пространства.

2. ЭГ – первый этап радиологического обследования больных распространенным РШМ. МРТ и/или КТ целесообразно выполнять для уточняющей диагностики в случаях, когда при эхографии получены сомнительные или недостаточно информативные данные.

3. При использовании МРТ в качестве первого этапа оценки распространенности инвазивного РШМ, выполнение КТ с целью верификации нецелесообразно, ЭГ – желательно для последующей объективной оценки динамики патологического процесса.

4. Сочетанное применение КТ и ЭГ позволяет осуществить объективное стадирование опухолевого процесса.

5. В случаях выявления увеличенных забрюшинных ЛУ при эхографии выполнение КТ/МРТ для подтверж-

дения не обязательно. При отсутствии КТ/МРТ – признаков забрюшинной лимфаденопатии показан динамический ЭГ-контроль.

6. Для успешного мониторинга больных раком шейки матки в процессе лучевого лечения и после его окончания необходимо использование эхографии. КТ/МРТ следует выполнять всем пациенткам через 3-6 месяцев и/или через 10-14 месяцев после окончания лучевой терапии в зависимости от результатов клинико-лабораторных исследований и данных, полученных при ЭГ.

Библиография

1. Адамян ЛВ, Кулаков ВИ, Мурватов КД, и др. Спиральная компьютерная томография в гинекологии. М.: Медицина, 2011;288.
2. Ашрафян ЛА, Титова ВА, Харченко НВ, и др. Диагностика атипичных маточных кровотечений у пациенток в пери- и постменопаузе как аспект интервенционной радиологии в гинекологии. *Мед. Виз.* 2008;2:50-54.
3. Березовская ТП, Дьячков АА, Валькова ВН. Магнитно-резонансная томография при опухолях матки и придатков. *Архангельск*, 2002;111.
4. Боровиков ВП, STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. СПб.: Питер, 2001;656.
5. Бохман ЯВ. Руководство по онкогинекологии. СПб., 2002;540.
6. Буланов МН. Возможности ультразвуковой диагностики при карциноме шейки матки *in situ*. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2002;2:147.
7. Буланов МН. Особенности эхоструктуры и гемодинамики шейки матки при малоинвазивной карциноме. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2003;1:47-50.
8. Василевская ЛН, Винокур МЛ, Никитина НИ. Предраковые заболевания и начальные формы рака шейки матки. М.: Медицина, 1987;160.
9. Вишневская ЕЕ. Рак шейки матки. Диагностика. Хирургическое и комбинированное лечение. Минск: Высшая школа, 2002;234.
10. Вишневская ЕЕ, Александров НН. Лимфография в онкогинекологии. Минск: Высшая школа, 2002;118.
11. Власов ВВ. Введение в доказательную медицину. М.: Медиа Сфера, 2001;392.
12. Исамухамедова МА, Мамадалиева ЯМ, Халиков СС. Значение эхографии в оценке степени распространенности рака шейки матки III-IV стадии. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2002;2:155.
13. Кандакова ЕЮ. Сочетанная лучевая терапия местно-распространенного рака шейки матки у больных репродуктивного возраста в условиях индукционной полихимиотерапии: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2001;27.
14. Козаченко ВП. Современное состояние проблемы рака шейки матки. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы. Под ред. проф. Прилепской ВН. *Мед пресс Информ*, 2003;133-138.
15. Кулаков ВИ, Адамян ЛВ, Мурватов КД. Магнитно резонансная томография в гинекологии. Атлас. М.: Антидор, 1999;192.
16. Минкина ГН, Манухин ИБ, Франк ГА. Предрак шейки матки. М.: Аэрограф - медиа, 2004;112.
17. Новикова ЕГ, Антипов ВА. Рак шейки матки. Избранные лекции по клинической онкологии. Москва, 2000;501-521.
18. Озерская ИА, Агеева МИ. Ультразвуковая диагностика патологии шейки матки (лекция). *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2002;3:109-114.
19. Реброва ОВ. Статистический анализ медицинских данных с помощью пакета программ «Статистика». Москва: Медиа Сфера, 2002;380.
20. Роговенко СС. Диагностика рака шейки матки. Л.: Медгиз, 1957;131.
21. Сергиенко ВИ, Бондарева ИБ. Математическая статистика в клинических исследованиях. М.: Гэотар - Медицина, 2000;256.

22. Тюляндин СА, Моисеенко ВМ. Практическая онкология. Избранные лекции. СПб.: Центр ТОММ, 2004;607-708.
23. Урманчева АФ. Рак шейки матки и беременность. *Практическая онкология*. 2002;3:183-193.
24. Хансон Джеральд. Лучевая терапия в лечении рака. Практическое руководство. Перевод с англ. Чапмен энд Холл, 2000;149-162.
25. Юнкеров ВИ, Григорьев СГ. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. Лекции для адъюнктов и аспирантов. СПб.: ВмедА, 2002;266.
26. Berezovskaia TP. Magnetic resonance tomography in the staging of uterine neoplasms. *Vopr Onkol*. 2003;49(2):227-231.
27. Bipat S, Glas AS, van der Velden J, et al. Computed tomography and magnetic resonance imaging in staging of uterine cervical carcinoma: a systematic review. *Gynecol Oncol*. 2003;91(1):59-66.
28. Brenner DE, Whitley NO, Prempre T, et al. An evaluation of the computed tomographic scanner for the staging of carcinoma of the cervix. *Cancer*. 1982;50(11):2323-2328.
29. Chiang SH, Quek ST. Carcinoma of the cervix: role of MR imaging. *Ann Acad Med Singapore*. 2003;32(4):550-556.
30. Chung H, Ahn HS, Kim YS, et al. The value of cystoscopy and intravenous urography after magnetic resonance imaging or computed tomography in the staging of cervical carcinoma. *Yonsei Med J*. 2001;42(5):527-31.
31. Follen M, Levenback CF, et al. Imaging in cervical cancer. *Cancer*. 2003;98(9 Suppl):2028-2038.
32. Fulcher AS, O'Sullivan SG, Segreti EM, et al. Recurrent Cervical Carcinoma: Typical and Atypical Manifestations. *Radiographics*. 1999;19:103-116.
33. Gaze MN, Kelly CG, Dunlop PR, et al. IB cervical carcinoma: a clinical audit. *The British Journal of Radiology*. 1992;65(779):1018-1024.
34. Hawnaur JM, Johnson RJ, Carrington BM, et al. Predictive value of clinical examination, transrectal ultrasound and magnetic resonance imaging prior to radiotherapy in carcinoma of the cervix. *Br J Radiol*. 1998;71(848):819-827.
35. Hertel H, Kohler C, Elhawary T, et al. Laparoscopic staging compared with imaging techniques in the staging of advanced cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2002;87(1):46-51.
36. Kaur H, Silverman PM, Iyer RB, et al. Diagnosis, Staging, and Surveillance of Cervical Carcinoma. *Am. J. Roentgenol*. 2003;180(6):1621-1631.
37. Michniewicz K, Oellinger J. Diagnostic imaging in invasive cervical carcinoma: MRI, CT and ultrasonography. *Zentralbl. Gynecol*. 2001;123(4):222-228.
38. Nicolet V, Carignan L, Bourdon F, et al. MR Imaging of Cervical Carcinoma: A Practical Staging Approach. *Radiographics*. 2000;20:1539-1549.
39. Sheu MH, Chang CY, Wang JH, et al. Preoperative staging of cervical carcinoma with MR imaging: a reappraisal of diagnostic accuracy and pitfalls. *Eur. Radiol*. 2001;11(9):1828-1833.
40. Sheu M, Chang C, Wang J, et al. MR staging of clinical stage I and IIa cervical carcinoma: a reappraisal of efficacy and pitfalls. *Eur. J. Radiol*. 2001;38(3):225-231.
41. Shigeaki U, Takashi K, Kaori T, et al. Vascular Dilatation in the Pelvis: Identification with CT and MR Imaging. *Radiographics*. 2004;24:193-208.
42. Sironi S, Zanello A, Rodighiero MG, et al. Invasive carcinoma of the cervix uteri (Stage IB-11B).

In-stent restenosis in the drug eluting stent assayed by optical coherence tomography

V. Sirbu¹, *L. Ciobanu², G. Guagliumi¹, O. Valsecchi¹, I. Popovici², M. Popovici²

¹Hospital of Holy Pope Giovanni XXIII, Bergamo, Italy

²Department of Interventional Cardiology, Institute of Cardiology, Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: cancelaria2004@mail.ru. Manuscripts received February 03, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: In order to study the mechanisms and morphological aspects of the in-stent restenosis (ISR) have been evaluated restenosis lesions referred to drug eluting stent (DES) of the first generation using optical coherence tomography technique (OCT).

Material and methods: The study underwent 39 patients with ISR induced recurrent angina or acute coronary syndrome including 66 stents from which were: 44 stents (28 patients) of the first generation of DES (19 – Cypher™ and 23 – Taxus®), and 22 stents (11 patients) of the second DES generation (9 Xience™+2 Promus™), 10 ZES (Resolute™), and one stent Nobori™. Has been made quantitative and morphological analysis of tissue pattern of ISR using the following OCT criteria: 1) morphologically homogenous neointima; 2) morphologically heterogeneous neointima; and 3) neoatherosclerosis.

Results: It has been established that in the first generation of DES morphological homogenous pattern was present in both ISR developed after 1 year and later. However, the optical aspect with heterogeneous presentation had a prevalence decline in dynamics. The heterogeneous model had a higher prevalence in actual generation of DES in both incipient (< 1 year) and late presentation.

Conclusions: The phenomenon of neoatherosclerosis has presented a significantly less frequency in the late restenosis of actual generation of DES. Our results suggest that restenosis phenomenon in actual generation of DES has a different morphological and evolution pattern in time in comparison with ISR of the first generation of DES.

Key words: in-stent restenosis, drug eluting stent, optical coherence tomography

Restenoza intrastent medicat studiată cu tomografia în coerență optică

Introducere

Fenomenul de restenoză intrastent (*ISR-In Stent Restenosis*) ca răspuns patologic vascular la implantarea stentului coronarian prezintă substratul anatomic pentru revascularizare

repetată (*TLR-Target Vessel Revascularization*) și sindromul coronarian acut (*ACS-Acute Coronary Syndrome*) [1, 2, 3]. Deși stenturile coronariene medicate (*DES-Drug Eluting Stent*) s-au dovedit a fi mai eficiente în reducerea restenozei decât stenturile metalice (*BMS-Bare Metal Stent*), fenomenul

persistă chiar și în generațiile actuale de stenturi medicate [4]. ISR în stenturile metalice apare de obicei în faza postoperatorie precoce (până la 6 luni) sau, într-o măsură mai mică, în faza foarte tardivă (după 4 ani). Din punct de vedere morfologic, țesutul restenotic în BMS este considerat ca fiind stabil, având ca substrat aglomerarea de celule musculare netede (*SMC-Smooth Muscle Cell*) [5]. Cu toate acestea, studiile clinice și patologice au demonstrat că neointima unui BMS poate prezenta schimbări aterosclerotice (așa numita neoateroscleroză), ceea ce duce la restenoză sau tromboză tardivă a unui BMS (5-7 ani după implantare). Publicații recente au raportat că acest fenomen este constat și în DES, apărând mai devreme decât în BMS (neoateroscleroza accelerată). Restenoza unui DES prezintă un fenomen heterogen temporar, se poate produce > 1 an după implantarea DES-ului (ca exemplu, fenomenul de "catch-up" târziu) sau, ocazional, se poate prezenta până la un an de la implantare, prezentând diverse aspecte morfologice ale țesutului restenozat, care au influență asupra prezentării clinice ale pacientului (*Angina vs ACS*) [6, 7, 8]. Tomografia prin coerență optică (OCT) este o metodă inovativă, care permite analiza peretelui vasului la nivel de microstructură *in vivo*, în timp real. Această tehnologie folosește raze infraroșii (laser) cu o lungime de undă de 1300 nm, pentru a scana peretele vascular și a realiza imagini de o înaltă rezoluție axială (de domeniul de 10-20 microni) [9, 10]. Deoarece permite o analiză subtilă a morfologiei leziunilor și realizează măsurări precise, OCT creează condiții ideale pentru măsurarea proprietăților țesutului vascular. Rapoartele privind operativitatea OCT au arătat că diferite aspecte optice ale țesutului restenotic prezintă un grad înalt de corelație cu datele obținute din analiza morfologică a țesutului, obținute cu ajutorul metodelor histopatologice. Potrivit acestor rapoarte, aspectul morfologic, mecanismul și timpul necesar formării țesutului restenotic în DES ar putea fi diferite de cele observate în BMS [11, 12, 13]. Pentru a obține o perspectivă asupra mecanismelor, aspectelor morfologice, cât și a evoluției în timp a ISR, am evaluat caracteristicile leziunilor restenotice în DES de primă generație (Cypher™, Cordis Corp, Miami Lakes, FL, US; Taxus™, Boston Scientific, Natick, MA, USA) și DES de generația actuală (Resolute Integrity™, Medtronic, Minneapolis, MN, USA; PROMUS Element™, Boston Scientific, Natick, MA, USA; Xience Prime/Xpedition stent™, Abbott Vascular, IL) Nobori, utilizând tomografia de coerență optică OCT (C7 System/Dragonfly Catheter, St Jude Medical, Westford, MA).

Material și metode

Criterii de incluziune

Pentru includerea în protocolul nostru de studiu, pacienții trebuiau să îndeplinească următoarele criterii: 1) diagnosticul de angină pectorală stabilă definit conform criteriilor Asociației Canadiene Cardiovasculare (CCS clasa I, II, III, IV) sau instabilă (Braunwald I-II-III-IV); 2) pacienții candidați la o procedură de revascularizare percutană repetată; 3) pacienții care au fost tratați în antecedente (> 4 săptămâni) cu implant

de stent coronarian (DES de primă generație și generația actuală); 4) prezența la examenul coronarografic a unei leziuni în stent cu îngustarea lumenului vascular de > 50%.

Angiografia coronariană cantitativă (QCA)

Calculul QCA a fost realizat online de către un expert calificat, folosind software-ul de măsurare cardiovascular dedicat (QAngio XA 7,1 Medis Medical Imaging System, Leiden, The Netherlands), selectând imaginea coronarografică în faza end-diastolică. S-a avut grijă pentru a selecta proiecții și cadre cu minimă suprapunere a vaselor coronariene, analizând cel mai înalt grad de stenoză. După calibrare au fost calculate: lungimea leziunii coronariene, segmentele de referință proximale și distale, diametrul luminal minim (MLD) și procentul de stenoză coronariană (% DS). Pe baza rezultatelor QCA, leziunile au fost clasificate ca: 1-restenoza focală (< 10 mm în lungime), sau 2-restenoza difuză (> 10 mm în lungime) [19].

Analiza scansiunilor de Tomografie prin Coerență Optică

Imaginile OCT au fost achiziționate, folosind tehnica non-ocluzivă, utilizând sonda specifică Dragonfly Imaging cateter (*LightLab Imaging Inc, Westford, MA, Statele Unite ale Americii*), iar coloana de sânge se evacua prin injectarea substanței de contrast nediluate (*Visipaque™; GE Healthcare, Amersham, UK*), folosind un injector MEDRAD (*MEDRAD Inc, Warrendale, PA, Statele Unite ale Americii*). Sonda a fost calibrată în mod adecvat înainte de achiziția imaginii, și introdusă distal de segmentul de restenoză intrastent. Analiza cantitativă și calitativă a imaginilor achiziționate a fost efectuată off-line de către doi medici cu experiență, folosind software-ul comercial (*LightLab; St. Jude, Minneapolis, MN, Statele Unite ale Americii*). Secțiunile OCT au fost analizate fiecare 1 mm de distanță intrastent, măsurând aria de secțiune transversală a stentului (*CSA-cross sectional area*), hiperplazia neointimală (*NIH-Neointimal Hyperplasia*) și aria de secțiune transversală a lumenului coronarian residual (*MLA*). Pentru analiza morfologică a țesutului restenozat am folosit următoarele criterii OCT, certificate din punct de vedere a analizei histopatologice: 1) neointima morfologic omogenă; 2) neointima morfologic heterogenă; și 3) neo-ateroscleroza. Neointima morfologic omogenă din punct de vedere optic, a fost definit țesutul care prezenta proprietăți optice uniforme și nicio variație în intensitatea semnalului luminos. Neointima morfologic heterogenă a fost definită ca țesut care se evidenția ca un semnal optic heterogen cu insule de semnal amplificat sau atenuat. Neointima morfologic heterogenă a fost ulterior sub-clasificată în: model optic stratificat (*layered*) – în straturi concentrice cu diferite graduri de atenuare a semnalului optic; model optic pătat (*patchy*) – regiuni neregulate și hiper-ecoluente; model optic pestriț (*speckled*) – regiuni neregulate punctiforme de semnal ecou-luculent uniform distribuite în țesut. Am definit neoateroscleroza țesutului restenotic cu proprietăți optice compatibile cu cel puțin una dintre următoarele caracteristici: prezența unui important conținut lipidic în țesutul restenotic (caracterizat prin semnal optic atenuat cu margini difuze); calciu (semnal optic atenuat cu margini

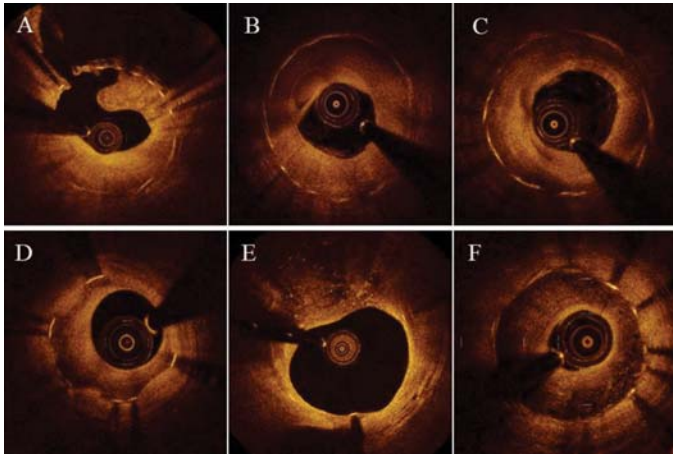


Fig. 1. Aspectele morfologice de restenoză intrastent identificate cu ajutorul OCT.

Legenda: A – aspect de hiperplazie intimală omogen; B – aspect de neoateroscleroză cu prezența plăcii aterosclerotice în țesutul de restenoză (orele 9-11); C – aspect de neointimă heterogenă tip pătat; D – aspect de neointimă heterogenă tip stratificat; E – aspect de neointimă heterogenă tip pestriț (orele 9-13); F – aspect de neointimă de tip combinat-stratificat și pătat.

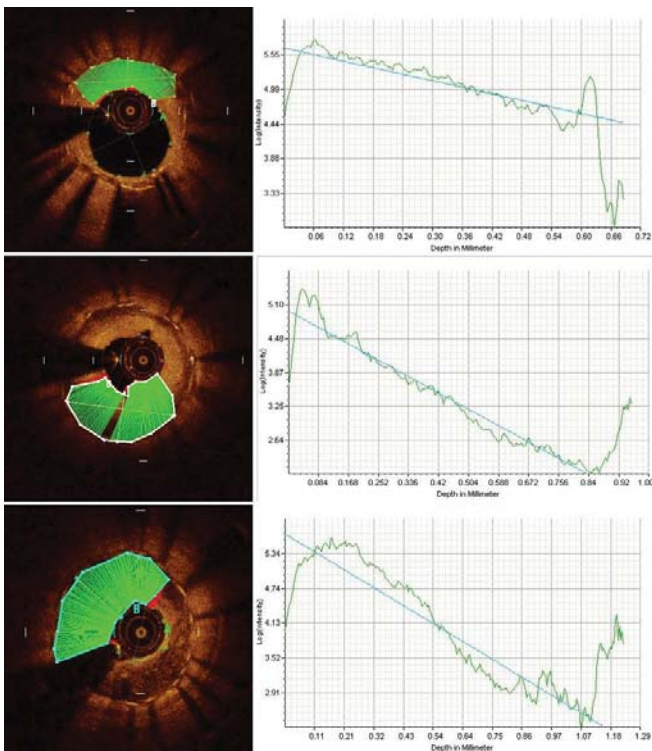


Fig. 2. Analiza semnalului optic în termen de atenuare, difuziune și absorbție cu ajutorul programului special.

Legenda: A – hiperplazia intimală de tip omogen prezintă pierderea graduală a semnalului optic în termen de absorbție și difuzie; B – hiperplazia intimală heterogenă de tip stratificat prezintă atenuarea semnalului optic din cauza absorbției semnalului optic de către acumulările de lipide în țesutul restenozat; C – hiperplazia intimală heterogenă de tip pestriț prezintă atenuarea semnalului luminos din cauza difuziei semnalului optic, cauzat de orientamentul dezorganizat al celulelor musculare netede.

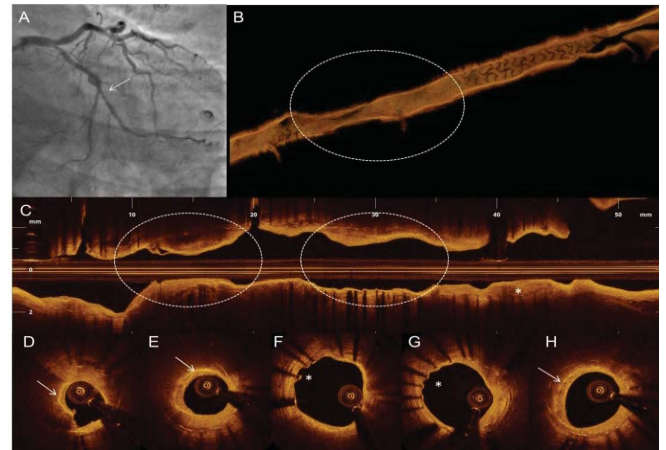


Fig. 3. Exemplu de un caz clinic de restenoză intrastent.

Legenda: A – examen coronarografic la pacienții cu sindrom coronarian acut din cauza restenozei tardive în stent de generație actuală, aplicat în artera circumflexă; B și C – reconstrucția tridimensională și longitudinală OCT evidențiază segmente de restenoză; D, E, H – analiza secțiunilor transversale evidențiază țesutul restenotic cu evidență de neoateroscleroză, acumulări de lipide (semnal atenuat) și macrofage (linii cu semnal intens).

bine delimitate); placa vulnerabilă (semnal optic atenuat cu margini difuze și evidența de ruptură a plăcii neoaterosclerotice) (fig. 1) [14, 15].

De asemenea, a fost analizat semnalul optic în termen de atenuare, difuzie și absorbție, folosind un program special (fig. 2).

Analiza statistică

Variabilele clinice și procedurale, precum și înregistrările angiografice și OCT au fost introduse în mod prospectiv într-o bază de date și, ulterior, analizate de către un Centru Special de Coordonare (Spitalul Papa Giovanni XXIII), care nu a avut cunoștința de tipul stentului, care a cauzat restenoza. Analiza statistică s-a efectuat cu ajutorul programului statistic SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, North Carolina). Variabilele categorice sunt exprimate ca numere (procente) și compararea între grupuri a fost efectuată cu testul χ^2 sau testul Fisher exact test. Variabilele continue sunt exprimate ca medie \pm standard de deviere și comparate, folosind T-test Independent. Caracteristicile ISR au fost comparate sub aspect temporar (grupul 1 cu ISR < 1 an, grupul 2 ISR > 1 an). Generațiile de DES au fost comparate între ele.

Rezultate

Pacienți și stenturi. În perioada august 2012 – iulie 2014, prin colaborarea între Spitalul Papa Giovanni XXIII di Bergamo (Bergamo, Italia) și Institutul de Cardiologie din Moldova (Chișinău, Republica Moldova) au fost identificați 39 de pacienți cu angină recurentă sau ACS, cauzată de restenoza intrastent, care îndeplineau criteriile de selecție. Studiul curent a încadrat 66 de stenturi, dintre care 44 de stenturi (28 de pacienți) prezentau prima generație DES: (19-Cypher™ și 23 – Taxus®). 22 de stenturi (11 pacienți) erau de a doua

Tabelul 1

Caracteristicile clinice ale pacienților

	DES primă generație		p	DES de generație actuală		p
	< 1 an	> 1 an		< 1 an	> 1 an	
Masculin	8 (88,9)	18 (85,7)	0,81	6 (85,7)	4(100)	0,43
Vârsta	63,9 ± 7,1	69,7 ± 8,7	0,09	67,9 ± 17,3	61,7 ± 7,4	0,52
Diabet zaharat	3 (33,3)	7 (33,3)	N/A	5(71,4)	1(25,0)	0,14
Hipertensiune	7 (77,8)	17 (81,0)	0,84	6 (85,7)	3 (75,0)	0,66
Hipercolesterolemie	9 (100,0)	18 (85,7)	0,23	7 (100,0)	N/A	N/A
CAD	3 (33,3)	8 (38,1)	0,80	4 (57,1)	2 (50,0)	0,82
Fumător	6 (66,7)	11 (52,4)	0,69	4 (57,1)	3 (75,0)	0,55
CABG	3 (33,3)	10(47,6)	0,69	5 (71,4)	1(50,0)	0,48
IM în anamneză	6 (75,0)	14 (73,7)	0,94	2 (33,3)	4(100,0)	0,04
Indicație la PCI						
Angină stabilă	3 (33,3)	11 (52,4)	0,34	4 (57,1)	2 (50,0)	0,82
Sindrom coronarian acut	0 (0,0)	4 (19,0)	0,16	0 (0,0)	0 (0,0)	N/A
FU	6 (66,7)	6 (28,6)	0,10	3 (42,9)	2 (50,0)	0,82
Vasul ISR						
LM	3 (33,3)	8 (38,1)	0,80	2 (28,6)	2 (50,0)	0,48
LAD	4 (44,4)	7 (33,3)	0,69	3 (42,9)	1 (25,0)	0,17
LCX	2 (22,2)	2 (9,5)	0,35	2 (28,6)	1 (25,0)	0,89
RCA	2(22,2)	4 (19,0)	0,34	6 (85,8))	3 (0,0)	0,13
Terapie						
Statină	8 (88,9)	17 (85,0)	0,78	5 (71,4)	2 (66,7)	0,88
ACE inhibitor	1 (11,1)	12 (60,0)	0,01	5 (71,4)	0 (0,0)	0,04
Aspirină	9 (100,0)	20 (100,0)	N/A	7 (100,0)	3 (100,0)	N/A

generație (9 Xience™+2 Promus™), 10 ZES (Resolute™) și un stent Nobori™. Toți pacienții studiați s-au prezentat pentru recidiva sindromului anginos: 35 de pacienți cu angină stabilă (CF III-IV) și 4 pacienți cu angină instabilă (Braunwald cl. III sau infarct miocardic). Toți pacienții au fost tratați prin intervenție repetată: angioplastia cu balon medicat (DIOR coronary angioplasty balloon-Eurocor GmbH, Bonn, Germany) s-a folosit la 18 pacienți, implantarea de DES în stent restenozat – 20 de cazuri, iar 3 pacienți au fost tratați cu ajutorul *by-pass*-ului aorto-coronarian (CABG-Coronary Artery By-Pass Grafting). Caracteristicile clinice ale pacienților sunt prezentate în tabelul 1.

În dependență de caracteristicile clinice bazale la timpul implantului de stent nu au existat diferențe majore între cele două grupuri, cu excepția unei prevalențe mai mari de infarct miocardic anterior în interiorul grupului cu stent de generație actuală în ceea ce privește restenoza precoce și cea tardivă ($p = 0,04$). În termen de restenoza precoce artera circumflexă s-a prezentat mai des ca vas, care necesita tratament repetat în grupul cu stent de primă generație, comparativ cu grupul

de stent de generație actuală. ($p = 0,04$). Toți pacienții administrau tratament cu Aspirină.

Analiza datelor de coronarografie

Analiza QCA este prezentată în tabelul 2. Stenturile medicate de primă generație au prezentat mai frecvent restenoză focală, iar în grupul de stent de generație actuală aspectul difuz de restenoză era mai frecventă în cazurile de restenoză precoce ($p = 0,02$). Datele cantitative s-au prezentat similare în grupul de stent de primă generație, când au fost comparate în termen de restenoza precoce și tardivă. În grupul de stenturi de generație actuală, restenoza precoce avea un aspect difuz, comparativ cu restenoza tardivă, un diametru minim de arie (MLA) și un procent de stenoză (% stenoză) mai accentuate ($p < 0,01$). Tipurile de stent care au falimentat (ex Cypher vs Taxus) în interiorul unei generații nu au prezentat diferențe statistice. Perioada liberă de restenoza a fost comparabilă între generații în cazul restenozei precoce. În caz de restenoza tardivă, această perioadă a fost mai lungă pentru stenturile de primă generație (37 de luni DES de primă generație vs 15,8 luni DES de generație actuală, $p < 0,001$).

Tabelul 2

Datele de angiografie și calcule QCA

Variabile	Stent de primă generație		P	Stent de generație actuală		P
	< 1 an	1 an		< 1 an	1 an	
Patern de restenoză						
Focal	11 (84,6)	20 (64,5)	0,28	5 (35,7)	7 (87,5)	0,02
Difuz	2 (15,4)	11 (35,5)	0,28	9 (64,3)	1 (12,5)	0,02
QCA						
Lungimea leziunii	7,7 ± 4,5	12,2 ± 8,8	0,09	18,7 ± 14,4	7,5 ± 3,6	0,01
MLD	1,1 ± 0,6	1,0 ± 0,5	0,75	0,6 ± 0,5	1,6 ± 1,2	< 0,01
% stenoază	64,0 ± 16,2	67,0 ± 15,7	0,63	71,7 ± 17,2	54,4 ± 7,1	< 0,01
Tipul de stent						
Cypher™	5 (38,5)	16 (51,6)				N/A
Taxus™	8 (61,5)	15 (48,4)				N/A
Xience™				3 (21,4)	6 (75,0)	N/A
Promus™				2 (14,3)	0 (0,0)	N/A
Resolute™				8 (57,1)	2 (25,0)	N/A
Nobori™				1 (7,1)	0 (0,0)	N/A
Timpul de la implantare	10,0 ± 2,8	37,0 ± 18,3	< 0,01	8,1 ± 3,1	15,8 ± 4,0	< 0,01

Tabelul 3

Analiza cantitativă OCT

Variabile	Stent de primă generație		P	Stent de generație actuală		P
	< 1 an	> 1 an		< 1 an	> 1 an	
CSA media stent, mm ²	5,0 ± 2,1	5,1 ± 1,7	0,88	8,4 ± 3,2	4,3 ± 1,1	< 0,01
CSA media lumen, mm ²	1,6 ± 1,3	1,6 ± 1,2	0,86	3,2 ± 1,3	1,9 ± 0,5	< 0,01
NIH CSA, mm ²	3,5 ± 1,0	3,5 ± 0,9	0,91	5,2 ± 2,4	2,4 ± 0,7	< 0,01
NIH area %	72,1 ± 12,1	71,4 ± 14,9	0,79	61,1 ± 8,4	55,5 ± 5,2	< 0,01
Lungimea segm. de stenoază, mm	7,1 ± 11,9	5,3 ± 6,7	0,62	6,4 ± 6,4	4,7 ± 2,5	0,50

Analiza OCT

Analiza cantitativă (tab. 3) nu a găsit diferențe de lungime a leziunii restenotice între stenturile de prima și a doua generație. Valorile de arie de secțiune transversală a țesutului restenotic au fost mai joase în grupul de stent de generația actuală atât în cazul de restenoză precoce, cât și al celei tardive ($p < 0,01$).

Analiza calitativă a țesutului a decelat un aspect omogen, care era predominant atât în restenoza precoce cât și în cea tardivă a stenturilor de primă generație (tab. 4).

Aspectele de heterogenitate au fost mai puțin evidente în restenoza precoce și tot mai pregnante – în restenoza tardivă a stenturilor de primă generație. În stenturile de generație actuală aspectul de heterogenitate era prevalent atât în restenoza precoce, cât și în cea tardivă. Deoarece aspectul omogen tindea să dispară cu timpul, aspectele de neoateroscleroză au urmat o creștere importantă în faza de restenoză tardivă. Pe când aspectul omogen tindea să dispară cu timpul, aspectele

de neoateroscleroză au înregistrat o creștere importantă în faza de restenoză tardivă. Prevalența plăcilor vulnerabile în țesutul restenotic a fost similară între cele două generații de stent medicat. În timpul investigațiilor intravasculare și a tratamentului repetat nu s-au notificat complicații intraprocedurale și postprocedurale. Toți pacienții au fost externați vii din spital după o perioadă medie de spitalizare de $5,7 \pm 2,3$ zile cu ameliorarea simptomatologiei anginoase (CCS, CF II – 76%, CF I – 24%).

Discuții

ISR continuă să prezinte principalul motiv al eșecului de durată a implantării stentului și predictorii par a fi, în mare parte, comuni pentru întregul spectru de stenturi utilizate. În pofida factorilor declanșatori comuni, mai multe date sugerează o compoziție diferită a țesutului restenozat dintre stenturile metalice și cele medicate [7-9]. Studiul nostru, concentrându-se la evaluarea răspunsului vascular după implantarea

Tabelul 4

Analiza calitativă OCT

Variabile	Stent de primă generație		P	Stent de generație actuală		P
	< 1 an	> 1 an		< 1 an	> 1 an	
Omogenă	132 (42,7)	515 (70,8)	< 0,01	155 (31,2)	32 (22,1)	< 0,01
Heterogenă	117 (37,9)	161 (22,2)	< 0,01	283 (57,1)	85 (58,6)	< 0,01
Stratificat	9 (7,7)	69 (42,9)		40 (14,1)	26 (31,7)	
Pătat	87 (75)	74 (46,0)		211 (7,5)	50 (58,8)	
Pestriț	21 (18,1)	18 (11,2)	< 0,01	32 (11,3)	9 (10,6)	0,50
Neoateroscleroză	60 (19,4)	51 (7,0)	< 0,01	58 (11,7)	28 (19,3)	0,01
Lipide	59 (19,1)	34 (4,7)	< 0,01	49 (9,9)	26 (17,9)	0,01
Calciu	20 (6,5)	10 (1,4)	< 0,01	7 (1,4)	4 (2,8)	0,28
TCFA	3 (1,0)	7 (1,0)	0,99	2 (0,4)	0 (0,0)	0,98
Macrofage	3 (1,0)	6 (0,8)	0,73	3 (0,6)	0 (0,0)	0,35
Microvase	8 (2,6)	2 (0,3)	< 0,01	1 (0,2)	1(0,7)	0,35
Semnal atenuat	-700 ± 280	1100 ± 430	< 0,01	1780 ± 800	2100 ± 670	< 0,01
Semnal difuz	230 ± 75	730 ± 175	< 0,01	1100 ± 280	1400 ± 230	0,01

stentului, cu ajutorul tehnicii de vizualizare intracoronariană, descrie un model diferit de răspuns restenotic vascular între cele două generații de DES. Am comparat fenomenul de restenoză în două momente de timp diferite, înainte și după 1 an. Mai mult decât atât, am analizat răspunsul vascular în internul fiecărei generații de stent, în dependență de timpul liber de restenoză.

Comparație între prima și a doua generație de DES

În studiul actual, am demonstrat că ISR în DES de primă generație a avut ca principal model aspectul optic omogen înainte și după un an, în timp ce DES de generație actuală, caracteristicile optice sugestive pentru țesut de compoziție heterogenică au fost predominante. În ambele generații, procentul de secțiuni transversale care prezentau caracteristici de neoateroscleroză, au rămas sub 20% cu o prevalență absolută similară între generații. Prevalența plăcilor vulnerabile în țesutul restenotic s-a prezentat, de asemenea, similară între cele două generații de stent medicat. ISR este considerată a fi o manifestare a vindecării anormale a vasului ca răspuns la implantarea stentului coronarian [7, 23]. Deși există puține date, bazate pe examenul histopatologic sau OCT, răspunsul de tip omogen este considerat a fi mai frecvent expresia de proliferare necontrolată a celulelor SMC, tipic pentru stentul metalic. Modelul heterogen, uneori asemănător leziunii neoaterosclerotice, pare a fi mai des un răspuns vascular tardiv la implantarea DES [19]. Au fost observate diferite tipuri DES, raportate anterior [7-9]. Procesele care stau la bază, par să aibă o geneză multifactorială, deși mecanismele exacte rămân necunoscute. Dovezi experimentale sugerează

că neoateroscleroza este asociată de vindecarea întârziată a vasului, cauzată de leziunea celulelor musculare netede și celor endoteliale de către medicamentul citostatic prezent pe DES [22]. Astfel de variabile cum ar fi diferite platforme de stent, grosimea platformei/stentului, durabilitatea polimerului, cinetica de eliberare a medicamentului precum și tehnicile de optimizare a implantului cu dilatări de presiune înaltă post-implant, ar putea explica diferențele morfologice ISR, observate în diferite tipuri de DES. La momentul actual, nu există un consens în ceea ce privește interpretarea diferitor caracteristici optice ale ISR relative a substratului histopatologic respectiv. Studii anterioare au demonstrat că țesutul restenotic cu aspect optic pestriț corespunde țesutului neointimal cu component mixomatos, care conține matrice extracelulară bogată în proteoglicani. Stenturile medicate suprimă răspunsul imunologic al peretelui arterial tratat. Prin urmare, întârzierea vindecării arterei, incluzând înlocuirea matricei extracelulare cu celule musculare netede sau collagen, ar putea contribui la formarea aspectului pestriț. Aspectul optic stratificat poate fi generat de o diferență în orientarea cât și densitatea celulelor musculare netede în interiorul țesutului restenotic, cu strat mai compact și concentric în vecinătatea lumenului și o densitate redusă și orientare longitudinală înspre exteriorul vasului. Diverse studii clinice au arătat că DES-urile de generație actuală au eficacitate și profilul de siguranță superior DES-urilor de primă generație [13-15, 17]. Este important că relația dintre aspectul morfologic al ISR, determinat prin OCT și *outcome* clinic nu este încă bine stabilită. Susținem ipoteza că distincția dihotomică în aspectul

optic omogen și heterogen al țesutului restenotic la momentul actual nu are o corelație clinică *di per se*. Nu există date cu privire la riscul de evenimente clinice corelate cu un aspect optic particular, cum ar fi cel omogen, pestriț sau stratificat. În ceea ce privește neoateroscleroza, un aspect important prezent în analiza noastră, o corelație între instabilitatea plăcii și evenimentele clinice este descrisă în literatura de specialitate la nivel de ipoteză. De exemplu, Kang și coaut. indică faptul că fenomenul de neoateroscleroză a fost identificat frecvent la pacienții cu complicații de restenoză după implantarea DES, inclusiv prezentând aspecte de plăci vulnerabile în internul țesutului nou format. Pentru că ultima caracteristică a fost mult mai frecventă la pacienții cu angină pectorală instabilă, ei au susținut conceptul că aceste constatări au fost similare cu plăcile vulnerabile în arterele coronare native, asociate cu un aspect clinic de instabilitate a anginei [25]. Interesant, în studiul nostru, plăcile vulnerabile în internul țesutului restenozat au fost prezente rar, deși numeric într-o proporție mai mică în DES-urile de generație actuală, prevalența lor a fost similară în cele două generații DES, cât și în analiza grupurilor în dependență de prezentarea restenozei sub aspect temporar. Rolul prognostic al neoaterosclerozei în ISR are nevoie de investigații suplimentare. Analiza cantitativă efectuată atât prin QCA cât și prin OCT a leziunilor, a demonstrat caracteristici mai puțin severe în generația actuală de DES, conceptual în conformitate cu incidența mai mică de restenoză și numărul mai mic de revascularizări repetate, prezentate de studiile clinice postmarketing ale acestor stenturi.

Comparația restenozei în interiorul ambelor generații de DES sub aspect temporar

În acest studiu, lipsesc datele de analiză serială cu OCT al țesutului restenotic, prin urmare, interpretarea aspectelor optice ale țesutului restenozat în dependență de timpul de la implantare are un aspect de generare a ipotezei. Am constatat că, în DES de prima generație, aspectul omogen a fost prezent atât în restenozele ce s-au dezvoltat în primul an de la implantare cât și în cele tardive. De altfel, aspectele optice cu prezentare heterogenă păreau să scadă în prevalență pe parcursul timpului. Modelul heterogen a avut o prevalență mai mare în generația actuală de DES, atât în grupul cu prezentare precoce (< 1 an) cât și în cel cu prezentare tardivă. Pe când fenomenul de neoateroscleroză a prezentat o frecvență mai semnificativă în faza tardivă a restenozei DES de generația actuală. Mai multe studii de histopatologie au confirmat că caracteristicile neoaterosclerotice pot fi găsite în leziunile restenotice, având o corelație directă cu timpul trecut de la implantarea stentului. Habara și colab. au observat că schimbările neoaterosclerotice în restenoză sunt mai frecvente în cadrul DES decât BMS (31% vs 16%; $p < 0,001$). În grupul DES, neoateroscleroza se manifestă mai devreme (420 de zile față de 2160 de zile, respectiv, $p < 0,001$). Aspectul optic heterogen, precum și neoateroscleroza, ar putea reprezenta întârzierea vindecării în segmentul stentat, corelată cu răspunsul individual la fiecare platformă de stent utilizat. După cum s-a discutat mai sus, această inflamație aparent mai susținută în cadrul generațiilor

ilore actuale de DES nu se poate aplica, ca regulă generală de vindecare insuficientă, la toate DES-urile de generație actuală folosite, nici nu poate fi corelată direct cu un prognostic mai rău. Deși unii autori au arătat că în BMS, pe termen lung probabilitatea modificărilor neoaterosclerotice crește, aceeași ipoteză nu poate fi direct aplicată la DES. În DES fenomenul neoaterosclerotic pare să înceapă mai devreme, dar nu există date cu privire la evoluția lui în timp.

Limitări

Studiul nostru prezintă limitări corelate cu natura registrului, selecționarea pacienților, care prezentau doar restenoză angiografic semnificativă, și lipsa unei analize mari de serie. Mai mult decât atât, ținem să subliniem că OCT are limite intrinseci în analiza calitativă a țesutului restenotic și diferențierea unor aspecte optice a fost dificilă. Descoperirile OCT nu au fost confirmate prin analiza histopatologică (fig. 3).

Concluzii

Datele noastre sugerează că fenomenul de restenoză în generația actuală de DES are un aspect morforlogic și comportamental în timp diferit de restenoza, produsă în prima generație de DES. Viitoarele studii prospective ar trebui să evalueze relația dintre diferitele aspecte morfologice ale țesutului restenotic cu eventuale evenimente clinice.

Rezultatele studiului ce țin de utilizarea OCT și IVUS au fost obținute în cadrul proiectului de colaborare dintre Laboratorul de Cateterism Cardiac al IMSP Institutul de Cardiologie din Republica Moldova și Departamentul de Patologie Cardiovasculară al Spitalului "Ospedale Papa Giovanni XXIII" din or. Bergamo (Italia).

Referințe bibliografice

- Dangas GD, Claessen BE, Caixeta A, et al. In-stent restenosis in the drug-eluting stent era. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1897-907.
- Morice MC, Colombo A, Meier B, et al. Sirolimus – vs paclitaxel-eluting stents in de novo coronary artery lesions: the REALITY trial: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2006;295:895-904.
- Yabushita H, Bouma BE, Houser SL, et al. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation*. 2002;106:1640-5.
- Brezinski ME, Tearney GJ, Bouma BE, et al. Optical coherence tomography for optical biopsy. Properties and demonstration of vascular pathology. *Circulation*. 1996;93:1206-13.
- Prati F, Regar E, Mintz GS, et al. Expert review document on methodology, terminology, and clinical applications of optical coherence tomography: physical principles, methodology of image acquisition, and clinical application for assessment of coronary arteries and atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2010;31:401-15.
- Gonzalo N, Serruys PW, Okamura T, et al. Optical coherence tomography patterns of stent restenosis. *Am Heart J*. 2009;158:284-93.
- Bossi I, Klersy C, Black AJ, et al. In-stent restenosis: long-term outcome and predictors of subsequent target lesion revascularization after repeat balloon angioplasty. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:1569-76.
- Nakazawa G, Otsuka F, Nakano M, et al. The pathology of neoatherosclerosis in human coronary implants bare-metal and drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1314-22.
- Habara M, Terashima M, Nasu K, et al. Difference of tissue characteristics between early and very late restenosis lesions after bare-metal stent implantation: an optical coherence tomography study. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4:232-8.
- Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, et al. The thin-cap fibroatheroma: a

- type of vulnerable plaque: the major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol*. 2001;16:285-92.
11. Falk E, Nakano M, Bentzon JF, et al. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. *Eur Heart J*. 2013;34:719-28.
 12. Saia F, Schaar J, Regar E, et al. Clinical imaging of the vulnerable plaque in the coronary arteries: new intracoronary diagnostic methods. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2006;7:21-8.
 13. Leon MB, Nikolsky E, Cutlip DE, et al. Improved late clinical safety with zotarolimus eluting stents compared with paclitaxel-eluting stents in patients with de novo coronary lesions: 3-year follow-up from the ENDEAVOR IV (Randomized Comparison of Zotarolimus- and Paclitaxel-Eluting Stents in Patients With Coronary Artery Disease) trial. *JACC Cardiovasc Interv*. 2010;3:1043-50.
 14. Stefanini GG, Kalesan B, Serruys PW, et al. Long-term clinical outcomes of biodegradable polymer biolimus-eluting stents versus durable polymer sirolimus-eluting stents in patients with coronary artery disease (LEADERS): 4 year follow-up of a randomised non-inferiority trial. *Lancet*. 2011;378:1940-8.
 15. Serruys PW, Silber S, Garg S, et al. Comparison of zotarolimus-eluting and everolimus-eluting coronary stents. *N Engl J Med*. 2010;363:136-46.
 16. Stefanini GG, Serruys PW, Silber S, et al. The impact of patient and lesion complexity on clinical and angiographic outcomes after revascularization with zotarolimus- and everolimus-eluting stents: a substudy of the RESOLUTE All Comers Trial (a randomized comparison of a zotarolimus-eluting stent with an everolimus-eluting stent for percutaneous coronary intervention). *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:2221-32.
 17. Mehran R, Dangas G, Abizaid AS, et al. Angiographic patterns of in-stent restenosis: classification and implications for long-term outcome. *Circulation*. 1999;100:1872-8.
 18. Goto K, Takebayashi H, Kihara Y, et al. Appearance of neointima according to stent type and restenotic phase: analysis by optical coherence tomography. *EuroIntervention*. 2013;9:601-7.
 19. Habara M, Terashima M, Nasu K, et al. Morphological differences of tissue characteristics between early, late, and very late restenosis lesions after first generation drug-eluting stent implantation: an optical coherence tomography study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2013;14:276-84.
 20. Takano M, Yamamoto M, Inami S, et al. Appearance of lipid-laden intima and neovascularization after implantation of bare-metal stents extended late-phase observation by intracoronary optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2009;55:26-32.
 21. Cassese S, Byrne RA, Tada T, et al. Incidence and predictors of restenosis after coronary stenting in 10 004 patients with surveillance angiography. *Heart*. 2014;100:153-9.
 22. Chen MS, John JM, Chew DP, et al. Bare metal stent restenosis is not a benign clinical entity. *Am Heart J*. 2006;151:1260-4.
 23. Kang SJ, Mintz GS, Akasaka T, et al. Optical coherence tomographic analysis of in-stent neointimal hyperplasia after drug-eluting stent implantation. *Circulation*. 2011;123:2954-63.
 24. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2054-61.
 25. Otsuka F, Nakano M, Ladich E, et al. Pathologic etiologies of late and very late stent thrombosis following first-generation drug-eluting stent placement. *Thrombosis*. 2012;60:8593.

Optimisation of ultrasound-assisted extraction method of biologically active compounds from *Cynara scolymus* L.

*C. Ciobanu¹, E. Diug¹, T. Calalb¹, I. Tomuta², M. Achim²

¹Drug Technology Department and Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

²Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics, Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Romania

*Corresponding author: cristina.ciobanu@usmf.md. Manuscript received March 02, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: Traditionally artichoke has been cultivated as a vegetable for human food in some Mediterranean regions and has been used in folk medicine since Roman times. Biological compounds of artichoke are mostly concentrated in leaves which contain high levels of caffeoylquinic acid derivatives. Obvious interest in this plant with hepatoprotective and cholesterol lowering qualities persuaded artichoke's introduction in the collection of the Centre for the Cultivation of Medicinal Plants at the Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy in 2002. This study is focused on optimized ultrasound-assisted extraction parameters of polyphenols and flavonoids from artichoke leaves without the risk of thermal degradation for their main phytoconstituents.

Material and methods: In this study we have investigated the influence of some variables on extraction of polyphenols and flavonoids compounds from artichoke leaves based on ultrasound-assisted method. For this purpose an experimental design with 5 variables and 2 levels was used. The studied variables were: concentration of extraction solvent, temperature, extraction time and also the influence of parameters of ultrasonic processor pulse and amplitude; the total polyphenolic and flavonoid content were dependent variables.

Results: The results of composite design indicated that the optimal extraction parameters were as follows: concentration of ethanol solution 70%, temperature 80°C, ultrasound time 30 minutes, with ultrasonic power output and pulse mode factor 100%.

Conclusions: The influence of various parameters on the extraction of total flavonoid and polyphenolic content from artichoke's leaves was studied. The ethanol concentration, the temperature and the time were found to be the most effective in extracting phenolic compounds with ultrasound-assisted method respectively.

Key words: Artichoke leaf, ultrasound-assisted extraction, polyphenols, flavonoids content.

Optimizarea metodei de extracție cu ultrasunet a principiilor active din specia *Cynara scolymus* L.

Introducere

Astăzi putem constata că plantele sunt tot mai frecvent obiecte de investigații în instituțiile de cercetare științifică în vederea utilizării lor în scop terapeutic. Valorificarea unor noi surse de materie primă vegetală pentru producerea preparatelor medicamentoase în acest sens reprezintă o necesitate.

Un grup important de constituenți chimici ce se conțin în plante și formează o mare clasă de metaboliți secundari sunt compușii fenolici. Acest grup neomogen de compuși organici se întâlnesc fie liberi în formă monomerică sau legați cu oze. Din compușii fenolici fac parte flavonoidele (flavonozide, flavone, antociani), acizii fenolici, derivați ai acizilor hidroxicinamici, compușii fenolici polimeri etc. [11]. Biosinteza compușilor fenolici este parte din mecanismul de apărare al plantei cu implicare în adaptarea plantelor la condițiile de stres [1], astfel, se poate constata, că condițiile aride stau la baza formării unui complex bogat de constituenți chimici.

O plantă arhicunoscută ca produs comercial dietetic sănătos și ca sursă de principii active fenolice, localizată preponderent în frunzele plantei, este specia *Cynara scolymus* L. – anghinare. Grație componentei chimice a plantei, în care dominanți sunt compușii polifenolici și flavonoidici [6, 19], care cunosc un spectru vast de acțiuni fiziologice și terapeutice [2, 7, 14, 15, 16], specia *Cynara scolymus* L. a fost introdusă în colecția Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale a Instituției Publice Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu» [3].

În prezent, în vederea sporirii conținutului de principii active în produsele extractive obținute din plante, comparativ cu metodele clasice de extracție prin macerare și percolare, tot mai des se folosesc metode cu intensificarea procesului de extracție, în special prin metoda asistată de ultrasunete [10, 12].

Ultrasunetul emis în lichide cauzează la nivel local efecte extreme: undele de intensitate mare cauzează alternări de presiune înaltă (compresie) și presiune joasă (depresie) cu rate în funcție de frecvența undelor. În timpul ciclului de presiune joasă, undele ultrasonice crează bule de vid sau goluri în lichid. Când bulele ating un volum în care acestea nu mai pot absorbi energie, apare un colaps violent în timpul ciclului de presiune înaltă. Prin aceste forțe extreme apare fenomenul de liză sonică, pereții celulelor se distrug, iar principiile active sunt extrase [18].

Extracția asistată de ultrasunet este o alternativă ieftină, simplă și eficientă, în comparație cu tehnicile de extracție convenționale, deoarece suprafața dintre faza solidă și lichidă este semnificativ mai mare, datorită dispersiei particulelor. Un alt avantaj substanțial al ultrasunetelor constă în faptul, că în procesul de extracție pot fi influențați importanți parametri cum ar fi: timpul, temperatura, presiunea și vâscozitatea, iar în calitate de extragenți, pot fi utilizați atât solvenți polari cât și nepolari [20].

Datorită faptului că condițiile metodei de extracție cu

ultrasunet diferă în dependență de natura constituenților chimici și structura histologică a produselor vegetale [8, 17, 21, 22], ne-am propus studiul de optimizare a metodei de ultrasonare în vederea extracției principiilor active din specia *Cynara scolymus* L., care pe lângă cercetarea influenței factorilor de extracție, cum ar fi temperatura de lucru, durata și concentrația solventului, să stabilească influența intervalului de puls și amplitudinea aparatului de ultrasonare.

Material și metode

Material

Frunzele de anghinare au fost colectate la început de înflorire a plantei din colecția Centrului de Cultivare a Plantelor Medicinale a Instituției Publice Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu». Frunzele au fost uscate natural, la loc ferit de lumină.

Reactivi

În procesul de cercetare au fost folosiți următorii reactivi: substanță standard – acid galic, rutozidă – producător Sigma-Aldrich; reactiv Folin-Ciocalteu – producător Sigma-Aldrich; metanol, alcool etilic – producător Titolchimica, toate substanțele chimice folosite în experimente au fost de calitate analitică.

Aparate: spectrofotometru – JASCO V-530; aparat de ultrasunet – UP100H; baie de apă cu stabilizator de temperatură – Julabo.

Planul de experiență. Pentru realizarea scopului propus, a fost folosit un model matematic pentru a determina relația dintre factorii care acționează asupra extracției și proprietăților sistemului. Astfel, se planifică și se efectuează experimentele necesare cu o maximă eficiență, folosind resurse financiare și materiale optimizate spre a atinge obiectivul cât mai sigur, cu cea mai bună precizie, respectând și restricțiile care se impun [9].

Realizarea planului de experiență, calcularea coeficienților, a parametrilor statistici și a fitării datelor pentru evaluarea rezultatelor s-a efectuat cu ajutorul programului de optimizare Modde 9.0 (Umetrics, Suedia).

Pentru studiul optimizării extracției prin metoda cu ultrasunete a principiilor active din produsul vegetal *Cynarae folia* (frunză de anghinare) s-a folosit un plan experimental fracționat rezoluție V+ cu cinci factori și două niveluri 2^{5-2} . În calitate de variabile independente de formulare au servit temperatura de lucru, durata extracției, concentrația etanolului, amplitudinea și pulsul aparatului de ultrasonare, iar conținutul totalului polifenolic și flavonoidic extras servește drept variabile dependente (tab. 1).

Obținerea extractelor. Conform matricei planului experimental au fost obținute 19 extracte, preparate în raport 1:100, prin metoda de ultrasonare (tab. 2). Pentru obținerea extractelor au fost utilizați ca extragenți apă purificată și etanol de 35% și 70%. Studiul influenței duratei procesului

de extracție a cuprins intervalul de la 5 la 30 de minute. Influența temperaturii de extracție a fost cercetată de asemenea în 3 niveluri, extractele fiind obținute la temperaturi de 25°C, 52,5°C și 80°C; intervalul de puls a cuprins 0,3–1 minut, iar amplitudinea – de la 20 la 100 kHz. Extractele obținute au fost supuse analizei cantitative prin metode spectrofotometrice de dozare.

Tabelul 1

Variabile independente și dependente de formulare

Variabile de formulare	Simbol	Niveluri		
		-1	0	+1
Temperatura de lucru, °C	X_1	25	52.5	80
Durata extracției, minute	X_2	2	17.5	30
Concentrația solventului în alcool, %	X_3	0	35	70
Intervalul de puls la ultrasunete, minute	X_4	0.3	0.65	1
Amplitudinea ultrasunete, kHz	X_5	20	60	100
Răspunsuri				
Concentrația în flavonoide, mg/ml	Y_1			
Concentrația în polifenoli, mg/ml				

Dozarea principiilor active. Totalul compușilor polifenolici a fost determinat prin metoda utilizată pe larg Singleton & Rossi cu folosirea reactivului Folin-Ciocalteu [4, 13]. Conform metodei, la 300 μ l probă de extract se adaugă 150 μ l

reactiv Folin Ciocalteu (1/10). După incubare timp de 10 min la temperatura camerei, se adaugă 1,2 ml soluție de hidrocarbonat de sodiu 10% și 1,35 ml de apă purificată. Probele au fost depozitate timp de 45 de minute în întuneric. Absorbanta a fost citită la lungimea de undă 765 nm la spectrofotometru față de soluție blanc. Măsurătorile au fost înregistrate în triplicări. Totalul compușilor polifenolici în probele extractive a fost exprimat în miligrame, echivalent acid galic *per* ml (mgGAE/ml). Pentru construirea graficului de calibrare s-a utilizat acid galic în concentrații de 0-5 μ g/ml, coeficient de corelație (R^2) – 0,999.

Determinarea cantitativă a conținutului total de flavonoide a fost realizată prin metoda descrisă în Farmacopeea Română, ed. a X-a, pentru *Cynarae folium* [5]. Conform metodei, 10 ml extract sunt diluate cu metanol într-un balon cotate de 25 ml, și incubat timp de 10 minute. Ulterior, proba este filtrată, iar primele porțiuni de filtrat sunt eliminate. La 5 ml de filtrat se adaugă 5 ml de acetat de sodiu (100 g/l) și 3 ml de clorură de aluminiu (25 g/l), totul se agită și se completează cu metanol la cota de 25 ml. După 15 minute, se determină absorbanta soluției la lungimea de undă de 430 nm, folosind ca lichid de compensare o soluție obținută în condiții similare probei. Curba de calibrare a fost preparată prin obținerea soluției de rutozidă în concentrații cuprinse de la 4 la 16 mg/ml în metanol, coeficient de corelație (R^2) – 0,999. Conținutul total de flavonoide a fost exprimat în miligram echivalent rutozidă *per* ml.

Tabelul 2

Matricea planului experimental cu răspunsuri

Exp Name	Run Order	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y_1	Y_2
N1	3	25	5	0	0.3	100	0.06058	0.29498
N2	16	80	5	0	0.3	20	0.05430	0.16173
N3	10	25	30	0	0.3	20	0.05112	0.34923
N4	6	80	30	0	0.3	100	0.11666	0.45055
N5	4	25	5	70	0.3	20	0.09467	0.26296
N6	8	80	5	70	0.3	100	0.15859	0.40125
N7	18	25	30	70	0.3	100	0.16286	0.54823
N8	1	80	30	70	0.3	20	0.19987	0.51685
N9	14	25	5	0	1	20	0.06689	0.33531
N10	15	80	5	0	1	100	0.11518	0.37800
N11	11	25	30	0	1	100	0.04672	0.08234
N12	17	80	30	0	1	20	0.10062	0.50397
N13	12	25	5	70	1	100	0.15888	0.53283
N14	9	80	5	70	1	20	0.19071	0.47985
N15	7	25	30	70	1	20	0.12650	0.33179
N16	13	80	30	70	1	100	0.27760	0.76901
N17	2	52.5	17.5	35	0.65	60	0.11263	0.33313
N18	5	52.5	17.5	35	0.65	60	0.09895	0.26394
N19	19	52.5	17.5	35	0.65	60	0.10971	0.52019

Notă: X_1 – Temperatura de lucru; X_2 – Durata extracției; X_3 – Concentrația solventului în alcool; X_4 – Intervalul de puls la ultrasunete; X_5 – Amplitudinea ultrasunetelor; Y_1 – Concentrația în flavonoide; Y_2 – Concentrația în polifenoli.

Rezultate și discuții

Fitarea datelor obținute s-a făcut, utilizând metoda *Sumei pătratelor parțiale*. Această metodă permite evaluarea mai multor răspunsuri simultan, luând în considerație covariația lor [9]. Parametrii statistici calculați pentru validarea modelului au fost R^2 , Q^2 și analiza variației. Din rezultatele obținute la fitarea datelor, prezentate în fig. 1, se observă că valorile R^2 și Q^2 se apropie de 1, astfel putem conchide, că capacitatea de prevedere a planului experimental este bună. Analiza variației (testul ANOVA) este utilizată pentru a determina dacă există sau nu diferențe semnificative și stabilește dacă variația rezultatelor se datorează într-adevăr modificării factorilor de

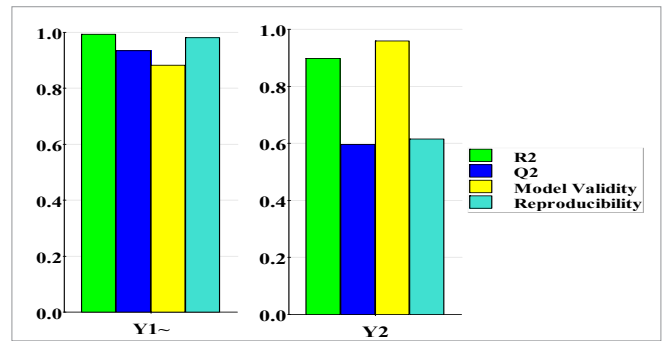


Fig. 1. Rezultatele obținute la fitarea datelor.

Y_1 – concentrația în flavonoide, Y_2 – concentrația în polifenoli.

Tabelul 3

Rezultatele testului ANOVA pentru factorul Y_1 (total flavonoide)

Y1~	DF	SS	MS (variance)	F	p	SD
Total	19	18.5472	0.976169			
Constant	1	17.7128	17.7128			
Total Corrected	18	0.834425	0.0463569			0.215307
Regression	11	0.828986	0.0753623	96.9886	0.000	0.274522
Residual	7	0.00543916	0.000777023			0.0278751
Lack of Fit (Model Error)	5	0.00367161	0.000734322	0.830893	0.626	0.0270984
Pure Error (Replicate Error)	2	0.00176755	0.000883775			0.0297284
	N = 19	Q2 =	0.934	Cond. no. =	1.09	
	DF = 7	R2 =	0.993	RSD =	0.02788	
		R2 Adj. =	0.983			

Tabelul 4

Rezultatele testului ANOVA pentru factorul Y_2 (total polifenoli)

Y2	DF	SS	MS (variance)	F	p	SD
Total	19	3.56449	0.187605			
Constant	1	3.13362	3.13362			
Total Corrected	18	0.430865	0.0239369			0.154716
Regression	9	0.386521	0.0429468	8.71641	0.002	0.207236
Residual	9	0.044344	0.00492711			0.0701934
Lack of Fit (Model Error)	7	0.0259218	0.00370311	0.402026	0.847	0.0608532
Pure Error (Replicate Error)	2	0.0184223	0.00921113			0.0959746
	N = 19	Q2 =	0.597	Cond. no. =	1.061	
	DF = 9	R2 =	0.897	RSD =	0.07019	
	Comp. = 1	R2 Adj. =	0.794			

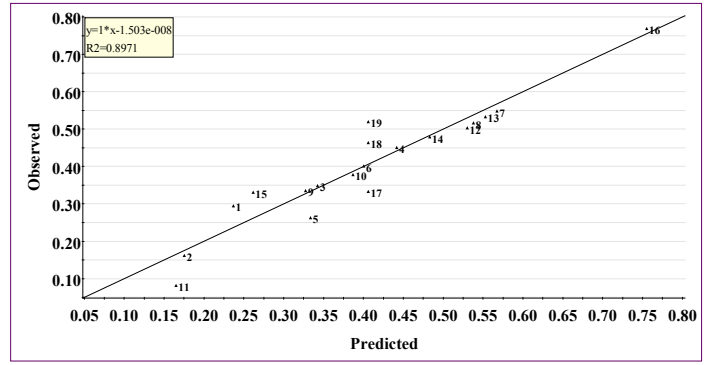
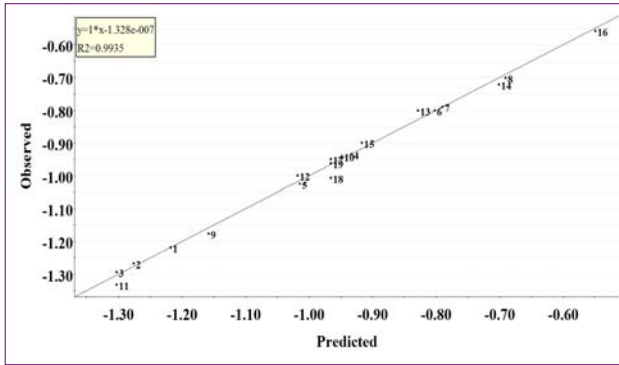


Fig. 2. Curbele reziduale ale răspunsurilor observate în funcție de răspunsurile estimate.

Y_1 – concentrația în flavonoide, Y_2 – concentrația în polifenoli.

formulare sau reprezintă o variație naturală a fenomenului. Rezultatele testului ANOVA, obținute pentru cele 2 răspunsuri, sunt prezentate în tabelele 3 și 4.

Testul Anova a demonstrat, că rezultatele sunt bune la toate răspunsurile studiate, pentru toate răspunsurile p este mai mic de 0,05 pentru model și este mai mare de 0,05 pentru eroare.

Pentru evaluarea calității fitării s-au trasat curbele de dependență ale valorilor observate în funcție de valorile esti-

mate de model (curbele reziduale ale răspunsurilor observate în funcție de răspunsurile estimate). Graficele prezentate în fig. 2 indică o aliniere satisfăcătoare a punctelor experimentale pe o dreaptă (diagonala la 45°) și o suficientă fitare a datelor experimentale cu modelul ales.

Conform datelor prezentate (Q^2+R^2 , ANOVA, reziduale), sa poate trage concluzia că toate răspunsurile se fitează satisfăcător cu modelul ales.

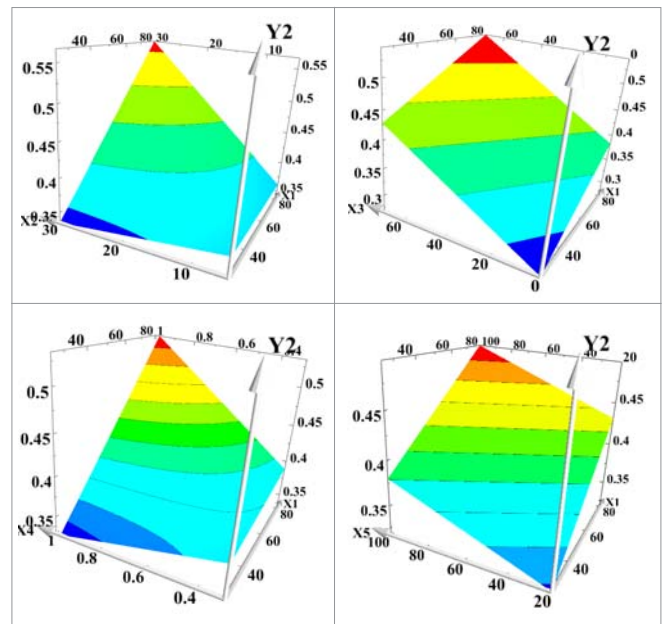
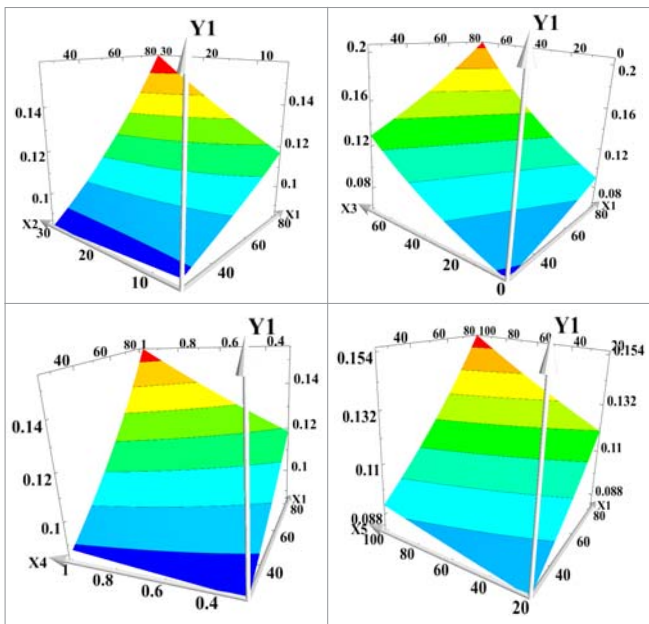
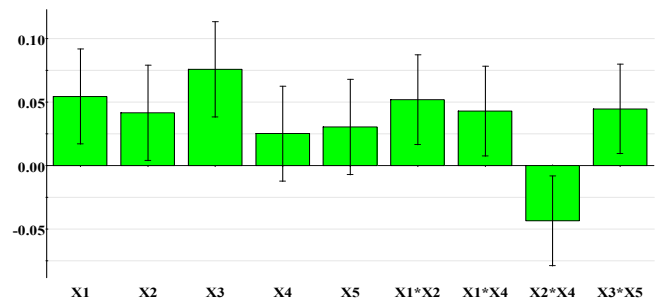
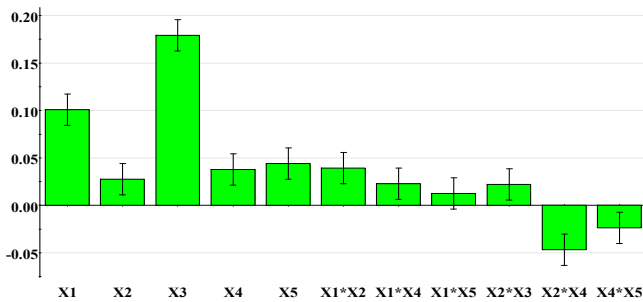


Fig. 3. Influența factorilor de formulare asupra procesului de extracție a totalului flavonoidic, (Y_1).

Fig. 4. Influența factorilor de formulare asupra procesului de extracție a totalului polifenolic, (Y_2).

Analiza coeficienților ecuațiilor, cu ajutorul cărora s-a realizat fitarea datelor experimentale, sunt prezentate în fig. 3 și fig. 4 sub forme de histograme și curbe de izorăspuns.

În baza rezultatelor prezentate în fig. 3, se observă că variabila independentă de formulare cu cel mai mare impact în procesul de extracție a conținutului total de flavonoide este reprezentată de solventul extractiv.

În literatura de specialitate, pentru obținerea extractelor din anghinare, este indicată utilizarea apei purificate [4, 5]. În cercetarea proprie am constatat, că odată cu micșorarea polarității extragentului, este avantajat procesul de extracție a principiilor active. Din analiza histogramelor și curbelor de izorăspuns (fig. 3 și 4) se observă faptul că la creșterea concentrației de etanol de la 0 la 70% și a temperaturii de la 25°C la 80°C, este influențată semnificativ concentrația atât a flavonoidelor, cât și a polifenolilor prin intensificarea procesului de extracție în probele experimentale.

Rezultatele evaluării temperaturii au demonstrat faptul că aceasta este a doua variabilă independentă de formulare după impact, în procesul de extracție a compușilor fenolici. Odată cu creșterea temperaturii până la 80°C, conținutul total de favonoide și conținutul total de polifenoli a crescut semnificativ. Astfel, putem concluziona, că compușii fenolici sunt termostabili, iar în procesul de mișcare a moleculelor cu viteză sporită, cauzată de temperatura înaltă, este influențată difuzia și desorbția flavonoidelor și polifenolilor din produsul vegetal.

Influența duratei de extracție pentru ambele răspunsuri s-a constatat ca fiind mai puțin semnificativă, aspect care avantajează metoda de extracție cu ultrasunete, prin posibilitatea de a reduce timpul de extracție.

În experimentul prezentat, s-au obținut date experimentale noi cu referință la metoda de extracție cu ultrasunet, în care a fost demonstrată influența intervalului de puls și amplitudinea aparatului de ultrasonare, ceea ce favorizează extracția la capacitatea maximă de lucru.

În rezultatul studiului, a fost stabilită formula optimă de extracție prin metoda asistată de ultrasunet a principiilor active din produsul vegetal *Cynarae folia*, după cum urmează: concentrația etanolului – 70%, temperatura – 80°C, durata procesului de extracție – 30 de minute; interval de puls al undelor ultrasonice – 1 minut, amplitudinea – 100 kHz.

Concluzii

Pentru prima dată a fost aplicată metoda de optimizare a extracției cu ultrasunet a compușilor fenolici din frunze de anghinare, cultivate în condițiile pedo-climaterice ale Republicii Moldova.

A fost determinată influența factorilor de extracție cu utilizarea planului de design experimental, în care rezultatele apropiate de cele prezise, au demonstrat validitatea modelului de optimizare.

S-au obținut noi date experimentale, în baza cărora s-au stabilit condițiile optime de extracție a compușilor fenolici din frunzele de anghinare: extragent – etanol 70%, tempera-

tura – 80°C, durata extracției – 30 de minute, puls – 1 minut, amplitudine – 100 kHz.

Condițiile optimizate evaluate pot fi aplicate în procesul de fabricație a formelor farmaceutice extractive, obținute pe bază de produs vegetal *Cynarae folia*.

Referințe bibliografice

- Alaimo MG, Vizzi D, Melati MR. Histochemical properties and trace element concentrations in *Parietaria L.* from urban sites (Palermo, Italy). *Aerobiologia*. 2005;21:21-31.
- Brown J, Rice-Evans C. Luteolin-rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation in vitro. *Free Radic Res*. 1998;29:247-255.
- Bodrug M. Grădina de Plante Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu”. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale*. 2005;2(2):102-107.
- European Pharmacopoeia 5.0, Determination of tannins in herbal drugs. 01/2005:20814:221-222
- Farmacopeea Romană. Ed. X. București: Ed. Medicală, 2011:334-335.
- Fratianni F. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus L.* var. *scolymus (L.)*). *J. Food Chem*. 2007;104(3):1282-1286.
- Gebhardt R, Henke B, Fausel M. Antioxidative properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus L.*) against hydroperoxide-induced oxidative stress determined in cultured rat hepatocytes are due to polyphenols and flavonoids. *European Journal of Cell Biology*. 1997;72:1023-1028.
- Herrera M, Luque de Castro M. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *J. Chromatogr*. 2005;1100:1-7.
- Leucuța S, Tomuță I. Planuri experimentale și optimizarea formulării medicamentelor. Cluj Napoca: Risoprint, 2011;108-125.
- Luque de Castro M, Tena M. Strategies for supercritical fluid extraction of polar and ionic compounds. *Trends Anal Chem*. 1996;15:32-37.
- Nisteanu A. Farmacognozie. Univ. de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău: Tipografia Centrală, 2001;445-449.
- Nyiredy S. Separation strategies of plant constituents-current status. *J. Chromatogr*. 2004;812:35-51.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*. 1999;299:152-178.
- Shimoda H. Antihyperlipidemic sesquiterpenes and new sesquiterpene glycosides from the leaves of artichoke (*Cynara scolymus L.*): structure requirement and mode of action. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2003;13(2):223-228.
- Stănescu U, Miron A, Hâncianu M. Bazele farmaceutice, farmacologice și clinice ale fitoterapiei. Iași: Ed. „Gr.T.Popa”, 2002;265-26.
- Speroni E, et al. Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints. *J. Ethnopharmacol*. 2003;86(2-3):203-211.
- Stylianou N, Gekas V, Iuliana A, et al. Research regarding taraxacum officinale weber. Optimum extraction parameters of caffeic acid derivatives using ultrasound - assisted extraction. *Farmacia*. 2014;62(6):1223-1229.
- Suslick KS. Sonochemistry, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 4th Ed. New York: J. Wiley & Sons, 1998;26:517-541.
- Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus L.*) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52:7272-7278.
- Wang L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*. 2006;17:300-312.
- Wang J, Zhao Y, Tian Y, et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Total Phenolic Compounds from *Inula helenium*. *The Scientific World Journal*. 2013, Article ID 157527,5.
- Weirong C, Xiaohong G, Jian T. Extraction, purification, and characterisation of the flavonoids from *Opuntia milpa alta* Skin. *Czech J. Food Sci*. 2010;28(2):108-116.

Hydroelectrolytic disorders in patients with combustions in different climatic conditions

V. Babiuc

Department of Traumatology and Orthopaedics, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: babiucv@yahoo.fr. Manuscript received February 27, 2015; accepted April 05, 2015

Abstract

Background: It is well-known that the influence of the tropical, subtropical or continental climate is reflected, first of all, on the hydroelectrolytic metabolism. In case of combustions, these losses are very pronounced, depending on the surface affected.

Material and methods: The studies were performed in 1286 patients with combustions in tropical conditions (Cuba, Guinea) and in diametrically opposed, continental climatic conditions (Moldova, Moscow, Kharkov). The indices of K^{+} , Na^{+} , cations and Cl^{-} anions were determined. Also, other parameters were assessed, such as hemoconcentration according to hematocrit and hemoglobin, histologically – capillary permeability, protein metabolism and clinical manifestations, such as somatic state, muscular reflexes and the state of the CNS.

Results: In tropical climatic conditions, in patients with combustions, during the first hours after the trauma, especially in severe lesions, hyperkalemia and severe hemolysis take place, and, after 3-4 days, the potassium level sharply decreases and it is clinically manifested by a decrease in the neuromuscular reflexes, protein synthesis is also decreased, which is expressed by hypoproteinemia, adynamia continues to progress, dyspnea is increased, arrhythmia and, frequently, hallucinations also take place.

Conclusions: Electrolytic indices in patients with combustions in the tropical area, both the cations (K^{+} , Na^{+}), and the anions (Cl^{-}), are much more altered compared to the patients with combustions in the continental area. In tropical conditions, as a result of the generalized catabolism, the capillary vessel walls are severely affected and liquid losses are very extended. Hemoconcentration in patients with combustions from the tropical area is much more pronounced compared to the patients with combustions in the continental area.

Key words: Tropical and continental climate, hydroelectrolytic balance, sodium, potassium and chlorine indices in different climatic conditions.

Dereglările hidroelectrolitice la pacienții cu arsuri în diferite condiții climaterice

Introducere

Este cunoscut faptul, că influența climatului tropical, subtropical sau continental se reflectă, în primul rând, asupra metabolismului hidroelectrolitic. Conform datelor din literatura de specialitate [13], omul în condiții de arșiță tropicală pierde în mijlociu 2-3 litri de lichid și 20-30 grame de NaCl în 24 de ore.

În caz de arsuri, aceste pierderi, în dependență de suprafața afectată, sunt foarte pronunțate.

În acest echilibru, rolul de bază îl au ionii de cationi K^{+} , Na^{+} , Ca^{+} , Mg^{+} și anionii Cl^{-} , hidro-carbonat-ionii HCO^{3-} , macronii de proteine, anionii acizilor organici, sulfat ionii și ionii de hidrofosfat și bihidrofosfat. Deficitul lor în organism, îndeosebi la pierderi mari de lichid sau deplasarea lor dintr-un spațiu în altul, cum se întâmplă la arsuri, duce la dereglări grave în funcționalitatea organismului.

De aceea, determinarea echilibrului hidroelectrolitic la pacienții cu arsuri are o însemnătate deosebită pentru elaborarea unei strategii de succes în tratamentul acestora. În diferite condiții climaterice, până la producerea arsurilor, acest echilibru al unora sau altor cationi și anioni este mărit sau micșorat. Luând în considerație starea defavorabilă a acestui echilibru, după acțiunea agentului termic, care duce la schimbări foarte grave în echilibrul hidroelectrolitic, în organism putem avea dereglări foarte grave.

Material și metode

Studiile au fost efectuate pe 1286 de pacienți cu arsuri în condiții tropicale (Cuba, Guinea) și diametral opuse, în

climatul continental (Moldova, Moscova, Harkov). Au fost determinați indicii de cationi K^{+} , Na^{+} , anioni de Cl^{-} . S-a evaluat hemoconcentrația hematocritelor și hemoglobinei, histologic – permeabilitatea capilară, metabolismul proteic și manifestările clinice – starea somatică, reflexele musculare și stările SNC.

Rezultate și discuții

Acești pacienți prezintă un tablou clinic asemănător cu cel al bolnavilor cu dereglări de metabolism de lichide, survenite în caz de arșiță sau în pustiu – o sete foarte marcată, o stare generală confuză, slăbiciuni pronunțate, tremor și, deseori, dereglări psihice.

Aceste dereglări hidroelectrice, în primul rând, au fost condiționate de permeabilitatea mărită a membranelor capilare, care are un caracter generalizat și duce la pierderi masive ale plasmei.

Majoritatea acestor pierderi de lichid decurg în spațiul intercelular și au loc imediat după traumă.

Studiul nostru a constatat că spațiul intercelular este evident mărit din cauza supraîncărcării lui cu lichid. Aceste pierderi poartă un caracter generalizat și au loc sub influența hipertermiei și a produselor catabolice, care duc la o hemoconcentrație masivă, determinată prin evaluarea hemoglobinei și a electroliților.

Indicii hematocritici au arătat că în condiții tropicale, chiar și în caz de arsuri de până la 5% din suprafața corpului, 61,8% dintre pacienți au prezentat un volum al hematocritelor de peste 0,46 unități (tab. 1).

Odată cu mărirea suprafeței arsurilor de la 16 până la 25%,

nivelul hematocritelor crește de la 0,56 până la 0,65 (49,2% dintre pacienți), iar 20,8% dintre pacienți cu arsuri de la 26 până la 35%, au avut indicele hematocritic de peste 0,66 unități ($x^2 = 394,66$; $p < 0,0001$). Această hemoconcentrație se menține și a doua zi după traumă. Indici ai hematocritelor mai mari de 0,56 s-au înregistrat la 25,1% din numărul total de pacienți, în funcție de suprafața afectată. În pofida tratamentului intensiv, și în a treia zi 50,3% ($x^2 = 273,46$; $p < 0,0001$) au avut nivelul hematocritelor mai mare de 0,46 unități, ceea ce presupune o menținere gravă a hemoconcentrației în toată perioada șocului combustional.

Cu totul alt tablou se observă în condiții continentale. În primele 24 de ore, indicii hematocritelor sunt aproape identici cu cei constatați în condiții tropicale. Însă a doua zi, ei au o tendință bruscă de normalizare. La 61,3% dintre pacienți, nivelul hematocritelor ajunge la normă și numai la 8,2% dintre pacienți, acesta se menține mai mare de 0,56 unități (tab. 2). La a treia zi, în condiții continentale, la 68,1% dintre pacienți, hematocritul a ajuns la nivelul normei și numai la 31,9% a fost mai crescut de 0,46 unități ($x^2 = 62,73$; $p < 0,0001$). Această dinamică a indicilor hematocritelor presupune o hemocon-

centrație foarte gravă în condiții tropicale, care se menține pe toată durata perioadei de șoc, în pofida tratamentului intensiv.

Paralel, cresc și indicii hemoglobinei. Dintre 427 de pacienți din zona tropicală, 275 (64%) au fost spitalizați cu hipotonie marcată din primele ore după trauma, cauzată de climatul tropical. Cu cât mai marcată a fost hipotonia, cu atât mai grave au fost dereglările hidroelectrolitice.

Evaluarea dereglărilor electrolitice au demonstrat faptul că în condiții tropicale se micșorează brusc nivelul de sodiu în ser la pacienții cu arsuri pe o suprafață de peste 16%. Norma sodiului (Na^+) în ser este de 130-155 mmol/l și este un cation extracelular [14]. La afectări de peste 36-45%, la o parte dintre pacienți, nivelul lui în ser coboară până la 100-115 mmol/l (tab. 3). Chiar și în caz de arsuri de până la 5% din suprafața corpului, nivelul sodiului este sub normă, 126-135 mmol/l. Din cei 799 de pacienți cuprinși în studiu, 568 (71%) au avut nivelul de sodiu mai jos de normă în primele 24 de ore după traumă. Și numai 29% dintre ei, cu arsuri de până la 15% din suprafața corpului, indicii de sodiu au fost în limitele normei (135-145 mmol/l). În următoarele 24 de ore, indicii rămân aceiași. Așadar, se constată o tendință de ameliorare la pa-

Tabelul 1

Dinamica indicilor hematocritelor la pacienții cu arsuri în condiții tropicale

Suprafața afectată	I 24 de ore					II 24 de ore					III 24 de ore				
	Nr. de pacienți	Indicii hematocritelor				Nr. de pacienți	Indicii hematocritelor				Nr. de pacienți	Indicii hematocritelor			
		Până la 0,45	0,46-0,55	0,56-0,65	0,66-0,75		Până la 0,45	0,46-0,55	0,56-0,65	0,66-0,75		Până la 0,45	0,46-0,55	0,56-0,65	0,66-0,75
Până la 5%	217	83 38,2%	122 56,2%	12 5,6%	-	187	110 58,8%	66 35,2%	11 6%	-	155	138 89%	17 11%	-	-
		61,8%					< 0,01	< 0,01				< 0,01	< 0,01		
6-15%	258	112 43,4%	73 28,2%	70 27,1%	3 1,3%	243	31 12,7%	132 54,3%	104 42,7%	6 3%	214	118 55%	94 43,9%	2 1,1%	-
							< 0,01	< 0,01	< 0,01			< 0,05	< 0,01	< 0,01	
16-25%	130	22 16,9%	37 28,4%	64 49,2%	7 5,5%	114	43 37,7%	40 35%	29 25,4%	2 1,9%	111	40 36%	70 63%	1 1%	-
							< 0,01		< 0,01			< 0,01	< 0,01	< 0,01	
26-35%	58	1 1,7%	11 18,9%	34 58,5%	12 20,8%	42	1 2,3%	10 23,8%	27 64,2%	4 9,4%	42	8 19%	22 52,3%	12 28,7%	-
												< 0,01	< 0,01	< 0,01	
36-45%	22	-	4 18,1%	15 68,1%	3 13,8%	22	-	5 22,7%	15 68,1%	2 9,2%	21	2 9,5%	16 76,1%	3 14,4%	-
												< 0,05	< 0,01	< 0,01	
46-60%	21	-	3 14,2%	14 66,6%	4 19,2%	20	-	3 15%	14 70%	3 15%	16	3 18,7%	11 68,7%	2 12,6%	-
												< 0,01	< 0,01	< 0,01	
60 și > %	93	-	4 4,3%	60 64,5%	29 31,2%	71	-	10 14%	30 42,2%	31 43,8%	64	1 15%	45 70,3%	18 28,2%	-
								< 0,05	< 0,01			< 0,01	< 0,01	< 0,01	
	799	218 27%	254 31%	269 33,6%	58 7,4%	699	286 40,9%	238 34%	132 18,8%	43 6,3%	623	310 49,7%	275 44,1%	38 6,21%	-

$$\leftarrow 327(41\%) \rightarrow$$

$$x^2 = 394,66$$

$$p < 0,0001$$

$$\leftarrow 175(25,1\%) \rightarrow$$

$$x^2 = 403,79$$

$$p < 0,0001$$

$$\leftarrow 313(50,31\%) \rightarrow$$

$$x^2 = 273,46$$

$$p < 0,0001$$

Tabelul 2

Dinamica indicilor hematocritelor la pacienții cu arsuri în condiții continentale

Suprafața afectată	I 24 de ore					II 24 de ore					III 24 de ore				
	Nr. de pacienți	Indicii hematocritelor				Nr. de pacienți	Indicii hematocritelor				Nr. de pacienți	Indicii hematocritelor			
		Până la 0,45	0,46-0,55	0,56-0,65	0,66-0,75		Până la 0,45	0,46-0,55	0,56-0,65	0,66-0,75		Până la 0,45	0,46-0,55	0,56-0,65	0,66-0,75
Până la 5%	32	28** 87,5%	4** 12,5%	-	-	32	30** 93,7%	2 6,3%	-	-	32	31- 96,8%	1 3,2%	-	-
6-15%	33	25** 75,7% < 0,01	6 18,2%	2** 6,1% < 0,01	-	31	30** 96,7% < 0,01	1** 3,3% < 0,05	0*	-	26	24** 92%	2** 8%	-	-
16-25%	22	3 16,9%	11 50%	7 31,8%	1 4,6%	20	16** 80% < 0,01	2* 10% > 0,01	2 10%	-	20	18** 90% < 0,01	2** 10% < 0,01	-	-
26-35%	54	-	18 33,3%	34 62,9%	2** 3,8% < 0,01	50	27** 54% < 0,01	21- 42%	2** 4% < 0,01	-	47	34** 72,3% < 0,01	13* 27,7% > 0,05	-	-
36-45%	50	1 2%	24* 48% < 0,05	18* 36% < 0,05	7 14%	43	14** 32,5% < 0,01	21* 48,8%	8** 18,7%	-	42	13* 30,9% < 0,01	29 69,1% < 0,05	-	-
46-60%	12	-	3 25%	7 58,3%	2 16,7%	12	2* 16,6% < 0,05	8** 66,8% 0,05	2** 16,6% < 0,05	-	10	3 30% < 0,01	7 70% < 0,05	-	-
60 și > %	7	-	-	4 57,2%	3 42,8%	6	-	3 50% < 0,01	2 33,3%	1 16,7%	5	1 20%	4 80% < 0,01	-	-
	210	57 27,3%	66 31,4%	72 34,2%	15 7,1%	194	119 61,3%	58 29,8%	16 8,2%	1 0,7%	182	124 68,1%	58 31,9%	-	-

← 87 (41,3%) →
 $x^2 = 172,01$
 $p < 0,0001$

← 17 (8,9%) →
 $x^2 = 75,13$
 $p < 0,0001$

← 58 (31,9%) →
 $x^2 = 62,73$
 $P < 0,0001$

* - $p < 0,05$ în comparație cu același parametru la pacienții cu arsuri în condiții tropicale

** - $p < 0,01$

pacienții cu arsuri de la 15 până la 45% din suprafața corpului [1, 5, 6, 7, 9, 12]. În a treia zi, ameliorările sunt mai evidente, însă și aici 56% dintre pacienți au indicii sub normă, care oscilează între 125 și 135 mmol/l.

În zona continentală (tab. 4), numai 1% dintre pacienți au indicii la conținutul de sodiu în ser între 100 și 115 mmol/l. În această zonă, în primele 24 de ore, indicii de sodiu oscilează între 116 și 135 mmol/l la 63,3% dintre pacienți. Și evident mai mulți pacienți (35,7%), îndeosebi cu afectări de până la 15% din suprafața corpului, au indicii sodiului în limitele normei. În următoarele 24 de ore, indicii sodiului continuă să se amelioreze. La 42,5% dintre pacienți ei sunt deja în limitele normei. În a cincia zi, numărul de pacienți cu indicii scăzuți se micșorează până la 34,7%, iar al celor cu indicii în normă crește până la 65,3%. Clinic, la pacienții noștri, deficitul de sodiu se manifestă prin pasivitate locomotoare, scăderea tensiunii osmotice în spațiul extracelular și, în consecință, deplasarea lichidului (apei) intracelular, inclusiv în interiorul globulelor roșii, în celulele sistemului nervos central etc., care conduce la hemoliză și alte forme de citoliză, descrise și prezentate histologic.

Clinic, aceasta se manifestă și prin creșterea hemocon-

centrației, mărirea viscozității sângelui, hipotonie, tahicardie, spasme ale mușchilor netezi, edem cerebral, dereglări psihice. În urma acumulării în organism a surplusului de substanțe acide, creștea acidoza și se micșora rezerva alcalină, care se creează în organism mai mult în baza componentelor de sodiu [2, 3, 4, 8].

La unii pacienți, în urma hiperinfuziei de ioni de sodiu, avea loc hipernatriemia, care determină acumularea sodiului în spațiul intercelular, accelera creșterea cantității de lichid în acest spațiu și sporea edemul interstițial cu dereglarea structurii celulare ca rezultat al pierderii considerabile a părții lichide a celulei, confirmate și prezentate histologic. Deseori, în urma acestui proces, aveau loc mari distrugerii în structura organică internă, iar în zona afectată se manifesta necroza secundară, sau trecerea arsurilor de gradul II în III și III în IV. La hipernatriemii se constata și micșorarea capacității reflectorice, iar în multe cazuri, tensiunea arterială depășea considerabil limitele normei.

Același tablou se relevă și referitor la indicele clorului în ser. În zona tropicală, 68,7% dintre pacienți au indicele clorului scăzut, acesta oscilând între 85 și 95 mmol/l (tab. 5). În următoarele 24 de ore, indicele respectiv se menține în

Tabelul 3

Dinamica dereglării indicilor de sodiu în ser la pacienții cu arsuri în condiții tropicale

Suprafața afectată	24 de ore					Nr. de pacienți	a 2-3 zi				Nr. de pacienți	a 5-7 zi					
	Nr. de pacienți	Sodiu mmol/l					Nr. de pacienți	Sodiu mmol/l				Nr. de pacienți	Sodiu mmol/l				
		100-115	116-125	126-135	136-145			100-115	116-125	126-135			136-145	100-115	116-125	126-135	136-145
Până la 5%	217	-	-	88 40,5%	129 59,5%	198	-	-	77 38,8% > 0,05	121 61,2% > 0,05	154	-	-	56 36,3% > 0,05	98 63,7% > 0,05		
6-15%	258	-	-	167 64,7%	91 35,3%	222	-	-	152 68,4% > 0,05	70 31,6% > 0,05	215	-	-	93 43,2% < 0,01	122 56,8% < 0,01		
16-25%	130	-	29 22,3%	90 69,2%	11 8,5%	128	-	12 9,4% < 0,01	107 83,5% < 0,01	9 7,1% > 0,05	116	-	4 3,4% < 0,01	61 52,5% < 0,01	51 44,1% < 0,01		
26-35%	58	-	23 39,6%	35 60,4%	-	56	-	16 28,5% > 0,05	34 60,7% > 0,05	6 10,7% < 0,01	56	-	5 8,9% < 0,01	40 81,4% < 0,05	11 19,7% < 0,01		
36-45%	22	2 9%	17 77,2%	3 13,8%	-	22	1 4,5% > 0,05	2 9% < 0,01	17 77,5% < 0,01	2 9% < 0,05	21	-	-	16 76,2% < 0,01	5 27,8% < 0,01		
46-60%	21	2 9,5%	16 76,1%	3 14,4%	-	20	3 15% 0,05	13 65% 0,05	4 20% > 0,05	-	16	-	3 18,7% < 0,01	13 81,3% < 0,01	-		
60 și > %	93	17 18,3%	75 80,6%	1 1,1%	-	71	-	68 95,7% < 0,01	3 (4,3%) > 0,05	-	64	-	34 53,2% < 0,01	30 46,8% < 0,01	-		
	799	21 2,5%	160 20%	387 48,5%	231 29%	717	4 0,6%	111 15,4%	394 55%	208 29%	642	-	46 7,1%	317 49,4%	279 43,5%		

← 568 (71%) →
 $\chi^2 = 756,74$
 $p < 0,001$

← 509 (71%) →
 $\chi^2 = 180,31$
 $p < 0,001$

← 363 (56%) →
 $\chi^2 = 117,58$
 $p < 0,001$

aceste limite la 36,1% dintre pacienți, mai puțin ca în prima zi și se ameliorează până la normă numai la 47,8% din numărul total de pacienți. La a cincea zi, indicele clorului în condiții tropicale se menține mai jos de normă la 46,7% dintre pacienți. Dereglările acestor indici ai clorului și ai sodiului, sunt aproape paralele.

Putem constata că în condiții continentale, aceste dereglări ale indicelui clorului sunt mai puțin evidente (tab. 6). În primele 24 de ore, indici sub normă s-au determinat la 56,7% din numărul total de pacienți, a doua zi – la 38,3%, iar în a cincea zi – la numai 17% dintre ei, pe când în zona tropicală, chiar și în a treia zi, el rămâne scăzut la 46,7% din numărul total de pacienți din această zonă.

La acești pacienți, indicii la potasiu în ser, sunt absolut opuși. În normă, în ser el oscilează între 4,0–5,6 mmol/l [14]. În zona tropicală, la pacienții cu arsuri, el crește brusc (tab. 7). Odată cu mărirea suprafeței afectate, crește și numărul de pacienți la care nivelul de potasiu se majorează. Chiar și la arsuri de până la 5% din suprafața corpului, nivelul potasiului este de peste 5,6 mmol/l la 12% dintre pacienți. Odată cu mărirea suprafeței afectate până la 25% din suprafața corpului, în primele 24 de ore, acest nivel crește la 70,8% dintre pacienți, în caz de afectări de până la 35% din suprafața corpului, crește la 88% dintre pacienți și până la 45% – la 86,5% dintre pacienți.

La pacienții cu suprafața afectată depășind 45% din suprafața corpului, la 66 de pacienți (8,2%), indicele potasiului ajunge la nivelul critic de 6,6–7,0 mmol/l, condiție în care la orice efort fizic se poate produce un stop cardiac. Mulți dintre acești pacienți, în scurt timp, au decedat. În următoarele 24 de ore, se micșorează numărul de pacienți cu indicele conținutului de potasiu mărit în ser. La a cincea zi, valoarea acestui indice se menține ridicat numai la 2,8% dintre pacienți. La 97,2% dintre ei, acesta coboară la nivelul normal, iar uneori chiar și mai jos de normă.

În condiții continentale, indicele potasiului este mai mare de 5,6 mmol/l la 18% pacienți, în comparație cu 45,6% în condiții tropicale, în primele 24 de ore (tab. 8). În următoarele 24 de ore, numai 5,1% bolnavi au indicele potasiului mai mare de 5,6 mmol/l, iar în a cincea zi – 2,8% pacienți. În condiții continentale, în a doua zi, indicele potasiului la nivelul normei îl au 92,9% dintre pacienți, iar în a cincea zi, mai jos de normă – 27,9% pacienți.

Clinic, la pacienții noștri, hiperpotasemia ($> K^+$) a accelerat sistemul neuroreflector. Este bine cunoscut faptul că, în normă, potasiul participă activ la transmiterea impulsului în sistemul neuroreflector, la contracția musculară și funcționarea inimii, reducând ritmul cardiac și puterea de contracție a miocardului. Toți pacienții, în perioada hiperpotasemiei,

Tabelul 4

Dinamica dereglării indicilor de sodiu în ser la pacienții cu arsuri în condiții continentale

Supra- fața afec- tată	I 24 de ore					a 2-3 zi					a 5-7 zi				
	Nr. de pa- cienți	Sodiu				Nr. de pa- cienți	Sodiu				Nr. de pa- cienți	Sodiu			
		100- 115	116- 125	126- 135	136- 145		100- 115	116- 125	126- 135	136- 145		100- 115	116- 125	126- 135	136- 145
Până la 5%	31	-	-	6* 19%	26* 81%	32	-	-	4 12,5% > 0,05	28** 87,5% > 0,05	25	-	-	1** 4% > 0,05	25 46% < 0,01
6-15%	33	-	-	7** 21%	26** 79%	30	-	-	3 10% > 0,05	27** 90% > 0,05	27	-	-	1** 3,7% < 0,05	26** 96,3% < 0,05
16-25%	22	-	4 18,2%	15 68,2%	3 13,6%	20	-	-	16 80% > 0,05	4 20% > 0,05	20	-	-	2** 10% < 0,01	18** 90% < 0,01
26-35%	54	-	5** 9,2%	32 59,3%	17** 31,5%	50	-	4** 8% > 0,05	30 60% > 0,05	16** 32% > 0,05	47	-	2 4,3% > 0,05	13** 27,7% < 0,01	32** 68% < 0,01
36-45%	50	-	3** 6%	45** 90%	2 4%	43	-	3 6,9% > 0,05	33 76,8% > 0,05	7 16,3% < 0,05	42	-	2 4,3% 0,05	13** 27,7% < 0,01	32** 68% < 0,01
46-60%	12	2 16,6%	3** 25%	6* 50%	1 8,4%	12	-	2** 16,6% > 0,05	10** 83,4% > 0,05	-	10	-	-	10* 100% < 0,01	-
60 și > %	7	-	6 85,7%	1 14,3%	-	6	-	1** 16,6% 0,01	5** 83,4% > 0,01	-	5	-	-	5** 100% < 0,01	-
	210	2 1%	21 10%	112 53,3%	75 35,7%	193	-	10 5,2%	101 52,3%	82 42,5%	176	-	4 2,4%	57 32,3% < 0,01	115 65,3%

← 135 (64,3%) →
 $x^2 = 90,37$
 $p < 0,001$

← 111 (58%) →
 $x^2 = 86,02$
 $p < 0,001$

← 61 (34,7%) →
 $x^2 = 59,25$
 $p < 0,001$

* - $p < 0,05$ în comparație cu același parametru la pacienții cu arsuri în condiții tropicale ** - $p < 0,01$

Tabelul 5

Dinamica dereglării indicilor de clor în ser la pacienții cu arsuri în condiții tropicale

Supra- fața afec- tată	24 de ore					a 2-3 zi					a 5-7 zi				
	Nr. de pa- cienți	Clor				Nr. de pa- cienți	Clor				Nr. de pa- cienți	Clor			
		85-94	95-105	105- 115	115 și >		85-94	95-105	105- 115	115 și >		85-94	95-105	105- 115	115 și >
Până la 5%	217	-	87 40,1%	130 59,9%	-	198	-	52 26,2%	129 65,2%	17 8,6%	154	-	42 27,3%	111 72%	1 0,7%
6-15%	258	-	152 58,9%	104 40,3%	2	222	-	26 11,7%	196 88,3%	-	215	-	13 6,1%	202 93,9%	-
16-25%	130	-	118 90%	12 10%	-	128	-	117 91,4%	11 8,6%	-	116	2 1,7%	88 75,9%	26 22,4%	-
26-35%	58	-	53 91,3%	5 8,7%	-	56	-	51 91%	5 9%	-	56	1 1,7%	53 94,7%	2 3,6%	-
36-45%	22	3 13,6%	17 77,3%	2 9,1%	-	22	1 4,6%	21 95,4%	-	-	21	-	21 100%	-	-
46-60	21	7 33,3%	14 66,7%	-	-	20	2 10%	18 90%	-	-	16	2 12,5%	13 81,3%	1 6,2%	-
60 și > %	93	12	81	-	-	71	2 2,8%	69 97,2%	-	-	64	23 35,9%	41 64,1%	-	-
	799	22 2,8%	522 65,3%	253 31,6%	2 0,3%	717	5(0,6%)	354 49,3%	341 47,8%	17 2,3%	642	28 4,4%	271 42,3%	342 53,2%	1 0,1%

← 544 (68,7%) →
 $x^2 = 192,22$
 $p < 0,0001$

← 359 (36,1%) →
 $x^2 = 413,37$
 $p < 0,0001$

← 299 (46,7%) →
 $x^2 = 337,57$
 $p < 0,0001$

Tabelul 6

Dinamica dereglării indicilor de clor în ser la pacienții cu arsuri în condiții continentale

Suprafața afectată	24 de ore					a 2-3 zi					a 5-7 zi				
	Nr. de pacienți	Clor				Nr. de pacienți	Clor				Nr. de pacienți	Clor			
		85-94	95-105	105-115	115 și >		85-94	95-105	105-115	115 și >		85-94	95-105	105-115	115 și >
Până la 5%	32	-	2 6,3%	30 93,7%	-	32	-	2 6,3%	30 93,7%	-	25	-	-	25 100%	-
6-15%	33	-	5 15%	28 85%	-	30	-	1 3,3%	29 96,7%	-	27	-	-	27 100%	-
16-25%	22	-	2 9%	20 91%	-	20	-	4 20%	16 80%	-	20	-	3 15%	17 85%	-
26-35%	54	-	41 75,9%	13 24,1%	-	50	-	23 46%	27 54%	-	47	-	2 4,2%	45 95,8%	-
36-45%	50	2 96%	48 96%	-	-	43	-	29 67,4%	14 32,2%	-	42	-	14 33,3%	28 66,7%	-
46-60%	12	2 16,7%	10 83,3%	-	-	12	-	9 75%	3 25%	-	10	-	7 70%	3 30%	-
60 și > %	7	-	7 100%	-	-	6	-	6 100%	-	-	5	-	4 80%	1 20%	-
	210	4 2%	115 54,7%	91 43,3%	-	193	-	74 38,3%	119 61,7%	-	176	-	30 17%	146 83%	-

← 119(56,7%) →
 $x^2 = 131,01$
 $p < 0,0001$

← 74(38,3%) →
 $x^2 = 65,45$
 $p < 0,0001$

← 30(17%) →
 $x^2 = 57,91$
 $p < 0,0001$

Tabelul 7

Dinamica dereglării indicilor de potasiu în ser la pacienții cu arsuri în condiții tropicale

Suprafața afectată	24 de ore					a 2-3 zi					a 5-7 zi				
	Nr. de pacienți	Potasiu mmol/l				Nr. de pacienți	Potasiu mmol/l				Nr. de pacienți	Potasiu mmol/l			
		2,0-3,4	3,5-5,5	5,6-6,5	6,6-7,0		2,0-3,4	3,5-5,5	5,6-6,5	6,6-7,0		2,0-3,4	3,5-5,5	5,6-6,5	6,6-7,0
Până la 5%	217	-	191 88%	26 12%	-	198	-	187 94,4%	11 5,6%	-	154	-	154 100%	-	-
6-15%	258	-	195 75,6%	63 24,4%	-	222	-	182 82%	40 18%	-	215	-	213 99%	2 1%	-
16-25%	130	-	38 29,2%	92 70,8%	-	128	-	65 50,8%	63 49,2%	-	116	-	113 97,4%	3 2,6%	-
26-35%	58	-	7 12%	51 88%	-	56	-	23 41%	33 59%	-	56	6 10,7%	49 87,5%	1 1,8%	-
36-45%	22	-	2 9%	19 86,5%	1 4,5%	22	-	14 63,7%	7 31,8%	1 4,5%	21	2 9,5%	18 85,7%	1 4,8%	-
46-60%	21	-	1 4,7%	17 80,9%	3 14,4%	20	-	4 25%	15 70%	1 5%	16	2 12,5%	10 62,5%	4 25%	-
60 și > %	93	-	-	31 33,3%	62 66,4%	71	-	3 4,2%	25 35,2%	43 60,6%	64	3 4,7%	54 84,3%	7 11%	-
	799	-	434 54,4%	299 37,4%	66 8,2%	717	-	478 66,7%	194 27,6%	45 6,3%	642	13 2,1%	611 95,1%	18 2,8%	-

← 365(45,6%) →
 $x^2 = 370,53$
 $p < 0,001$

← 239(33,3%) →
 $x^2 = 267,49$
 $p < 0,001$

← 624(97,2%) →
 $x^2 = 48,43$
 $p < 0,001$

Tabelul 8

Dinamica dereglării indicilor de potasiu în ser la pacienții cu arsuri în condiții continentale

Suprafața afectată	24 de ore					a 2-3 zi					a 5-7 zi				
	Nr. de pacienți	Potasiu mmol/l				Nr. de pacienți	Potasiu mmol/l				Nr. de pacienți	Potasiu mmol/l			
		2,0-3,4	3,5-5,5	5,6-6,5	6,6-7,0		2,0-3,4	3,5-5,5	5,6-6,5	6,6-7,0		2,0-3,4	3,5-5,5	5,6-6,5	6,6-7,0
Până la 5%	32	-	31 96,9%	1 3,1%	-	32	-	32* 100%	-	-	25	2** 8%	23** 92%	-	-
6-15%	33	-	32** 97%	1** 3%	-	30	-	30** 100%	-	-	27	1 3,7%	26 96,3%	-	-
16-25%	22	-	18** 81,8%	4** 18,2%	-	20	-	20** 100%	-	-	20	7* 35%	13** 65%	-	-
26-35%	54	-	46** 85,2%	8** 14,8%	-	50	-	48** 96%	2** 4%	-	47	19** 40%	28* 60%	-	-
36-45%	50	-	37** 74%	13** 26%	-	43	3* 7%	39* 90,6%	1** 2,4%	-	42	19** 45,2%	22** 52,4%	1** 2,4%	-
46-60%	12	-	7** 58,3%	5** 41,7%	-	12	1 8,3%	9** 75%	2** 16,7%	-	10	1 10%	7 70%	2 20%	-
60 și > %	7	-	1* 14,3%	4 57,1%	2** 28,6%	6	-	1 16,7%	3 50%	2 33,3%	5	-	3 60%	2 40%	-
	210	-	172 83%	36 17,1%	2 0,9%	193	4 2%	179 92,9%	8 4,1%	2 1%	176	49 27,9%	122 69,3%	5 2,8%	-

← 38(18%) →
 $x^2 = 30,79$
 $p < 0,001$

← 10(5,1%) →
 $x^2 = 58,03$
 $p < 0,001$

← 5(2,8%) →
 $x^2 = 26,79$
 $p < 0,001$

* - $p < 0,05$ în comparație cu același parametru la pacienții cu arsuri în condiții tropicale

** - $p < 0,0$

aveau ritmul cardiac redus, erau iritați, deseori agresivi și euforici, acuzau frecvent dureri de inimă. În sânge se determina hemoliză și se micșora rezerva alcalină. În perioada de hipopotasemie, la pacienți se constata stare de oboseală, dispnee, grețuri, adinamie, aritmie și, deseori, creșterea tensiunii venoase. Atunci când hipopotasemia se menținea timp îndelungat, apăreau manifestări de areflexie și halucinații.

Dacă analizăm dinamica diurezei și a electroliților, putem afirma că dereglările electrolitice decurg mult mai ușor în condiții continentale și se agravează semnificativ în condiții tropicale, ceea ce are un rol extrem de important în tratamentul pacienților. Asta confirmă încă o dată rolul important al hipertermiei în dinamica bolii combustionale în funcție de suprafața afectată și gradul de profunzime a combustiei [10, 11].

Concluzii

1. Climatul tropical blochează degajarea surplusului de căldură, care se formează în rezultatul catabolismului avansat și agravează hemodinamica pacienților cu arsuri.

2. În condiții tropicale, în rezultatul catabolismului generalizat, peretele vaselor capilare este grav afectat și pierderile de lichid sunt foarte mari.

3. Hemoconcentrația la pacienții cu arsuri din zona tropicală este cu mult mai pronunțată, comparativ cu cea la pacienții din zona continentală.

4. Dereglările hemodinamicii la pacienții cu arsuri din zona tropicală rămân pe o lungă durată de timp, pe când la aceiași parametri din zona continentală, hemodinamica se restabilește într-o durată de timp mult mai scurt.

5. Indicii electroliților la pacienții cu arsuri din zona tropicală, atât cationii (Na^+ , K^+) cât și anionii (Cl^-) sunt mult mai grav alterați, în comparație cu aceiași indici la pacienții cu arsuri din zona continentală.

Referințe bibliografice

- Cristophe L. La mort des brûlés. Thèse. Paris, 1939.
- Данилов В. Некоторые стороны кровообращения при высокой температуре внешней среды. *Физиол. журн. СССР*. 1941;30(4):87.
- Jackson T, Lee W. Major thermal burns. A mortality appraisal and review. *Arch. Surg.* 1963;87:937-948.
- Кассирский Ж, Плотников Н. Болезни жарких стран. 1964;433-448.
- Monsaingeon A. Les brûlés. Etudes physiopathologiques et thérapeutiques. Paris: Masson, 1963.
- Mosinger M, et al. Corrélations neurocutanées et conséquences neuroendocriniennes de l'épidermectomie des brûlures. *Acta neurovegetativa*. 1963;XXIV:250-322.
- Спиридонова ТГ, и др. Системный воспалительный ответ у обожженных. *Медицина критических состояний*. 2006;6:22-30.
- Zaechi V, et al. *In vitro* engineering of human skin-like tissue. *J. Biomed Mater Res*. 1998;40(2):187-194.
- Zanii SR. Thermal burns and scalds: Clinical complication in the elderly. *Consultant Pharmacist*. 2012;27(1):16-22.
- Кассирский Ж. Водный, хлорный, азотистый обмен у здоровых в период легкой жары в Ташкенте. *Клин. мед.* 1929;7(12):750.
- Клячкин Л. О нарушении сосудистой проницаемости при ожоговой болезни: дис. Л., 1960.
- Burd A. Fluid resuscitation in burn. *Burns*. 2010;36(8):1116-1317.
- Владимиров Ф, Гейман А, Изд. АН СССР, 1972.
- А. Ленский, Введение в бионеорганическую и биофизическую химию. М. 1989.

REVIEW ARTICLES

Visual disturbances in migraine – differential diagnosis with other pathologies

C. Curca

Department of Ophthalmology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: ccris@mail.ru. Manuscript received October 07, 2014; accepted April 05, 2014

Abstract

Background. Sudden visual loss is a common complaint with variable presentations among patients of different ages. Some patients describe their symptoms as a gradually descending gray-black curtain or as blurring, fogging, or dimming of vision. Symptoms usually last a few minutes but can persist for hours. Variation in frequency ranges from a single episode to many episodes per day; recurrences may continue for years but more frequently occur over seconds to hours. It does not necessarily have to be a complete loss of vision. It could be a partial loss of vision, or a blurring of the visual field. In other cases, the vision loss may appear as a gray splotch that blocks sight. Visual aura in migraine is the most common type of aura, often presenting as a fortification spectrum, a zigzag figure near the point of fixation that may gradually spread right or left and assume a laterally convex shape with an angulated scintillating edge leaving variable degrees of absolute or relative scotoma in its wake. Many different causes of sudden visual loss are recognized; however, the most common reason for painless sudden visual loss is ischemia. Ischemia, often via mechanical obstruction, can affect any aspect of the visual system. Those who develop ischemia of the eye often have other evidence of atherosclerotic disease, such as coronary artery disease and peripheral vascular disease, which increases their susceptibility to ischemic events in other parts of the body.

Conclusions. Sudden vision loss is a common complaint in eye care practices. Often, such a situation requires urgent attention.

Key words : sudden visual loss, ischemia, migraine.

Tulburări vizuale de origine migrenoasă – diagnostic diferențial cu alte patologii

1. Migrena cu aură și migrena retiniană.

Migrena cu aură se produce, de obicei, cu o aură vizuală ce durează aproximativ 20 de minute. Într-un atac tipic, un mic defect al câmpului vizual se deplasează spre periferie, lăsând un scotom tranzitor în urma sa. Limita extensibilă a scotomului din migrenă are o margine care scânteiază, dansează sau o margine în zig-zag, asemănătoare cu bastioanele unei fortărețe, de unde vine termenul de “spectru de fortificații” [2, 3, 4]. Modul în care pacienții descriu spectrele de fortificații variază foarte mult, putând fi confundate cu amauroza fugace. Spectrele de fortificații din migrenă, de obicei, durează mai mult și sunt percepute în ambii ochi, în timp ce amauroza fugace are durată mai scurtă și apare numai la un singur ochi. Fenomenele de migrenă rămân vizibile și în întuneric sau cu ochii închiși. În general, sunt limitate fie la hemicâmpul vizual drept, fie la cel stâng, însă uneori sunt implicate simultan ambele câmpuri. Pacienții prezintă, de obicei, antecedente vechi de atacuri stereotipice. După retrocedarea simptomelor vizuale, la majoritatea pacienților apare cefaleea [2, 3].

În atacul ischemic tranzitoriu retinian sau în **migrena retiniană**, pacienții descriu o diminuare rapidă a vederii, similar unei cortine care coboară, ce afectează doar un singur ochi și durează mai puțin de o oră [1, 2, 5].

2. Atacul ischemic tranzitor.

Întreruperea fluxului sangvin către retină timp de mai mult de câteva secunde produce cecitate monoculară tranzitorie, termen utilizat alternativ pentru amauroza fugace. **Amauroza**

fugace se poate produce, de obicei, consecutiv blocării unui embol într-o arteriolă retiniană. Dacă embolul se rupe sau trece mai departe, fluxul sangvin se reia și vederea revine rapid la normal, fără să se producă leziuni permanente. În cazul întreruperii prelungite a fluxului sangvin, retina internă se infarctizează. Oftalmoscopia evidențiază zone de retină albicioasă, edemațiată urmând distribuția ramurilor arteriolelor retiniene [6, 7]. Ocluzia completă a arterei centrale a retinei produce oprirea fluxului sangvin și aspectul de retină lăptoasă cu foveea de culoare roșu aprins. Embolusurile sunt alcătuite din colesterol (placa Hollenhorst), calciu sau reziduuri de plachete și fibrină. Sursa cea mai frecventă este reprezentată de o placă aterosclerotică de la nivelul carotidei sau aortei, deși embolusurile pot proveni de la nivelul inimii, mai ales la pacienții cu boli valvulare, fibrilație atrială sau anomalii de motilitate a peretelui cardiac [7, 8]. În cazuri rare, amauroza fugace apare datorită presiunii scăzute de perfuzie în artera centrală a retinei la pacienții cu stenoză critică a arterei carotide ipsilaterale și circulație colaterală deficitară prin poligonul lui Willis. În această situație, amauroza fugace se manifestă cu ocazia unei scăderi a tensiunii sistolice sau a unei ușoare agravări a stenozei carotidiene. Uneori se produce și un deficit motor sau senzorial contralateral, indicând o ischemie cerebrală hemisferică concomitentă. Amauroza fugace avertizează medicul asupra unui pacient cu risc crescut de accident vascular cerebral. Arterele carotide trebuie examinate ecografic. S-a demonstrat că endarterectomia pentru o stenoză de 60%

sau mai mult, chiar la pacienții asimptomatici, reduce incidența ulterioară a accidentului vascular cerebral ipsilateral. Tratamentul cu aspirină, warfarină sau alte anticoagulante este adecvat în cazul anumitor pacienți. Dacă nu se identifică nicio leziune carotidiană, se vor practica ecocardiografia și monitorizarea ECG ambulatorie [6, 7, 8].

În **hipertensiunea arterială în stadiile II și III** se produce scleroza arteriolelor retiniene, microhemoragii, infarcte focale ale stratului de fibre nervoase și revărsat de lipide și fluide (exsudat dur) la nivelul maculei. În criza hipertensivă, se poate produce o pierdere bruscă a vederii datorită vasospasmului arteriolelor retiniene și ischemiei retiniene consecutive. În plus, hipertensiunea acută poate produce pierderea vederii consecutiv tumefierii ischemice a discului optic. Pacienții cu retinopatie hipertensivă acută trebuie tratați prin reducerea valorilor tensiunii arteriale. Totuși, valorile tensiunii arteriale nu trebuie reduse brusc, deoarece există riscul de infarct al discului optic consecutiv hipoperfuziei bruște [9, 10].

În **atacurile ischemice tranzitorii**, cauzate de insuficiență vertebro-bazilară, se determină simptome vizuale omonime acute. Mulți pacienți descriu în mod greșit simptomele fie la ochiul stâng, fie la cel drept când, de fapt, ele apar în hemicâmpul drept sau stâng, la nivelul ambilor ochi. Întreruperea fluxului sangvin către cortexul vizual produce înțepșoarea sau întunecarea subită a vederii, uneori cu lumini strălucitoare sau alte fenomene pozitive care mimează migrena. Atacurile ischemice corticale au o durată mai scurtă decât migrena, apar la vârstnici și nu sunt urmate de cefalee. Se pot asocia semne de ischemie a trunchiului cerebral, cum ar fi diplopia, vertijul, parestezia, slăbiciunea sau disartria [11].

Atacul ischemic tranzitor cerebral se produce atunci, când întreruperea fluxului sangvin din artera cerebrală posterioară către cortexul vizual este prelungită. Unica informație obținută în urma examinării este reprezentată de un defect omonim de câmp vizual, care se oprește brusc la nivelul meridianului vertical. Accidentul vascular al lobului occipital este datorat, de obicei, ocluziei trombotice a sistemului vertebro-bazilar, emboliilor sau disecției. Hemoragiile lobare, tumorile, abcesele și malformațiile arteriovenoase sunt alte cauze frecvente de pierdere de vedere hemianopsică corticală. Pierderea vederii durează, de obicei, câteva minute [12].

3. Patologia oculară propriu-zisă

La toți pacienții de vârstă înaintată survine **degenerarea corpului vitros**, producând opacități care umbresc în mod supărător retina. Pe măsură ce ochiul se mișcă, aceste opacități "plutitoare" se deplasează sincron, cu o ușoară latență datorată inerției umorii vitroase. Tracțiunea exercitată de corpul vitros asupra retinei produce stimulare mecanică ce are ca rezultat perceperea unor lumini strălucitoare. Această fotopsie este de scurtă durată și este limitată la un singur ochi, spre deosebire de scintilațiile bilaterale, prelungite, din migrena corticală [2, 3]. Contractiile corpului vitros pot duce la separarea sa bruscă de retină, anunțată de o abundență alarmantă de opacități flotante și de fotopsie. Acest proces, cunoscut sub numele de detașare de corp vitros, este un fenomen degenerativ frecvent la vârstnici. Nu este nociv decât în cazul în care lezează

retina. Examinarea atentă a fundului de ochi după dilatare este obligatorie la orice pacient, care acuză opacități flotante și fotopsie, în scopul depistării unor eventuale rupturi sau orificii periferice. În cazul în care se depistează asemenea leziuni, aplicarea laserului sau crioterapia pot împiedica detașarea retinei. Uneori, o ruptură perforază un vas retinian, producând hemoragii în corpul vitros și pierderea bruscă a vederii [14]. La examenul oftalmoscopic, fundul de ochi este acoperit de sânge roșu închis. Se impune examinarea ecografică a interiorului globului ocular, pentru depistarea unei posibile rupturi sau dezlipiri de retină. Dacă hemoragia nu se remite spontan, corpul vitros poate fi îndepărtat chirurgical. Hemoragiile în corpul vitros se produc, de asemenea, datorită neovaselor fragile care proliferază la suprafața retinei în diabet și în alte afecțiuni oculare ischemice [13, 14].

Cea mai frecventă tumoră primară a globului ocular – **melanomul coroidei**, determină fotopsie, scotom extins și pierderea vederii. Un melanom de dimensiuni mici este, deseori, dificil de diferențiat de nevusul coroidal benign. Pentru stabilirea caracterului malign al proliferării sunt necesare examene sistematice efectuate cu atenție [15]. Tratamentul melanomului este controversat. Opțiunile includ enuclearea, rezecția locală și iradierea. Tumorile metastatice ale globului ocular sunt mai numeroase decât tumorile primare cu origine la nivelul uveii. Carcinomul mamar și cel pulmonar au o predilecție specială pentru diseminarea la nivelul coroidei sau irisului [15].

Ocluzia venei centrale a retinei sau a ramurilor ei poate produce scotoame în câmpul vizual asemănătoare celor descrise de pacienții cu amauroză fugace. Venele sunt congestionate și flebitice, cu numeroase hemoragii retiniene. La unii pacienți, fluxul venos se reia spontan, în timp ce alți pacienți dezvoltă obstrucții evidente, cu hemoragii retiniene extinse (semnul "tomatei strivite"), infarctizare și pierderea vederii. Ocluzia venoasă retiniană este frecvent idiopatică, dar hipertensiunea, diabetul și glaucomul sunt factori majori de risc. Beneficiile tratamentului cu anticoagulante nu au fost demonstrate, acest tratament favorizând și riscul producerii de hemoragii în corpul vitros. Policitemia, trombocitemia sau alți factori care determină o stare de hipercoagulabilitate, trebuie corectate [16].

În **decolarea de retină** apar simptome de tipul opacităților flotante, lumini strălucitoare și un scotom în câmpul vizual periferic, corespunzător decolării. Dacă detașarea include fovea, există un defect pupilar aferent și acuitatea vizuală este diminuată. La majoritatea ochilor, detașarea retinei începe cu un orificiu, fisură sau ruptură la periferia retinei (detașare retiniană regmatogenă). Pacienții cu retina periferică subțiată (degenerare reticulară) sunt, în mod special, vulnerabili față de acest proces. Odată ce s-a produs o breșă în retină, vitrosul lichid poate pătrunde liber în spațiul subretinian, separând retina de epiteliul pigmentar. Asocierea tracțiunii exercitate de corpul vitros pe suprafața retinei cu pătrunderea fluidului în spatele retinei duce inevitabil la dezlipirea de retină. Pacienții cu antecedente de miopie, traumatisme sau intervenție chirurgicală anterioară pentru cataractă, prezintă cel mai

mare risc de dezlipire de retină. Diagnosticul este confirmat de către examinarea oftalmoscopică [17].

4. Patologia nervului optic.

Nevrita optică (NO) se manifestă prin pierderea bruscă a acuității vizuale (AV), datorată demielinizării nervului optic. Ea survine la tineri între 20-30 de ani, cu preponderență la femei. Este de obicei unilaterală (bilaterală în 10% din cazuri) și poate fi însoțită de dureri la nivelul globului ocular, accentuate de mișcarea acestuia [18]. Se accentuează la efort, după o baie caldă sau creșterea temperaturii corpului (fenomenul Uthoff). Este afectată și vederea colorată. Inițial, nervul optic este normal în majoritatea cazurilor (nevrită optică retrobulbară), rar apărând edemațiat (nevrită optică anterioară sau papilită). Cu timpul însă, discul optic capătă o paloare mai ales temporală cu extensie ulterioară peripapilar, sugerând că demielinizarea a fost acompaniată și de o pierdere axonală. Examenul RMN confirmă edemațierea nervului optic și captarea de gadolinium în secvențele T1, demonstrând inflamația retrobulbară. Tomografia în coerența optică (OCT) poate cuantifica gradul atrofiei nervului optic. Este un marker structural obținut printr-o metodă noninvazivă. Examenul lichidului cefalorahidian poate decela limfocitoză (10-100), proteinorahie, gamaglobuline și benzi oligoclonale. Prognosticul este bun în sensul recuperării vederii într-o lună până la șase luni, chiar în lipsa tratamentului. La 10-15% din pacienții diagnosticați cu scleroză multiplă, nivelul NO este primul semn al bolii. Aproximativ $\frac{3}{4}$ dintre femei și $\frac{1}{4}$ dintre bărbați cu NO vor dezvolta în aproximativ 15 ani scleroză multiplă. Tratamentul cu Metilprednisolon i.v. – 1g/zi, 3 zile consecutiv, urmat de corticoterapie orală (1 mg/kgcorp) câteva zile se pare că accelerează recuperarea vederii. Această terapie determină revenirea mai rapidă a vederii, corectarea câmpului vizual și sensibilitatea la contrast, fără a influența prognosticul vizual pe termen lung. Pot rămâne sechele de genul discromatopsiilor, scotoamelor, diminuarea luminozității sau, mai rar amauroza definitivă [18].

Neuromielita optică (NMO) sau boala Devic. Aceasta se caracterizează prin leziuni demielinizante necrozante ale NO și măduvei spinării. Un marker al NMO al cărui specificitate rămâne a fi demonstrată este autoantigenul aquaporina 4. Anumite caracteristici atipice fac diagnosticul de nevrită optică cert. Profilul temporal al pierderii acuității vizuale (progresie mai mare de 2 săptămâni sau absența remisiunii în decurs de 1 lună), absența durerii, un scotom atipic (defect altitudinal), un disc optic nespecific (edem marcat, atrofie NO, hemoragii, inflamație sau exudat retinian). Toate acestea necesită continuarea investigațiilor pentru stabilirea diagnosticului [19].

Edemul papilar implică tumefacția bilaterală a discului optic datorată hipertensiunii intracraniene. Cefaleea este frecventă și poate fi însoțită de dureri oculare. Scotoamele tranzitorii sunt un simptom clasic de edem papilar. Se pot produce la un singur ochi sau simultan, la ambii ochi. De obicei, durează câteva secunde, dar pot persista timp de minute dacă papiloedemul este fulminant. Întunecările apar consecutiv modificărilor bruște de postură sau apar spontan.

Când întunecările sunt prelungite sau spontane, papiloedemul este și mai periculos. Acuitatea vizuală nu este afectată de papiloedem decât dacă acesta este sever, de lungă durată sau însoțit de edem macular și hemoragii maculare. Testele de evaluare a câmpului vizual evidențiază pete oarbe extinse și constricție periferică. În cazul papiloedemului persistent, defectul de câmp vizual periferic evoluează în mod treptat, în timp ce nervul optic se atrofiază [20]. Evaluarea papiloedemului necesită examen computer-tomografic (CT) sau RMN pentru excluderea unei tumori cerebrale. În cazul în care nu se depistează nicio tumoră cerebrală, se practică angiografia prin RM în cazuri selecționate, pentru investigarea posibilității unei ocluzii de sinus venos dural sau a unui șunt arteriovenos. Dacă examenele neuroradiologice sunt normale, trebuie măsurată presiunea la deschiderea spațiului subarahnoidian prin puncție lombară pentru a confirma faptul că valoarea ei este crescută. Dacă această presiune este crescută fără vre-o explicație, prin excludere se pune diagnosticul de pseudotumoră cerebrală (hipertensiune intracraniană idiopatică) [21]. Majoritatea pacienților cu pseudotumoră cerebrală sunt tineri, de sex feminin și obezi. Tratamentul cu inhibitori de anhidrază carbonică, de genul acetazolamidei reduce presiunea intracraniană prin diminuarea producției de lichid cefalorahidian. Scăderea în greutate este extrem de importantă, dar frecvent fără rezultat. Dacă tratamentul cu acetazolamidă și scăderea în greutate nu dau rezultate, iar defectul de câmp vizual evoluează, când este necesar, trebuie practicat fără întârziere șuntul lumboperitoneal sau fenestrarea tecii nervului optic, pentru a împiedica orbirea [20, 21].

În neuropatia optică ischemică anterioară (NOIA), din cauza fluxului sangvin insuficient prin arterele ciliare posterioare, care vascularizează discul optic se produce o pierdere monoculară de vedere, bruscă, nedureroasă, deși uneori pacienții descriu apariția de umbre vizuale premonitorii. Discul optic este tumefiat și înconjurat de hemoragii clivante la nivelul stratului fibrelor nervoase. NOIA este împărțită în două forme: arteritică și nonarteritică (cea mai frecventă). N-a putut fi identificată nicio cauză specifică și nu există tratament, deși diabetul și hipertensiunea sunt factori de risc frecvenți. Aproximativ 5% dintre pacienți, în special cei cu vârsta de peste 65 de ani, dezvoltă forma arteritică de NOIA, în asociere cu arterita cu celule gigante (temporală). Pacienții cu NOIA arteritică trebuie identificați de urgență, astfel încât tratamentul glucocorticoid să poată fi început imediat în scopul prevenirii cecității celuilalt ochi. Pot fi prezente simptome de polimialgie reumatică, iar VSH este de obicei crescut. La pacienții cu pierdere de vedere datorită unei presupuse NOIA arteritice, biopsia arterei temporale este utilă pentru confirmarea diagnosticului, însă tratamentul steroid trebuie făcut fără a se aștepta rezultatul biopsiei. Diagnosticul de NOIA arteritică este dificil în prezența unui VSH normal și a unei biopsii negative de arteră temporală, dar asemenea cazuri sunt rare [22].

O altă cauză mai rară de pierdere acută a vederii este **neuropatia optică ischemică posterioară (NOIP)**. Ea este indusă de asocierea unei anemii severe cu hipertensiune, producând

infarctizarea nervului optic retrobulbar. Au fost raportate cazuri datorate hemoragiilor masive din cadrul unor intervenții chirurgicale, traumatismelor, hemoragiilor gastrointestinale și dializei renale. Fundul de ochi are, de obicei, aspect normal deși, în cazul în care procesul se extinde destul de mult la nivel anterior, se poate produce tumefierea discului optic. La unii pacienți, vederea poate fi salvată prin transfuzii de sânge efectuate prompt și prin corectarea hipotensiunii [23].

5. Alte patologii.

Pierderea de vedere funcțională (nonorganică) de conversie este acuzată de isterici sau simulanți. Aceștia din urmă constituie marea majoritate, ei fiind în căutare de simpatie, tratamente speciale sau câștiguri financiare, prin simularea pierderii de vedere. Diagnosticul este suspectat atunci când antecedentele sunt atipice, datele examenului fizic sunt absente sau contradictorii, testele furnizează date inconsistente și poate fi identificat un motiv secundar. În societatea noastră litigioasă, încercările de a obține recompense în mod fraudulos au dat naștere unei epidemii de pierdere de vedere artificială [24].

Epilepsia occipitală idiopatică cu crize vizuale. Aceasta se caracterizează prin crize parțiale cu debut la vârsta pubertății. Majoritatea crizelor apar după o expunere la stimuli vizuali (televizor, calculator, jocuri video, reflexie a soarelui în apă, lumini de discotecă etc.). Pacienții descriu puncte luminoase, colorate, cercuri care se rotesc sau se deplasează încet în hemicâmpul opus. Uneori, descriu pierderea bruscă a vederii sau încețoșarea ei pe un hemicâmp sau în întreg câmpul vizual. Fenomenele vizuale sunt urmate de deviația capului și a globilor oculari fie ipsilateral, fie contralateral. Apare disconfortul abdominal, alterarea stării de conștiință și vărsături. Cefaleea postcritică este frecventă. Examinarea neurologică, testele neuropsihologice, CT scan, MRI cerebral și EEG intercritic sunt normale. Crizele vizuale occipitale sunt diferite de aura vizuală din migrenă. Astfel, manifestările vizuale occipitale din epilepsie constau în patternul circular, colorat, cu durată de secunde, ocazional minute, cu dezvoltare rapidă și extindere contralateral, uneori cu apariție zilnică și acompaniate de alte manifestări ale crizei. Aura vizuală migrenoasă începe cu imagini lineare sau în zig-zag, de cele mai multe ori incolore, în centrul câmpului vizual, cu extindere în câteva minute spre periferie [25].

În preeclampsie, amauroza bilaterală occipitală durează 24 de ore. Angiografia cerebrală poate fi urmată de amauroza occipitală bilaterală cu durată de ore, zile sau chiar săptămâni.

Rezecția transuretrală a prostatei poate duce la o pierdere temporară a vederii bilaterale, determinată de toxicitatea glicinei. Se acompaniază de iritabilitate, confuzie, greață, dispnee, bradicardie, convulsii în timpul și după manevra operatorie. Administrarea intravenoasă a piridoxinei și argininei duce la remisiune în 24 de ore [26].

Leucoencefalopatia posterioară reversibilă, care apare după imunosupresive (ciclosporina, tacrolimus) la pacienții cu transplant, poate fi însoțită de pierderea vederii bilateral, pentru mai multe săptămâni [25, 26].

Radionecroza lobului occipital: leziunile cerebrale provo-

cate de iradierea unor tumori pot duce la pierderea tranzitorie, dar cel mai frecvent definitivă, a vederii [26].

Alte cauze de pierdere tranzitorie a vederii: administrarea interferonului la pacienții tratați pentru mielom multiplu, administrarea de interleukină-2 la pacienții cu HIV, encefalopatia hipertensivă, porfirie acută intermitentă [27].

Concluzii

Scăderea acută a vederii mono- sau binoculare are o importanță majoră, cu implicații serioase pentru pacient și medic, necesitând o abordare completă din punct de vedere clinic, paraclinic și terapeutic. În majoritatea cazurilor, scăderea bruscă a vederii apare în cadrul stroke-ului ocular prin ocluzia arterei centrale a retinei sau a unui ram al acesteia, ocluzia venelor, ocluzia vaselor nervului optic, sau în cadrul unor procese demielinizante ale nervului optic. Diagnosticarea rapidă a afecțiunii oculare prin investigațiile clinice și paraclinice adecvate duce la tratarea promptă, cu scăderea riscului de complicații, dar impune în multe cazuri și măsuri preventive.

Referințe bibliografice

1. The International Classification of headache disorders, 2nd edition. *Cephalalgia*. 2004;24(Suppl 1):1-160; 3rd edition. *Cephalalgia*. 2013;33(9):629-808.
2. Turgay Dalkara, Nozari Ala, Moskowitz Michael A. Migraine aura pathophysiology: the role of blood vessels and microembolisation. *The Lancet Neurology*. 2010;9(3):309-317.
3. Dodick DW. Review of comorbidities and risk factors for the development of migraine complications (infarct and chronic migraine). *Cephalalgia*. 2009;29:7-14.
4. Goadsby PJ. Recent advances in the diagnosis and management of migraine. *BMJ*. 2006;332:25-9.
5. Hanspeter Killer E, Forrer Andreas, Flammer Josef. Retinal vasospasm during an attack of migraine. *Retina*. 2003;23(2):253-254.
6. Digre Kathleen B, et al. Amaurosis fugax associated with antiphospholipid antibodies. *Annals of neurology*. 1989;25(3):228-232.
7. Poole CJ, Ross Russell RW. Mortality and stroke after amaurosis fugax. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1985;48(9):902-905.
8. Smit Roland LMJ, Baarsma G. Seerp, Koudstaal Peter J. The source of embolism in amaurosis fugax and retinal artery occlusion. *International ophthalmology*. 1994;18(2):83-86.
9. Schwartz Richard B. Hyperperfusion encephalopathies: hypertensive encephalopathy and related conditions. *The neurologist*. 2002;8(1):22-34.
10. Hayreh Sohan Singh. Role of nocturnal arterial hypotension in the development of ocular manifestations of systemic arterial hypertension. *Current opinion in ophthalmology*. 1999;10(6):474-482.
11. Uchiyama Naoyuki, et al. Improved cerebral perfusion and metabolism after stenting for basilar artery stenosis: technical case report. *Neurosurgery*. 2001;48(6):1386-1392.
12. Kennedy James, et al. Fast assessment of stroke and transient ischaemic attack to prevent early recurrence (FASTER): a randomised controlled pilot trial. *The Lancet Neurology*. 2007;6(11):961-969.
13. Labat-Robert J, Pouliquen Y, Robert L. Eye connective tissues: cornea and vitreous body. *Biologie aujourd'hui*. 2011;206(2):145-160.
14. Tozer Kevin, Johnson Mark W, Sebag J. II. C. Vitreous Aging and Posterior Vitreous Detachment. *Vitreous*. New York: Springer, 2014;131-150.
15. Singh Arun D, Turell Mary E, Topham Allan K. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology*. 2011;118(9):1881-1885.
16. Smiddy William E. Central retinal vein occlusion. *Ophthalmology Review: A Case Study Approach*. 2011;141.

17. Weng Christina Y, et al. Visual and anatomical outcomes of macular epiretinal membrane peeling after previous rhegmatogenous retinal detachment repair. *Retina (Philadelphia)*, 2014.
18. Raftopoulos Rhian, et al. OCT, Visual Function and MRI Measures in Acute Optic Neuritis: Baseline Data from a Clinical Trial (P2. 255). *Neurology*. 2014;82(Supplement 10):P2-255.
19. Hernández Y, et al. Visual Disorders in Optic Neuromyelitis: Report of Two Cases. *J Clin Exp Ophthalmol*. 2013;3:2.
20. Kanski Jack J, Bowling Brad. Synopsis of Clinical Ophthalmology. Elsevier Health Sciences, 2012.
21. Barnard Simon, PFCOFDDC IP. Other Optic Nerve Conditions;2013.
22. Nanji Afshan A, et al. Nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy in a child with optic disk drusen. *Journal of American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. 2012;16(2):207-209.
23. Wang Yan, et al. A novel rodent model of posterior ischemic optic neuropathy. *JAMA ophthalmology*. 2013;131(2):194-204.
24. Schoenfeld Mircea Ariel, et al. Neural correlates of hysterical blindness. *Cerebral Cortex*. 2011:bhr026.
25. Sawaya R, et al. Reversible homonymous hemianopia secondary to occipital lobe seizures. *Seizure*. 2014;23(10):915-917.
26. Gonsalves Wilson I, et al. Visual Loss in Early-Stage Chronic Lymphocytic Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(17):e280-e282.
27. Palestine Alan G, et al. Ophthalmic involvement in acquired immunodeficiency syndrome. *Ophthalmology*. 1984;91(9):1092-1099.

Clinical presentation, diagnosis and treatment of primary hypothyroidism including statins

*G. Bezer, L. Vudu, C. Dumanschi, L. Simionov

Department of Endocrinology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: ipgalina@mail.ru. Manuscript received December 16, 2014; accepted April 05, 2015

Abstract

Background: Thyroid disorders are an actual problem of contemporary medicine. Hypothyroidism represents the insufficiency of thyroid to secrete thyroid hormones in necessary quantities for human body. Primary hypothyroidism is the most common endocrine disease. Although the diagnosis and treatment of hypothyroidism is often considered simple, there are large numbers of people with this condition who are suboptimally treated. We are very concerned that some patients with and without thyroid disease are being inappropriately diagnosed and managed, using levothyroxine and other thyroid hormones, in ways which compromise patient's safety. Hypothyroidism has multiple etiologies and manifestations. Appropriate treatment requires an accurate diagnosis and is influenced by coexisting medical conditions. Clinical symptoms of hypothyroidism are nonspecific and may be subtle, especially in older persons. Diagnosis and treatment of hypothyroidism is often considered simple and is mostly carried out in a primary care setting. However, studies continue to show problems in the management of this condition. The dangers of statin use in hypothyroid patients have been illustrated and the necessity for appropriate biochemical monitoring has been emphasized.

Conclusions: Statin therapy is safe and effective when patients are appropriately diagnosed, educated, and followed up. Statins can be cautiously reintroduced once a euthyroid state has been established in patients who developed statin-induced myopathy while hypothyroid.

Key words: hypothyroidism, thyroid, statin therapy.

Tabloul clinic, diagnosticul și tratamentul, inclusiv cu statine a hipotiroidiei primare

Introducere

Hipotiroidia este una dintre cele mai frecvente afecțiuni tiroidiene, cu prevalență dominantă la sexul feminin. Comun tuturor formelor de hipotiroidie este sindromul complex, determinat de lipsa sau deficitul acțiunii hormonilor tiroidieni asupra diverselor metabolisme, aparate și sisteme. Conform datelor literaturii de specialitate mondiale, de la 3 până la 5% din populație suferă de hipotiroidie [4, 5]. Frecvența hipotiroidiei neonatale este de 1:2700-1:5000, pe când raportul sexelor (F:B) este de 1:1 în hipotiroidia centrală și de 7:1 în cea primară [7]. În grupul de femei mai în vârstă, prevalența tuturor formelor de hipotiroidie poate ajunge până la 12% [12].

În Republica Moldova, în ultimele decenii, a fost semnalată o creștere evidentă a tuturor bolilor endocrine, inclusiv a hipotiroidiei. Procentul tiroiditei autoimune cu hipotiroidie constituie 1,5-4,2% [1]. Tiroidita autoimună se poate asocia

cu alte boli autoimune realizând atingeri primare multiple ale glandelor endocrine: ooforită, sindromul Schmidt, orhită, pancreatită. Afectarea tiroidei se răsfrânge în modul cel mai negativ asupra stării organismului și a calității vieții pacientului, se dezvoltă dereglări ale tuturor proceselor metabolice, în special crește riscul de evenimente cardiovasculare. Datele din literatura de specialitate relevă faptul că la pacienții cu hipotiroidie se pot dezvolta diverse dereglări ale sistemului cardiovascular, întâi de toate, modificările generate de creșterea colesterolului, a lipidelor cu densitate joasă și a trigliceridelor [5, 11]. Consecințele majore ale implicării aparatului cardiovascular în desfășurarea evolutivă a insuficienței tiroidiene sunt: ateroscleroza coronariană, cardiopatia ischemică, tulburările de ritm și conducere, hipertensiunea arterială [3].

Conform unor studii epidemiologice, prevalența de hipotiroidie subclinică ajunge la 10-12%. Hipotiroidia subclinică,

în cele mai multe cazuri, nu are manifestări evidente, care ar permite să fie suspectată. De foarte multe ori, hipotiroidia decurge sub „masca” numeroaselor patologii somatice, ginecologice și a unor boli endocrine. În conformitate cu multe studii prospective, hipotiroidia subclinică are consecințe destul de grave [6, 12].

Un studiu, efectuat pe un grup de paciente din Rotterdam (cu hipotiroidie subclinică), a relevat faptul, că riscul de ateroscleroză a fost de 1,7 ori mai mare, iar cel de infarct miocardic acut - de 2,3 ori mai mare, comparativ cu populația generală [5].

Apare întrebarea cu privire la utilizarea pe scară largă a studiilor hormonale la persoanele, care nu prezentau nicio acuză. Asociația Americană Tiroidiană (2000), recomandă realizarea unui studiu de screening al valorilor TSH pentru toți adulții de peste 35 de ani, cu un interval de 5 ani [10]. Autorii justifică necesitatea de screening al valorilor TSH, care îndeplinește criteriile generale de screening populațional: hipotiroidia manifestă, inclusiv hipotiroidismul subclinic cu efecte negative asupra sănătății. Hipotiroidismul subclinic are tendința de a trece în hipotiroidism manifest, în special la pacienții cu anticorpi tiroidieni. În plus, hipotiroidismul subclinic poate fi asociat cu hipercolesterolemia reversibilă pe fundal de terapie de substituție, mai ales în cazurile în care nivelul de TSH este mai mare de 10 mUI/l. La marea majoritate a pacienților, hipotiroidismul subclinic este însoțit de o serie de simptome reversibile, inclusiv tulburări cognitive. Determinarea TSH este un test exact, disponibil pe scară largă, de încredere și relativ ieftin, folosit pentru a diagnostica orice disfuncție tiroidiană.

Studiul efectuat de M. D. Danese și colab. [24], a apreciat eficiența economică a screening-ului hipotiroidismului la adulți, luând în considerație costul procedurii și beneficiile economice pentru indicația precoce a levotiroxinei. Ca urmare, s-a constatat că raportul cost-eficacitate al acestui screening nu este semnificativ diferit de cel conform cu standardul adoptat în diagnosticul hipotiroidismului primar. Astfel, potrivit pieței sistemelor de testate a nivelului TSH din Anglia cu 59 de milioane populație, anual se produc aproximativ 9-10 milioane de teste pentru aprecierea nivelului acestui hormon

[23]. De remarcat faptul că până în prezent, în situația în care screening-ul pentru hipotiroidism la adulți nu a fost implementat, determinarea TSH este testul hormonal de elecție. Recent au fost publicate rezultatele studiului NHANES – III [8], care a inclus 17 353 de locuitori din Statele Unite, cu vârsta mai mare de 12 ani. Au fost excluși din studiu toți pacienții cu boli tiroidiene (gușă, hipotiroidism etc.), care au administrat medicamente cu acțiune asupra funcției tiroidiene, androgeni și estrogeni, precum și femeile însărcinate. În această populație de referință, formată din 13 344 de oameni, nivelul mediu al TSH a fost de 1,5 mUI/l (95% 1,46-1,54 mUI/l). Astfel, norma (SUA regiune de asigurare normală cu iod) nivelul mediu al TSH este de 95% de probabilitate, situat între 1,46 și 1,54 mUI/l.

Tabloul clinic: hipotiroidismul poate afecta toate sistemele de organe, iar aceste manifestări sunt, în mare măsură, independente de dereglarea de bază, dar reprezintă un anumit grad al deficienței de hormoni tiroidieni. Deficitul hormonal tiroidian determină modificări la nivelul tuturor țesuturilor și sistemelor: sistemul nervos, tegumente și fanere, mușchi și oase, cord și vase, sistemul hematopoietic, tractul gastro-intestinal sau funcția de reproducere. Hipotiroidismul poate lua diferite aspecte în raport cu intensitatea scăderii secreției tiroidiene, de la hipotiroidismul oligosimptomatic, până la mixedem, cu un tablou clinic sever și complet. Hipotiroidismul frust oligosimptomatic, întâlnit la femeia adultă, se instalează lent, având o simptomatologie polimorfă: oboseală, scăderea capacității de muncă, somnolență, depresie, anorexie, constipații. Alte manifestări clinice ar fi: scăderea toleranței la frig, tendința de creștere în greutate, datorată retenției hidrice, infiltrarea tegumentelor, în special la nivelul feței, unde apar edeme subpalpebrale. Tegumentele sunt uscate, aspre, părul își pierde luciul, devine friabil, căzând cu ușurință (în special treimea externă a sprâncenelor), iar edemul laringeal produce o îngroșare a vocii.

Cauzele hipotiroidiei primare pot fi: congenitale, agenezia tiroidiană, ectopia tiroidiană – mai frecvente la sexul feminin, ceea ce reprezintă aproximativ 75% din cauzele de hipotiroidie congenitală, tulburări de hormonosinteză, constituind 10-15% din cazurile de hipotiroidism congenital și reprezen-

Tabelul 1

Consecințele deficitului de hormoni tiroidieni asupra diverselor aparate și sisteme [11]

Sistemul de organe	Manifestări clinice
Tegumente și fanere	Infiltrație mucoasă a tegumentelor, a mucoaselor, păr uscat, unghii striate
Aparat cardiovascular	Debit cardiac redus, bradicardie, blocuri atrio-ventriculare sau de ramură, manifestări coronariene (angor), insuficiență cardiacă
Aparat digestiv	Macroglosie, peristaltism intestinal redus, constipație, hipotonie a vezicii biliare, calculoză biliară
Sistem nervos	Încetinirea funcțiilor intelectuale, „găuri de memorie”, sindroame depresive, parestezii ale extremităților, infiltrare mucoasă a fibrelor musculare
Sistem muscular	Atrofie musculară cu infiltrare mucoasă a mușchilor (cu aspect pseudoatletic), crampe musculare dureroase.
Sistem osteoarticular	Poliartralgii (reumatism hipotiroidian), creșterea densității osoase, balonizarea șei turcești.
Sistem endocrin	Deficit suprarenalian, modificări hipofizare, afectare gonadică. Stimularea TRH duce frecvent la apariția unei hiperprolactinemii. La femeie apar anomalii ale ciclului menstrual cu amenoree, menoragii cu deficit luteal, sterilitate, galactoree. La bărbat se notează frecvent tulburări ale dinamicii sexuale până la impotență și alterări ale spermatogenezei.

tând deficite enzimatiche înăscute ale sintezei hormonilor tiroidieni, carența severă de iod, administrarea de I^{131} , blocaj prin anti-tiroidieni de sinteză (ATS), administrate femeilor gravide. Obținută postnatal: tiroidită autoimună – variantă atrofică, tiroidectomia chirurgicală, distrugerea tiroidei prin I^{131} , blocarea medicamentoasă (ATS, perclorat, litiu, excesul de iod, amino-glutetimida, etionamida, sulfamide, nitroprusiatul de sodiu). În cele mai multe cazuri de hipotiroidism, nu este prezentă o cauză specifică. Astăzi, se consideră că hipotiroidismul este secundar unei reacții autoimune, iar dacă este prezentă gușa, se vorbește de tiroidită (Hashimoto).

Forma tipică a hipotiroidismului: înmănușează toate sau majoritatea manifestărilor descrise anterior. În forma sa cea mai severă, realizează tabloul definit impropriu prin termenul de „mixedem” sau mai corect, „hipotiroidie gravă cu visceralizări”. Tiroida este, de obicei, nepalpabilă. Uneori, în carențele iodate severe, tulburări ale hormonosintezei, unele forme iatrogene, tiroidita autoimună de tip Hashimoto, se semnaleză gușa.

Forme inițiale fruste ale hipotiroidismului:

- anomalii biologice fără semne clinice : forma infraclinică cu TSH crescut și FT3, FT4 normale sau ușor scăzute;
- astenie cronică matinală;
- scăderea memoriei („găuri de memorie”), scăderea randamentului intelectual;
- paretezii în extremități, crampe musculare;
- digestie lentă, flatulență, constipație;
- lipsă de îndemânare a mișcărilor fine ale mâinilor;
- căderea părului;
- edeme palpebrale matinale, tegumente uscate;
- hipoacuzie, scăderea timbrului vocii;
- creșterea în greutate neexplicată.

Forme paucisimptomatice și atipice ale hipotiroidismului:

Forme cardiace: tulburări de ritm (bradicardie sinusală, blocuri atrio-ventriculare paroxistice sau permanente, blocuri de ramură incomplete sau complete, alte tulburări de ritm ce apar mai frecvent la debutul terapiei substitutive), manifestări cardiace: angor de efort, insuficiență cardiacă globală cu cord mare, debit cardiac foarte mic, epanșament pericardic.

Forme neuropsihice: cu „încetinire intelectuală”, „găuri de memorie”, stări depresive, uneori cu bufeuri de excitație. În forma foarte gravă se ajunge la coma mixedematoasă.

Forme hematologice: anemie normo- sau hipocromă, sideropenică, normo- sau macrocitară, pseudo-biermeriană.

Forme digestive: constipație, megacolon, sindrom edematoascitic, hepatomegalie, depilare, tulburări de comportament, paloare.

Forme zise „endocrine”: afectare suprarenaliană (deficit), hipofizară (mărire de volum a hipofizei, balonizare selară, hiperprolactinemie), gonadică (amenoree, galactoree, spaniomenoree, sterilitate, oligospermie, impotență), pancreatică (diabet zaharat sau manifestări hipoglicemice).

Anomaliile metabolice sunt constante. **Metabolismul glucidic:** curba hiperglicemiei provocate este aplătizată, normală sau de tip scădere a toleranței la glucoză, în funcție de asocierea sau nu a unei afectări B-insulare.

Metabolismul lipidic: scăderea catabolismului explică hiperlipidemia și hipercolesterolemia. Cresc LDL. La hipotiroidiile severe cresc și VLDL și trigliceridele din cauza depresiei activității lipoproteinlipazei. HDL au concentrații variabile.

Metabolismul proteic: se notează o depresie a sintezei proteinelor hepatice, dar și a catabolismului lor. Se reduce transformarea carotenului în vitamina A. Carotenemia crescută explică tenta gălbuie. Se reduce *clearance*-ul metabolic al acidului uric, cu hiperuricemie observată. Scade masa proteică musculară. Apar anomalii în sinteza miozinei ce pot explica anomalii ale contractilității miocardice.

Metabolismul fosfocalcic: crește absorbția digestivă a calciului, crește acreția osoasă și se reduce osteoliza, determinând o creștere a densității osoase. Scad hidroxiprolina și osteocalcina. Bilanțul calcic este pozitiv.

Metabolismul energetic: consumul de oxigen este redus. Scade metabolismul bazal, apare hipotermia. Hipometabolismul general explică astenia fizică, intelectuală și sexuală a bolnavului, o oarecare indiferență pentru orice se petrece în jurul său, scăderea memoriei, a spiritului de inițiativă, a atenției. Somnolența, frilozitatea, intoleranța la frig, încetinirea schimburilor respiratorii, bradicardia, scăderea motricității intestinale traduc starea hipofuncțională generală din hipotiroidie.

Diagnosticul trebuie evocat clinic pe baza anamnezei și a examenului atent al bolnavului. Algoritmul diagnostic începe cu dozarea TSH și a hormonilor tiroidieni (T3, T4, FT3, FT4). În hipotiroidia primară, TSH este crescut, cu T3, T4 scăzute. TSH răspunde la tesul TRH.

Testele care apreciază răsunsetul metabolic și tisular sunt de tip hipotiroidian în toate formele: metabolismul scăzut, reflexograma alungită, colesterolul și alte fracții lipidice crescute, creatinfosfochinaza crescută, hidroxiprolina scăzută, timpi sistolici alungiți, anemie de tip macrocitar.

Radioiodocaptarea și scintigrama sunt uneori necesare mai ales pentru stabilirea etiologiei. Adesea captarea este absentă sau foarte scăzută, nepermițând efectuarea scintigrafiei. Uneori captarea este crescută (carența iodată, tulburări ale hormonosintezei). Determinarea titrului anticorpilor anti-tiroidieni (anticorpi TPO, anticorpi TG) este necesară atunci când se suspectează originea autoimună. Iodemia totală și ioduria pe 24 de ore crescute indică o supraîncărcare iodată de origine exogenă.

O atenție deosebită trebuie acordată hipotiroidismului subclinic, formelor fruste de hipotiroidism, având în vedere frecvența mare a acestuia, în special la femeile în vârstă, ceea ce justifică screening-ul pentru diagnostic la aceste categorii de vârstă.

Screening-ul pentru hipotiroidism este justificat, de asemenea, la femeile cu niveluri de colesterol și LDL-colesterol crescute. Screening-ul trebuie efectuat și la femeile care acuză astenie și depresie, menstuații anormale, sindromul endocrino-ginecologic fiind o componentă importantă a hipotiroidismului.

Tratamentul

Până la mijlocul sec. XX, tratamentul hipotiroidismului se

efectua cu extracte tiroidiene animaliere. Aceste medicamente, care nu au fost capabile să repete cu exactitate conținutul de hormoni tiroidieni, nu au putut asigura în mod adecvat eutiroidia stabilă, iar realizarea scopului propus a fost împiedicată de o serie de probleme semnificative. Apariția tratamentului cu hormoni tiroidieni sintetici a schimbat fundamental tratamentul patologiei tiroidiene. Terapia cu levotiroxină în hipotiroidism este considerată „standardul de aur» [13], existând mai multe motive pentru această afirmație:

- diagnosticul ușor al hipotiroidismului (în cele mai multe cazuri, doar determinarea nivelului TSH);
- singura funcție vitală a glandei tiroide este producerea de hormoni tiroidieni;
- ritmul circadian al secreției de hormoni tiroidieni este aproape absent și, prin urmare, consumul zilnic de levotiroxină, în aceeași doză stimulează ușor producția endogenă;
- necesitatea corpului uman pentru hormoni tiroidieni (situații rare în care se dorește modificarea dozei selectate de levotiroxină sunt exprimate prin dinamica de greutate corporală, sarcină și administrarea în paralel a unor medicamente);
- biodisponibilitate ridicată de levotiroxină prin administrare perorală;
- timp de înjumătățire de levotiroxină în plasmă (aproximativ 7 zile);
- disponibilitatea testului exact (nivelul TSH), care reflectă pe deplin calitatea de compensare a hipotiroidismului pentru o perioadă lungă de timp (aproximativ 2-3 luni);
- prețul relativ mic al levotiroxinei;
- pacienților care administrează doze potrivite de levotiroxină, li se recomandă explorarea nivelului TSH în fiecare an.
- calitatea vieții la pacienții cu hipotiroidism, care administrează permanent levotiroxină, nu se deosebește de cel al pacienților fără hipotiroidism.

Ultima poziție este confirmată de practica clinică pe termen lung, precum și de studii prospective pe termen lung.

Astfel, într-un studiu populațional al lui K. Peterson [9], care a durat timp de 12 ani (1968-1969 până în 1980-1981), au fost incluse 1462 de femei de vârstă mijlocie, 29 dintre ele (1-28 de ani) cu hipotiroidie primară, au administrat terapie de substituție cu levotiroxină. Ca rezultat, s-a demonstrat că durata și calitatea vieții, precum și riscul de boli majore, care determină aceste rate, nu au fost diferite în cazul pacienților cu hipotiroidism, tratați cu levotiroxină, și în grupul de control (n = 968). Tratamentul hipotiroidismului, indiferent de forma sa clinică, este substitutiv prin administrarea de hormoni tiroidieni. Eficacitatea terapiei se apreciază după starea clinică, normalizarea statusului hormonal și a parametrilor, indicând acțiunea hormonilor tiroidieni la nivelul țesuturilor receptoare. De obicei, tratamentul durează toată viața. Pentru terapia de substituție a hipotiroidismului se indică levotiroxina.

• La adulți eutiroidia se realizează cu indicarea levotiroxinei la o doză de 1,6 mcg/kg de greutate corporală pe zi. Cererea de levotiroxină este semnificativ mai mare la copii și

poate fi până la 16 mcg/kg pe zi. Doza inițială de medicament este determinată individual, în funcție de vârstă, greutate corporală și prezența bolilor cardiovasculare concomitente.

- Necesitatea de levotiroxină scade odată cu vârsta. Unii vârstnici pot administra mai mult de 1 mcg/kg pe zi levotiroxină.
- Necesitatea de levotiroxină crește în timpul sarcinii. Evaluarea funcției tiroidiene la gravide, prin TSH și T4 liber, se recomandă în fiecare trimestru al sarcinii.
- Scopul terapiei de substituție a hipotiroidismului primar este de a menține valorile TSH în intervalul de 0,5-1,5 mUI/l.
- Nivelul TSH variază lent după o schimbare a dozei de levotiroxină. Nivelul TSH nu va fi examinat mai devreme de 6-8 săptămâni după schimbarea dozei.
- Tratamentul trebuie să fie progresiv, mai ales la vârstnici și în caz de hipotiroidie severă. Se începe cu doze zilnice de 25 mcg levotiroxină și se urcă treptat, la interval de 7-14 zile, la doze de 50, 75, 100, 125 mcg etc., până ce se atinge starea de eutiroidie. În cazul unui deficit total tiroidian, doza necesară la adult este de 150-200 mcg/zi.
- La subiecții batrâni și coronarieni este recomandabilă administrarea concomitentă de β-blocante, coronarodilatatoare, blocante ale canalelor de calciu. În hipotiroidia severă se face concomitent și terapie cortizonică (în doză substitutivă).
- În mod ideal, levotiroxina se administrează pe stomacul gol, cu 30 minute înainte de masă, în același timp, și cel puțin la fiecare 4 ore înainte sau după, alte medicamente sau vitamine.
- Se va ține cont și de posibilele interacțiuni medicamentoase: hormonii tiroidieni potențiază acțiunile antivitaminice K, antidepresivele triciclice, reduc acțiunea hipoglicemiantelor. Acțiunea lor este redusă de colestiramină. Se notează potențializarea reciprocă cu antidepresive triciclice.

Uneori substituția hormonală cu levotiroxină nu normalizează până la sfârșit metabolismul lipidic, dereglările sistemului nervos și ale sferei psihoemoționale.

Dacă terapia de substituție hormonală nu conduce la normalizarea lipidelor plasmatiche, pacienților cu hipotiroidie li se indică terapia hipolipemiantă [15].

Medicamentele cele mai perspective pentru corectarea metabolismului lipidic sunt, în prezent, inhibitorii enzimei HMG-CoA reductaza (statinele) [25].

Statinele, concomitent cu efectul hipolipemiant, posedă o serie de efecte pleiotrope: antiinflamatorii, antioxidante și antitrombotice.

Hipotiroidismul este o cauză bine cunoscută de dislipidemie secundară, iar legătura cu ateroscleroza a fost cunoscută de 125 de ani. Niveluri circulante ridicate ale lipoproteinei B100, care conțin lipoproteine, lipoproteine cu densitate foarte joasă (VLDL) și lipoproteine cu densitate joasă (LDL), sunt anomaliile principale ale lipidelor observate la pacienții cu hipotiroidism [14, 15].

Hipotiroidismul este, prin urmare, un factor de risc pentru miopatia indusă de statine (SIM) [15, 16] și chiar dureri

musculare spontane 5-8, crampe, și slăbiciuni - acestea sunt caracteristicile tipice clinice, indiferent de alți factori. Creșterea riscului poate fi semnalată la utilizarea concomitentă a fibraților inhibitori ai citocromului P-450 hepatic, traumatisme majore, precum și intervenții chirurgicale. Rabdomioliza, complicația cea mai de temut [19] și cu potențial letal, este foarte rar cauzată de hipotiroidism [17, 18]. Datele din trialuri clinice arată că rata de miopatie indusă de statine în populația generală este de 0,1% - 0,2%. Înainte de inițierea tratamentului cu hipolipemiant, trebuie de evaluat statutul glandei tiroide, și pentru pacienții, care administrează tratament cu statine, funcția tiroidiană trebuie evaluată ori de câte ori simptomele de miopatie sau rezistența la terapie este observată [16].

Hipotiroidismul, chiar și atunci când este avansat, ar putea fi aproape asimptomatic. Deaceia, utilizarea de statine la pacienții cu hipotiroidie este periculoasă. Deși mecanismul biochimic al miopatiei din hipotiroidie și cel indus de statine rămâne neclar, hipotiroidia crescând riscul de miopatie indusă de statine [15, 16]. În ceea ce privește mecanismul de miopatie din hipotiroidie, unii au emis ipoteza că sunt responsabile defectele de glicogenoliză sau insuficiența de oxidare mitocondrială [17]. Probabil, aceste mecanisme sunt sinergice, când statinele sunt prescrise pacienților hipotiroidieni. În general, miopatia este mai probabil să apară la doze mari de statine, care se administrează preferențial pacienților cu sindrom coronarian acut, supuși angioplastiei coronariene [21].

Deși toți pacienții ar trebui să fie evaluați pentru hipotiroidism și, dacă este necesar, tratați pentru a atinge o stare de eutiroidie înainte de începerea tratamentului cu statine, realitatea nefericită este că mulți pacienți nu sunt evaluați astfel. Pentru pacienții la care răspunsurile biochimice la terapia hipolipemiantă sunt suboptimale, ar trebui reevaluați pentru a vedea dacă statusul tiroidian a fost, de fapt, studiat anterior. Mai mult, în cazul în care dislipidemia unui pacient se înrăutățește fără cauză evidentă, neașteptat se dezvoltă miopatie indusă de statine, trebuie luat în considerare hipotiroidismul.

De asemenea, testarea biochimică este absolut necesară la pacienții cu posibile simptome miopatică. Ghidul ATP III (*Adult Panel III*) din *National Cholesterol Education Program* 13 și Colegiul american de cardiologie ACC/AHA 11 recomandă ca determinarea creatinfosfokinazei (CK) să se stabilească înainte de inițierea terapiei cu statine, care va fi reevaluată dacă pacienții vor raporta vreun simptom muscular. Măsurări frecvente ale CK și transaminazelor ar putea fi indicate pacienților, care au administrat doze maxime de medicamente și cei care primesc tratament combinat, de obicei, cu fibrați [21, 22].

În cele din urmă, statinele nu sunt contraindicate pacienților, care au dezvoltat miopatie indusă de statine [20, 22]. Cu toate acestea, trebuie indicate cu precauție, iar pacienții trebuie să fie întotdeauna instruiți ca în cazul, în care durerile

musculare sau simptomele asemănătoare răcelii se dezvoltă, statinele trebuie întrerupte imediat și de contactat medicul.

Referințe bibliografice

1. Anestiadi Z. Cu privire la epidemiologia afecțiunilor glandei tiroide în Republica Moldova. Materialele conferinței științifice a colaboratorilor și studenților, 1998;190.
2. Smith TJ, Bahn RS, Gorman CA. Connective tissue, glycosaminoglycans, and diseases of the thyroid. *Endocr Rev.* 1989;10:366-391.
3. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl Med J.* 2001;344:501-509.
4. Saravanan P, Chau WF, Roberts N, et al. Psychological well-being in patients on 'adequate' doses of l-thyroxine: results of a large, controlled community-based questionnaire study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002;57:577-85.
5. Hak AE, Pols HAP, Visser TJ, et al. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in older women: the Rotterdam study. *Ann. Intern. Med.* 2000;132:270-278.
6. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, et al. *Arch Intern Med.* 2000;160:526-534.
7. Mandel SJ, Brent GA, Larsen PR. Levothyroxine therapy in patients with thyroid disease. *Ann Intern Med.* 1993;119:492-502.
8. Hollowell JG, Staehing NW, Flanders WD, et al. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:489-499.
9. Peterson K, Bengtsson C, Lapidus L, et al. *Arch Intern Med.* 1990;150:2077-2081.
10. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, et al. *Arch Intern Med.* 2000;160:1573-1575.
11. Ghid de diagnostic și tratament în bolile endocrine. Eusebie Zbranca. București, 146-148.
12. Фадеев ВВ. Современные концепции диагностики и лечения гипотиреоза. *Проблемы эндокринологии.* 2004;50(2).
13. Фадеев ВВ. Профессиональный взгляд на проблему гипотиреоза. *Лечащий врач.* 2005;45(5):32512.
14. Cappola RA, Ladenson PW. Hypothyroidism and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2438-44.
15. Hung YT, Yeung VTF. Hypothyroidism presenting as hypercholesterolaemia and simvastatin-induced myositis. *H K Med J.* 2000;6:423-4.
16. Hamilton CI. Statin-associated myopathy. *Med J Aust.* 2001;175(9):486-9.
17. Barahona MJ, Mauri A, Sucunza N, et al. Hypothyroidism as a cause of rhabdomyolysis. *Endocr J.* 2002;49(6):621-3.
18. Kisakol G, Tunc R, Kaya A. Rhabdomyolysis in a patient with hypothyroidism. *Endocr J.* 2003;50(2):221-3.
19. Lindner A, Zierz S. Rhabdomyolysis and myoglobinuria. *Nervenarzt.* 2003;74(6):505-15.
20. Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *JAMA.* 2003;289(13):1681-90.
21. Pasternak RC, Smith SC, Bairez-Merz CN, et al. ACC/AHA/NHLBI clinical advisory on the use and safety of statins. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(3):567-72.
22. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285:2486-97.
23. O'Reilly D. *BMJ.* 2000;1332-1334.
24. Danese MD, Ladenson PW, Meinert CL, et al. Clinical review 115: effect of thyroxine therapy on serum lipoproteins in patients with mild thyroid failure quantitative review of the literature. *J Clin. Endocrinol Metab.* 2000;85:2993-3001.
25. Топчий НВ. Новые доступные средства в ликвидации нарушений липидного обмена. *RMJ.* 2011.

Some epidemiological aspects of diabetes at international and national levels

*S. Stratulat¹, L. Spinei²

¹Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry
Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: silvia.stratulat@usmf.md. Manuscript received February 24, 2015; accepted April 05, 2015

Abstract

Background: Diabetes has become the epidemic that can't be neglected anymore. In 2010, the estimated world adult population that had diabetes was 285 million, while in 2013 this number has increased to 382 million. In the case of a growing trend, in 2035 it is estimated that approximately 592 million people will carry this disease. It is thought that in 90% of all the cases there is type 2 diabetes. With an increase of the incidence, the disease prevalence, mortality, serious complications, inability to work with major health care expenses and a loss in quality of life of the patient, the type 2 diabetes has become a problem of a great importance for an individual, medicine and society. This study represents a systematic analysis of the literature by estimating in the epidemiological impact of the diabetes, presenting some aspects correlated with the incidence, prevalence of the disease and the mortality, enumerating the risky factors considered to be capable of influencing the dynamic of these indicators.

Conclusions: In conclusion, our review highlights a significant epidemic of diabetes at national and international levels with a rapid increase in prevalence over the last two decades. It is evident that several modifiable and non-modifiable risk factors play an important role in the pathogenesis of diabetes. Hence there is a need for urgent preventive and curative strategies to be implemented.

Key words: diabetes type 2, incidence, prevalence, mortality, risk factors.

Unele aspecte epidemiologice ale diabetului zaharat la nivel intrernațional și național

Introducere

Diabetul zaharat (DZ) reprezintă la nivel mondial o extrem de importantă problemă de sănătate publică prin prevalența și mortalitatea crescută, complicațiile deosebit de severe generate de boală, incapacitatea de muncă indusă și, nu în ultimul rând, costuri financiare foarte mari pentru sistemul de sănătate [24, 25, 69].

Dacă în 2010 se estima că 285 milioane de persoane din populația adultă la nivel mondial aveau diabet, în 2013 această cifră a înregistrat deja 382 de milioane. IDF estimează că pentru 2014 această cifră a atins 387 de milioane, prevalența fiind de 8,3%, menționând că 46,3% din cazuri rămân nediagnosticate [25, 25a]. În caz că această tendință de creștere va continua, în 2035 vor avea diabet aproximativ 592 de milioane de persoane. Se consideră că 90% din cazuri îi revine diabetului zaharat de tip 2 [65].

La fiecare 10 secunde sunt diagnosticați 2 pacienți diabetici. Într-un an, această cifră atinge 7 milioane. La fiecare 10 secunde decedează un diabetic. Într-un an această cifră atinge 4 milioane. Până în prezent numărul pacienților cu diabet zaharat s-a dublat la fiecare 12-15 ani [24].

Creșterea numărului de bolnavi se va produce din cauza înmulțirii numărului de cazuri, mai ales în țările în curs de dezvoltare, a exploziei demografice, îmbătrânirii populației, dietelor vicioase, obezității, sedentarismului.

Prevalența actuală (2013) a DZ plasează Republica Moldova în lume la o valoare moderată, de 2,77%, dar cu o creștere a prevalenței toleranței scăzute la glucoză de 10,56%. Cu toate acestea, atât incidența cât și prevalența diabetului zaharat în Moldova au înregistrat tendințe de creștere. În 2011, incidența diabetului zaharat a constituit 25,7 cazuri la 10 mii locuitori [4], în 2013 – 28,3 cazuri. Prevalența diabetului zaharat, de

asemenea, are tendință de creștere; majorându-se de la 145,5 cazuri la 10 mii locuitori în 2008, la 189,2 cazuri în 2011 și 224,8 cazuri în 2013 (CNMS, Anuar Statistic Medical 2011, 2013).

Material și metode

Acest studiu reprezintă o analiză sistematică a literaturii de specialitate cu trecerea în revistă a unor aspecte epidemiologice ale diabetului zaharat la nivel internațional și național ce țin de incidența, prevalența bolii și mortalitatea, enumerând factorii de risc considerați a fi capabili să influențeze dinamica acestor indicatori. Analizei descriptive și comparative au fost supuse 70 de articole începând cu anul 2000.

Prevalența și incidența diabetului zaharat la nivel global și național. Se consideră că epidemia de DZ tip 2 este una dintre cele mai nefaste din istoria omenirii. Deși diabetul este o boală, care se cunoaște încă din antichitate, date epidemiologice propriu-zise există începând cu prima parte a secolului XX. 30 de milioane de oameni aveau diabet în 1985, pentru ca, peste 10 ani, numărul total de bolnavi de diabet să ajungă la 135 de milioane [66]. Estimarea OMS din 2000 [30] furnizează o cifră impresionantă: 177 de milioane de persoane suferă de diabet în întreaga lume, în 2010 [24] existau 285 de milioane de diabetici.

Cele mai recente date comunicate de un grup de experți ai Federației Internaționale de Diabet (IDF) oferă o prognoză alarmantă a epidemiei diabetului. Se estimează că în lume sunt înregistrate deja 382 de milioane de persoane cu diabet, iar previziunile sunt îngrijorătoare: peste 592 de milioane până în 2035 [25]. Creșterea numărului de bolnavi se va produce din cauza înmulțirii numărului de cazuri, mai ales în țările în curs de dezvoltare [51]. Celelalte cauze se referă la explozia

demografică, îmbătrânirea populației, dietele vicioase, obezitatea, sedentarismul. Experții IDF estimează că majoritatea din cei 382 de milioane de persoane cu diabet zaharat au vârste cuprinse între 40 și 59 de ani, 80% dintre ei trăiesc în țările cu venituri mici și medii. Din numărul total de diabetici, 10% revin diabetului de tip 1, iar 90% diabetului de tip 2 [63, 65].

Până în prezent, numărul pacienților cu diabet zaharat s-a dublat la fiecare 12-15 ani [24, 25]. Topul țărilor cu cel mai mare număr de pacienți cu diabet zaharat pentru anii 2011, 2013 și estimările pentru 2035 sunt redată în tabelul 1.

OMS consideră că aceste cifre sunt cu mult mai mici decât numărul real, deoarece 30% din cazuri rămân nediate diagnosticate.

Incidența diabetului zaharat de tip 2, care reprezintă aproximativ 95% din cazuri, este în continuă creștere. Un element important, care a dus în ultimii ani la creșterea incidenței bolii, a fost reprezentat de urmărirea mai atentă a populației și de îmbunătățirea metodelor de diagnostic. Cu toate acestea, există cel puțin 30% din cazuri cu DZ tip 2 nediate diagnosticat [6, 8, 66]. În studiul *Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study* se relevă că la fiecare caz de diabet cunoscut (diagnosticat) există un caz de diabet nediate diagnosticat [66]. Date similare au fost înregistrate și de alți autori în Mexica. În alte țări, frecvența diabetului zaharat tip 2 nediate diagnosticat este și mai mare, ajungând respectiv până la 54-60% în India [41]; 61% în China [70] și 80-90% în Africa [44]. În SUA, această cifră atinge 40% [13]. Grupul de experți ai studiului NHANES III, efectuat în SUA, relevă o frecvență mărită a diabetului zaharat tip 2 nediate diagnosticat, în mediu constituind 2,7% din populația generală și 3,3-5,8% la populația intervalului de vârstă de 50-59 de ani [47]. Actualmente se consideră că 175 milioane de persoane rămân nediate diagnosticate.

Primele trei țări cu cea mai mare incidență a diabetului zaharat sunt situate în America de Nord și Caraibe: Belize (15,9%), Guyana (15,8%) și Curacao (14,5%). În același timp, această regiune prezintă și cele mai mari valori ale prevalenței de intoleranță la glucoză (IGT), cu o medie de 12% [25].

Studii epidemiologice, efectuate în diverse țări, reflectă o

creștere marcată a prevalenței diabetului zaharat în ultimii 20 de ani. În SUA, studiul NHANES relevă creșterea dublă a prevalenței DZ tip 2 pentru anii 2005-2006 (12,6%), comparativ cu 1976-1980 (5,3%) [13]. În Olanda [58], rata prevalenței a crescut de la 2,2% (1998) la 2,9% (2000); în Canada [35] de la 5,2% (1995) la 8,8% (2005); în Grecia [17] de la 8,7% (2002) – la 10,3% (2006); în Mauritius [54] de la 12,8% (1987) – la 17,9% (1998); în China [15] de la 12,2% (2002) – la 18,8% (2006). În Suedia [29], în perioada 1988-2001, prevalența diabetului zaharat tip 2 a crescut de la 2,8 la 4,4% pentru femei și de la 2,6 la 4,5% în cazul bărbaților.

Prevalența DZ diferă semnificativ în funcție de diferențele teritoriale geografice, populația evaluată, vârstă, sex, status socioeconomic și stil de viață.

Actualmente, conform datelor IDF [25], în dependență de zonele geografice, America de Nord și Caraibe sunt regiunile cu cele mai mari prevalențe, unde se înregistrează 36 755 de persoane cu diabet zaharat (11%), urmate de țările Orientului Mijlociu și Africii de Nord, cu 34 571 de persoane cu diabet zaharat (9,2%). Cu toate că în țările Pacificului de Vest se înregistrează cel mai mare număr de persoane cu diabet zaharat, prevalența fiind de 8,6%.

Primele 10 țări cu cea mai mare prevalență de diabet zaharat sunt Tokelau (37,5%), Statele Federate ale Microneziei (35%), Insulele Marshall (34,9%), Kiribati (28,8%), Insulele Cook (25,7%), Vanuatu (24%), Arabia Saudită (23,9%), Nauru (23,3%), Kuwait (23,1%) și Qatar (22,9%).

O prevalență a diabetului zaharat de peste 12% se denotă în 35 din 219 țări (16% din total), situate în special în Pacificul de Vest, precum și în regiunile Orientului Mijlociu și Africii de Nord.

Africa este considerat continentul cu cea mai mică prevalență a diabetului (4,9%). Din 48 de țări, prevalența maximă se denotă în 3: Réunion (15,4%), Seychelles (12,1%) și Gabon (10,7%), iar prevalența diabetului peste quartila superioară (6,3%) se înregistrează în 10 țări.

În Europa sunt înregistrați 56,3 mln de pacienți, ceea ce

Tabelul 1

Clasamentul țărilor după numărul pacienților cu diabet (20-79 de ani): a. 2011, 2013 și estimările pentru a. 2035 (mln)

Țările	2011 Populația cu DZ (mln)	Țările	2013 Populația cu DZ (mln)	Țările	2035 Populația cu DZ (mln)
India	50,8	China	98,4	China	142,7
China	43,2	India	65,1	India	109,0
SUA	26,8	SUA	24,4	SUA	29,7
Rusia	9,6	Brazilia	11,9	Brazilia	19,2
Brazilia	7,6	Rusia	10,9	Mexic	15,7
Germania	7,5	Mexic	8,7	Indonezia	14,1
Pachistan	7,1	Indonezia	8,5	Egipt	13,1
Japonia	7,1	Germania	7,6	Pachistan	12,8
Indonezia	7,0	Egipt	7,5	Turcia	11,8
Mexic	6,8	Japonia	7,2	Rusia	11,2

*Sursa: *Diabetes Atlas*. 5-th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2011; *IDF Diabetes Atlas*. 6th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2013.

constituie 8,5% din populația adultă. Țările cu cel mai mare număr de persoane cu diabet sunt în cea mai mare parte din vestul Europei, inclusiv Federația Rusă (10,9 milioane), urmată de Germania, Spania, Italia, Franța și Marea Britanie. Extrema superioară a prevalenței diabetului zaharat o deține Turcia cu 14,8%, urmată de Muntenegru cu o prevalență de 10,1 %, Macedonia (10,0%), Serbia (9,9%) și Bosnia și Herțegovina (9,7%). Cea mai mică prevalență a diabetului, de doar 2,4%, este estimată în Azerbaidjan [25].

În România, conform datelor publicate, erau înregistrați, la nivelul anului 2011, un număr de 803 489 de persoane cu diabet zaharat, prevalența fiind de 4,1%. Dintre acestea 52,43% erau de sex feminin, iar 47,57% de sex masculin [36]. Tot în același an au fost înregistrate 68 294 de cazuri noi, valoarea incidenței fiind de 35 863 *per* 100 000 persoane. Conform grupurilor de vârstă, populația cu diabet zaharat din România constituie 3% în grupul de 0-14 ani, 62% în grupul 15-64 de ani și 35% în grupul de vârstă de peste 64 de ani. În septembrie 2012, erau înregistrate 802 827 de persoane cu diabet (67% urban). În aceeași perioadă, au fost înregistrate 47 505 cazuri noi de diabet (aproximativ 68 000 de cazuri noi pe an). În urma publicării rezultatelor studiului PREDATORR (evaluarea prevalenței diabetului în populația adultă a României), finalizat în prima parte a anului 2014, a rezultat că prevalența reală a diabetului este de peste 11,6% (în populația aflată între 20 și 79 de ani) [36].

Tendința de creștere a diabetului zaharat nu ocolește nici Moldova. În ultimii zece ani, în Republica Moldova, s-a înregistrat o creștere de peste două ori a incidenței, prevalenței și, concomitent, a invalidizării și mortalității prin diabet zaharat. Dacă în anul 2006 au fost înregistrați 45 845 de pacienți cu diabet zaharat (8750 (19,1%) cu diabet de tip 1 și 37 095 (80,9%) cu diabet de tip 2 [4], atunci în anul 2012 și 2013 aceste valori au atins 71 588 și 79 995 de pacienți cu diabet, din ele cazuri noi diagnosticate 8954 și, respectiv, 10070.

Prevalența diabetului la nivel național, estimată la 10 mii populație pentru anii 2011, 2012 și 2013, a fost de 189,2; 201,1 și 224,8, respectiv. Incidența diabetului zaharat raportată la 10 mii populație în anul 2011, a constituit 25,7; în anul 2012 și 2013 a atins valorile de 25,2 și, respectiv, 28,37 [5].

În structura invalidității primare la adulți, cota diabetului zaharat constituie 4,6% (Republica Moldova, 2013).

Mortalitatea. Se consideră că mortalitatea este dublă la pacienții diabetici, comparativ cu cei fără diabet [22, 26, 53]. Numărul de decese, atribuite diabetului în 2010, arată o creștere de 5,5% față de estimările pentru anul 2007. Aceasta se datorează, în mare parte, creșterii de 29% a numărului de decese, cauzate de diabetul zaharat, în regiunea Americii de Nord și Caraibe, o creștere de 12% în regiunea Orientului Mijlociu și o creștere de 11% în regiunea Pacificului de Vest.

Cu referire la diabet, 50-80% din mortalitate se datorează bolilor cardiovasculare. Chiar la diagnosticul diabetului, afecțiunile asociate sunt prezente într-o pondere mare: HTA ~50%, dislipidemii ~50%, supraponderie/obezitate ~90%, boli aterosclerotice ~33% [22, 43, 57]. Estimarea numărului de decese, cauzate de diabetul zaharat, este o provocare deoarece,

pe de o parte, mai mult de o treime din țări nu dispun de date privind mortalitatea legată de diabet; pe de altă parte, statisticile subestimează numărul de decese, datorate diabetului (pondere subevaluată datorită modalității de completare a certificatelor de deces).

Aproximativ 5,1 milioane de diabetici, cu vârste cuprinse între 20 și 79 de ani, au decedat în 2013, constituind 8,4% din toate cauzele mortalității la nivel mondial în rândul persoanelor cu aceeași grupă de vârstă. Această cifră a depășit cu 11% estimările din 2011 [24, 25]. Acest număr este similar ca mărime cu indicii mortalității tuturor bolilor infecțioase și este echivalat cu un decedat la fiecare șase secunde. Aproximativ jumătate din decesele cauzate de diabet (48%) se înregistrează la persoanele cu vârsta sub 60 de ani.

Mortalitatea atribuită diabetului la vârste cuprinse între 20 și 79 de ani, variază de la 8,6% în țările din Africa, până la 15,8% în cele din regiunile Pacificului de Vest. Cea mai înaltă mortalitate diabetică a fost înregistrată în țările cu cea mai mare populație: China, India, Statele Unite ale Americii și Federația Rusă.

Există o diferență foarte mică între bărbați și femei din numărul total de decese, cauzate de diabet. Cu toate acestea, există diferențe importante în distribuția geografică a acestor decese [28, 45]. Astfel, în Orientul Mijlociu, Africa de Nord și Pacificul de Vest, rata mortalității diabetice s-a estimat într-o proporție mai mare la femei, decât la bărbați, reprezentând până la un sfert din totalul deceselor. Această disparitate poate fi din cauza ratelor mai mari de mortalitate din alte cauze la bărbați.

Factorii de risc ai diabetului zaharat tip 2 pot fi divizați în două grupuri:

- nemodificabili (predispoziția genetică, etnia, vârsta, sexul);
- modificabili, în special cei ce țin de stilul de viață și cei de mediu (alimentația hipercalorică, sedentarismul, stresul, urbanizarea, factorii socio-economici).

Apariția diabetului de tipul 2 este mult influențată de vârstă. Mai mult de jumătate dintre toți adulții cu diabet zaharat sunt cu vârste cuprinse între 40 și 59 de ani. În 2010, această categorie de vârstă număra 132 de milioane [24]. Din ei 75% erau din țările în curs de dezvoltare. În 2013, această categorie de vârstă a atins 184 de milioane. Mai mult de 80% trăiesc în țări cu venituri mici și medii [25].

Alarmant este faptul apariției diabetului zaharat tip 2 la vârste din ce în ce mai mici. Până în 2030, în țările dezvoltate, majoritatea populației cu diabet va fi în vârstă de 65 de ani sau peste, în timp ce în țările în curs de dezvoltare, cei mai mulți pacienți vor fi cuprinși în intervalul de vârstă între 45 și 64 de ani [25].

Potrivit studiului CDC, adulții cu vârsta cuprinsă între 45-64 de ani, au constituit grupul de vârstă cu cea mai mare incidență a diabetului zaharat. Cazurile noi de diabet (atât de tip 1 și tip 2) au fost distribuite astfel: 371 000 – în intervalul de vârstă 20-44 de ani; 892 000 – în cel de 45-64 de ani și 400 000 – în cel de 65 ani și mai mult.

Deși în numeroase studii este evidentă agregarea familială

în diabetul zaharat, incidența ei este variabilă atât de la etnie la etnie, cât și de la individ la individ în cadrul aceleiași etnii. Concordanța între gemenii monoziagoți este de aproape 100%, iar aproximativ 25-50% dintre cei diabetici au un istoric familial de DZ [16]. În Studiul Epidemiologic al Retinopatiei Diabetului din Wisconsin, 31% din cazurile cu diabet de tipul 2 aveau un părinte diabetic, în timp ce proporția celor cu un părinte diabetic în studiul de la Clinica Joslin a fost de 50% [31].

Mai multe studii raportează că dacă unul dintre părinți are diabet, riscul de a dezvolta această maladie este de 15%; dacă ambii părinți sunt diabetici, riscul este de 75% [14, 40].

Mulți autori susțin că obezitatea și alți factori de risc, cum ar fi consumul de alcool, tutunul, sedentarismul explică o parte substanțială de asociere dintre istoricul familial și riscul apariției diabetului zaharat [1, 59, 60, 61].

Într-un studiu de cohortă din Japonia, care a cuprins 3517 participanți, s-a urmărit pe parcursul a 7 ani relația dintre antecedentele familiale de diabet, riscul incidenței de diabet tip 2 și interacțiunea acestor variabile cu alți factori de mediu. Autorii susțin că istoricul familial de diabet zaharat a fost asociat doar cu riscul de incidență de diabet, iar aceste asociații au fost independente de alți factori de risc, cum ar fi obezitatea, rezistența la insulină, precum și alți factori ai stilului de viață [37].

Există o mare variabilitate în incidența diabetului de tip 2 în funcție de rasă/etnie. Diferențele geografice și etnice în incidența diabetului de tipul 2 pot fi luate în considerare pentru a evalua determinanții de mediu și genetici ai diabetului.

Diabetul zaharat, în special diabetul tip 2, se constată cu o frecvență crescută în cazul unor anumite grupuri etnice, cum ar fi indienii americani, populația hispanică din SUA și locuitorii insulelor din Pacific. Cea mai mare prevalență a diabetului de tipul 2 apare în rândul indienilor Pima și Papago din Arizona. Până la 50 de ani, aproximativ jumătate din această populație suferă de diabet [27, 62, 68]. Prevalența diabetului de tip 2 este de până la șase ori mai mare la persoanele de origine din Asia de Sud și de trei ori mai mare în rândul persoanelor din Africa [50, 7].

Conform Studiului *Health Survey for England*, diabetul zaharat este mai frecvent de patru ori la bărbații din Bangladesh și de trei ori la cei pakistanezi și indieni, comparativ cu bărbații din populația generală. La femei, prevalența diabetului este mai mare de cinci ori la cele din Pakistan, de trei ori la cele din Bangladesh și Caraibe, și de două ori și jumătate la cele indiene, în comparație cu femeile din populația generală [21].

Diverse studii au relevat diferențe între membrii aceluiași grup etnic, care locuiesc în medii diferite. Variabilitatea ridicată în cadrul aceluiași grup (ex. chinezii), în funcție de mediul geografic, poate fi pusă pe seama frecvențelor diferite ale diversilor factori de mediu, precum activitatea fizică sau obezitatea în fiecare dintre locații. Pe de altă parte, prevalența ridicată sau foarte ridicată a diabetului tip 2, în cazul nativilor americani și indienilor, rezultă probabil primar din interacțiunile dintre o susceptibilitate genetică ridicată la diabetul tip 2, și secundar, din prevalența ridicată a factorilor de mediu

cum ar fi obezitatea, inactivitatea fizică sau alți factori necunoscuți [46, 67].

Majoritatea studiilor demonstrează că riscul de DZ tip 2 este mai mare la persoanele obese, comparativ cu cele normoponderale [19, 23, 48]. În ultimii 10 ani, au fost obținute date concludente referitoare la riscul de diabet tip 2 conform indicilor de masă corporală (IMC). Cel mai mare dintre studii, a fost realizat timp de 14 ani: Studiul Sănătății Asistentelor (NHS). Ratele de incidență ale diabetului tip 2, ajustate la vârstă, au crescut continuu odată cu creșterea în greutate [47].

Obezitatea, în special forma abdominală, este unul dintre cei mai frecvenți factori de risc în diabetul zaharat tip 2, contribuind semnificativ la creșterea morbidității și mortalității cardiovasculare din cauza acestei boli. Autorii demonstrează rolul obezității abdominale în apariția diabetului zaharat tip 2 [20, 42, 52] și susțin că frecvența obezității ajunge la cca 85%, precedând, în cele mai multe cazuri, apariția diabetului [32]. Această asociere face parte din „sindromul metabolic” (obezitate abdominală, hipertensiune arterială, dislipidemie aterogenă; intoleranță la glucoză sau diabet zaharat tip 2; insulinorezistență și hiperinsulinemie compensatorie) [3, 9, 11].

Un studiu de meta-analiză relevă că în Europa, în care s-au constatat IMC sau raportul talie-sold crescute, obezitatea la adulții cu DZ tip 2 a fost prezentă în 50,9% și respectiv 98,6%. În Asia, obezitatea a fost prezentă în 56,1% cazuri la adulții cu DZ tip 2, criteriile fiind crescute atât pentru IMC, cât și pentru raportul talie-sold [12].

Mai multe studii susțin, că beneficiul scăderii ponderale în diabet este spectacular, iar scăderea ponderală a obezilor non-diabetici poate preveni instalarea diabetului tip 2 [20, 23, 55].

Deși studiile ecologice sugerează o relație inversă între activitatea fizică și riscul de diabet tip 2, recent au apărut studii prospective, care dovedesc efectul protector al activității fizice regulate [10, 32, 33, 41].

Relația strânsă dintre intensitatea exercițiilor fizice și riscul de diabet tip 2 a fost estimativă în majoritatea studiilor. În trei studii asupra bărbaților, riscul de diabet tip 2 a scăzut odată cu creșterea numărului de exerciții, în timp ce în trei alte studii asupra femeilor [10], gradul de protecție contra diabetului tip 2 a fost același la subiecții cu activitatea fizică intensă și cei care aveau o activitate moderată. Cu toate acestea, toate studiile au arătat că persoanele cu un nivel modest de activitate fizică au avut un risc mai scăzut de diabet tip 2 decât persoanele complet sedentare. Ajustat în funcție de alți factori de risc, riscul relativ de diabet tip 2 la indivizii cu un nivel modest de activitate fizică a variat între 0,69 și 0,74 în comparație cu riscul la indivizii cu un stil de viață sedentar [10].

Factorii de mediu implicați în expansiunea diabetului sunt legați de urbanizare, modernizare și industrializare. Urbanizarea este o contribuție majoră la epidemia de diabet zaharat la nivel mondial. În timp ce ratele de creștere a diabetului tip 2, în zonele urbane ale țărilor cu venituri medii și mici, sunt larg documentate [15, 18, 25, 44]. Există dovezi că prevalența rurală de diabet zaharat în țările slab dezvoltate este, de asemenea, mare și poate crește. În țările cu venituri mici și medii, numărul de persoane cu diabet zaharat în zonele

urbane este de 181 de milioane, în timp ce în zonele rurale – 122 de milioane. Prognoza este că până în 2035, diferența se va extinde la 347 milioane de oameni ce vor locui în mediul urban și 145 de milioane – în mediul rural [25].

Una din problemele ridicate de studiile epidemiologice și sociologice se referă la influența jucată de statutul socio-economic și de relația acestuia cu diabetul zaharat tip 2 [33, 34, 38, 39, 55, 56]. O meta-analiză, realizată de E. Agardh și coaut. [2], relevă că în societățile dezvoltate există, în cazul femeilor, o relație inversă între statutul socio-economic și diabet, în cazul bărbaților această relație fiind mai puțin evidentă. Pentru societățile în curs de dezvoltare, aceeași meta-analiză evidențiază o relație directă între diabet și statutul socio-economic, atât în cazul bărbaților cât și al femeilor.

Concluzii

1. Datele epidemiologice, relatate în acest articol, atrag atenția asupra unui ritm accelerat al creșterii prevalenței și incidenței, mortalității în diabetul zaharat la nivel global. Cunoașterea acestor aspecte epidemiologice este deosebit de importantă, deoarece estimarea corectă a incidenței diabetului este extrem de utilă pentru planificarea, obținerea finanțării și furnizarea serviciilor de sănătate cu scopul gestionării epidemiei de diabet.

2. Mortalitatea la pacienții diabetici este aproape dublă față de cei nondiabetici, cauza principală a deceselor fiind bolile cardiovasculare.

3. Un alt aspect important, surprins în acest articol, este prevalența extrem de crescută a factorilor de risc în momentul diagnosticării DZ tip 2, ceea ce face extrem de utilă identificarea lor cât mai precoce și inițierea corespunzătoare a managementului clinic.

Referințe bibliografice

- Abbasi A, Corpeleijn E, Van der Schouw YT, et al. Maternal and paternal transmission of type 2 diabetes: influence of diet, lifestyle and adiposity. *J Intern Med.* 2011;270:388-396.
- Agardh E, Allebeck P, Hallqvist J, et al. Type 2 diabetes incidence and socio-economic position: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2011;40:804-18.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *Lancet.* 2005;366(9491):1059-1062.
- Anestiadi Z, Zota L. Epidemiologia diabetului zaharat în Republica Moldova. Congresul II de Medicină Internă cu participare internațională, 24-26 octombrie 2007. Volum de rezumate, 2007;229.
- Anuarul statistic al sistemului de sănătate din Moldova. Incidența și prevalența generală a populației, anul 2013. În: Prevalența prin bolile endocrine, de nutriție și metabolism: p. 8-9; Incidența prin bolile endocrine, de nutriție și metabolism: p. 35-36.
- Aschner P, King H, Triana de Torrado M, et al. Glucose intolerance in Colombia: a population-based survey in an urban community. *Diabetes Care.* 1992;16(1):90-93.
- Azevedo M, Alla S. Diabetes in sub-Saharan Africa: Kenya, Mali, Mozambique, Nigeria, South Africa and Zambia. *Int. J Diabetes Dev Ctries.* 2008;28(4):101-108.
- Barceló A, Daroca MC, Rivera R, et al. Diabetes in Bolivia. *Rev. Panam-Salud. Publica.* 2001;10(5):318-323.
- Bloomgarden ZT. Developments in diabetes and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2006;29:161-167.
- Hu Brank B, Sigal Ronald J, et al. Compared With Vigorous Physical Ac-

tivity and Risk of Type 2 Diabetes in Women. *JAMA.* 1999;282(15):1433-1439.

- Camastra S, Bonora E, Del Prato S, et al. EGIR (European Group for the Study of Insulin Resistance). Effect of obesity and insulin resistance on resting and glucose-induced thermogenesis in man. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999;23(12):1307-1313.
- Colosia. AD, Palencia R, Khan S. Prevalence of hypertension and obesity in patients with type 2 diabetes mellitus in observational studies: a systematic literature review. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.* 2013;6:327-338.
- Cowie CC, Rust KF, Ford ES. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the US population in 1988-1994 and 2005-2006. *Diabetes Care.* 2009;32:287-294.
- David R, Leslie G. Genetic counselling in diabetes mellitus. In: Pickup J.C and Williams G (ed.) Textbook of diabetes, 3rd edition. Oxford: Blackwell Science, 2003.
- Gao WG, Dong YH, Pang ZC, et al. Increasing trend in the prevalence of Type 2 diabetes and pre-diabetes in the Chinese rural and urban population in Qingdao, China. *Diabet.Med.* 2009;26:1220-1227.
- Genetic basis of type 1 and type 2 diabetes, obesity, and their complications. Advances and emerging opportunities in diabetes research: a Strategic Planning report of the DMICC.
- Gikas A, Sotiropoulos A, Panagiotakos D, et al. Rising prevalence of diabetes among Greek adults: findings from two consecutive surveys in the same target population. *Diabetes Res. Clin.Pract.* 2008;79:325-329.
- González EL, Johansson S, Wallander MA. Trends in the prevalence and incidence of diabetes in the UK: 1996-2005. *J Epidemiol Commun Health.* 2009;63:332-336.
- Hanson RL, Narayan KMV, McCance DR, et al. Rate of weight gain, weight fluctuation, and incidence of NIDDM. *Diabetes.* 1995;43:261-266.
- Hauner H. Obesity and diabetes. In: Holt RIG, Cockram CS, Flyvbjerg A et al (ed.) Textbook of diabetes, 4th edition. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010.
- Health Survey for England – 2004: Health of ethnic minorities, Headline results [NS]. NHS Health and Social Care Information Centre, Public Health Statistics, 2005.
- Hu FB, Stampfer MJ, Solomon CJ, et al. The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. *Arch Intern Med.* 2001;161:1717-1723.
- Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med.* 2001;345(11):790-797.
- International Diabetes Federation: IDF Diabetes Atlas. 5th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2011.
- International Diabetes Federation: IDF Diabetes Atlas. 6th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013.
- 25a. International Diabetes Federation: IDF Diabetes Atlas. 6th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2014 update.
- IDF Diabetes Atlas Group. Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: estimates for the year 2011. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;100(2):277-279.
- Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care.* 2012;35(6):1364-79.
- Charlton J, Latinovic R, Gulliford MC. Explaining the decline in early mortality in men and women with type 2 diabetes: a population-based cohort study. *Diabetes Care.* 2008;31:1761-1766.
- Jansson SP, Andersson DK, Svardsudd K. Prevalence and incidence rate of diabetes mellitus in a Swedish community during 30 years of follow-up. *Diabetologia.* 2007;50:703-710.
- King H, Aubert R, Herman W. Global burden of diabetes: 1995–2025. Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care.* 1998;21:1414-1431.
- Klein R, Klein BEK, et al. The Wisconsin epidemiologic study of Diabetic Retinopathy. I, III. *Arch. Ophthalmol.* 1984;102:50-66.
- Klein S, Allison DB, Heymsfield SB, et al. Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; American Society for Nutrition; American Diabetes Association. Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from Shaping America's Health: Association for Weight Management and

- Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the ADA. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(5):1197-1202.
34. Kumari M, Head J, Marmot M. Prospective study of social and other risk factors for incidence of type 2 diabetes in the Whitehall II study. *Arch Intern Med.* 2004;164:1873-80.
 35. Lidfeldt J, Li TY, Hu FB, et al. A Prospective Study of Childhood and Adult Socioeconomic Status and Incidence of Type 2 Diabetes in Women. *American Journal of Epidemiology.* 2007;165(8): 882-889.
 36. Limpsonbe LL, Hux JE. Trend in diabetes prevalence, incidence and mortality in Ontario, Canada 1995-2005: a prospective population-based study. *Lancet.* 2007;369:750-756.
 37. Mota Maria, Dinu Ilie-Robert. The analysis of prevalence and incidence of diabetes mellitus in Romania. *J Diabetes NutrMetab Dis.* 2013;20(2):135-139.
 38. Masaru Sakurai, Koshi Nakamura, Katsuyuki Miura, et al. Family history of diabetes, lifestyle factors, and the 7-year incident risk of type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men and women. *Journal of Diabetes Investigation.* 2013;4:261-268.
 39. Matsushima M, Shimizu K, Maruyama M, et al. Socioeconomic and behavioural risk factors for mortality of individuals with IDDM in Japan: population-based case-control study. *Diabetologia.* 1996;39:710-6.
 40. Maty SC, Everson-Rose SA, Haan MN, et al. Education, income, occupation, and the 34-year incidence (1965-99) of type 2 diabetes in the Alameda County Study. *Int J Epidemiol.* 2005;34:1274-81.
 41. Meigs JB, Cupples LA, Wilson PWF. Parental transmission of type 2 diabetes mellitus: the Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2000;49:2201-2207.
 42. Menon VU, Kumar KV, Gilehrst A, et al. Prevalence of known and undetected diabetes and associated risk factors in central Kerala/ADEOS. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2006;74:289-294.
 43. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA.* 2003;289:76-79.
 44. Morris NJ, Wang SL, Stevens LK, et al. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetol.* 2001;44(Suppl. 2):14-21.
 45. Motala AA, Esterhuizen T, Gouws E, et al. Diabetes and other disorders of glycemia in a rural south african community. *Diabetes Care.* 2008;31:1783-1788.
 46. Müller G, Hartwig S, Greiser KH, et al. Gender differences in the association of individual social class and neighbourhood employment rate with prevalent type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study from the DIAB-CORE consortium. *BMJ Open.* 2013;3:e002601. doi:10.1136/bmjopen-2013-002601.
 47. Nakagami T, Qiao Q, Carstensen B, et al. Age, body mass index and Type 2 diabetes-associations modified by ethnicity. *Diabetologia.* 2003;46:1063-1070.
 48. National Center for Health Statistics. Plan and operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Vital Health Stat.* 1994;32(1).
 49. Norris SL, Zhang X, Avenell A, et al. Long-term effectiveness of weight-loss interventions in adults with pre-diabetes: a review. *Am J Prev Med.* 2005;28:126-139.
 50. Prevalence of overweight and obesity among adults with diagnosed Diabetes United States, 1988-1994 and 1999-2000 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report.* 2004;53(45):1066-1068.
 51. Radha V, Mohan V. Genetic predisposition of type 2 diabetes among Asian Indians. *Indian J Med Res.* 2007;125:259-74.
 52. Ragoobirsingh D, Lewis-Fuller E, Morrison EY. The Jamaican Diabetes Study: a protocol for the Caribbean. *Diabetes Care.* 1995;18(9):1277-1279.
 53. Ridderstråle M, Gudbjörnsdóttir S, Eliasson B, et al. Steering Committee of the Swedish National Diabetes Register (NDR). Obesity and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results from the Swedish National Diabetes Register. *J Intern Med.* 2006;259(3):314-322.
 54. Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for theyear 2010. *Diabetes Res. Clin Pract.* 2010;87(1):15-19.
 55. Soderberg S, Zimmet P, Tuomilehto J, et al. Increasing prevalence of Type 2 diabetes mellitus in all ethnic groups in Mauritius. *Diabet Med.* 2005;22:61-68.
 56. The Diabetes Prevention program Research Group. Impact of intensive lifestyle and metformin Therapy on cardiovascular disease risk factors in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care.* 2005;28:888-894.
 57. Lee Timothy C, Glynn Robert J, Pen Jessica M. Socioeconomic Status and Incident Type 2 Diabetes Mellitus: Data from the Women's Health Study. *PLoS ONE.* 2011;6.
 58. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, et al. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet.* 1999;353(9164):1547-1557.
 59. Ubinc Veltmaat LJ, Bilo HJ, Groenier KH, et al. Prevalence, incidence and mortality of type 2 diabetes mellitus revisited: a prospective population-based study in the Netherlands (ZODIAC-1). *Eur. J. Epidemiol.* 2003;18:793-800.
 60. Valdez R, Yoon PW, Liu T, et al. Family history and prevalence of diabetes in the US population: the 6-year results from the National Health and Nutrition Examination Survey (1999-2004). *Diabetes Care.* 2007;30: 2517-2522.
 61. Van Dam RM, Boer JM, Feskens EJ, et al. Parental history of diabetes modifies the association between abdominal adiposity and hyperglycemia. *Diabetes Care.* 2001;24:1454-1459.
 62. Van't Riet E, Dekker JM, Sun Q, et al. Role of adiposity and lifestyle in the relationship between family history of diabetes and 20-year incidence of type 2 diabetes in U.S. women. *Diabetes Care.* 2010;33:763-767.
 63. Vaxillaire M, Froguel P. The genetics of Type 2 diabetes: from candidate gene biology to genome-wide studies, in Holt RIG, Cockram CS, Flyvbjerg A, et al. (ed.) Textbook of diabetes, 4th edition. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010.
 64. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;94:311-25.
 65. WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2003;916:1-149.
 66. Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004;27(5):1047-1053.
 67. Williams ED, Magliano DJ, Zimmet PZ, et al. Area-level socioeconomic status and incidence of abnormal glucose metabolism: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle (AusDiab) study. *Diabetes Care.* 2012;35(7):1455-61.
 68. Winkley K, et al. The clinical characteristics at diagnosis of Type 2 diabetes in a multi-ethnic population: the South London Diabetes cohort (SOUL-D). *Diabetologia.* 2013;55(6):1272-81.
 69. Witters KM, Stram DO, Hassanein MT, et al. Consistent association of type 2 diabetes risk variants found in Europeans in diverse racial and ethnic groups. *Plos Genet.* 2010;6(8).
 70. World Health Organization. Prevention of diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. Geneva: World Health Organization, 1994;844.
 71. Yang W, Lu J, Weng I, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N. Engl. J. Med.* 2010;362:1090-1101.

The importance of the principles of good laboratory practice in quality assurance of preclinical studies

*S. Parii, V. Valica, A. Ungureanu, C. Scutari, L. Turcan, L. Rusnac, E. Nicolai

Scientific Center of Drug Research, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: sergiu.parii@usmf.md. Manuscript received February 27, 2015; accepted April 05, 2015

Abstract

Background: The institution, which studies the safety of chemicals, biotechnological substances and nanotechnology products, should conduct researches in accordance with the principles and rules of GLP (Good Laboratory Practice). This standard establishes principles of good laboratory practice for application in non-clinical studies of substances contained in the medicines, pesticides, cosmetic products, veterinary drugs, food and feed additives, and industrial chemicals. GLP rules is a concept of research management, including the organization, preparation and conduct of the study, activity monitoring, obtaining and documenting data, concluding the report. Compliance with GLP principles in the conduct of studies is a mandatory requirement imposed by national regulatory agencies to determine the safety of chemical compounds and other substances related to the protection of human health and the environment. The issue of quality assurance of drug substances is particularly relevant during the authorization process of drugs. Application of standards is an important issue not only in the production of drug substances, but also in preclinical research and clinical studies. Application of GLP rules in research institution is guaranteed by a center quality assurance program, as well as by the institution's management control and independent audit.

Conclusions: GLP implementation in biomedical research centers of the university in the country will lead to proper management of preclinical laboratories and therefore will increase the credibility of scientific results at international level.

Key words: research institutions, quality assurance services, rules of good laboratory practice.

Importanța principiilor de bună practică de laborator în asigurarea calității studiilor preclinice

Introducere

Pentru utilizarea rațională a substanțelor medicamentoase noi, obținerea efectului terapeutic maxim și pentru prevenirea reacțiilor adverse, în stadiul testării, este necesar să fie obținută o caracterizare completă a preparatului potențial, date despre proprietățile lui medicamentoase și efectele adverse posibile [1].

Primul paragraf al Declarației de la Helsinki a Asociației Medicale Mondiale (AMM), care conține recomandări la studiile clinice prevede: cercetările biomedicale, care implică subiecți umani, trebuie să se desfășoare în conformitate cu principiile științifice acceptate, bazându-se pe experimente de laborator adecvate, folosind animale și studiind literatura științifică de specialitate [2].

Astfel, cerința obligatorie, adoptată în aproape toate țările lumii, este ca înainte de a efectua studii clinice ale medicamentelor noi, neapărat se desfășoară studii preclinice *in vitro* și pe modele de animale - *in vivo*.

Nemulțumirea autorităților și reprezentanților industriei din diferite țări cu referire la calitatea studiilor preclinice, pe rezultatul cărora se bazează aprecierea nivelului de inofensivitate pentru sănătatea umană și mediul înconjurător, a stat la baza implementării, sub conducerea *Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)*, a criteriilor pentru astfel de cercetări [3].

Pentru a exclude faptul de utilizare a diferitor procedee în cercetările similare, care ar putea împiedica comerțul internațional al produselor chimice, statele membre ale OCDE au stabilit sarcina de a armoniza metodele de cercetare și regulile de bună practică de laborator.

În 1979-1980, un grup internațional de experți, instituit în cadrul programului special pentru controlul produselor chimice, a elaborat un document intitulat „OCDE. Principii de bună practică de laborator (BPL)” [OECD. Principles of Good Laboratory Practice (GLP)], folosind metode organizaționale, științifice și experiența din diferite surse naționale și internaționale [4].

Aceste „Principii BPL” au fost aprobate de Consiliul OCDE în 1981 ca anexă la decizia acestuia, referitor la recunoașterea reciprocă a rezultatelor evaluării substanțelor chimice.

În 1995-1996, a fost format un nou grup de experți, care a reexaminat principiile de bună practică de laborator (BPL). Versiunea actualizată a acestui document a fost elaborată pe baza soluțiilor realizate de grupul de experți. Acest document abrogă și înlocuiește documentul inițial „Principii de bună practică de laborator (BPL)”, adoptat în 1981 [5].

Scopul „Principiilor de bună practică de laborator (BPL)” este de a asigura promovarea aplicării principiului de evaluare a calității datelor obținute în rezultatul cercetărilor. Comparabilitatea nivelului calității datelor, obținute în rezultatul cercetărilor, formează baza pentru acceptarea reciprocă a datelor din diferite țări. În cazul în care o țară poate conta pe datele cercetărilor din alte țări, duplicarea testelor poate fi evitată, economisind timp și resurse. Aplicarea „Principiilor de bună practică de laborator (BPL)” va permite evitarea barierelor tehnice în activitățile de comerț și va contribui la protecția sănătății umane și a mediului înconjurător [6, 7].

Acest standard stabilește norme de bună practică de laborator, aplicate tuturor studiilor preclinice ale substanțelor, care se conțin în produsele medicamentoase, pesticide, produse

cosmetice, medicamente de uz veterinar, aditivi alimentari, furajeri, precum și în produsele chimice de uz industrial. Substanțele evaluate pot fi de origine sintetică, biogenă, precum și organisme vii. Scopul cercetărilor constă în obținerea datelor referitoare la proprietățile substanțelor studiate și/sau inofensivitatea acestora pentru sănătatea umană și/sau mediul înconjurător [3, 4].

Scopul și aplicarea

BPL constituie un sistem de norme, regulamente și indicații concepute pentru a asigura concordanța și valabilitatea rezultatelor studiilor preclinice. BPL sunt definite ca un complex de măsuri pentru asigurarea calității ce se referă la organizarea procesului de cercetare și condițiile, în care trebuie să fie planificate, executate, monitorizate și autorizate studiile preclinice de inofensivitate în domeniul ocrotirii sănătății și ecologiei. BPL sunt aplicabile pentru laboratoarele farmacologice, toxicologice etc. cu profil biologic, precum și în domeniul cercetării toxicologiei industriale, și anume, cu referire la studierea proprietăților compușilor chimici, utilizați în producția de consum (non-medicament), cu scop de a evalua potențialul lor pericol pentru sănătatea umană și starea mediului înconjurător. BPL are ca scop să asigure acceptabilitatea rezultatelor cercetărilor științifice a medicamentelor noi la etapa studiului experimental. Acceptabilitatea în acest caz înseamnă, pe de o parte, concludența și fiabilitatea datelor, pe de altă parte – respectarea principiilor de tratare umană a animalelor de laborator. Instituția care cercetează inofensivitatea chimică și biologică a produselor clasice chimice, biotehnologice, produselor modificate genetic și nanotehnologice, trebuie să dispună de un serviciu de asigurare a calității, cu scop de a oferi garanții că încăperile, echipamentul, personalul, metodele și documentația sunt în conformitate cu cerințele normative. Serviciul de asigurare a calității trebuie să fie independent față de angajații implicați în derularea cercetărilor, totodată, persoanele din acest serviciu trebuie să fie la curent cu procedurile de cercetare și să raporteze direct conducerii instituției [3, 8, 4].

Termeni și definiții

Pentru prezentul document sunt utilizați următorii termeni și definiții:

Documentație – înregistrări sub orice formă, care descriu metodele de realizare și/sau rezultatele studiilor preclinice, factorii care influențează cercetarea, precum și acțiunile efectuate în timpul studiilor preclinice.

Materialele studiului preclinic al medicamentelor – un set de documente pentru studiul preclinic al substanței medicamentoase, ce includ rapoarte cu privire la cercetările chimice, fizice, biologice, microbiologice, farmaceutice, farmacologice, toxicologice și alte cercetări științifice sau date din literatura de specialitate privind componența, indicatorii de calitate și metodele de control al calității, proprietățile, activitatea specifică și inofensivitatea substanței medicamentoase, inclusiv și protocelele studiilor preclinice.

Raport – rezultatele studiilor preclinice, prezentate în scris, inclusiv descrierea metodelor statistice și preclinice, date obținute în procesul cercetării și concluziile respective.

Date primare sunt toate înregistrările de laborator și documentația originală, la fel ca și copiile verificate ale acestora, care constituie rezultatul observațiilor originale și al activităților din cadrul studiului. Acestea pot include, de exemplu, înregistrări din fișele și registrele de lucru, poze și video, înregistrări ale aparatajului automatizat, înregistrările parametrilor mediului înconjurător în încăperile de adăpost al animalelor, certificatele animalelor de laborator, documentația curentă a stării lor de sănătate, înregistrări privitor exploatarea și deservirea tehnică a echipamentului etc.

Protocolul studiului preclinic – document care stabilește volumul general al cercetărilor, în care se descriu obiectivele, metodologia, procedurile, metodele de prelucrare statistică a datelor și planificare a studiului.

Conducătorul studiului – persoană responsabilă pentru desfășurarea studiului preclinic al substanței medicamentoase.

Procedurile standard de operare (PSO) sunt proceduri scrise, care prezintă modul în care trebuie efectuate anumite teste de laborator de rutină sau activități care, în mod normal, nu sunt specificate detaliat în protocolul de studiu sau în ghidurile metodice.

Sistemul de testare include orice animal, plantă, microorganism, inclusiv sistem celular, subcelular, chimic și fizic sau orice asociere de acest tip, folosită în cadrul studiului preclinic al substanțelor medicamentoase [3, 8, 4].

Principiile studiilor preclinice ale substanțelor medicamentoase

Scopul studiilor preclinice este de a dovedi prin metode științifice de evaluare și concluzii privitor eficacitatea și inofensivitatea substanțelor medicamentoase. Studiile preclinice ale medicamentelor se desfășoară conform planului aprobat, cu întocmirea protocolului și perfectarea raportului cu rezultatele cercetărilor. Studiile preclinice pe animale se desfășoară în conformitate cu normele internaționale. Respectarea normelor de drept și etice de utilizare a animalelor în studiile preclinice ale substanțelor medicamentoase se monitorizează de organele teritoriale, abilitate pentru controlul calității medicamentelor.

Colectarea, prelucrarea și stocarea informațiilor, obținute în procesul desfășurării studiului preclinic al substanțelor medicamentoase, trebuie să reflecte obiectiv eficacitatea și inofensivitatea medicamentelor studiate. Producerea și depozitarea produsului medicamentos experimental se face în conformitate cu normele de bună practică de producere (GMP), iar utilizarea – în conformitate cu protocolul studiului aprobat.

Instituția, care desfășoară studii preclinice ale substanțelor medicamentoase, trebuie să dispună de personal cu studii corespunzătoare, instruit, calificat și cu experiență. Conducătorul instituției vizează protocolul, numește persoanele responsabile pentru controlul calității studiului desfășurat, asigură instruirea profesională și calificată a personalului. Personalul implicat în desfășurarea studiului, face cunoștință cu protocolul, informația referitoare la produsul medicamentos cercetat, precum și cu funcțiile și responsabilitățile persoanelor ce participă în studiu. Conducătorul studiului organizează, implementează și controlează derularea studiului preclinic; executarea protocolului studiului și modificările la

acesta; procedurile standard de operare; accesul personalului la materialele studiului preclinic; respectarea normelor de calitate în desfășurarea studiului; confidențialitatea rezultatelor obținute. Executorii responsabili trebuie să asigure pregătirea și desfășurarea etapelor-cheie ale studiului, inclusiv instruirea personalului; monitorizarea respectării metodelor și procedurilor standard de colectare, precum și documentarea rezultatelor obținute; evidența situațiilor neprevăzute și adoptarea unor măsuri de remediere; prezentarea rezultatelor studiului sub forma unui raport. Instituția, care a elaborat produsul medicamentos, emite o concluzie despre posibilitatea efectuării ulterioare a studiilor clinice ale produsului medicamentos [9, 3, 4, 8].

Programul de asigurare a calității studiilor preclinice

Programul de asigurare a calității studiilor preclinice este susținut prin revizuirea sistematică a documentației și a activităților referitoare la cercetare, efectuată de către conducătorul studiului, cu scopul de a confirma că activitățile menționate și procedurile de evaluare se petrec în conformitate cu legislația în vigoare, protocolul aprobat și procedurile standard de operare. Pentru controlul calității studiilor preclinice a substanțelor medicamentoase se perfectează o listă cu enumerarea activităților de cercetare; pentru fiecare activitate se desemnează coordonatorul și solicitantul; se indică denumirea produsului medicamentos cercetat, descrierea test-sistemului, data inițierii studiului și statutul acestuia la momentul de față; se determină corespunderea protocoalelor de evaluare și metodelor de cercetare cu regulile bune practice de laborator; se efectuează monitorizarea cercetărilor curente; se întocmește raportul despre evaluările efectuate și se formulează recomandări pentru înlăturarea deficiențelor. Programul de asigurare a calității este îndeplinit de persoane desemnate, în conformitate cu regulile de bună practică de laborator, de conducerea instituției. Aceste persoane nu trebuie să participe la realizarea studiului vizat și sunt responsabile de monitorizarea cercetării. Personalul responsabil de asigurarea calității efectuează controale pentru a stabili dacă toate studiile se derulează conform principiilor BPL; analizează rapoartele finale pentru a confirma că metodele de lucru și observațiile sunt fidèle și integral descrise, iar rezultatele consemnate reflectă corect și complet datele primare ale studiilor; raportează imediat în scris orice rezultat al controlului conducerii instituției și conducătorului studiului, precum și în caz de depistare a neconformităților, elaborează măsuri și recomandări pentru înlăturarea acestora [9, 3, 4, 8].

Echipamentul

Instituțiile inițiate în desfășurarea studiilor preclinice ale medicamentelor trebuie să fie dotate cu echipament necesar, etalonat conform normelor de metrologie legală în vigoare. Aparaturajul este folosit în conformitate cu fișa tehnică și instrucțiunile de utilizare. Rezultatele inspecției de rutină și de mentenanță a echipamentelor se înscriu într-un registru special, accesibil pentru angajații, care manevrează sau deservesc acest aparat. În registru se va nota următoarea informație: denumirea dispozitivului, numele și țara de origine a producătorului, modelul aparatului, numărul de serie (de la uzină), data de primire și de înregistrare în laborator,

data de punere în funcțiune, numărul de inventar, amplasarea dispozitivului, persoana responsabilă pentru utilizarea dispozitivului, angajatul (departamentul, instituția) responsabil pentru deservirea tehnică a aparatului, descrierea detaliată a mentenanței planificate a echipamentului, data și semnătura persoanei responsabile, notificările detaliate privind orice defecțiune, reparație a aparatului, date și semnate de către persoana responsabilă de deservirea tehnică a dispozitivului, evidențe detaliate despre etalonarea aparatului, dată și autenticată prin semnătura persoanei responsabile de mentenanța aparatului [9, 3, 4, 8].

Sisteme de testare

Tipul, dimensiunile și caracteristicile sistemelor de testare trebuie să corespundă studiilor preclinice ale substanțelor medicamentoase. Condițiile în care se efectuează cercetările pe sistemele de testare trebuie să excludă impactul factorilor externi, care ar putea afecta calitatea datelor obținute. Studiile preclinice se efectuează pe animale sănătoase. Toate procedurile, legate de îngrijirea animalelor (hrănirea, adăparea, schimbarea așternutului, transferarea, spălarea cuștilor, curățarea încăperilor în care sunt adăpostite animalele), sunt descrise în procedurile standard de operare. Animalele primite sunt izolate până când starea lor sanitară va fi evaluată. Se vor ține registre, care să menționeze originea, data primirii și starea la primire a animalelor. Dacă se observă o mortalitate sau morbiditate anormală, ce nu are legătură cu studiul, animalele trebuie să fie izolate din lotul de bază și tratate dacă permite protocolul de studiu, sau supuse eutanasiilor.

Diagnosticul, tratamentul și rezultatele obținute trebuie consemnate. Pentru asigurarea evidenței individuale, în timpul derulării studiilor, animalele vor fi identificate. Modul de identificare a animalului este înregistrat. Toate informațiile necesare unei identificări corecte a sistemelor de testare, vor figura pe locașul sau recipientul lor. Animalele utilizate pentru cercetarea diferitor substanțe medicamentoase se izolează. Apa și furajul pentru animale trebuie să asigure necesitățile alimentare conform protocolului de studiu, să nu conțină contaminanți cu concentrații, care s-ar interfera cu rezultatele studiului. Locașurile sau recipientele animalelor, încăperile pentru adăpostirea lor vor fi curățate și dezinfectate la intervale corespunzătoare, astfel să nu aibă niciun impact asupra rezultatelor studiului.

Substanțe testate și substanțe de referință

Persoana fizică sau juridică, indiferent de forma de proprietate, care este solicitantul inițierii studiului preclinic al produsului medicamentos și este responsabil de organizarea acestuia (în continuare – beneficiar) prezintă instituției, ce desfășoară studiile preclinice ale medicamentelor, produsul medicamentos experimental, însoțit de documentația necesară, indicând temperatura, condițiile și termenii de păstrare a preparatului cercetat, date despre stabilitate, informații privind măsurile de protecție în timpul lucrului cu produsul medicamentos cercetat, solvenții și procedurile de diluare și, dacă este necesar, un dispozitiv pentru administrarea medicamentului. Ambalajul produsului medicamentos investigat trebuie să fie protejat în timpul transportării de contaminare sau deteriorare.

Instituția care efectuează studiile preclinice va avea o procedură aprobată referitor la primirea, manipularea, prelevarea mostrelor și stocarea. Se vor ține registre, în care să se menționeze caracteristicile substanțelor chimice testate și ale substanțelor chimice de referință, precum și data primirii, data expirării și cantitățile primite și folosite în studii. Recipientele de păstrare a mostrelor vor avea date de identificare a acestora, data expirării și instrucțiuni speciale de stocare, acolo unde este cazul. Orice substanță chimică testată și orice substanță chimică de referință va fi identificată în mod corespunzător prin: cod, nume, parametri biologici. Pentru fiecare studiu trebuie să se țină cont de natura exactă a substanțelor chimice testate și a substanțelor chimice de referință, numărul lotului, puritatea, compoziția, concentrația sau alte caracteristici, care ar putea defini în mod corespunzător fiecare lot. Trebuie cunoscută stabilitatea substanțelor chimice testate și substanțelor de referință în condițiile de stocare și de testare ale studiului respectiv. Pentru fiecare studiu, cu excepția studiilor pe termen scurt, se va păstra câte o mostră din fiecare lot al substanței chimice testate, în scopul unei eventuale analize [9, 3, 4, 8].

Procedurile standard de operare (PSO)

Procedurile standard de operare sunt elaborate pentru toate acțiunile, inclusiv: primirea, identificarea, etichetarea, prelucrarea, prelevarea probelor, utilizarea și depozitarea substanțelor testate și de referință; deservirea și etalonarea aparatelor de măsurare și echipamentului pentru controlul mediului înconjurător; pregătirea reactivilor, substanțelor nutritive, furajelor; ducerea evidenței; perfectarea rapoartelor și arhivarea lor; îngrijirea încăperilor în care sunt adăpostite sistemele de testare, recepția, transportarea, cazarea, descrierea, identificarea și îngrijirea sistemelor de testare; întreținerea sistemelor de testare; decontaminarea sau utilizarea sistemelor de testare; implementarea programului de asigurare a calității. Respectarea procedurilor standard de operare se face cu scop de a asigura calitatea, fiabilitatea și reproductibilitatea rezultatelor studiului.

Devierile de la PSO trebuie să fie documentate și coordonate cu conducătorul studiului. Procedurile standard de operare sunt revizuite periodic [9, 3, 4, 8].

Planificarea și realizarea studiului

Studiile preclinice ale medicamentelor ar trebui efectuate conform protocolului, în care se reflectă scopul și metodele de lucru pentru atingerea acestor obiective. Protocolul de studiu trebuie aprobat de către beneficiar și avizat de conducătorul studiului. Protocolul studiului cuprinde următoarele informații: scopul studiului; sarcina cercetării; informații despre preparatul medicamentos cercetat (proprietățile fizice, chimice, biologice, farmaceutice); informații despre preparatul de referință (proprietăți fizice, chimice, biologice, farmaceutice); metodele utilizate în cercetare; caracterizarea sistemului de testare utilizat în studiu; modul și calea de administrare a produsului investigat și de referință; diagrama studiului și argumentarea acesteia; normele de drept și etice ale studiilor preclinice; evaluarea eficienței și inofensivității produsului investigat; amendamentele la protocolul studiului preclinic; prelucrarea statistică a rezultatelor studiului; perfectarea

raportului; referințe.

Modificările în protocolul studiului se aprobă de conducătorul studiului, iar devierile de la protocol (circumstanțe neplanificate, neprevăzute) sunt înregistrate, enumerate, vizate, datate în anexă cu indicarea motivelor.

Înregistrările rezultatelor cercetării

Instituția, responsabilă pentru desfășurarea studiilor preclinice, trebuie să păstreze toate datele originale, rezultatele măsurărilor și observațiilor, calculele și datele perfectate, înregistrările referitoare la etalonarea aparatajului, rapoartele (inclusiv cele intermediare), precum și alte materiale și documente relevante pentru acest studiu. Toate elementele referitoare la un studiu trebuie să aibă o identificare proprie, care să permită recunoașterea studiului, metoda și tipul de cercetare, sistemul biologic și informația despre personalul de laborator, implicat în prelevarea datelor, probelor și realizarea studiului. Toate datele obținute în rezultatul desfășurării studiului se vor înregistra direct, rapid, precis și citeț de către persoanele abilitate. Listele cu date vor fi semnate, parafate și datate. Orice modificare a datelor primare va fi consemnată astfel încât să nu se ascundă mențiunea precedentă și se va indica motivul schimbării, cu data, semnătura sau parafa persoanei care a efectuat schimbarea. Datele păstrate în format electronic, după posibilitate, sunt duplicate pe hârtie. Materialele cercetării trebuie să permită remodelarea etapelor studiului. După desfășurarea studiului preclinic, toate materialele sunt arhivate. Arhiva trebuie să asigure păstrarea în siguranță și confidențialitatea tuturor materialelor ce se referă la cercetare [9, 3, 4, 8].

Raportul final

După finalizarea cercetărilor, solicitantul în termen de 30 de zile prezintă un raport referitor la studiul organelor competente. Raportul final trebuie să conțină următoarele informații: denumirea și adresa instituției, data începerii și finalizării studiilor preclinice, scopul și obiectivele studiului; descrierea produsului medicamentos cercetat, inclusiv informații cu privire la proprietățile lui fizice, chimice, biologice, farmaceutice, compoziție, forma farmaceutică; tipul studiului și justificarea sistemului de testare selectat, pentru care se precizează: specia, vârsta, numărul de animale din fiecare grup, sexul, masa corporală, sursa de alimentație; regimul de dozare, numărul prizelor și calea de administrare a produsului medicamentos studiat; schema studiilor preclinice ale medicamentului; descrierea metodelor de prelucrare statistică a datelor, rezultatele studiului prezentate sub formă de tabele cu o prelucrare statistică corespunzătoare, și comentarii la acestea, discuția rezultatelor, concluziile.

Raportul final despre rezultatele studiilor preclinice este perfectat de conducătorul studiului, semnat de conducătorul instituției și parafat cu ștampila instituției. Adăugările aduse la raportul final trebuie să se prezinte sub formă de amendamente, cu referință la compartimentul relevant al raportului (alineatul, figura, tabelul etc.), semnate și datate de conducătorul instituției.

Confidențialitate

Instituția și angajații, care participă la studiile preclinice, sunt obligați să respecte confidențialitatea oricăror informații

obținute în rezultatul desfășurării studiului, conform legislației în vigoare.

Arhiva

După finalizarea studiilor preclinice, datele cercetărilor, mostrele, protocoalele studiului și alte documente (grafice de etalonare, metode, proceduri standard de operare etc.), inclusiv rapoartele referitoare la controalele, realizate conform programului de asigurare a calității, trebuie să fie păstrate în camere separate destinate pentru acest scop. Materialul păstrat în arhive va fi indexat pentru a facilita stocarea și identificarea metodică. Numai personalul autorizat de conducere va avea acces la arhive. Orice intrare de material arhivat trebuie consemnată. Perioada de păstrare a materialelor arhivate este determinată prin procedura stabilită de către instituție. Mostrele substanțelor chimice testate, cele de referință și eșantioanele vor fi păstrate numai atât timp cât calitatea lor o permite.

Dacă o arhivă își încetează activitatea și nu are un succesor legal, arhivele vor fi trimise beneficiarului studiului sau persoanelor care l-au comandat. Atunci, când mostrele substanțelor chimice testate, ale celor de referință și eșantioanele, sunt distruse înaintea expirării perioadei de păstrare solicitate, din orice motiv, această distrugere trebuie justificată și susținută cu documente, iar beneficiarul trebuie informat [9, 3, 4, 8].

Discuții și concluzii

În prezent, numărul proiectelor de cercetare și colaborare internațională referitoare la studiul inofensivității substanțelor chimice, biotehnologice și produselor nanotehnologice crește. Astfel de proiecte necesită respectarea standardelor internaționale, care sunt adoptate în majoritatea țărilor economice dezvoltate și sunt obligatorii în desfășurarea studiilor toxicologice [7, 9].

Studiile non clinice din domeniul sănătății și inofensivității ecologice, ce sunt cuprinse în principiile bune practice de laborator, includ studii efectuate în condiții de laborator, de seră și de câmp. Principiile de bună practică de laborator se aplică pentru toate cercetările din domeniul medicinei și inofensivității ecologiei mediului, desfășurate cu scop de înregistrare și autorizare a substanțelor medicamentoase, pesticidelor, aditivilor alimentari și furajeri, produselor cosmetice, medicamentelor de uz veterinar și alte produse similare, precum și produselor chimice industriale, cu excepția celor stipulate, în conformitate cu legislația națională. Regulile normative BPL (buna practică de laborator) au fost elaborate pentru a asigura calitatea și siguranța datelor experimentale în studiile pentru determinarea inofensivității compușilor chimici, biologici și produselor nanotehnologice. Regulile de BPL reprezintă un concept al managementului cercetărilor, ce include procesul de organizare, pregătire și desfășurare a studiului, de monitorizare a executării activităților, obținerea și documentarea datelor, perfectarea raportului. Respectarea regulilor de BPL în derularea studiilor este o cerință obligatorie, impusă de agențiile naționale de reglementare pentru determinarea inofensivității compușilor chimici și altor substanțe privitor ocrotirea sănătății umane și mediului înconjurător [10]. Pentru prima dată, regulile de BPL au fost definite în SUA, iar ulterior formulate în ghidul Organizației pentru Cooperare și Dezvoltare Economică (OCDE) [9].

Aplicarea regulilor BPL în instituția de cercetare, este asigurată de îndeplinirea unui program al centrului pentru garantarea calității, precum și de un control din partea conducerii instituției și auditului independent [11].

Conducătorul studiului are un rol semnificativ în cercetările toxicologice efectuate în conformitate cu normele de bună practică de laborator. Respectarea acestor norme este o garanție a calității, veridicității și reproductibilității datelor experimentale [12].

Problema asigurării calității substanțelor medicamentoase este deosebit de relevantă în procesul autorizării produselor. Este importantă aplicarea standardelor nu doar în procesul producerii substanțelor medicamentoase (regulile GMP sunt respectate de producătorii străini și activ implementate de cei autohtoni), dar și în studiile preclinice și clinice.

Standardele referitoare la studiile preclinice din Republica Moldova nu sunt armonizate pe deplin, în conformitate cu standardele internaționale. Această diferență se observă în condițiile de întreținere a animalelor de laborator, în calitatea PSO, în perfectarea documentației, în lipsa inspecțiilor independente asupra desfășurării cercetărilor și verificarea stabilității substanțelor medicamentoase cercetate în procesul studiului.

Dirjecțiile-cheie pentru implementarea regulilor de BPL în Republica Moldova:

1. Traducerea monografiei „Principiile de bună practică de laborator” și monitorizarea respectării principiilor.
2. Elaborarea PSO și alte standarde.
3. Crearea unui organ național pentru monitorizarea standardelor BPL.
4. Implementarea unui program național de monitorizare a conformității cu regulile de BPL.
5. Crearea unui serviciu de inspectorat, care să efectueze, la fața locului, examinarea condițiilor desfășurării studiilor, cu scop de a evalua conformitatea acestora cu regulile de BPL.
6. Construirea crescătoriei de animale și secției pentru producerea furajelor granulate, conform standardelor europene. Reconstruirea vivariilor în conformitate cu standardele BPL.
7. Instruirea personalului la toate nivelurile la întreprinderile, care activează conform principiilor BPL.
8. Organizarea în Republica Moldova a centrelor pentru asigurarea inofensivității substanțelor medicamentoase în conformitate cu standardele BPL.

Repere pentru implementarea regulilor de BPL în Republica Moldova:

Legea nr.265 din 28.07.2006 „Privind protecția animalelor folosite în scopuri experimentale sau în alte scopuri științifice”.

Legea nr.1409 – XIII din 17.12.1997 „Cu privire la medicamente”.

Ordinul MSPS al RM nr.10 din 14.01.2002 „Cu privire la desfășurarea studiului clinic în Republica Moldova”, aprobarea Regulilor de Bună Practică în Studiul Clinic (ICH Guideline for GCP).

Totodată, implementarea regulilor de BPL în centrele de cercetare biomedicală din țară vor duce la amenajarea corespunzătoare a laboratoarelor preclinice și asigurarea facilităților necesare obiectelor lor de studiu. În cercetările efectuate pe animale,

ideal este ca acestea să păstreze o stabilitate în statusul fiziologic, astfel încât răspunsul la variabilele de interes să nu fie interferat de influențe nedorite. Dacă bunăstarea animalelor este compromisă, consecințele pot include: variabilitate mare în rezultate, necesitatea creșterii numărului de animale, date incomplete, date care nu pot fi analizate și cu credibilitate scăzută, rezultate care nu pot fi aplicate în alte situații și imposibilitatea publicării. Îngrijirea adecvată a animalelor de laborator, identificarea, controlul și eliminarea factorilor cauzatori de perturbări fiziologice și comportamentale denotă o bună practică științifică.

Referințe bibliografice

1. Zagarov TA. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veschestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances] / Pod obsch. red. RU Khabrieva. 2-izd., pererab. i dop. M.: Meditsina, 2005;28-41.
2. Regulile pentru buna practică în studiul clinic [ICH Guide For Good Clinical Practice]. *Buletinul INF* (ediție specială). Chișinău, 2002;195.
3. Pravila laboratornoy praktiki v Rossiyskoy Federatsii [Rules of laboratory practice in the Russian Federation] Prikaz Ministerstva zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii ot 19.06.2003 №267.
4. Handbook for Good Laboratory Practice (GLP). Quality practices for regulated non-clinical research and development. World Health Organization, 2009;328.
5. GLP Consensus Document: Quality Assurance and GLP. OECD Series

- on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. № 4. ENV/JM/MONO (99)20. Paris, 1999.
6. Murashev AN. OECD/Russia Federation workshop on «Biosecurity of microbial resources – Complementing innovation». 20–21 September, Moscow, 2006;20.
 7. U.S. FDA Good Laboratory Practice (GLP) Regulations for Non-clinical Laboratory Studies (21 CFR Part 58).
 8. Hotărâre nr.63/2002 din 24/01/2002 privind aprobarea principiilor de Bună practică de laborator, precum și inspecția și verificarea respectării acestora în cazul testărilor efectuate asupra substanțelor chimice [Decision No 63/2002 dated 24/01/2002 approving the principles of Good Laboratory Practice, also the inspection and verification of their compliance in case of tests performed on chemical substances.] *Monitorul Oficial*. Partea I, nr. 102 din 06/02/2002. București, România.
 9. OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring № 1. ENV/MC/CHEM (98)17. Paris, 1998.
 10. Directive 2004/10/ec of the european parliament and of the council of 11 February 2004 on the harmonisation of laws, regulations and administrative provisions relating to the application of the principles of good laboratory practice and the verification of their applications for tests on chemical substances (codified version). *Official Journal of the European Union*. 2004;20(2):L50/44-L50/59.
 11. Directive 2010/63/eu of the european parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*. 2010;20(10):L276/33-L276/79.
 12. Directive 2004/9/ec of the european parliament and of the council of 11 February 2004 on the inspection and verification of good laboratory practice (GLP) (Codified version) (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*. 2004;20(2):L50/28-L50/44.

Glucose metabolism in cancer and the role of ketogenic diet

D. Lisii, O. Tagadiuc, *V. Sardari

Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: veronica.sardari@usmf.md. Manuscript received January 13, 2015; accepted April 02, 2015

Abstract

Background: One of the fundamental metabolic characteristics of cancer tissues is high consumption of glucose by cancer cells. The purpose of this article is determination of the features in the energy metabolism of cancer cells, elucidation of energy metabolism due to the major nutritive substrates, such as glucose and glutamine, evaluation of lactate dehydrogenase (LDH) as a potential marker of malignancies, estimation of the ketogenic diet in the treatment of cancer. The cells with higher degree of proliferation have a lower level of reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH), confirming the hypothesis: anabolic processes are predominant in cancer. The preferred way of glucose utilization in cancer tissues is the conversion of pyruvate to lactate, a phenomenon known as aerobic glycolysis or Warburg effect. Tumors with a high level of aerobic glycolysis are the most aggressive. The fact that LDHA (which catalyzes the reversible reaction of pyruvate to lactate) reflects the aggressiveness of the tumor and demonstrates the importance of aerobic glycolytic metabolism (the Warburg effect) in the survival of tumor cells.

Conclusions: Multiple studies have mentioned the possibility of using glutamine instead of glucose by the cancer cells. Use of glutamine is another way of generating energy contributing to tumor cell survival. It was established that on substitution of glucose with ketone bodies (ketogenic diet), cancer cells can not adapt and die. Modulation of energy metabolism represents a new stage in the treatment of cancer. The substitution of glucose with lipids in the feed ration (ketogenic diet) is a non-toxic method of cancer management, both in prevention and treatment.

Key words: cancer, aerobic glycolysis, lactate dehydrogenase, the Warburg effect, ketogenic diet.

Metabolismul glucozei în cancer și rolul dietei cetogene

Introducere

În Republica Moldova, ca și în majoritatea țărilor europene, incidența cancerului este într-o ascensiune continuă. Ca și cauză a mortalității, cancerul ocupă locul doi, după afecțiunile

cardiovasculare și locul trei după cauzele de invaliditate [22]. Cancerul pulmonar se plasează pe primul loc după numărul de decese din toate tipurile de cancer. Incidența cancerului pulmonar este de 34,8 pentru bărbați și 5,5 pentru femeile la

100 000. Cancerul glandei mamare ocupă primul loc în structura morbidității cancerului la populația feminină (31-36%). Incidența cancerului gastric este 9-17 la 100 000 la bărbați și 5-6 la 100 000 la femei, iar cel colorectal are o frecvență de 7% la populația masculină și 5,2% – printre femei, în timp ce cancerul vezicii biliare reprezintă 1,3% și 5,2%, respectiv. În structura morbidității prin tumori maligne, la copii predomină 3 localizări de bază: hemoblastozele – 43,7%, tumorile țesuturilor moi și oaselor – 20,3% și afecțiunile tumorale ale creierului – 14,9%. Morbiditatea înaltă a cancerului este determinată atât de originea lui multifactorială, cât și de diagnosticul tardiv în lipsa unui tratament adecvat.

Cancerul este definit ca o categorie de boli caracterizate printr-o diviziune necontrolată și eronată a celulelor și capacitatea acestor celule de a invada alte țesuturi din organism, fie prin creștere directă în țesuturi adiacente (invazie) sau prin migrația celulelor spre locuri mai îndepărtate în organism (metastazie). Creșterea este cauzată de anomalități în structura DNA, cum ar fi mutații ale genelor care controlează hiperplazia celulelor. Frecvent, una sau mai multe astfel de mutații pot duce la diviziunea și înmulțirea neregulată a celulelor și geneza unor tumori.

În prezent, problema primordială în oncologie este stabilirea cu mai multă precizie a pronosticului pacienților afectați de cancer și de a propune, dacă este posibil, un tratament stabilit în mod individual pentru pacient în dependență de tipul și caracteristicile de invazivitate ale tumorii, cât și de receptivitatea față de tratamentul propus [32].

Una din caracteristicile metabolice fundamentale ale țesuturilor canceroase este consumul ridicat de glucoză. Rata consumului de glucoză într-o celulă de cancer poate fi mai mare de 10-15 ori decât în celulele normale. Izolarea și cultivarea celulelor tumorale *in vitro* pun în evidență proprietăți, care se asociază cu utilizarea intensivă de glucoză și prezența unui metabolism oxidativ minim, exprimând o creștere a concentrațiilor de lactat în mediul de cultură și o rată redusă a consumului de oxigen [2]. În pofida faptului că glicoliza este sugerată drept o particularitate generală a celulelor maligne și recent identificată ca un posibil factor de contribuție la progresia tumorală [35], mai multe studii pun în evidență caracteristicile metabolice distincte în cazul unor tumori, inclusiv o scădere relativă a avidității față de glucoză sau/și o dependență de glutamină și chiar de lactatul celulelor tumorale proliferative.

Aplicarea tratamentului prin inhibiția metabolismului glicolitic va implica și *screening*-ul de rutină în profilul tumoral. În acest context, prezintă un mare interes elaborarea unor programe de diagnostic, de tratament, de optimizare a modificărilor metabolice caracteristice cancerului, de monitorizare a pacienților.

Scopul a constat în determinarea particularităților în metabolismul energetic al celulelor canceroase, elucidarea metabolismului energetic în funcție de substraturile nutritive principale, cum ar fi glucoza și glutamina, evaluarea lactat dehidrogenazei (LDH) ca marker potențial al malignizării, estimarea dietei cetogene în tratamentul cancerului.

Tumorile maligne sunt caracterizate printr-un metabolism

creșcut, fapt care condiționează o creștere rapidă determinată nu numai de sinteza compușilor membranari și a acizilor ribonucleici, dar și de generarea intensă a energiei. Metabolismul energetic tumoral reprezintă o caracteristică comună pentru toate tipurile de celule canceroase, de la stadiile precoce de transformare până la invazia tumorală și metastaze, atât *in vitro*, precum și *in vivo*.

Metabolismul intens al glucozei este util în detectarea metastazelor tumorale, a nodurilor limfatici metastazați primar în proximitate sau la distanță de focar, în evaluarea sensibilității la tratamentul prin radiochimioterapie, în depistarea recidivelor tumorale [9]. Metabolismul energetic și, în special, cel al glucozei, depinde de mai mulți factori, atât genetici care vor dicta gradul și tipul de expresie a principalelor enzime implicate în glicoliză, cât și de factori externi, precum concentrația glucozei în mediul extracelular.

Celulele cu grad de proliferare mai înalt au un nivel de NADH mai redus, fapt care confirmă că procesele anabolice sunt predominante în cancer și cantitatea de energie generată este suficientă pentru menținerea gradientilor de ioni transmembranari, sintezei de macromolecule, contracararea stresului oxidativ sau susținerea altor procese energetic dependente [18]. NADH este un echivalent energetic, produs preponderent din activitatea enzimatică a dehidrogenazelor glicolizei aerobe. În cazul în care nivelul oxigenului tisular este scăzut, în special, în tumorile cu un înalt grad de proliferare, fenomenul hipoxiei și al vascularizării imperfecte determină tranziția spre metabolismul energetic predominant glicolitic.

Glucoza oxidată în celule provine fie din degradarea glicogenului propriu, fie din sângele care perfuzează țesutul respectiv. Celulele canceroase continuă să producă până la 80% de ATP în procesul glicolizei, un fenomen care are loc în prezența oxigenului, spre deosebire de celulele proliferante care sunt în stare de hipoxie [40].

Acest fenomen persistent, caracterizat drept o marcă a metabolismului celulelor canceroase a fost descris pentru prima dată de către Otto Warburg, laureat al Premiului Nobel pentru descoperirea proceselor-cheie ale lanțului respirator. Otto Warburg a încercat să explice fenomenul glicolizei aerobe prin apariția disfuncțiilor mitocondriale. Savantul consideră că nașterea celulelor canceroase din celule normale se caracterizează prin două faze:

Prima – apariția daunelor ireversibile în procesul respirației.

A doua – substituirea respirației prin fermentare (Otto Warburg, 1956) [31].

Factorii ce duc la dereglarea respirației tisulare sunt: substanțele cancerigene, radiația, hypoxia, inflamațiile, virusii, mutațiile, oncogenele, vârsta. În rezultat are loc reducerea numărului de mitocondrii, cristoliză, dereglarea proceselor de fosforilare oxidativă.

Insuficiența de energie este compensată prin procesul de fermentare, doar celula posedând capacitatea de fermentare devenind celulă cancerigenă, fiindcă aceasta este unica sursă de dobândire a energiei necesare pentru activitatea pompei Na/K.

Ipoteza unei implicări cauzale a disfuncției mitocondriale

(fig. 1) și glicolizei (fig. 2) în procesul de oncogeneză a fost abandonată ulterior în favoarea teoriei genetice de apariție a cancerului în urma implicării mutațiilor genetice și, în special, a genelor supresoare tumorale. Biologia mitocondriilor și glicoliza aerobă sau fenomenul Warburg revine în vizorul cercetărilor din domeniu odată cu antrenarea mitocondriilor în procesul de apoptoză sau de moarte programată celulară [20, 31].

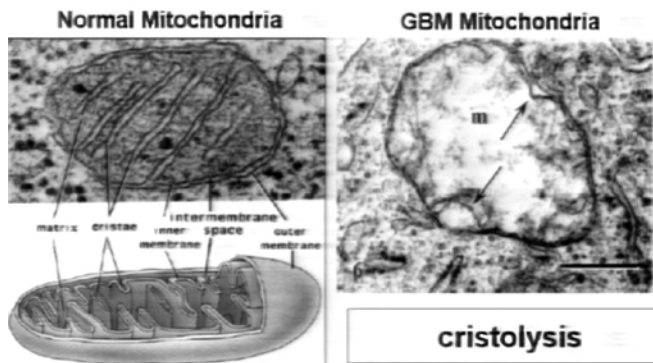


Fig. 1. Mitocondriile intacte (stânga) și alterate (cristoliza) [31].

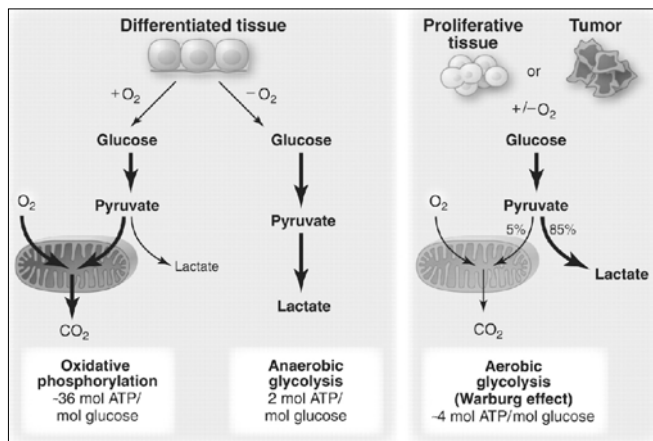


Fig. 2. Calea preferată de utilizare a glucozei în cancer și țesuturi care proliferază este transformarea piruvatului spre lactat, fenomen denumit glicoliza aerobă sau efectul Warburg [38].

Nu se cunoaște pe deplin rolul pe care îl deține efectul Warburg în progresia tumorală. A fost menționat rolul de adaptare la o deficiență de substrat energetic într-o populație de celule care proliferază rapid [10]. Una dintre cauze este, de asemenea, lipsa rețelei vasculare sau a unei angiogeneze, care ar putea satisface necesitățile rapide de creștere a tumorii. S-a stipulat, de asemenea, capacitatea de difuziune a glucozei mult mai înaltă decât cea a oxigenului în țesuturi ca o posibilă cauză de trecere de la metabolismul oxidativ la cel glicolitic. De asemenea, rolul de acidifiere prin generarea de lactat a glicolizei intensive ar putea avea un efect toxic asupra celulelor normale, marcând efectul invaziv al tumorii în expansiune.

Actualmente, inhibiția apoptozei este unul dintre semnele distinctive ale celulelor tumorale. Apoptoza prezintă un mecanism de moarte programată a celulelor canceroase dependent de rezervele energetice ale celulei. Energetica

celulei canceroase și modul de rezistență față de tratamentele propuse a suscit un adevărat interes în laboratoarele de cercetare modernă.

Se discută mai multe mecanisme pe care le adoptă celula tumorală pentru depășirea cerințelor de energie. Glicoliza ar fi unul dintre mecanismele importante, puse în aplicare de către țesutul tumoral, care i-ar permite să continue proliferarea în condiții de stres energetic.

Glicoliza, ca parte importantă a metabolismului cancerului, este evidențiată, în primul rând, prin absorbția ridicată de 2deoxi-D-glucoză la examenul PET-scan. Un al doilea argument, care susține ipoteza unei glicolize crescute, este amplificarea concentrației de lactat.

Metabolismul celulelor canceroase este asociat cu o producție și o secreție marcantă de lactat în țesuturile peritumorale. În țesuturile, în care absorbția glucozei nu este perturbată, nivelul sporit al lactatului ca produs final al transformării glucozei în piruvat și, ulterior, lactat în condiții anaerobe, reflectă, în primul rând, un nivel crescut al glicolizei.

Lactatul este produsul rebut al glicolizei și care, în mod normal, este absent în țesutul sănătos în condiții normoxice și satisfăcătoare de oxigenare tisulară [40, 41]. În mediul extracelular, se apreciază o acidifiere intensă care este datorată, înainte de toate, acidului lactic (lactat), reprezentând o cotă de 80% (celelalte 20% sunt rezultatul acumulării de CO_2 , generat în ciclul acizilor tricarboxilici. Unii autori atribuie acidității mediului tumoral un rol de factor agresiv în invazia tumorală [25].

În ultimii ani, în literatura de specialitate, semnul distinctiv al metabolismului energetic al tumorii, conform ipotezei cel mai des vehiculate, este predominarea metabolismului glicolitic față de cel al fosforilării oxidative [23]. Degradarea completă a glucozei la CO_2 și H_2O are loc în mitocondrii în timpul procesului numit fosforilare oxidativă, proces desfășurat doar în prezența oxigenului. Glicoliza aerobă va genera 38-36 molecule de ATP. Energia rezultată este generată în: fosforilare oxidativă (mitocondrii) – 89%, fosforilare la nivel de substrat (mitocondrii) – 5,5% și fosforilare la nivel de substrat (citosol) – 5,5%. Glicoliza anaerobă este însoțită de generarea doar a 2 molecule de ATP. Se consideră că glicoliza este modul preferențial de producție a energiei în mai multe celule, cum ar fi cele anoxice, embrionare sau cele care proliferază intens. Aparent paradoxal, chiar și în prezența oxigenului, celulele canceroase preferă să se comporte ca și cum ar avea condiții anaerobe: evită ciclul Krebs și fosforilarea oxidativă, având un randament mult diminuat, provoacă stresul energetic.

Este evident că atât în celulele normale, cât și în cele tumorale, cele din urmă fiind caracterizate printr-o proliferare nedirijată, diferite mecanisme sunt evocate pentru depășirea crizei energetice. Unele dintre mecanismele, care pot fi implicate în metabolismul celulei canceroase, sunt autofagia și angiogeneza.

Autofagia, prin exercitarea rolului său catabolic, permite reciclarea metaboliților organelor disfuncționale sau a compușilor inutili și contribuie, în același timp, la supraviețuirea celulelor tumorale [12]. Astfel, autofagia servește drept efect protector pentru celule, oferind o sursă alternativă de nutri-

enți. Cu toate acestea, pierderea genei care inițiază procesul de autofagie – beclin1 – este frecvent demonstrată în țesuturile tumorale, ceea ce paradoxal i-ar conferi un alt rol autofagiei în mecanismul de creștere tumorală asemănător cu cel al apoptozei [21].

Angiogeneza reprezintă un proces critic în dezvoltarea tumorală și este esențială pentru dezvoltarea leziunilor tumorale, care depășesc diametrul de 1 mm. Achiziția proprietăților de neoangiogenează, documentate prin aspectul histologic de apariție a microvascularizării și reprezentată, de asemenea, prin preluarea de contrast la examenul imagistic RMN (rezonanță magnetică nucleară) sau CT constituie argumentul forte de trecere a tumorii la un grad superior de malignizare. S-a stabilit, că inhibitorii receptorilor VEGFR (receptorul factorului de creștere al endoteliului vascular) cu scop de reducere a neovasculogenezei sunt utilizați în cancerul malign [25].

Factorul supresor tumoral p53, care asigură stabilitatea genomului celulei, intervine în metabolismul energetic tumoral prin stimularea fosforilării oxidative ca rezultat al hipersintezei citocrom c-oxidazei și în diminuarea ratei glicolizei grație inhibiției generării de fructozo-1,6-difosfat. Una dintre principalele enzime, legate atât de glicoliză, cât și de intensitatea fosforilării oxidative și care participă activ la integrarea metabolismului glicolitic este lactat dehidrogenaza (LDH), activitatea căreia depinde riguros de aprovizionarea cu glucoză, de disponibilitatea oxigenului și/sau de acumularea piruvatului în exces [8, 27].

Lactat dehidrogenaza (LDH) este enzima implicată în cataliza reacției de conversiune lactat – piruvat (fig. 3). Molecula LDH este compusă din 2 tipuri de subunități: subunitatea M (codată de gena *LDHA*) și cea H (codată de gena *LDHB*), ale căror combinații din 4 protomeri formează 5 tipuri de izomeri de la LDH-1 (H_4) la LDH-5 (M_4). Localizarea preponderentă a izoenzimelor LDH:

- LDH-1 (H_4) – inimă
- LDH-2 (H_3M_1) – sistem reticuloendotelial
- LDH-3 (H_2M_2) – plămâni
- LDH-4 (HM_3) – rinichi, placenta și pancreas
- LDH-5 (M_4) – ficat și mușchiul striat

Subunitatea M este localizată în cromozomul 11p15.4, pe când subunitatea H – în cromozomul 12p12.2-p12.1.

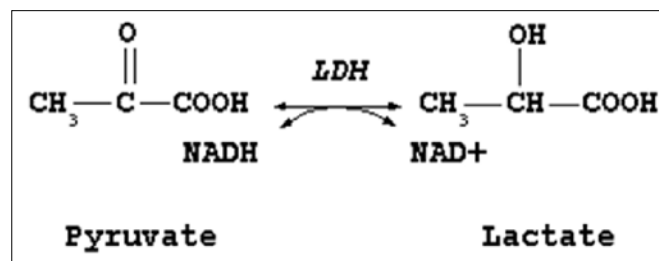


Fig. 3. Reacția reversibilă catalizată de lactat dehidrogenază (LDH).

Potrivit raportului de compoziție, dintre cele 2 subunități într-un tetramer și cele 5 izoenzime *in vivo*, activitatea LDH totale este caracterizată prin proprietăți fizice și catalitice distincte, izoenzimele M_4 și M_3H_1 preferențial reduc piruvatul

la lactat în țesuturile anaerobe, cum ar fi mușchiul striat și ficatul, iar izoenzimele H_4 și H_3M_1 vor oxida lactatul în piruvat în țesuturile aerobe (de exemplu, inima) [40].

Mai multe studii au subliniat faptul că izoenzimele LDH ar putea servi drept indicator biochimic în acidificarea mediului tumoral, ceea ce caracterizează gradul de hipoxie intratumorală și, în consecință, ar prezenta un indice forte al malignizării [9, 11, 40, 41]. Tumorile cu nivel ridicat de proteine c-Myc sunt asociate cu expresia selectivă a *LDH-A* RNA și cu creșterea nivelului enzimatic al acestei subunități, în comparație cu celulele limfoblastoide netransformate, demonstrând că LDH este o țintă directă a factorilor oncogenici de transcripție [34]. Atât nivelurile crescute de LDH serică, cât și expresia unor izoforme de LDH, în special, a subunităților LDHA ar putea indica tendința spre malignizare a tumorii [33].

S-a invocat posibilitatea utilizării nivelului de lactat din sânge, pentru a determina gradul de agresivitate a tumorii, constituind premise pentru o clasificare metabolică a tumorilor de tip variat deja la începutul transformării maligne [25]. Într-o serie de tumori, cum ar fi cancerul la cap și la gât, nivelul crescut de lactat constituie un factor predictiv al metastazelor [24]. Mai multe studii au evaluat capacitatea de acidifiere a mediului de creștere a celulelor tumorale și au demonstrat o corelare semnificativă a acestui indice cu gradul de disfuncție a metabolismului oxidativ mitocondrial [37]. Există o legătură strânsă între fenotipul tumoral, agresivitatea tumorală și nivelul de lactat. Astfel, atât inhibiția expresiei de LDHA, cât și inhibiția activității acesteia a dus la regresivitatea limfomului și a grefonului de cancer pancreatic în model experimental [3].

Faptul că LDHA reflectă agresivitatea tumorală, demonstrează importanța metabolismului glicolitic aerob (efectul Warburg) în supraviețuirea celulelor tumorale [15]. În mod contrar, gena LDHB a fost implicată în alte tipuri de cancer distincte metabolic de cele cu un grad înalt de malignizare și cu un nivel ridicat al glicolizei, pentru care un tratament inhibitor cu anti-LDHA nu ar fi dat rezultate [38]. Toate acestea generează un *screening* riguros al markerilor metabolici pentru o definiție mai exactă a tipului de metabolism energetic, de care celula este potențial dependentă.

Lactat dehidrogenaza de tipul A este indispensabilă desfășurării glicolizei în condițiile anaerobe sau în condițiile unui efect Warburg, deoarece conversia piruvatului în lactat permite regenerarea cantității de NAD^+ necesare pentru reacția de transformare a gliceraldehid-3-fosfatului în 1,3 bisfosfoglicerat.

Creșterea ratei de consum a glucozei în unele tumori, evidențiată prin asimilarea și prin retenția F-2DG (fluoro-2-deoxi-glucoză) a fost corelată cu rata secreției de lactat, determinată prin spectroscopie RMN, *in vitro* și *in vivo* [36]. În mod similar, dar indirect, un nivel crescut al izoenzimei de tipul LDHA, a cărei activitate este soldată cu producția de lactat, a fost depistat în spațiul intercelular și în circuitul de sânge la pacienții cu tumori maligne. Astfel, ambii factori – izoenzima de tip LDHA și cantitatea de lactat – au corelat cu forme mai agresive de cancer determinate histologic și cu un prognostic clinic defavorabil [6, 35, 17].

Valoarea nivelului glicolizei în hipoxie este dependentă de

producția de lactat, care este donatorul de protoni în reacția de conversiune din piruvat în lactat și asigură, astfel, regenerarea NAD^+ . Nivelul de lactat poate fi ușor monitorizat prin MRS (spectroscopia prin rezonanță magnetică) și va reflecta în mod indirect nivelul hipoxiei tisulare [2]. Evaluarea directă a oxigenului este o procedură invazivă și rareori utilizată în practica medicală de rutină. LDH și, mai ales, expresia LDHA prin metoda imunohistochimică, cât și expresia subunității beta-ATPaza reprezintă o altă modalitate în aprecierea preponderenței fluxului glicolitic și, în consecință, în diminuarea activității metabolismului oxidativ și este utilizată ca marker al agresivității tumorale [4].

Stresul energetic este un fenomen aproape constant în cancer. La mamifere, celulele își mențin un echilibru energetic pozitiv și stabil caracterizat printr-un raport de ATP/ADP relativ mare (raportul 10/1). Unii factori din mediu pot perturba echilibrul energetic, cu micșorarea nivelului de ATP. Celulele canceroase, a căror creștere este caracterizată prin proliferarea necontrolată, asociată unui proces de angiogeneză imperfect, sunt adesea supuse stresului metabolic și celui energetic ca răspuns la deficiențele de substanțe nutritive [14].

Echilibrul energetic este unul dintre procesele fundamentale ale organismului. Un rol-cheie în reglarea metabolismului energetic îl are enzima adenzozin monofosfat kinaza activă (AMPK). Enzima respectivă este activată de o serie de factori patologici legați de stresul celular, printre care un rol deosebit îl deține deprivarea de glucoză, hipoxia, stresul oxidativ sau diverși hormoni. Drept rezultat, AMPK activează căile de producere a energiei, cum ar fi glicoliza, oxidarea lipidelor, glutaminoliza și inhibă căile de consum al energiei: gluconeogeneza, lipogeneza. Stresul metabolic duce la epuizarea de ATP și la creșterea în AMP; altfel spus, raportul AMP/ATP este reglatorul principal al activității AMPK.

O enzimă cu rol de activare a AMPK este și LKB1 (STK11 serin-treonin kinază 11, cunoscută ca *liver kinase B₁* – kinaza hepatică B₁). Gena *LKB1* este considerată supresor tumoral, constituent activ și funcțional în celule, ale cărei mutații sunt asociate cu sindromul Peutz-Jegher și cu o multitudine de tumori. Pacienții cu sindrom Peutz-Jegher se confruntă cu un risc sporit de a dezvolta diverse malignități epiteliale în urma unor ușoare lovituri. În cancerul sporadic pulmonar, fără celule mici, mutațiile LKB1 sunt depistate în aproape 50% cazuri, dintre care jumătate de pacienți sunt sau au fost fumători. Rolul acestor mutații în transformarea tumorală pare să fie de o importanță majoră, deoarece sunt implicate și depistate precoce în hiperplaziile pulmonare atipice adenomatoase [11].

Tandemul LKB1-AMPK reprezintă senzorul energetic al celulei, reacționând la semnalele generate de schimbarea stării energetice a celulei [9]. AMPK activează funcțiile de oxidare în mitocondrii și, prin urmare, crește rata consumului de oxigen, activează citrat sintaza, induce gene metabolice cheie: carnitin palmitoiltransferaza 1A (responsabilă de transportul acizilor grași prin membrana mitocondrială în procesul de beta-oxidare), citocromul c (CYTC), izocitrat dehidrogenaza 3 (IDH 3) – enzimă cu rol reglator în ciclul acizilor tricarboxilici. AMPK controlează și procesele relevante în dezvoltarea tumorii precum progresia ciclului celular, sinteza proteinelor și supraviețuirea celulară [34].

În condiții de deprivare de glucoză, AMPK activează prin fosforilare proteina supresoare tumorală p53, aceasta din urmă va dispune oprirea ciclului celular în faza G1-S. Altă cale importantă de semnalizare, deseori activată în cancer, este calea PI3-AKT, pe care AMPK o inhibă prin complexul mTORC1 sau prin fosforilarea reziduurilor de serină pe TSC2 (gena sau proteina sclerozei tuberoase, o alta genă supresoare de tumori, diferită de calea AKT).

AMPK suprimă proliferarea celulară prin inhibiția semnalizării mTOR și prin reactivarea axei p53-p21 [19]. Celulele normale își adaptează metabolismul la schimbările, care au loc în mediul exterior.

Una dintre enzimele-cheie, implicate în reglarea glicolizei, a cărei expresie este semnificativ crescută în celulele canceroase, este hexokinaza de tipul II [44]. Această enzimă este asociată la nivel de membrană mitocondrială cu VDAC receptorii (canal ionic voltaj dependent, care participă la sinteza ATP), fapt care îi permite să recruteze cu ușurință cantitatea necesară de ATP pentru reacția de fosforilare a glucozei în glucozo-6-fosfat. Proprietatea expusă este esențială, demonstrând în mod clar colaborarea între complexe enzimatice în celulă. De asemenea, ea servește drept confirmare pentru faptul că *in vivo* hexokinaza de tipul II este mai activă decât hexokinaza de tipul I; în condiții egale *in vitro* fiind demonstrat contrariul.

Posibilitatea blocării glicolizei prin 2-DG (2-Dezoxi-2-Dglucoza), care se leagă ireversibil de hexokinază, este una dintre posibilitățile de a exploata metabolismul excesiv al glucozei în celulele tumorale, evocat de unii autori, care au observat o descreștere tumorală după examenul imagistic al PET-scan (tomografie cu emisie de pozitroni). Compusul 2dezoxi-D-glucoza este un antimetabolit și reprezintă o glucoză, a cărei grupă 2-hidroxil este înlocuită cu hidrogen, din care rezultă o acțiune de inhibiție competitivă cu glucoza asupra enzimei hexokinaza. Astfel, captarea 2dezoxi-D-glucozei reflectă activitatea hexokinazei, enzimă care inițiază glicoliza și, deci, exprimă nivelul ei, în special în celulele consumatoare și dependente de glucoză (cu excepția ficatului și a rinichilor).

Prin inhibiția hexokinazei, compusul 2DG este considerat un antimetabolit, în special în celulele dependente de glicoliză, precum este și cancerul. Acest efect este uneori evocat pe lângă cel de bază de vizualizare a tumorilor și a metastazelor la captarea 2DG, marcată cu fluor radioactiv în PET-scan.

Sinteza precursorilor de acizi dezoxiribonucleici și regenerarea echivalentelor reductoare sunt cele două funcții esențiale, pe care le asigură ciclul pentozofosfat în celulele, care proliferază rapid. În prima etapă de oxidare a glucozo-6-fosfatului, sub controlul enzimei-cheie glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PDH) sunt generate două molecule de NADPH. Ulterior, în faza nonoxidativă, în urma unei serii de izomerizare sau reorganizare, este produsă ribozo-5-fosfat, necesară pentru sinteza ADN-ului și ARN-ului. Expresia atât a transcetolazei de tipul I, cât și a G-6-PDH este semnificativ crescută în cancer și a fost corelată cu intensitatea invaziei tumorale, gradul de malignitate și un prognostic nefavorabil [26].

O enzimă cu o activitate diversă, dar cu un rol foarte important, cum ar fi aldehyd-dehidrogenaza, s-a dovedit a fi, atât un marker al celulelor imature de diferențiere astrocitară din

sistemul nervos central, cât și un marker de prognostic. În ceea ce se referă la capacitatea de a determina evoluția tumorală la pacienții cu tumori ale sistemului nervos central, rolul aldehyd-dehidrogenazei este incert, invocat drept un factor de prognostic favorabil de către unii [1] sau nefavorabil – de către alții [13].

Funcția primară, atribuită kinazei 3β glicogen sintazei, este reglarea negativă a sintezei glicogenului prin fosforilarea și inactivarea glicogen sintazei. În același timp, studii recente au descoperit implicarea kinazei 3β glicogen sintazei în căile de reglare a principalelor funcții celulare cum ar fi: proliferarea, diferențierea, migrarea și supraviețuirea celulelor. Unul dintre principalii reglatori ai kinazei 3β glicogen sintazei este calea clasică a cascadei MAPK (proteinkinaza activată de mitogeni), cu o acțiune inhibitoare prin fosforilarea Ser39 [5]. De asemenea, kinaza 3β glicogen sintazei posedă funcția de proteină supresoare în calea Wnt de semnalizare. Aceasta deține un rol esențial în dezvoltarea embrionară și în progresia cancerului. Beta-catenina din calea Wnt de semnalizare, în absența kinazei 3β glicogen sintazei nu mai poate fi marcată prin ubiquitină, ceea ce duce la acumularea și, în final, la transportul acesteia în nucleu, pentru a acționa pe genele țintă cum ar fi oncoproteina, prin acest mecanism – kinaza 3β glicogen sintazei este considerată ca proteină supresoare tumorală [43]. În realitate, rolul exact al acestei proteine nu se cunoaște pe deplin din cauza modelelor diferite tumorale.

Modificările genetice constitutive determină în celulele canceroase expresia predominantă a echipamentului enzimatic specific căii glicolitice și, în paralel, a reducerii căii oxidativ mitocondriale. Aceste mecanisme genetice nu sunt totuși reductorii, dar oferă o oarecare capacitate de readaptare. Astfel, unele studii au reușit să identifice mecanisme de adaptare a celulelor canceroase la disponibilitatea substratului din mediu, demonstrând pe baza liniei celulelor transformate HeLas o trecere forțată de producere a NADH din cel glicolitic în mod exclusiv glutaminolitic [7].

Mai multe studii au evocat posibilitatea utilizării glutaminei în loc de glucoză de către celulele canceroase, fenomen care ar putea explica rezistența cancerului la administrarea antimetaboliților cum ar fi 2DG, utilizat atât în scop de diagnosticare, cât și de inhibiție a creșterii tumorale [8, 33].

Glutamina (Gln) deține un rol important în mai multe funcții biochimice: este unul dintre cei 20 de aminoacizi proteinogeni, este un reglator al echilibrului acido-bazic în rinichi prin producerea de amoniu; ca sursă de energie pentru celulă are o valoare mai mică, o moleculă de Gln generează 24 de molecule de ATP; se consideră un donator cardinal al grupei amino (NH_2) pentru procesele anabolice și altele. Din aceleași motive și având o concentrație de 500-900 $\mu\text{mol/L}$, glutamina este considerată aminoacidul cel mai abundent din sânge. În mediile de cultură ale celulelor stem, pentru asigurarea proliferării celulare, glutamina se găsește în concentrații relativ mari, în medie de 2 mmol/L .

Constituind sursa principală de azot și de carbon, glutamina este indispensabilă celulelor intens proliferante și, în consecință, viabilității celulelor tumorale. Efectul de retardare a creșterii în modelele de tumori experimentale din

care glutamina a fost sustrasă, demonstrează acest fapt [19]. Deoarece atât glucoza, cât și glutamina participă la sinteza de hexozamine, dintre care N-acetilglucozamina, această etapă deține un rol important în modificările posttranslaționale ale proteinelor și este una de integrare a metabolismului glucozei cu cel proteic [9].

În procesul numit anaplerotic, glutamina furnizează scheletul de carbon ciclului acizilor tricarboxilici, transformându-se în glutamat și apoi α -cetoglutarat. Astfel, când o mare parte din intermediari sunt deviați pentru sinteza de lipide în celulele tumorale, funcția anaplerotică este menținută în cea mai mare parte de glutamină [11].

Toate argumentele aduse susțin și ipoteza avantajului energetic prin aportul crescut al glutaminei în celulele canceroase. Implicarea glutaminei în metabolismul energetic tumoral a fost evaluată chiar de la primele cercetări ale dependenței tumorale de nutrienți energetici, surprinzător stabilind faptul că glutamina deține rolul principal, depășindu-l chiar pe cel al glucozei [25, 30]. Ulterior, acest aspect, dar și alte funcții ale glutaminei au motivat utilizarea ei ca marker metabolic în imagistica tumorală, în special cea a radiodiagnosticului prin PET-scan în completare sau chiar spre a substitui ^{18}F -2DG PET [16]. Prin astfel de metode, ar fi posibilă depistarea celulelor canceroase cu un nivel sporit al metabolismului glutaminei și, în consecință, de elaborat un plan strategic al tratamentului, care ar viza aceste particularități metabolice.

Implicarea glutaminei în metabolismul energetic al celulei tumorale a fost invocată în repetate rânduri, atribuindu-i un rol de supraviețuire în cazul în care concentrația glucozei în țesuturi este insuficientă. Metabolismul preponderent glutaminic n-a fost însă demonstrat decât în câteva studii [24, 3]. Absența argumentelor pentru un metabolism crescut al glucozei la utilizarea metodelor imagistice ar fi putut sugera o posibilă afinitate față de glutamină în aceste tumori. În schema de mai jos este reprezentată calea glutaminolizei, unde glutamina este metabolizată până la intermediarul ciclului Krebs – α -cetoglutarat și transformată la final în lactat.

Glutamina nu este doar o sursă de carbon și de azot din procesul anabolic, dar și o cale de generare a energiei, contribuind la supraviețuirea celulelor tumorale în mod analogic cu cel al glicolizei. Rolul glutaminei ca sursă alternativă de energie poate fi reprezentat schematic prin figurile 4 și 5.

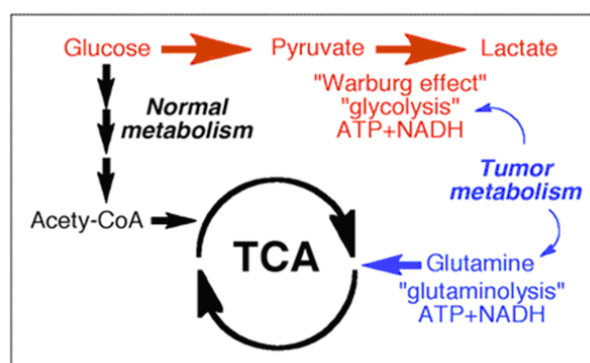


Fig. 5. Glutamina ca sursă alternativă de generare a energiei în tumori. Schema reprezintă rolul glutaminei în metabolismul energetic tumoral [25].

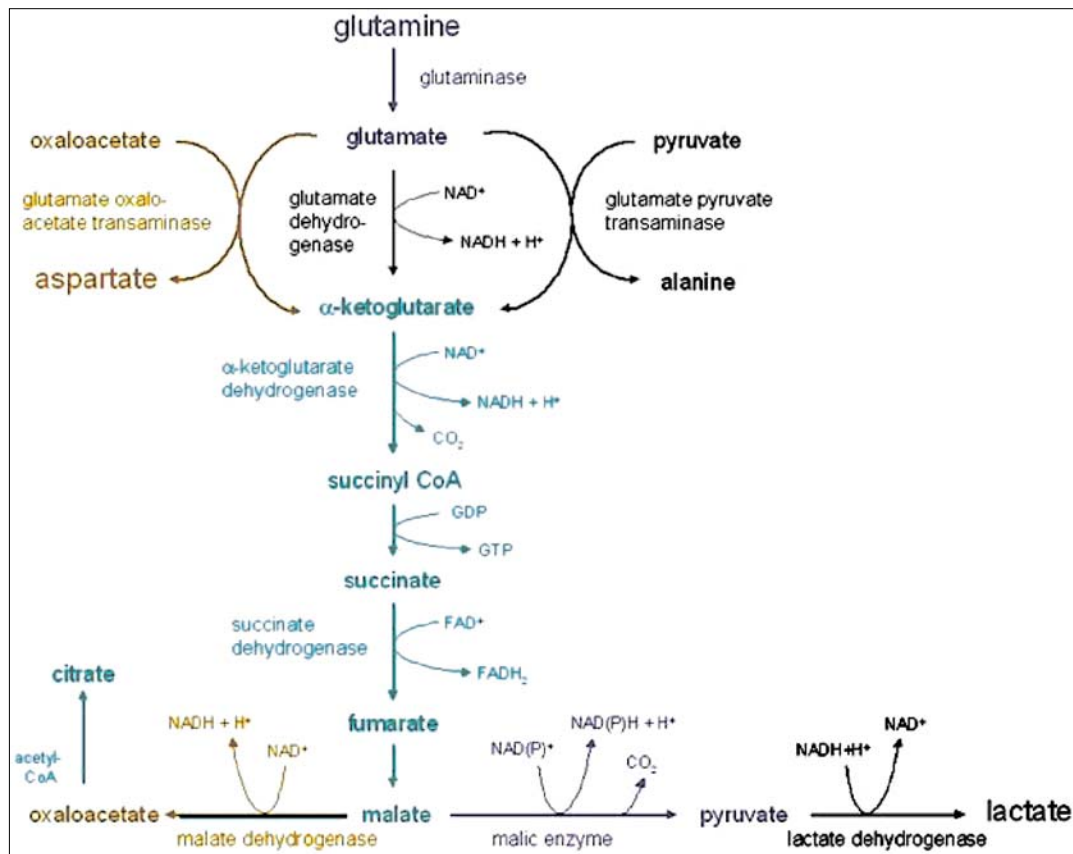


Fig. 4. Glutaminoliza: cale de producere a energiei. În culori albastre este reprezentată calea glutaminolizei, determinând glutamina să intre în ciclul Krebs prin α -cetoglutarat; în culori oranj este reprezentat sistemul navetă malat-aspartat [25].

Principalele direcții ale oncogenezei, care implică metabolismul energetic, includ și studiul căilor de semnalizare cu un rol major în geneza tumorală. În mod frecvent, se atestă căile Myc, Akt și factori cum ar fi *HIF* (factorul indus de hipoxie), cu implicare în reglarea glicolizei prin creșterea expresiei unor enzime cum ar fi: hexokinaza; piruvat kinaza; kinaza piruvat dehidrogenaza; dar și unele izoforme de transportatori din familia celor transmembranari *GLUT* [42].

Proteina Myc aparține unei familii de factori de transcripție care include, de asemenea, genele N-Myc și L-Myc. Această genă suportă deseori mutații în patologii proliferative și tumorale, fiind descoperită pentru prima dată în limfomul Burkitt. Myc este constitutiv activă în multe tipuri de cancer sau activată sub acțiunea căilor de semnalizare frecvent atestate în procesele tumorale, cum este calea Wnt și EGF. Astfel, se consideră că dereglarea căii Myc are loc în peste 40% de tumori, inclusiv tumorile de colon, prostată și vezică urinară [36].

S-a demonstrat că Myc și HIF sunt reglatori ai metabolismului glucozei, efectului Warburg, favorizând expresia transportorilor GLUT 1, a enzimelor HK2, PKM2 și a LDHA. În egală măsură, Myc este responsabil și de stimularea metabolismului glutaminei, prin reglarea transportorilor SLC1A5 și a glutaminazei (GLS) [6]. Este de remarcat faptul că liniile de celule umane, în care Myc este în exces exprimat, s-au dovedit a fi dependente de glutamină, astfel încât sustragerea glutaminei din mediu a declanșat apoptoza [35].

Chiar dacă metabolismul glutaminei și al glucozei pare să fie reglat de aceleași căi de semnalizare cum ar fi Myc, metabolismul preferențial în fiecare dintre linii este selectiv reglat și predeterminat genetic (fig. 6).

Factorii limitanți ai metabolismului glucidic sunt, în primul rând, transportatorii glucozei (*GLUT*), o familie de glicoproteine transmembranare codificate de diferite gene. Aceste molecule asigură traversarea glucozei prin membrana celulară fără consum de energie. Fixarea glucozei pe fața extracelulară a membranei determină o modificare conformațională a proteinei transportatoare, facilitând trecerea și eliberarea glucozei în interiorul celulei. Expresia transportatorilor este dependentă de țesut și se deosebesc între ei prin afinitatea față de glucoză, exprimată prin constanta lui Michaelis (K_m). Glucoza este substratul nutritiv preferat în țesuturi cum ar fi creierul, inima, eritrocitele, precum și în celulele de regenerare în căile de proliferare. Concentrația de glucoză din plasmă este de ordinul a 0,8 g sau 3,3-5,5 mmol/L.

Expresia crescută de GLUT 1 corelează în mod direct cu captarea 2FDG (fluoro-2-dezoxi-D-glucoză), care este un analog al glucozei la examenul clinic prin PET-scan. Ambii factori – GLUT 1 și 2FDG – reprezintă un indice de prognostic important în cancerul pulmonar și în cel de colon [39]. HIF-1 α (factorul inductibil al hipoxiei) participă la expresia GLUT 1 și 3, măbind accesul glucozei în celulele stem canceroase [16]. MCT (transportorii monocarboxilați) transportă

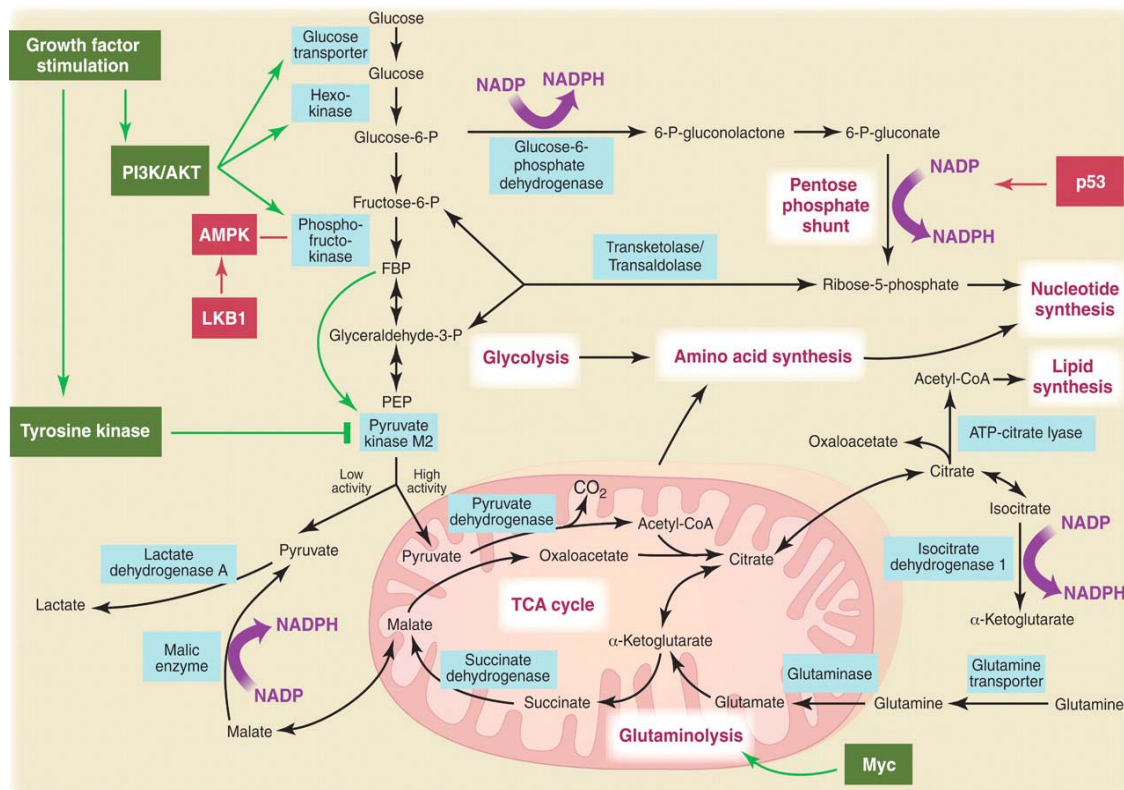


Fig. 6. Mutații ale oncogenelor și implicarea lor în reglarea glicolizei [44].

monocarboxilații cum ar fi piruvatul și lactatul, facilitând traversarea membranei plasmatică, dar și a celei mitocondriale, ca în cazul de MCT1 sau MCT2; MCT1 este omniprezent, în timp ce MCT4 se găsește în cea mai mare parte în celulele musculare sau în celule metabolice active, inclusiv tumori. MCT2 este în cea mai mare parte depistat în rinichi, neuroni și spermatozoizi, în cazul în care este necesară absorbția rapidă a concentrațiilor scăzute a substraturilor. Toți acești factori enumerați anterior dețin un rol important în celulele care proliferază intens, inclusiv celulele maligne. Expresia acestor enzime și transportatori ai glucozei este corelată cu gradul de malignitate și poate servi drept marker biologic în clinica tumorală.

Modularea metabolismului energetic reprezintă o nouă etapă în tratamentul cancerului. Caracterizarea minuțioasă a metabolismului energetic al celulelor tumorale ar putea genera noi oportunități în modularea căilor de generare a energiei. Dependența celulelor canceroase de glucoză, posibilitatea utilizării glutaminei în procesele energetice, inhibiția metabolismului oxidativ, toate sunt particularități ale metabolismului tumoral care pot fi ținta unui tratament selectiv, de bază și adjuvant.

Celula cancerigenă nu are capacitatea de a se adapta la o sursă alternativă de energie. S-a stabilit că la substituirea glucozei cu corpuri cetonice, adică la dieta bogată în lipide (dieta ceto-genă), celula canceroasă nu se poate adapta și moare (tab. 1).

Experienței au fost supuși șoriciei. După trei zile, s-a observat că tumoarea cerebrală s-a redus, fapt care demonstrează că metoda este eficientă. S-a constatat dependența direct proporțională a masei tumorale de glucoză. La utilizarea dietei

sărace în glucide și bogată în lipide (cetone), are loc micșorarea masei tumorale și invers, la dieta bogată în glucoză și săracă în cetone, se constată creșterea masei tumorale [28, 29] (fig. 7).

Tabelul 1

Compoziția (%) dietei standard și a dietei cetonice

Compoziția (%) dietei standard (DS) și a dietei cetonice (DC)		
Componentele	DS	DC
Glucide	62	3
Lipide	6	72
Proteine	27	15
Energia (kcal/g)	4,4	7,2
L/P+G	0,07	4



Fig. 7. Micșorarea masei tumorale la utilizarea dietei bogate în cetone [28, 29].

În rezultatul experiențelor s-a constatat că, utilizarea glucozei e mai ridicată în celulele canceroase decât în cele sănătoase. La utilizarea dietei cetonice – utilizarea glucozei e

mai ridicată în celulele sănătoase decât în cele canceroase. La administrarea dietei cetogene în combinație cu 2-dezoxiglucosa: nivelul redus de glucoză distruge celulele canceroase, iar nivelul ridicat de cetone protejează celulele normale [28, 29].

Concluzii

Sursa energetică majoră a celulelor canceroase este glucoza, metabolismul celulelor tumorale este reprezentat de glicoliza aerobă (efectul Warburg), unde LDH reprezintă un marker al malignității tumorale.

Dependența celulelor canceroase de glucoză, posibilitatea utilizării glutaminei în procesele energetice, inhibiția metabolismului oxidativ sunt particularități ale metabolismului tumoral, care pot fi ținta unui tratament selectiv, de bază și adjuvant.

Modularea metabolismului energetic reprezintă o nouă etapă în tratamentul cancerului. Aplicarea tratamentului prin inhibiția metabolismului glicolitic va implica și *screening*-ul de rutină în profilul tumoral.

Substituirea glucozei din rația alimentară cu lipidele (dietă cetogenă) poate fi o metodă non-toxică de management al cancerului.

Referințe bibliografice

- Adam SA, Schnell O, Pöschl J, et al. ALDH1A1 is a marker of astrocytic differentiation during brain development and correlates with better survival in glioblastoma patients. *Brain Pathol.* 2012;22:788-797.
- Albers M, et al. Hyperpolarized ¹³C Lactate, Pyruvate and Alanine: noninvasive biomarkers for prostate cancer detection and grading. *Cancer Res.* 2008;15:20-68.
- Lieberman Brian P, et al. PET Imaging of Glutaminolysis in Tumors by ¹⁸F-(2S,4R)4-Fluoroglutamine. *J Nucl Med.* 2011;52:1947-1955.
- Brizel DM, Schroeder T, Scher RL, et al. Elevated tumor lactate concentrations predict for an increased risk of metastases in head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;51(2):349-353.
- Cohen P, Frame S. The renaissance of GSK3. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2(10):769-776.
- Fujii M, Nishikawa A, Tanaka T, et al. Cytochemical changes in lactate dehydrogenase isoenzymes in human brain tumours. *Acta Neurochir (Wien).* 1984;71(3-4):243-253.
- Garber K. Energy deregulation: licensing tumors to grow. *Science.* 2006;312(5777):1158-1159.
- Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer.* 2004;4(11):891-899.
- Gstraunthaler G, Seppi T, Pfaller W. Impact of culture condition, media volumes and glucose content on metabolic properties of renal epithelial cell cultures. *Cell Physiol Biochem.* 1999;9:150-172.
- Hao W, Chang CP, Tsao CC, et al. Oligomycin-induced bioenergetic adaptation in cancer cells with heterogeneous bioenergetic organization. *J Biol Chem.* 2010;285(17):12647-12654.
- Hussien R, Brooks GA. Mitochondrial and plasma membrane lactate transporter and lactate dehydrogenase isoform expression in breast cancer cell lines. *Physiol Genomics.* 2011;43(5):255-264.
- Isidoro A, et al. Breast carcinomas fulfill the Warburg hypothesis and provide metabolic markers of cancer prognosis. *Carcinogenesis.* 2005;26:2095-104.
- Kast RE, Belda-Iniesta C. Suppressing glioblastoma stem cell function by aldehyde dehydrogenase inhibition with chloramphenicol or disulfiram as a new treatment adjunct: an hypothesis. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2009;4(4):314-317.
- Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, et al. NADPH Oxidases in Vascular Pathology. *Antioxid Redox Signal.* 2013;1.
- Kounelakis M, Zervakis M, Giakos G, et al. On the relevance of glycolysis process on brain gliomas. *IEEE J Biomed Health Inform.* 2012.
- Kumar M, Birdi A, Gupta YN, et al. Serum lactic dehydrogenase isoenzymes alteration in carcinoma cervix uteri. *Int J Gynaecol Obstet.* 1988;1:91-95.
- Lisii D. Energetic metabolism of glioma stem cells. *Curierul medical.* 2013;56(1):4-8.
- Lisii D. Aspecte noi în patomorfbiochimia celulelor canceroase și gliomatoase: Autoref. al tezei de doctor în medicină. Chișinău, 2013;25.
- Marik J, et al. PET of Glial Metabolism Using 2-18F-Fluoroacetate. *J Nucl Med.* 2009;50(6):982-990.
- Matoba S, Kang JG, Patino WD, et al. p53 regulates mitochondrial respiration. *Science.* 2006;312(5780):1650-1653.
- Meng M, Chen S, Lao T, et al. Nitrogen anabolism underlies the importance of glutaminolysis in proliferating cells. *Cell Cycle.* 2010;9:3921-3932.
- Mereuță Ion. Reglementarea serviciului oncologic în Republica Moldova. Chișinău, 2002;5.
- Nam SO, Yotsumoto F, Miyata K, et al. Possible therapeutic targets among the molecules involved in the Warburg effect in tumor cells. *Anticancer Res.* 2013;33(7):2855-2860.
- Rajagopalan KN, DeBerardinis RJ. Role of glutamine in cancer: therapeutic and imaging implications. *J Nucl Med.* 2011;52(7):1005-1008.
- Reitzer LJ, Wice BM, Kennell D. Evidence that glutamine, not sugar, is the major energy source for cultured HeLa cells. *J Biol Chem.* 1979;254:2669-2676.
- Rust RS Jr, et al. Enzyme levels in cultured astrocytes, oligodendrocytes and Schwann cells, and neurons from the cerebral cortex and superior cervical ganglia of the rat. *Neurochem Res.* 1991;16(9):991-999.
- Sevinc A, Sari R, Fadillioglu E. The utility of lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in the diagnostic evaluation of malignant and non-malignant ascites. *J Natl Med Assoc.* 2005;7(1):79-84.
- Seyfried TN, et al. Role of glucose and ketone bodies in the metabolic control of experimental brain cancer. *Br. J. Cancer.* 2003; 89:1375-1382.
- Seyfried TN, et al. Targeting energy metabolism in brain cancer with calorically restricted ketogenic diets. *Epilepsia.* 2008;49(8):114-116.
- Seyfried TN. Is mitochondrial glutamine fermentation a missing link in the metabolic theory of cancer? In: *Cancer As a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer.* John Wiley & Sons, Hoboken NJ. 2012;133-144.
- Seyfried TN. Respiratory dysfunction in cancer cells. In: *Cancer As a Metabolic Disease: On the Origin, Management, and Prevention of Cancer.* John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. 2012;73-105.
- Seyfried TN. Cancer as a metabolic disease: implications for novel therapeutics. *Amer. Assoc. Cancer Res. Education Book,* 2013;31-36.
- Shaw RJ. Glucose metabolism and cancer. *Curr Opin Cell Biol.* 2006;18(6):598-608.
- Shim H. C-Myc transactivation of LDHA: implications for tumor metabolism and growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Biochemistry.* 1997;94:6658-6663.
- Subhash MN, Rao BS, Shankar SK. Changes in lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in patients with tumors of the central nervous system. *Neurochem Int.* 1993;22(2):121-124.
- Takahashi M, Sakai N, Yamada H. Cytochemical changes in lactate dehydrogenase isoenzymes in human brain tumours. *Acta Neurochir (Wien).* 1984;71(3-4):243-253.
- Van den Bent M, et al. IDH1 and IDH2 mutations are prognostic but not predictive for outcome in anaplastic oligodendroglial tumors: a report of the European organization for research and treatment of cancer brain tumor group. *Clin Cancer Res.* 2010;16(5):1597-1604.
- Vlasi E, Lagadec C, Vergnes L, et al. Metabolic state of glioma stem cells and nontumorigenic cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:16062-16067.
- Walenta S, Schroeder T, Mueller-Klieser W. Lactate in solid malignant tumours: potential basis of a metabolic classification in clinical oncology. *Medicinal Chemistry.* 2004;11:2195-2204.
- Walenta S, Mueller-Klieser F. Lactate: Mirror and motor of tumor malignancy. *Seminars in Radiation Oncology.* 2004;14(3):267-274.
- Waniwski R, Martin D. Preferential utilisation of acetate by astrocytes is attributable to transport. *Journal of neuroscience.* 1998;18(14):5225-5233.
- Wray J, Kalkan T, Gomez-Lopez S, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 alleviates Tcf3 repression of the pluripotency network and increases embryonic stem cell resistance to differentiation. *Nat Cell Biol.* 2011;13(7):838-845.
- Yun K. LDH isozyme analyses of ethylnitrosourea-induced central nervous system tumors in rats. *Acta Pathol Jpn.* 1980;30(3):397-406.

Hepatorenal syndrome

E. Tcaciuc

Department of Internal Medicine, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: eugentcaciuc@yahoo.com. Manuscript received January 15, 2015, accepted April 05, 2015

Abstract

Background: Hepatorenal syndrome (HRS) is a serious complication of severe liver disease usually occurs in advanced stage of liver cirrhosis and acute fulminant hepatitis. HRS develops as a result of kidney hemodynamic changes occurring in severe liver disease and manifests as acute renal failure, functional, potentially reversible in the absence of renal histological changes. Type 1 HRS is characterized by rapidly progressive reduction in renal function. Type 1 HRS is often induced by acute precipitating factors such as bacterial infections, gastrointestinal bleeding and large volume paracentesis without plasma volume compensation. The decline in renal function is slow and progressive in type 2 HRS. Development of type 2 HRS is not dependent on acute events and is characterized by a progressive deterioration of renal function related to the degree of portal hypertension. Patients with type 2 HRS can spontaneously develop type 1 HRS manifested by acute functional renal failure in case of any precipitating factors.

Conclusions: Liver transplantation is the most effective method of treatment for HRS. Terlipressin, an analogue of vasopressin, improves renal perfusion by inducing vasoconstriction in the territory of the splanchnic circulation. Terlipressin and albumin combination therapy significantly improves the prognosis of patients with HRS. Continuous treatment with terlipressin until liver transplantation in patients with HRS recurrence after the first treatment is a good option for the period until liver transplantation. Combined pharmacological therapy (terlipressin plus albumin) reduces the rate of non-responders in patients with relapse. Renal replacement therapy serves as a bridge to transplantation in patients awaiting liver transplant.

Key words: liver cirrhosis, portal hypertension, hepatorenal syndrome, treatment.

Sindromul hepatorenal

Introducere

Modificările hemodinamice sistemice în ciroza hepatică se răsfrâng asupra circulației sanguine în rinichi și, în principal, se manifestă prin sindromul hepatorenal (SHR), care reprezintă o formă de insuficiență renală acută, funcțională, potențial reversibilă. SHR se dezvoltă la pacienții cu ciroză hepatică avansată și hepatită acută fulminantă. Mai rar, SHR a fost observat în adenocarcinomul hepatic sau hepatectomii parțiale. Acest sindrom se instalează pe fundalul rinichilor intacti din punct de vedere organic și acest fenomen reprezintă condiția principală pentru stabilirea diagnosticului de SHR. În acest caz, procesul patologic în rinichi are caracter funcțional. Rinichii prelevați de la pacienții decedați cu SHR funcționează normal dacă sunt transplantați la pacienții cu ficat normal [1]. Asocierea dintre o boală de ficat și insuficiența renală a fost observată încă în jumătatea a doua a sec. XIX. *Frerichs* a fost primul investigator, care a raportat prezența oliguriei la pacienții cu ascită încă în anul 1877 [2]. Termenul de „sindrom hepatorenal” a fost folosit în 1939 pentru a descrie apariția insuficienței renale după intervenții chirurgicale pe căi biliare la pacienții, care prezintă un model patologic de necroză tubulară acută sau nefrită interstițială tubulară [3, 4]. Ulterior, termenul de „sindrom hepatorenal” a fost utilizat pentru a evidenția afectarea simultană a funcției renale și hepatice. O excreție scăzută de sodiu în urina pacienților cu SHR a fost descoperită de *Hecker* și *Sherlock* în 1956 [5].

Prima definiție stabilită prin consens cu privire la criteriile optime pentru diagnosticarea SHR a fost convenită în cadrul reuniunii Clubului Internațional al Ascitei în anul 1996 [6], dar noi criterii au fost elaborate peste 10 ani, în 2006, de către același for, reunit la San Francisco [7].

Cele mai frecvente cauze ale insuficienței renale acute la pacienții cu ciroză hepatică cu ascită sunt: pre-renală (aproximativ 37%), necroză tubulară acută (aproximativ 42%) și

insuficiență post-renală (0,3%), iar SHR constituie aproximativ 20% [8, 9]. Probabilitatea de apariție a SHR la pacienții cu ciroză și ascită este egală cu 18% după 1 an de la apariția ascitei, ridicându-se la 39% la 5 ani [10].

Au fost sugerați câțiva predictorii pentru dezvoltarea SHR, cum ar fi dimensiunile ficatului, concentrația serică a sodiului (< 133 mEq/l), sporirea activității reninei plasmatică (> 3,5 ng/ml/h) și creșterea indicelui de rezistență a arterelor renale arcuite și interlobare (> 0,7 la ecografia Doppler). Unii cercetători au evidențiat bilirubina totală și timpul de protrombină (factori determinanți majori ai scorului *Child-Pugh*) în calitate de predictorii ai SHR la fel de importanți și independenți [11, 12].

SHR tip 1 este o boală acută adesea indusă de factorii precipitanți cum ar fi infecțiile bacteriene (57%), hemoragia gastro-intestinală (36%) și paracenteza de volum mare fără compensare a volumului plasmatic (7%) [11, 12]. Peritonita bacteriană spontană reprezintă cea mai importantă infecție microbiană, asociată cu dezvoltarea SHR și apare la mulți pacienți, chiar în pofida administrării terapiei cu antibiotice non-nefrotoxice. Insuficiența renală poate să apară la pacienții cu ciroză și ascită indiferent de tipurile de infecții bacteriene. În cele mai multe cazuri, insuficiența renală este tranzitorie și se recuperează după o eradicare a infecției dar, în unele cazuri se dezvoltă o insuficiență renală acută cu semne distinctive ale SHR de tip 1. SHR, de obicei, se dezvoltă la pacienții cu ciroză avansată, astfel, manifestările clinice sunt exprimate prin icter, splenomegalie, ascită, encefalopatie hepatică, sângerări din varice esofago-gastrice și alte stigmatice de boli hepatice cronice, cum ar fi teleangiectaziile hepatice, eritemul palmar etc. Producția de urină este redusă, în special în SHR de tip 1, iar tensiunea arterială este de obicei scăzută. La pacienții cu tipul 1 al SHR, tabloul clinic este reprezentat în principal de insuficiența renală acută evidentă, pe când la pacienții cu SHR de tip 2 gradul de insuficiență renală este mai puțin sever.

În contrast, dezvoltarea SHR tip 2 nu este dependentă de evenimente acute și se caracterizează printr-o deteriorare progresivă a funcției renale legată de gradul hipertensiunii portale. Pacienții cu ciroză hepatică și SHR tip 2 pot dezvolta în mod spontan SHR de tip 1, manifestat prin insuficiență renală funcțională acută, în cazul în care sunt supuși factorilor precipitanți enumerați mai sus: infecții bacteriene, hemoragie gastro-intestinală, paracenteză de volum mare fără compensare a volumului plasmatic etc.

Patofiziologie

Principalele mecanisme fiziopatologice sunt legate de creșterea rezistenței arteriale renale, în special afectându-se cortexul renal, ceea ce duce la hipoperfuzie renală [13, 14] și hipotensiune arterială. Volumul mic al ultrafiltratului este resorbit aproape complet în tubii proximali, în timp ce aproape o cantitate nulă de sodiu ajunge până la ansa Henle. Ca urmare, intensificarea activității aldosteronului are o aplicare mică în această fază, iar diureticele standard nu au niciun efect. Datorită activității vasopresinei, urina finală este produsă printr-o natriureză hiperosmolară, iar cantitatea variază între oligurică și anurică. În aceste condiții, sistemul de reglare la nivel local prin intermediul prostaglandinelor, care este de o importanță clinică neînsemnată, vine să joace un rol esențial în menținerea perfuziei renale reziduale. Eliminarea acestui sistem de reglare (de exemplu, prin administrarea antiinflamatoarelor nesteroidiene) poate avea consecințe distincte.

Mecanismele principale care conduc la vasoconstricție renală sunt legate de modificările din circulația sistemică, care însoțesc hipertensiunea portală [15] și sunt reprezentate de scăderea rezistenței vasculare periferice cu vasodilatație ulterioară, hipervolemie centrală și circulație hiperkinetică. Aceste modificări duc la activarea mecanismelor compensatorii și anume a SNS, a SRAA și a vasopresinei. În plus, adenoza care are un efect vasodilatator în majoritatea țesuturilor în rinichi, produce vasoconstricție [16]. Acțiunea directă a SNS și a SRAA stimulează, de asemenea, reabsorbția de sodiu în tubii proximali [17].

Vasoconstricția renală în sine nu este suficientă pentru dezvoltarea SHR. Hipotensiunea arterială este factorul-cheie, care dacă chiar nu atinge valori de șoc, provoacă vasoconstricție renală simultană și hipoperfuzie renală cu scăderea filtrației glomerulare [18]. Astfel, debitul cardiac joacă un rol important în instalarea SHR. După cum s-a menționat mai sus, debitul cardiac în ciroza hepatică este de regulă crescut, dar poate fi normal sau scăzut [19, 20]. Debitul cardiac crescut apare compensator, având ca scop prevenirea reducerii severe a volumului circulant efectiv, care apare din cauza vasodilatației arteriale splanhnice. De asemenea, debitul cardiac crescut contribuie la menținerea perfuziei renale în SHR [21]. În ciroza hepatică avansată se dezvoltă așa-numita „cardiomiopatie cirotică”, care se caracterizează prin reducerea răspunsului sistolic și diastolic la stimulii de stres, dereglări electrofiziologice de repolarizare și dilatarea camerelor cordului. Aceste fenomene patologice care, de regulă, sunt manifeste în stadiul terminal al cirozei, favorizează hipoperfuzia renală.

Pe de altă parte, asocierea infecțiilor bacteriene poate duce la eliberarea de endotoxine și sintetizarea substanțelor

biologic active, cum ar fi citokinele inflamatorii, NO, CO și altele, care pot afecta și mai mult funcția cardiacă la pacienții cu boală hepatică în stadiul terminal.

Teoria conform căreia ar exista o legătură între circulația portală și cea renală nu a fost dovedită experimental, cu toate că anterior au fost publicate câteva studii în care este menționată legătura între vasoconstricția renală (însoțită de modificări ale funcției renale cu retenție de sodiu și apă) și presiunea portală crescută [22, 23].

Modificările circulatorii caracteristice pentru ciroza hepatică pot fi observate chiar și în stadiile precoce ale procesului patologic, iar SHR trebuie să fie privit ca punctul culminant al acestor modificări. Stadiul ascitei refractare, de asemenea, constituie un punct important de cotitură în dezvoltarea SHR. Totuși, SHR poate apărea și la pacienții cu ciroză hepatică neavansată, cu un scor Child-Pugh 8 sau chiar mai mic, dar la care s-au suprapus factorii precipitanți (infecții bacteriene, hemoragii digestive masive etc.). Deci, un pacient cu ciroză hepatică clasa Child-Pugh B are același risc de dezvoltare a SHR ca un pacient în clasa Child-Pugh C. În acest sens, o valoare prognostică bună are determinarea activității SNS (noradrenalina plasmatică), activității SRAA [10] sau a rezistenței în artera renală (aprecierea ultrasonografică a „indexului de rezistență” [24]. Mai mult ca atât, un risc crescut de apariție a SHR îl au pacienții cu boală hepatică avansată și ascită, cu hiponatremie de diluție, cu tahicardie și presiune arterială medie scăzută.

Diagnosticul SHR

Teste specifice de diagnostic, care ar delimita cu certitudine SHR de alte cauze ale insuficienței renale ce pot apărea în ciroza hepatică, nu există. Criteriile pentru diagnosticarea SHR au fost revizuite de către Clubul Internațional al Ascitei [7] și sunt următoarele:

- ciroză hepatică cu ascită;
- creatinină serică > 1,5 mg/dl sau > 133 μmol/l;
- absența stării de șoc;
- nu au fost administrate medicamente nefrotice;
- absența afectării parenchimotoase cu prezența proteinuriei > 500 mg/24 ore, hematuriei microscopice > 50 eritrocite în câmpul de vedere și/sau a modificărilor renale ecografice;
- nu s-a obținut o ameliorare susținută a creatininei serice (descreștere la un nivel mai jos de 133 μmol/l) după administrarea a cel puțin 2 zile de diuretice și expansiune de volum cu soluție de albumină (doza recomandată de albumină este de 1 gram/kg masă corp/24 ore, doza maximă fiind de 100 g/24 ore).

Cele mai importante modificări în urma revizuirii criteriilor de diagnosticare a SHR au fost următoarele:

- criteriile de diagnostic minore nu mai sunt considerate esențiale pentru stabilirea SHR;
- infecțiile bacteriene în curs nu sunt un criteriu de excludere a SHR;
- clearance-ul creatininei nu mai este considerat un test specific pentru diagnosticarea SHR.

În boala hepatică avansată multiple cauze pot contribui la apariția insuficienței renale: hipovolemie, șoc hemor-

agic sau septic, administrarea medicamentelor nefrotice, insuficiență renală de origine parenchimatosa (care apare, de exemplu, în glomerulonefrite). Însă, insuficiența renală în ciroza hepatică apare, de regulă, în lipsa factorilor enumerați mai sus. La pacienții cu ciroză hepatică a fost observată o sensibilitate mai mare la ischemie din cauza dereglărilor vasculare [25].

SHR este o complicație a cirozei hepatice, care pune în pericol viața pacientului și se clasifică în două tipuri în funcție de evoluția clinică. Tipul 1 al SHR se caracterizează printr-un declin rapid și progresiv al funcției renale, măsurată prin dublarea nivelului creatininei serice la un nivel mai mare de 2,5 mg/dl sau o scădere a clearance-ului creatininei de la momentul inițial cu 50% până la un nivel mai mic de 20 ml/min în mai puțin de 2 săptămâni. Pacienții cu tipul 2 al SHR prezintă o scădere a funcției renale, exprimată prin creșterea nivelului creatininei serice mai mare de 1,5 mg/dl, dar care nu corespunde criteriilor diagnostice pentru SHR tip 1. Tipul 2 al SHR are o evoluție cronică și un prognostic mai bun. Atributul indispensabil al acestei forme de SHR este ascita cu un răspuns slab la administrarea diureticelor sau ascită refractară la diuretice. Durata medie de supraviețuire a unui pacient cu SHR tip 1 este de aproximativ 2 săptămâni, iar pentru SHR tip 2 este de 4-6 luni. Rata de supraviețuire a pacienților cu ciroză hepatică și ascită fără alterarea funcției renale este semnificativ mai mare *versus* cea a pacienților cu SHR. Recuperarea spontană a funcției renale la pacienții cu SHR este rară în cazul în care nu există o îmbunătățire a funcției hepatice.

Transplantul de ficat și SHR

Cel mai eficace tratament pentru SHR este transplantul de ficat, dar mulți pacienți decedază înainte de aplicarea acestei metode radicale de tratament, în primul rând, din cauza supraviețuirii reduse a pacienților cu SHR și din cauza penuriei de organe. Pacienții cu SHR necesită a fi tratați anterior de efectuarea transplantului hepatic, deoarece s-a dovedit că acești pacienți au o rată de supraviețuire mai joasă decât pacienții transplantați fără SHR preexistent. Pacienții cu SHR, înainte de transplant de ficat, necesită mai frecvent atât terapie intensivă, comparativ cu cei fără SHR (90% *vs* 33,4%, $p < 0,001$), cât și dializă (32,2% *vs* 1,5%, $p < 0,001$). La pacienții cu ciroză hepatică și SHR, în comparație cu omologii lor fără SHR, este drastic redusă filtrația glomerulară (19,9 *vs* 97,1 ml/min, $p < 0,001$), iar bilirubinemia este crescută (17,2 mg/dl *vs* 9,37 mg/dl, $p = 0,007$). Postoperator acești pacienți petrec mai multe zile în terapia intensivă (20,8 *vs* 4,4 zile, $p = 0,001$) și un procent mai mare de pacienți necesită dializă în perioada postoperatorie (57,9 *vs* 11,1%, $p = 0,001$) [26, 27].

Ruiz ș. a., în cadrul Institutului Regional de Transplant Hepatic Baylor a identificat 130 de pacienți cu SHR, care au fost supuși transplantului de ficat pentru o perioadă de 10 ani (începând cu ianuarie 1995 până în decembrie 2004) cu o incidență de 9% [28]. Din numărul total de subiecți evaluați, 13 pacienți au dezvoltat SHR tip 1 și 117 pacienți – tip 2. În întregul grup de cercetare, ratele de supraviețuire a pacienților la 1 an, 3 ani și 5 ani după transplant au fost de 74%, 68%, și 62%, respectiv. Supraviețuirea a fost semnificativ mai joasă

la pacienții cu SHR în comparație cu pacienții non-SHR, supuși transplantului hepatic în aceeași perioadă de studiu ($p = 0,0001$). Conform datelor lui *Distant* și *Gonwa*, supraviețuirea la 4 ani de la transplant la pacienții, care nu au avut SHR atinge 70%, iar la cei care au avut SHR - 60% [26].

Chiar și în pofida dispariției dereglărilor hemodinamice și neuro-umorale la 1 lună după transplantul hepatic, filtrarea glomerulară se îmbunătățește doar parțial, ajungând la 30-40 ml/min la 1-2 luni posttransplant [29]. Având în vedere că tacrolimusul și ciclosporina pot agrava insuficiența renală, la această categorie de pacienți nu se recomandă administrarea acestor medicamente, decât după 48-72 de ore de la transplantul de ficat.

Tratamentul farmacologic

Acum un deceniu în urmă, prognosticul pacienților cu ciroză hepatică, complicată cu SHR, era foarte nefavorabil. Conform unor cercetări, rata mortalității ajungea la 100%, iar supraviețuirea atingea în mediu două săptămâni de la diagnosticarea acestui sindrom. Însă, utilizarea vasoconstrictoarelor în tratamentul SHR atât tip 1, cât și tip 2 au schimbat evoluția acestei complicații grave a cirozei hepatice [13, 30, 31]. Vasoconstrictoarele sistemice, folosite pentru SHR, includ analogi ai vasopresinei (ornipresina) [32, 33, 34], analogi ai somatostatinei (octreotidul) [35, 36, 37, 38], agoniști alfa-adrenergici, inclusiv midodrina [39] și noradrenalina [40, 41, 42, 43, 44, 45]. Literatura de specialitate este invadată de publicații cu referire la tratamentul SHR cu terlipresină, care este un analog al vasopresinei. Unii cercetători au asociat administrarea vasoconstrictoarelor cu transfuzia de albumină, pentru a îmbunătăți eficacitatea tratamentului [46]. Terlipresina a fost aprobată, în primul rând, pentru tratamentul sângerării variceale acute și are un efect mult mai mare asupra receptorilor vasculari (V_1) decât asupra receptorilor renali ai vasopresinei (V_2). Receptorii V_1 ai vasopresinei sunt într-o concentrație majorată în vasele teritoriului splanhnic și, respectiv, în circulația mezenterică se obține o vasoconstricție mai mare, comparativ cu circulația renală sau cu alte sisteme vasculare.

Administrarea terlipresinei în SHR este justificată, având în vedere efectul ei de a contracara vasodilatația arterială splanhnică cu creșterea volumului efectiv de sânge arterial, ceea ce conduce la o suprimare a activității sistemelor vasoconstrictoare (în primul rând a SRAA și a SNS) și creșterea ulterioară a perfuziei renale și a filtrației glomerulare. Terlipresina este utilizată intravenos în bolus, începând de la o doză inițială de 0,5 mg la fiecare 4-6 ore sau perfuzie intravenoasă continuă cu doză inițială de 2 mg/zi. La pacienții fără o reducere semnificativă a creatininei serice în primele 3 zile de la administrare, se recomandă dublarea dozei terlipresinei. Dozele maxime ale terlipresinei, utilizate în tratamentul SHR tip 1, sunt de 2 mg la fiecare 4-6 ore intravenos în bolus sau 12 mg/zi în perfuzie intravenoasă continuă.

S-a demonstrat că funcția renală la pacienții cu ciroză hepatică, în perioada pretransplant, joacă un rol important pentru supraviețuirea pacienților în timpul efectuării transplantului hepatic și în perioada posttransplant [29, 47]. Pacienții cu SHR au o rată mare a mortalității în perioada, în

care se află în lista de așteptare pentru transplant. În plus, prezența SHR la momentul efectuării transplantului hepatic este asociată cu un prognostic nefavorabil în perioada post-transplant [26].

Prezența SHR prezintă, de asemenea, un risc crescut de complicații posttransplant, inclusiv sângerare, suprainfectare etc. Aceste complicații duc la o utilizare mai mare a resurselor medicale, care necesită cheltuieli suplimentare, cauzate de creșterea duratei de spitalizare și aflării pacienților pentru o durată mai lungă în unitățile de terapie intensivă. Restuccia și colab. au evaluat impactul tratamentului SHR asupra rezultatului transplantului de ficat [48]. Ei au evaluat 9 pacienți cu SHR, tratați cu analogi ai vasopresinei și 27 de pacienți fără SHR. Pacienții din ambele grupuri au fost comparabili după vârstă, stadiul bolii hepatice și programul de terapie imunosupresivă. Supraviețuirea pacienților după 3 ani de la transplant nu a fost semnificativ diferită statistic între cele două grupuri (100% vs 83%, $p = 0,15$). S-au constatat diferențe semnificative între cele două grupuri în ceea ce privește incidența insuficienței renale după transplantul de ficat (22% (2/9) vs 30% (8/27)) în primele 6 luni după transplant. Infecții severe (22% vs 33%), rejet acut (33% vs 41%), necesitatea de transfuzie (11 ± 3 vs 10 ± 2 unități) nu au fost semnificativ diferite între cele două grupuri de studiu ($p > 0,05$ pentru toate cazurile). Durata aflării în unitățile de terapie intensivă, precum și durata totală a spitalizării au fost similare între cele două grupuri (6 ± 1 vs 8 ± 1 zile, și 27 ± 4 vs 31 ± 4 zile, respectiv, $p > 0,05$ pentru ambele grupuri).

Au fost efectuate multe cercetări, care vizau eficacitatea terlipresinei în SHR, însă majoritatea din ele întruneau puțini pacienți. Fabrizi și colab. au evaluat eficacitatea și siguranța terlipresinei în tratamentul SHR [49]. Pe de o parte, ei au estimat frecvența pacienților, care au răspuns la tratament, iar pe de altă parte au apreciat recidiva SHR după stoparea administrării terlipresinei. Scăderea creatininei la niveluri $< 1,5$ mg/dl a fost considerată ca reversibilitate a SHR. Cercetarea a înrolat 10 studii clinice ($n = 154$) și a constatat că rata recurenței după stoparea terapiei cu terlipresină este mare, îndeosebi, în cazul tipului 2 al SHR, iar pentru tipul 1 rata *relapse*-ului este mică (0–5%).

Pacienții respondenți la tratamentul cu terlipresină, dar cu recurență după anularea acestei terapii, necesită reluarea tratamentului. Au fost publicate rezultatele a 2 cercetări unde s-a efectuat tratament pe termen lung cu terlipresină și albumină la pacienții cu recurențe ale SHR tip 1 ($n = 6$) [50, 51]. Terapia continuă cu terlipresină și albumină a dat dovadă de eficacitate sporită și a servit drept punte cu destinația “transplant de ficat” pentru o perioadă de 2 - 8 luni. Nu au fost observate efecte secundare majore în timpul utilizării terlipresinei. La 4 pacienți a fost constatată o eficacitate excelentă, având în vedere faptul că în perioada de după transplant de ficat nu s-a dezvoltat insuficiența renală cronică.

Utilizarea terlipresinei în practica clinică este limitată de mai mulți factori. Costul mare al medicamentului și lipsa lui pe piața farmaceutică a mai multor țări reprezintă factorii principali, care duc la reducerea capacității de utilizare a terlipresinei. De asemenea, administrarea terlipresinei poate induce efecte secundare ischemice, care necesită întreruperea

tratamentului [52]. De menționat faptul că pacienții cu SHR sunt predispuși să dezvolte complicații secundare în urma administrării terlipresinei, întrucât ei prezintă disfuncții severe și în alte organe, în afară de ficat și rinichi. Totuși, terlipresina este mai sigură decât alte medicamente vasoconstrictoare (de exemplu ornipresina). Astfel, este necesară o selecție atentă a pacienților și o supraveghere clinică aproape continuă pe tot parcursul tratamentului cu terlipresină. Contraindicațiile de bază pentru utilizarea terlipresinei sunt următoarele: istoric de boală coronariană, cardiomiopatii, aritmii cardiace, boli cerebrovasculare, boli pulmonare obstructive cronice, hipertensiune arterială și boala arterială obliterantă a membrilor inferioare.

Au fost efectuate încercări de a identifica factorii predictivi ai răspunsului terapeutic al terlipresinei în SHR. Cei mai veritabili predictorii ai răspunsului terapeutic al terlipresinei sunt nivelurile serice inițiale ale creatininei, bilirubinei și creșterea presiunii arteriale medii (PAM) cu > 5 mmHg la a 3-a zi de tratament. Tratamentul necesită a fi inițiat cât mai curând posibil. De asemenea, în calitate de factori predictivi importanți ai răspunsului terapeutic la terlipresină în tratamentul SHR, au fost identificați scorul Child-Pugh, scorul MELD și vârsta tânără a pacientului. S-a constatat că scorul Child-Pugh > 13 puncte are o predicție nefavorabilă pentru răspunsul terapeutic [53].

La ora actuală, există suficiente dovezi convingătoare privind eficacitatea și siguranța utilizării terlipresinei în SHR [54, 55, 56, 57]. Mai mulți cercetători au efectuat meta-analize ale studiilor randomizate controlate cu referire la acțiunea tratamentului comparativ al terlipresinei *versus* placebo asupra funcției renale și asupra supraviețuirii pacienților cu SHR [58, 59]. Fabrizi și colab. au realizat 5 studii ($n = 243$) și au constatat, că administrarea terlipresinei *versus* placebo crește semnificativ reversibilitatea SHR [58].

Meta-analiza efectuată de Gluud și colab. cu includerea a 376 de pacienți cu SHR au ajuns la concluzia că administrarea vasoconstrictoarelor reduce semnificativ mortalitatea acestor pacienți [60]. Totuși, supraviețuirea pacienților este legată de gradul de insuficiență hepatică. Descreșterea semnificativă a funcției hepatice este un predictor nefavorabil nu numai pentru răspunsul terapeutic la administrarea terlipresinei, ci și pentru supraviețuirea pacienților [61].

Deși scopul terapiei vasoconstrictoare în SHR este de a ameliora în mod specific hemodinamica renală, acest efect este de obicei realizat cu o creștere concomitentă a tensiunii arteriale sistemice. O altă meta-analiză a 21 de studii clinice ($n = 501$) a arătat că o creștere a presiunii arteriale medii este puternic asociată cu o scădere a creatininei serice ($r = -0,76$; $p < 0,001$) [62]. În medie, pentru fiecare creștere cu 1 mmHg a PAM, este așteptată o descreștere a creatininei serice cu 0,12 mg/dl, iar fiecare creștere a PAM cu 8,6 mmHg este asociată cu o scădere a creatininei serice cu 1,0 mg/dl. Autorii au sugerat ca, independent de faptul care vasoconstrictor este ales, creșterea PAM cu aproximativ 10 - 15 mmHg în timpul tratamentului vasoconstrictor poate duce la o ameliorare semnificativă a funcției renale. Majoritatea studiilor supuse acestei meta-analize se referă la utilizarea terlipresinei și numai două sunt cu referire la norepinefrină. Clinicienii chiar

și până acum rămân a fi reticenți în adoptarea norepinefrinei în tratamentul SHR din cauza precauției cu referire la riscul de agravare a hipoperfuziei renale, iar în privința noradrenalinei - din cauza inducerii de către ea a vasoconstricției arteriolelor aferente prin stimularea receptorilor α_1 -adrenergici. Mai multe studii clinice randomizate de dimensiuni mici au raportat, că noradrenalina ar putea fi o bună alternativă a terlipresinei în ameliorarea funcției renale [42, 43, 44, 45]. Meta-analiza acestor studii a arătat că noradrenalina și terlipresina au fost la fel de eficiente în tratamentul SHR, însă noradrenalina este mai puțin costisitoare decât terlipresina. În aceste studii, s-a menționat că noradrenalina crește PAM datorită efectului său asupra receptorilor α_1 -adrenergici, stimularea cărora duce la creșterea rezistenței vasculare sistemice, iar acțiunea ei asupra receptorilor β_1 -adrenergici mediază efectul său inotrop. Aceste fenomene sunt superioare în comparație cu efectele lor locale asupra circulației renale.

TIPS-ul în SHR

Alternativa terapiei vasoconstrictoare în SHR poate fi considerată TIPS-ul, care este o procedură non-chirurgicală de decompresie portală, folosită la pacienții cu ciroză hepatică complicată cu sângerare din varicele esofagiene sau gastrice care nu raspund la tratamentul endoscopic sau farmacologic. Procedura este efectuată de un medic specialist în radiologie intervențională și constă în plasarea unui șunt portocaval *side-to-side*, care leagă venele portale și hepatice în interiorul parenchimului hepatic. Scopul principal al TIPS-ului constă în reducerea presiunii portale. De asemenea, TIPS reîntoarce în circulația sistemică o parte din volumul de sânge acumulat în teritoriul splanhnic.

S-a observat că la a 4-a săptămână de la instalarea TIPS-ului, se ameliorează excreția de sodiu urinar, și a nivelurilor creatininei serice, iar în asocieră cu diuretice, starea pacienților se ameliorează pe termen lung. La acești pacienți crește volumul urinar, filtrația glomerulară și concentrația serică de sodiu. De asemenea, scade activitatea SRAA, SNS și arginin-vasopresinei, iar circulația renală se ameliorează. Efectul TIPS-ului asupra funcției și hemodinamicii renale a fost investigat în diverse studii la pacienții cu ciroză și ascită refractară [63]. TIPS-ul s-a dovedit a fi eficient chiar și la pacienții cu ciroză și boală renală parenchimatousă [64]. *Guevara și colab.* au fost primii cercetători care au efectuat TIPS la pacienții cu SHR: funcția renală s-a îmbunătățit semnificativ la 6 din cei 7 pacienți cu SHR de tip 1 [65]. *Breising și colab.* au instalat TIPS la 31 de pacienți cu SHR (14 de tip 1 și 17 de tip 2) și au obținut la 77% (24/31) o îmbunătățire susținută în filtrația glomerulară renală. Analiza de regresie Cox a arătat că bilirubina serică ($p < 0,001$) și tipul SHR ($p < 0,05$) au fost predictori independenți de supraviețuire după TIPS [66]. *Testino și colab.* au tratat cu TIPS 9 pacienți cu hepatită alcoolică acută severă [67]. Ei au observat că peste 30 de zile de la instalarea TIPS-ului, nivelurile serice ale creatininei au descrescut în medie de la $5,2 \pm 0,9$ mg/dl până la $1,6 \pm 0,6$ mg/dl ($p < 0,04$).

Cu toate acestea, există și unele dezavantaje asociate cu TIPS, inclusiv puncția transcapsulară cu riscuri de hemoragie și stenoză de șunt. Pacienții cu ciroză avansată nu sunt candidați buni pentru procedura de TIPS, deoarece această

categorie de pacienți au un risc major pentru agravarea insuficienței hepatice și/sau a encefalopatiei hepatice. În urma efectuării TIPS-ului, de regulă, are loc ameliorarea multor parametri clinici, biochimici și neuro-umoral, însă această îmbunătățire nu este completă.

Dializa în SHR

Inițierea terapiei de substituție renală la pacienții cu SHR tip 1, care nu sunt candidați pentru transplant de ficat, este controversată din cauza speranței de viață reduse și de o înaltă rată a mortalității, cauzată de efectuarea acestei metode de tratament [68]. Inițial au apărut publicații în care autorii menționau despre creșterea mortalității la pacienții cu ciroză hepatică, cărora li s-a inițiat terapie de substituție renală, datorată riscului crescut de hemoragie și hipotensiune. *Keller și colab.* au constatat, că pacienții cu ciroză hepatică și SHR care au efectuat terapie de substituție renală, au supraviețuit mai mult decât cei, cărora nu li s-a aplicat această metodă de tratament, 33% din zilele supraviețuite aflându-se în staționar [69].

Pentru pacienții cu SHR care s-au dovedit a fi non-responderi la terapia cu vasoconstrictoare sau TIPS și sunt în lista de așteptare pentru transplant de ficat, terapia de substituție renală poate fi considerată o soluție temporară bună. Decizia referitor la alegerea în calitate de opțiune de tratament a hemodializei intermitente sau a terapiei de substituție renală continuă, ar trebui să fie individualizată [70, 71, 72, 73].

Pentru tratamentul SHR au fost propuse metode noi, cum ar fi dializa MARS (*Molecular Adsorbent Recirculating System*), care presupune atașarea unui circuit de dializă cu dializant la baza căruia este albumina recirculată și perfuzată continuu la nivelul unor coloane de cărbune și rășini schimbătoare de ioni, la un circuit clasic de hemofiltrare sau hemodiafiltrare continuă venovenosă. Atașarea filtrului MARS și a circuitului cu dializant - albumină de 20% permite *clearance*-ul unor toxine, care nu străbat membrana filtrelor obișnuite de dializă, dar care sunt fixate pe molecule de albumină: bilirubină, acizi biliari, fenoli, indoli, mercaptani, oxid nitric, aminoacizi aromatici, benzodiazepine endogene, TNF- α , IL-6 etc. Circuitul de hemofiltrare sau hemodiafiltrare continuă venovenosă realizează, în același timp, suplینirea funcției renale. Dializa cu albumină tip MARS poate fi aplicată ca terapie intermitentă, timp de 6-8 ore/zi sau terapie continuă. Într-un studiu randomizat, *Mitzner și colab.* au arătat că MARS a crescut supraviețuirea pacienților și, de asemenea, a ameliorat parametrii clinici și biochimici [74]. Într-un studiu publicat în 2010, autorii au cercetat influența dializei MARS la pacienții cu SHR tip 1, care anterior nu au răspuns pozitiv la tratamentul cu vasoconstrictoare. La cei 6 pacienți evaluați, nu s-a obținut o oarecare ameliorare a hemodinamicii sistemice, însă a avut loc o reducere tranzitorie a creatininei serice [75]. Iar rezultatele unui studiu publicat mai recent au arătat că 28% (9/32) dintre pacienți au răspuns pozitiv la terapia MARS [76].

Concluzii

SHR este o complicație gravă, care apare în stadiul avansat al cirozei hepatice. Manifestările clinice sunt determinate de insuficiența renală cu diureză scăzută, retenție de sodiu

și apă, edeme și hiponatriemie de diluție. Apariția SHR este asociată cu o supraviețuire mai joasă atât înainte, cât și după transplantul de ficat. Transplantul de ficat este cea mai eficace metodă de tratament pentru SHR. Terlipresina care reprezintă un analog al vasopresinei, îmbunătățește perfuzia renală prin inducerea vasoconstricției în circulația teritoriului splanhnic. S-a dovedit ferm că terapia combinată cu terlipresină și albumină ameliorează semnificativ prognosticul pacienților cu SHR. Tratamentul continuu cu terlipresină, efectuat la pacienții cu SHR cu recurență la primul episod de tratament, este o opțiune bună pentru perioada de până la transplantul de ficat. Iar terapia farmacologică combinată (terlipresina + albumina) reduce rata non-responderilor la pacienții cu *relapse*. Terapia de substituție renală servește drept punte până la transplantul hepatic la pacienții din lista de așteptare pentru transplant.

Referințe bibliografice

- Koppel MH, Coburn JW, Mims MM, et al. Transplantation of cadaveric kidneys from patients with hepatorenal syndrome. Evidence for the functional nature of renal failure in advanced liver disease. *N Engl J Med*. 1969;280:1367-1371.
- Frerichs FT. Tratado practico de las Enfermedades del Hgado, de los Vasos Hepaticos y de las Vias Biliares. Madrid: Libreria Extranjera y Nacional, Cientifica y Literaria, 1877.
- Wilensky AO. Occurrence, distribution and pathogenesis of so called liver death and/or hepatorenal syndrome. *Arch Surg*. 1939;38:625-691.
- Orr T, Helwig F. Liver trauma and the hepatorenal syndrome. *Ann Surg*. 1939;110:683-692.
- Hecker R, Sherlock S. Electrolyte and circulatory changes in terminal liver failure. *Lancet*. 1956;2:1221-1225.
- Arroyo V, Gines P, Gerbes A, et al. Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology*. 1996;23:164-176.
- Salerno F, Gerbes A, Gines P, et al. Diagnosis, prevention, and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut*. 2007;56:1310-1318.
- Angeli P, Morando F, Cavallin M, et al. Hepatorenal syndrome. *Contrib Nephrol*. 2011;174:46-55.
- Gines P, Guevara M, Arroyo V, et al. Hepatorenal syndrome. *Lancet*. 2003;362:1819-1827.
- Gines A, Escorsell A, Gines P, et al. Incidence, predictive factors, and prognosis of the hepatorenal syndrome in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology*. 1993;105:229-236.
- Pham P, Pham P, Rastogi A, et al. Review article. current management of renal dysfunction in the cirrhotic patient. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;21:949-961.
- Wadei H, Mai M, Ahsan N, et al. Hepatorenal syndrome: Pathophysiology and management. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1:1066-1079.
- Lata J. Hepatorenal syndrome. *World J Gastroenterol*. 2012;18(36):4978-4984.
- Wadei HM. Hepatorenal Syndrome: A Critical Update. *Semin Respir Crit Care Med*. 2012;33:55-69.
- Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, et al. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology*. 1988;8:1151-1157.
- Llach J, Ginès P, Arroyo V, et al. Effect of dipyrindamole on kidney function in cirrhosis. *Hepatology*. 1993;17:59-64.
- Moreau R, Lebrech D. Transduction of antinatriuretic signals in renal proximal tubular cells in cirrhosis: introduction to novel approaches to the treatment of sodium retention. *J Hepatol*. 1998;28:1064-1069.
- Moore K. The hepatorenal syndrome. *Clin Sci (Lond)*. 1997;92:433-443.
- Ruiz-del-Arbol L, Urman J, Fernández J, et al. Systemic, renal, and hepatic hemodynamic derangement in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology*. 2003;38:1210-1218.
- Ruiz-del-Arbol L, Monescillo A, Arocena C, et al. Circulatory function and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology*. 2005;42:439-447.
- Alqahtani SA, Fouad TR, Lee SS. Cirrhotic cardiomyopathy. *Semin Liver Dis*. 2008;28:59-69.
- Lang F, Tschernko E, Schulze E, et al. Hepatorenal reflex regulating kidney function. *Hepatology*. 1991;14:590-594.
- Jalan R, Forrest EH, Redhead DN, et al. Reduction in renal blood flow following acute increase in the portal pressure: evidence for the existence of a hepatorenal reflex in man? *Gut*. 1997;40:664-670.
- Platt JF, Ellis JH, Rubin JM, et al. Renal duplex Doppler ultrasonography: a noninvasive predictor of kidney dysfunction and hepatorenal failure in liver disease. *Hepatology*. 1994;20:362-369.
- Trawlè J, Paradis V, Rautou P, et al. The spectrum of renal lesions in patients with cirrhosis: a clinicopathological study. *Liver Intern*. 2010;30:725-732.
- Distant D, Gonwa T. The kidney in liver transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 1993;4:129-136.
- Gonwa TA, Morris CA, Goldstein RM, et al. Long-term survival and renal function following liver transplantation in patients with and without hepatorenal syndrome – experience in 300 patients. *Transplantation*. 1991;51:428-430.
- Ruiz R, Barri Y, Jennings L, et al. Hepatorenal syndrome: a proposal for kidney after liver transplantation. *Liver Transplant*. 2007;13:838-843.
- Gonwa AT, Klintmalm GB, Levy M, et al. Impact of pre-transplant renal function on survival after liver transplantation. *Transplantation*. 1995;93:148-156.
- Fabrizi F, Martin P, Messa P. Recent advances in the management of hepatorenal syndrome. *Acta Clinica Belg*. 2007;62:S393-S396.
- Cardenas A. Hepatorenal syndrome: A dreaded complication of end-stage liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2005;100:460-467.
- Giostra E, Ruedin P, Cunningham M, et al. Sustained effects of ornipressin in hepatorenal syndrome. *J Hepatol*. 1995;22:120-121.
- Guevara M, Gines P, Fernandez-Esparrach G, et al. Reversibility of hepatorenal syndrome by prolonged administration of ornipressin and plasma volume expansion. *Hepatology*. 1998;27:35-41.
- Gulberg V, Bilzer M, Gerbes AL. Long-term therapy and retreatment of hepatorenal syndrome type 1 with ornipressin and dopamine. *Hepatology*. 1999;30:870-875.
- Kaffy F, Borderie C, Chagneau C, et al. Octreotide in the treatment of hepatorenal syndrome in cirrhotic patients. *J Hepatol*. 1999;30:174.
- Angeli P, Volpin R, Gerunda G, et al. Reversal of type 1 hepatorenal syndrome with the administration of midodrine and octreotide. *Hepatology*. 1999;29:1690-1697.
- Pomier-Layrargues G, Paquin SC, Hassoun Z, et al. Octreotide in hepatorenal syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Hepatology*. 2003;38:238-243.
- Kiser T, Fish D, Obritsch M, et al. Vasopressin, not octreotide, may be beneficial in the treatment of hepatorenal syndrome: a retrospective study. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20:1813-1820.
- Esraïlian E, Pantangco ER, Kyulo NL, et al. Octreotide/ Midodrine therapy significantly improves renal function and 30-day survival in patients with type 1 hepatorenal syndrome. *Dig Dis Sci*. 2007;52:742-748.
- Durkin R, Winter S. Reversal of hepatorenal syndrome with the combination of norepinephrine and dopamine. *Crit Care Med*. 1995;23:202-204.
- Duvoux C, Zanditenas D, Hezode C, et al. Effects of noradrenalin and albumin in patients with type 1 hepatorenal syndrome. A pilot study. *Hepatology*. 2002;36:374-380.
- Alessandria C, Ottobrelli A, Debernardi-Venon W, et al. Noradrenalin versus terlipressin in patients with hepatorenal syndrome. A prospective, randomized, unblinded, pilot study. *J Hepatol*. 2007;47:499-505.
- Sharma P, Kumar A, Shrama BC, et al. An open label, pilot, randomized controlled trial of noradrenaline versus terlipressin in the treatment of type 1 hepatorenal syndrome and predictors of response. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:1-9.
- Singh V, Ghosh S, Singh B, et al. Noradrenalin vs. terlipressin in the treatment of hepatorenal syndrome: A randomized study. *J Hepatol*. 2012;56:1293-1298.
- Ghosh S, Choudhary N, Sharma K, et al. Noradrenaline vs terlipressin in the treatment of type 2 hepatorenal syndrome: a randomized pilot study. *Liver Intern*. 2013;33:1187-1193.
- Ng C, Chan M, Tai M, Lam C. Hepatorenal syndrome. *Clin Biochem Rev*. 2007;28:11-17.
- Schoening W, Buecker N, Rademacher S, et al. Twenty-year longitudinal follow-up after orthotopic liver transplantation: a single-center experience of 313 consecutive cases. *Am J Transplant*. 2013;13:2384-2394.
- Restuccia T, Ortega R, Guevara M, et al. Effects of treatment of hepatore-

- nal syndrome before transplantation on posttransplantation outcome. A case-control study. *J Hepatol.* 2004;40:140-146.
49. Fabrizi F, Dixit V, Martin P. Meta-analysis: terlipressin therapy for the hepatorenal syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24:935-944.
 50. Piano S, Morando F, Fasolato S, et al. Continuous recurrence of type 1 hepatorenal syndrome and long-term treatment with terlipressin and albumin: a new exception to MELD score in the allocation system to liver transplantation? *J Hepatol.* 2011;55:491-496.
 51. Caraceni P, Santi L, Mirici F, et al. Long-term treatment of hepatorenal syndrome as a bridge to liver transplantation. *Dig Liver Dis.* 2011;43:242-245.
 52. Lee JS, Lee HS, Jung SW, et al. A case of peripheral ischemic complication after terlipressin therapy. *Korean J Gastroenterol.* 2006;47:454-457.
 53. Moreau R, Durand F, Poynard T, et al. Terlipressin in patients with cirrhosis and type 1 hepatorenal syndrome: A retrospective multicenter study. *Gastroenterology.* 2002;122:923-930.
 54. Solanki P, Chawla A, Garg R, et al. Beneficial effects of terlipressin in hepatorenal syndrome: A prospective, randomized placebo-controlled clinical trial. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003;18:152-156.
 55. Neri S, Pulvirenti D, Malaguarnera M, et al. Terlipressin and albumin in patients with cirrhosis and type 1 hepatorenal syndrome. *Dig Dis Sci.* 2008;53:830-835.
 56. Martin-Llahi M, Pepin MN, Guevara M, et al. Terlipressin and albumin vs. albumin in patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome: A randomized study. *Gastroenterology.* 2008;134:1352-1359.
 57. Sanyal A, Boyer T, Garcia-Tsao G, et al. A randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial of terlipressin for type 1 hepatorenal syndrome. *Gastroenterology.* 2008;134:1360-1368.
 58. Fabrizi F, Dixit V, Messa P, Martin P. Terlipressin for hepatorenal syndrome: A meta-analysis of randomized trials. *Int J Artif Organs.* 2009;32:133-140.
 59. Sagi S, Mittal S, Kasturi K, et al. Terlipressin therapy for reversal of type 1 hepatorenal syndrome: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25:880-885.
 60. Gluud L, Christensen K, Christensen E, Kraig A: Systematic review of randomized trials on vasoconstrictor drugs for hepatorenal syndrome. *Hepatology.* 2010;51:576-584.
 61. Moreau R, Lebrec D. The use of vasoconstrictors in patients with cirrhosis: type 1 HRS and beyond. *Hepatology.* 2006;43:385-394.
 62. Velez J, Nietert P. Therapeutic response to vasoconstrictors in hepatorenal syndrome parallels increase in mean arterial pressure: a pooled analysis of clinical trials. *Am J Kidney Dis.* 2011;58:928-938.
 63. Rossle M, Gerbes A. TIPS for the treatment of refractory ascites, hepatorenal syndrome and hepatic hydrothorax: a critical update. *Gut.* 2010;59:988-1000.
 64. Holló S, Pacitti A, Ottobrelli A, et al. Acute renal failure treatment in liver cirrhosis: the role of transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Giorn It Nefrol.* 2001;18:666-672.
 65. Guevara M, Ginès P, Bandi J, et al. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in hepatorenal syndrome: effects on renal function and vasoactive systems. *Hepatology.* 1998;28:416-422.
 66. Brensing K, Textor J, Perz J, et al. Long term outcome after transjugular intrahepatic portosystemic stent-shunt in nontransplant cirrhotics with hepatorenal syndrome: a phase 2 study. *Gut.* 2000;47:288-295.
 67. Testino G, Leone S, Ferro C, Borro P. Severe acute alcoholic hepatitis and hepatorenal syndrome: role of transjugular portosystemic stent shunt. *J Med Life.* 2012;5:203-205.
 68. Gonwa T, Wadei H. The challenges of providing renal replacement therapy in decompensated liver cirrhosis. *Blood Purif.* 2012;33:144-148.
 69. Keller F, Heinze H, Jochimsen F, et al. Risk factors and outcome of 107 patients with decompensated liver disease and acute renal failure: The role of haemodialysis. *Renal Fail.* 1995;17:135-146.
 70. Davenport A. Renal replacement therapy in the patient with acute brain injury. *Am J Kidney Dis.* 2001;37:457-466.
 71. Davenport A, Will E, Davison A. Effect of renal replacement therapy on patients with combined acute renal and fulminant hepatic failure. *Kidney Int.* 1993;41:S245-S251.
 72. Gonwa T, Mai M, Melton L, et al. Renal replacement therapy and orthotopic liver transplantation: The role of continuous veno-venous haemodialysis. *Transplantation.* 2001;71:1424-1428.
 73. Witzke O, Baumann M, Patschan D, et al. Which patients benefit from haemodialysis therapy in hepatorenal syndrome? *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:1369-1373.
 74. Mitzner SR, Stange J, Klammt S, et al. Improvement of hepatorenal syndrome with extracorporeal albumin dialysis MARS: Results of a prospective, randomized, controlled clinical trial. *Liver Transpl.* 2000;6:277-286.
 75. Wong F, Raina N, Richardson R. Molecular adsorbent recirculating system is ineffective in the management of type 1 hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis and ascites who have failed vasoconstrictor treatment. *Gut.* 2010;59:381-386.
 76. Lavyssiere L, Kallab S, Cardeau-Desangles I, et al. Impact of molecular adsorbent recirculating system on renal recovery in type-1 hepatorenal syndrome patients with chronic liver failure. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013;28:1019-1024.

Investigations evolution in the supervision and control of tuberculosis

*A. Cotelea, M. Gamaniuc

Department of Epidemiology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: adcotelea@yahoo.com. Manuscript received February 24, 2015; accepted April 05, 2015

Abstract

Background: This article is an analysis of scientific publications related to the research chronology and investigations in the supervision and control of tuberculosis. In this respect, we have analyzed a number of different publications of internationally renowned scholars. The aim of the study was to integrate in an article scientific researches carried out in tuberculosis and taken over time. Thus was selected and analyzed the information accumulated throughout history. In the article are mentioned various aspects of the investigation in tuberculosis, including etiological, pathophysiological, clinical, treatment, prevention and anti-epidemic aspects. Moreover, the main factors are mentioned which complicated in the past and complicate at present the fight and control of TB. By this article it was intended to touch problems tuberculosis and the nomination of personalities from different times who have contributed to the development of medical science, making references to the works of great value, scientists of the era. In this study the tuberculosis is stated as a health problem in different times, both in the Republic of Moldova as well as worldwide. The article concludes by assessing the current epidemiological situation of tuberculosis in the Republic of Moldova, being regarded as a priority problem of public health.

Conclusions: In all historical periods and till present, the tuberculosis was in the attention of scientists and medical specialists, the intensity of epidemic process being defined by various socio-economic factors. The above-mentioned concerns impose new concrete control and prevention actions with the involvement of various stakeholders.

Key words: tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, TBC, National Program.

Evoluția investigațiilor în supravegherea și controlul tuberculozei

Tuberculoza a apărut la oameni încă din antichitate, fiind o boală infecțioasă, comună pentru oameni și animale. Boala este cauzată de mai multe specii de bacili din genul *Mycobacterium*, anterior cunoscuți sub numele de bacilul Koch [3]. Pentru om, boala este social dependentă [8]. Cea mai veche dovadă a bolii o constituie bacteria *Micobacterium tuberculosis*, descoperită în fosilele unui bizon, care a trăit cu aproape 17 000 ani în urmă [10]. A existat o perioadă în care oamenii de știință credeau, că complexul *M. tuberculosis* (MTBC) a fost transmis de la animal la om în timpul domesticirii animalelor. Cu toate acestea, prin compararea genelor MTBC de la oameni cu cele de la animale, s-a demonstrat că această teorie este falsă. Ambele tulpini bacteriene provin de la un strămoș comun, care ar fi putut provoca apariția infecției la oameni încă din perioada cunoscută sub numele de Revoluția neolitică [6]. Fragmentele de schelet găsite indică faptul că oamenii preistorici (4000 î.Hr.) sufereau de tuberculoză. Cercetătorii au putut constata o afectare tuberculoasă a coloanei vertebrale la mumii egiptene din perioada 3000-2400 î.Hr. [15]. În jurul anului 460 î.Hr., Hippocrate considera că ftizia era cea mai răspândită boală din acea vreme (Ftizie - termen grecesc pentru tuberculoza pulmonară) [6]. Bolnavii de tuberculoză făceau febră și tușeau cu sânge. De cele mai multe ori, boala era fatală [18]. Studii genetice efectuate pe continentul American indică că, tuberculoza exista încă din jurul anului 100 î.Hr. [9].

În unele zone geografice, încă până la Revoluția industrială, în tradiția populară, tuberculoza era adesea asociată cu vampirii. Atunci când unul din membrii unei familii murea din cauza acestei boli, ceilalți membri ai familiei respective, care contractaseră și ei infecția, treptat se îmbolnăveau. Se credea că cel care s-a îmbolnăvit primul secătuieste viața celorlalți membri ai familiei sale [13].

Până în sec. XX, tuberculoza a fost practic incurabilă, dar cu mult înainte de descoperirea etiologiei bolii, savanții presupuneau că TB este o boală contagioasă. Spre exemplu, în Codul Babilonean al lui Hammurabi, s-a stipulat dreptul de a divorța de soție, în cazul în care ea avea simptome de tuberculoză pulmonară. În India, Portugalia și Veneția erau legi care impuneau necesitatea raportării tuturor cazurilor de astfel de patologii.

În Europa, rata îmbolnăvirilor de tuberculoză a început să crească la începutul anului 1600. Îmbolnăvirile de tuberculoză au atins apogeul în Europa în jurul anului 1800, constituind cauza a aproximativ 25% din totalul deceselor înregistrate [1]. În 1689, dr. Richard Morton a descris formațiunile pulmonare, asemănătoare unor tuberculi cu rol în diagnosticul histopatologic [13, 16]. Cu toate acestea, tuberculoza poate prezenta o mare varietate de simptome, astfel că boala nu a putut fi identificată ca atare decât în jurul anului 1820. Termenul de tuberculoză i-a fost atribuit în 1839 de J. L. Schönlein [3]. Între anii 1838 și 1845, dr. John Croghan obișnuia să ducă bolnavii de tuberculoză în peșteră, în speranța că aceștia se vor însănătoși datorită temperaturii constante și aerului curat din interiorul acesteia: bolnavii respectivi au murit după mai puțin

de un an [20]. Hermann Brehmer a deschis primul sanatoriu TBC în 1859, în Sokołowsko, Polonia [21].

Astfel, tuberculoza a creat o profundă îngrijorare în sec. XIX și la începutul sec. XX, fiind considerată o boală endemică a populației urbane sărace. La începutul sec. XIX, în Anglia, unul din patru oameni murea de tuberculoză („oftică”), în aceeași perioadă, în Franța, de tuberculoză murea fiecare al șaselea om. După ce în jurul anului 1880, oamenii de știință au stabilit că boala este contagioasă, în Marea Britanie tuberculoza a fost inclusă într-o listă a bolilor cu declarare obligatorie. Au fost inițiate campanii, care să-i convingă pe oameni să nu mai scuie în locurile publice, iar persoanele sărace infectate erau „încurajate” să se interneze în sanatorii, care semănau mai degrabă cu niște închisori [3]. Se presupunea că sanatoriile oferă avantajele unui mediu cu „aer curat”. Dar chiar și în cele mai bune condiții, 50% dintre cei internați mureau în următorii cinci ani [20]. În sec. XIX, boala a fost bine identificată din punct de vedere a trei criterii importante: individualizarea clinică a bolii de către Laennec, demonstrarea naturii transmisibile de către Villemin și, în fine, identificarea *Mycobacterium tuberculosis* de către Robert Koch, care pune bazele diagnosticului bacteriologic al tuberculozei.

În 1819, Rene Laennec propune metoda de auscultatie a pacienților, care a avut o mare importanță în dezvoltarea metodelor de diagnostic al tuberculozei.

La mijlocul sec. XIX, medicul naval de origine franceză B. Wilman a urmărit dezvoltarea tuberculozei la un marinar de pe navă. Pentru a dovedi natura infecțioasă a tuberculozei, medicul Wilman a colectat probe de spută de la pacienți și le-a infiltrat în salteaua cobailor. În rezultat cobaii s-au îmbolnăvit și au murit de tuberculoză. Astfel, doctorul Wilman a ajuns la concluzia că TB este o boală contagioasă. Natura infecțioasă a tuberculozei a fost, de asemenea, confirmată în anul 1879 de morfolopatologul german Yu Kongeym, care a inoculat bucățele de țesut colectate de la pacienții cu TB în camera oculară a iepurilor de casă. Astfel, doctorul Yu Kongeym a observat și descris formarea de tuberculi în locul inoculării lor. Însă, încă în 1852, savantul rus N. I. Pirogov a depistat în granuloma tuberculoasă celule gigante.

La 24 martie 1882, în Germania, Robert Koch, după 17 ani de lucru în laborator a descoperit agentul cauzal al tuberculozei – *Mycobacterium tuberculosis* (MBT), care mai târziu a și fost numit bacilul Koch. Identificarea agentului patogen al tuberculozei de către savantul Robert Koch a fost posibilă prin examinarea microscopică a sputei, colectate de la bolnavii cu TBC și colorarea cu albastru de metilen și vezuvin. Pentru descoperirea sa, Koch a primit Premiul Nobel pentru Fiziologie sau Medicină în anul 1905 [3].

Mai târziu, savantul Robert Koch, a izolat o cultură pură a agentului patogen și a cauzat tuberculoza la animale experimentale. În același timp, Koch nu credea că există vreo legătură între tuberculoza la bovine și tuberculoza la oameni. Din acest motiv, destul de târziu s-a putut stabili, că laptele infectat reprezintă un factor de infecție. Ulterior, riscul transmiterii de la această sursă a fost redus în mod simțitor datorită introducerii procesului de pasteurizare.

În 1882, medicul italian K. Forlani a propus o metodă de tratament a tuberculozei prin pneumotorax artificial. În Rusia, această metodă a fost aplicată pentru prima dată de către A. N. Rubeli, în 1910. În perioada 1882-1884, savanții F. Tsil și F. Nielsen au propus o metodă eficientă de colorare a bacililor acidorezistenți. În 1887, la Edinburgh, s-a deschis primul dispensar TBC.

În 1890, Robert Koch a obținut un anumit extras de glicerină din bacilul tuberculozei care, considera el, constituie „leacul” împotriva tuberculozei. A numit acest extras „tuberculină”. La Congresul medicilor din Berlin, Koch a prezentat tuberculina în calitate de remediu de prevenire și, posibil, chiar cu acțiune curativă, testat în experimente pe cobai, aplicat pe el însăși și colegii săi. Deși, în calitate de remediu pentru tratament, „tuberculina” s-a dovedit ineficientă, aceasta a fost adaptată ca test de screening pentru identificarea prezenței bolii în faza presimptomatică. În scop de diagnostic, Robert Koch a propus administrarea subcutanată a tuberculinei. Un an mai târziu, tot la Berlin, a fost făcută concluzia oficială despre înalta eficiență a tuberculinei în diagnosticul tuberculozei [15].

O altă explorare științifică, care a jucat un rol important în diagnosticul tuberculozei, a fost descoperirea razelor X, în 1895, de către savantul W. Roentgen. Mai târziu, și anume în 1902, orașul Berlin a găzduit prima Conferință Internațională, privind tuberculoza. În 1904, A. I. Abrikosov a descris schimbările morfologice în plămâni în fazele inițiale ale tuberculozei la adulți. În 1907, medicul pediatru austriac K. Pirke a propus testul cutanat cu tuberculină pentru a identifica persoanele infectate cu *Mycobacterium tuberculosis* și a introdus conceptul de alergii.

În 1910, Sh. Mantoux și F. Mendel au propus metoda intradermică de aplicare a tuberculinei, care s-a dovedit a fi mult mai sensibilă decât cea cutanată. În 1912, savantul ceh A. Ghon a descris focarul tuberculos primar calcificat, numit în continuare focarul Ghon.

În Marea Britanie, în 1913, a fost înființat Medical Research Council, care pune accent pe cercetarea în domeniul tuberculozei [4]. În 1919, microbiologul francez A. Calmette și medicul veterinar K. Guerin au obținut tulpina vaccinală de *Mycobacterium* pentru vaccinarea oamenilor, folosind o tulpină atenuată a bacilului tuberculozei bovine. Tulpina a fost numită *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG). Pentru prima dată, vaccinul BCG a fost introdus unui nou-născut în anul 1921, în Franța [2]. În 1925, profesorul Calmette a transmis profesorului L. A. Tarasevich tulpina vaccinală BCG. Încă după trei ani de studiu experimental și clinic, s-a constatat că vaccinul este inofensiv. Mortalitatea prin tuberculoză în rândul copiilor vaccinați din focarele de infecție în mediu a fost mai mică decât în rândul celor nevaccinați. În 1928, s-a recomandat, ca sugarii din focarele cu tuberculoză, să fie vaccinați cu BCG. În același timp, pe scară largă, vaccinul BCG a fost utilizat de-abia după cel de-al doilea război mondial doar în SUA, Marea Britanie și Germania [6].

În perioada interbelică, tuberculoza continua să fie o problemă majoră de sănătate publică pentru comunitatea internațională, inclusiv pentru teritoriul actual al Republicii



Fig. 1. Sanatoriul din Vorniceni cu 200 de paturi, pentru pacienții cu tuberculoză (construit și dat în exploatare în 1939 cu susținerea Ligii Europene de Combatere a tuberculozei).



Fig. 2. Sanatoriul maritim de tuberculoză osoasă din Bugaz (construit în 1936 și inaugurat la 20 iunie 1937 de către Regele Carol al II-lea, arhitect – Angelo Viecelli).

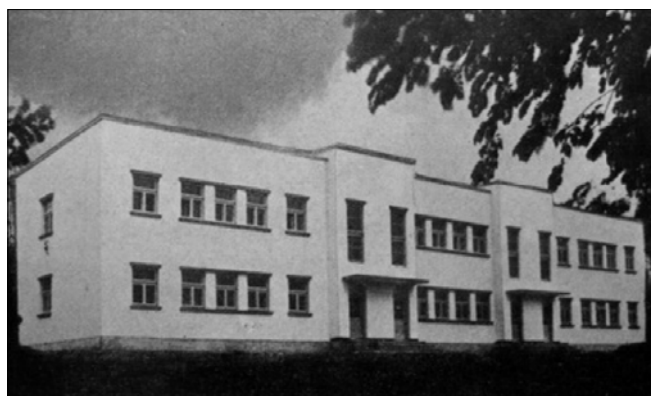


Fig. 3. Pavilionul de boli contagioase din Călărași, județul Lăpușna (construit și dat în exploatare în 1930, arhitector Irina Georgescu).

Moldova [5]. Astfel, în Basarabia, a fost dezvoltat sistemul sanatorial pentru tratamentul bolnavilor cu tuberculoză, fiind construite mai multe spitale și sanatorii în diferite zone ale ținutului (fig. 1-3).

În 1943, Z. Waxman împreună cu Shatsu și Bougie au obținut streptomcina, primul preparat antimicrobian, cu acțiune bacteriostatică asupra *Mycobacterium tuberculosis*. Din 1954, medicii ftiziatri au început utilizarea pe larg a

acidului paraaminosalicilic (PASC), tisonului, preparatelor de acid isonicotinic (izoniazida, ftivazidul, saluzidul, metazidul). Începând cu anii '70, s-a început utilizarea rifampicinei și etambutolului. Până la sfârșitul sec. XX și începutul sec. XXI, spectrul de preparate, utilizate în serviciul Ftiziologic, s-a extins foarte mult. Ulterior, au fost descoperite și alte medicamente antituberculoase, ultima grupă fiind cea a fluorochinolonei. Sfârșitul sec. XX a fost marcat de ideea integrării chimioterapiei antituberculoase într-un context de măsuri socio-economice, ceea ce a condus la constituirea unor strategii cuprinse în Programe Naționale de Control al Tuberculozei.

Înainte de introducerea acestor medicamente, singurul tratament (cu excepția sanatoriilor) consta în intervenția chirurgicală, prin îndepărtarea segmentului de pulmon afectat de tuberculoză pulmonară [12].

Datorită eforturilor depuse de către comunitatea științifică internațională, către anul 1950, în Europa, numărul decese- lor produse de tuberculoză scăzuse cu aproximativ 90% [9]. Schimbările întreprinse în sistemul de sănătate publică au redus în mod semnificativ incidența tuberculozei chiar înainte ca streptomycină și alte antibiotice să înceapă să fie utilizate. Chiar și în aceste condiții, boala a rămas o amenințare serioasă la adresa sănătății publice.

Începând cu a doua jumătate a sec. XX, vaccinurile au devenit obligatorii pentru nou-născuți, în toate statele Europei. Astfel, până în 1962 a fost realizat programul de vaccinare perorală a nou-născuților. Din 1962, pentru vaccinare și revaccinare a fost utilizată metoda intradermică mai eficientă de administrare a vaccinului. În 1985, pentru vaccinarea sugarilor cu o perioadă postnatală dificilă, a fost elaborat vaccinul BCG-M, cu o sarcină antigenică redusă asupra organismului.

În același timp, apariția MDR-TB a introdus din nou intervenția chirurgicală ca opțiune în cadrul standardelor de asistență medicală în tratamentul afecțiunilor pulmonare TBC. Intervențiile chirurgicale actuale implică îndepărtarea cavităților patologice din plămâni pentru a reduce numărul bacteriilor existente și pentru a crește expunerea bacteriilor rămase la medicamentele din sânge. Prin intervenția chirurgicală se reduce numărul total al bacteriilor și se intensifică eficiența tratamentului sistemic cu antibiotice [8]. Deși specialiștii au sperat să elimine complet tuberculoza, apariția tulpinilor rezistente la medicamente, în jurul anului 1980, a făcut mai puțin probabilă eradicarea tuberculozei. Reapariția ulterioară a bolii a determinat OMS să declare tuberculoza o urgență mondială în anul 1993 [18].

În perioada sovietică, Republica Moldova era considerată unul dintre liderii incontestabili în domeniul tratării tuberculozei. Țara mică dispunea de o infrastructură socială și medicală, care permitea depistarea precoce a bolnavilor și tratarea lor eficientă, grație intervenției oportune. Medicii își amintesc cu nostalgie despre vizitele sistematice și obligatorii la medic ale familiilor în deplina lor componență, despre cabinetele radiografice mobile, care stăteau zile întregi în fața blocurilor locative sau în fața școlii, iar doctorii severi nu permiteau nimănui să chiulească. La fel se proceda la fabrici,

uzine și instituții mari, unde colectivele muncitorești treceau cu regularitate examenul medical, iar persoanele bolnave erau depistate imediat și trimise la tratament pe banii statului.

Situația epidemiologică a tuberculozei în Republica Moldova a cunoscut o deteriorare continuă și dramatică pe parcursul ultimului deceniu al sec. XX. După destrămarea Uniunii Sovietice, situația a început să se schimbe radical. Odată cu agravarea stării social-economice în care s-a pomenit Republica Moldova, tuberculoza a luat proporții alarmante. TBC-ul a devenit barometrul mizeriei și sărăciei. Peste 80 la sută din populație – cotă atestată în statistici oficiale - se află în pragul sărăciei, adică nu are ce mânca și suportă frigul. Din cauza lipsei de bani, bolnavii nu mai merg la medic, infectându-și rudele și prietenii, care răspândesc boala mai departe. O parte dintre persoanele infectate au adus boala de peste hotarele țării.

În sistemul acțiunilor de asigurare a condițiilor optime pentru îmbunătățirea calității vieții, obiectivul de importanță primordială, promovat în Declarația Mileniului a Națiunilor Unite, un rol esențial i se atribuie profilaxiei și combaterii bolilor infecțioase și parazitare. SIDA, tuberculoza și malaria sunt considerate maladii social condiționate cu cel mai înalt impact de mortalitate și influență negativă asupra calității vieții în plan social, economic, demografic, politic și sunt probleme prioritare pentru sănătatea publică.

În perioada 1990-2001, în Republica Moldova, morbiditatea globală practic s-a dublat, constituind $89,4^{0}/_{0000}$ în 2001, față de $49,2^{0}/_{0000}$ în 1990. În aceeași perioadă, indicele mortalității a crescut aproape de 3,7 ori, constituind $15,6^{0}/_{0000}$ în 2001, față de $4,6^{0}/_{0000}$ în 1990, valoarea cea mai ridicată a indicelui fiind consemnată în anul 2000 la nivelul de $17,2^{0}/_{0000}$.

Prevalența tuberculozei în 2001 a fost de $145,5^{0}/_{0000}$, ceea ce a constituit 6 206 bolnavi, dintre care 2 729 bolnavi cu eliminare de bacili. Situația creată a determinat necesitatea unei reacții rapide, bazată pe recomandările OMS în controlul tuberculozei. La 28 iunie 2001, Guvernul Republicii Moldova a adoptat Hotărârea nr.559 „Cu privire la aprobarea Programului Național de control al tuberculozei pentru anii 2001-2005”, având la bază strategia DOTS (tratament direct observat de scurtă durată), recomandată de OMS. Obiectivele Programului Național au fost:

- stoparea epidemiei de tuberculoză;
- instituirea controlului asupra situației create;
- reducerea răspândirii infecției;
- prevenirea apariției formelor rezistente și multirezistente.

La inițiativa Ministerului Sănătății și instituțiilor de profil au fost elaborate propunerile și acceptat grantul Fondului Global SIDA/TB, Malaria în scop de acoperire a necesităților în realizarea strategiilor prioritare Programului Național. Realizarea Programului Național pe parcursul anilor 2001-2002 a contribuit la:

- instruirea personalului medical în conformitate cu cerințele OMS;
- ameliorarea depistării și înregistrării cazurilor de tuberculoză evolutivă;
- asigurarea continuă cu preparate antituberculoase în cantitate și sortiment necesar;

- organizarea și înzestrarea Centrelor de microscopie a sputei;
- creșterea ratei de confirmare bacterioscopică a cazurilor de tuberculoză pulmonară;
- implicarea rețelei de medicină primară în asistența pacienților cu tuberculoză.

Aceste activități au permis la începutul anului 2003 un acces a 87,9% din populația republicii la asistență medicală a pacienților cu tuberculoză în conformitate cu strategia DOTS.

În scopul controlului și prevenției tuberculozei au fost elaborate noi obiective intermediare pentru anul 2006:

- rată anuală a incidenței globale la nivel de 120-140⁰/₀₀₀₀;
- un indice al mortalității la nivel de 12-14⁰/₀₀₀₀;
- rată a succesului printre cazurile noi la o cotă de 70,0-75,0 %.

La toate cele enumerate mai sus, având în vedere agravarea continuă a situației epidemiologice, manifestată prin incidență, prevalență, precum și mortalitate înaltă prin tuberculoză, în Republica Moldova, au fost elaborate un șir de acte legislative și normative referitor la combaterea tuberculozei, inclusiv:

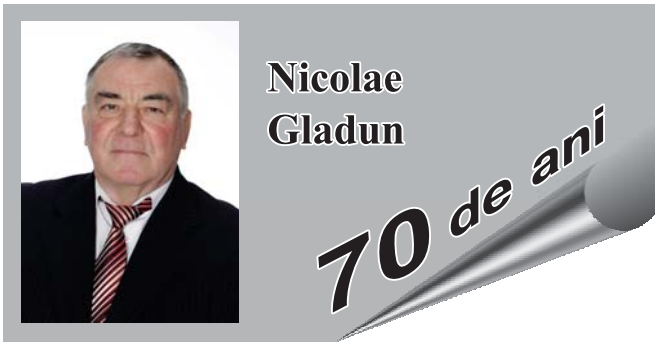
1. Legea Nr.153 din 04.07.2008 „Cu privire la controlul și profilaxia tuberculozei”.
2. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova privind aprobarea Programului național de control și profilaxie a tuberculozei pentru anii 2006-2010 nr.1409 din 30.12.2005.
3. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova privind aprobarea Programului național de control al tuberculozei pentru anii 2011-2015 nr.1171 din 21.12.2010.
4. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova pentru aprobarea Regulamentului privind modul de aplicare al spitalizării temporare coercitive în instituțiile medicale specializate anti-tuberculoase a persoanelor bolnave de tuberculoză în formă contagioasă, care refuză tratamentul nr.295 din 14.05.2012.
5. Ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr.180 din 08.05.2007 „Cu privire la optimizarea activităților de control și profilaxie a tuberculozei în Republica Moldova”.
6. Protocol clinic național „Tuberculoza la adult”, Chișinău, 2012.
7. Protocol clinic național „Tuberculoza la copil”, Chișinău, 2012.
8. Protocol clinic standardizat pentru medicii de familie „Tuberculoza la adult”, Chișinău, 2013.
9. Protocol clinic standardizat pentru medicii de familie „Tuberculoza la copil”, Chișinău, 2013.
10. Protocol clinic standardizat pentru medicii de familie „Profilaxia tuberculozei”, Chișinău, 2013.

Cu toate eforturile depuse în profilaxia și controlul tuberculozei, incidența și prevalența, cât și mortalitatea prin TBC în Republica Moldova rămâne a fi la un nivel comparativ înalt. Astfel, în 2014, incidența morbidității prin tuberculoză în Republica Moldova a constituit 99,25⁰/₀₀₀₀, prevalența fiind de 53,75⁰/₀₀₀₀. În același timp, indicii înalți de morbiditate prin tuberculoză, pentru întreg teritoriul Republicii Moldova, se mențin în principal pe baza indicilor înalți de morbiditate în unele teritorii ale Republicii Moldova. O influență semnificativă, în acest sens, o are morbiditatea prin tuberculoză în

raioanele de Est ale Republicii Moldova, unde se determină o incidență la nivel de 128,57⁰/₀₀₀₀ și prevalența de 97,30⁰/₀₀₀₀. Cele menționate, impun noi acțiuni concrete de control și prevenție cu implicarea diferitor structuri cointeresate.

Referințe bibliografice

1. Barry R. Tuberculosis: pathogenesis, protection and control. Washington D.C.: ASM Press, 1994. ISBN978-1-55581-072-6.
2. Bonah C. The experimental stable of the BCG vaccine: safety, efficacy, proof, and standards, 1921-1933. *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci.* 2005;36(4):696-721. doi: 10.1016/j.shpsc.2005.09.003.PMID16337557;
3. Bumbăcea Dragoș. Tuberculoza - implementarea strategiei DOTS de control al tuberculozei în România. București, 2005;48.
4. Hannaway Caroline. Biomedicine in the twentieth century: practices, policies, and politics. Amsterdam: IOS Press, 2008;233. ISBN 978-1-58603-832-8.
5. Cornea I. Tuberculoza în Basarabia și Chișinău: Elemente statistice și realizări profilactice. Chișinău, 1933;32.
6. Comas I. The past and future of tuberculosis research. *PLoS pathogens.* 5(10):e1000600. PMID 19855821.
7. Comstock G. The International Tuberculosis Campaign: a pioneering venture in mass vaccination and research. *Clin Infect Dis.* 1994;19(3):528-40. 10.1093/clinids/19.3.528.PMID 7811874.
8. Konomi N, Leibold E, Mowbray K, et al. Detection of Mycobacterial DNA in Andean Mummies. *J Clin Microbiol.* 2002;40(12):4738-40. 10.1128/JCM.40.12.4738-4740. PMID12454182.
9. Laloo UG, Naidoo R, Ambaram A. Recent advances in the medical and surgical treatment of multi-drug resistant tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med.* 12(3):179-5. doi:10.1097/01.mcp.0000219266.27439.52. PMID16582672.
10. Rothschild BM, Martin LD, Lev G, et al. Mycobacterium tuberculosis complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present. *Clin. Infect. Dis.* 33(3):305-11. 10.1086/321886.PMID11438894.
11. Shields, Thomas. General thoracic surgery (ed. 7th ed.). Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2009;792. ISBN 978-0-7817-7982-1.
12. Slezik, Paul S. Bioarcheological and biocultural evidence for the New England vampire folk belief” (PDF). *American Journal of Physical Anthropology.* 94(2):269-274. 10.1002/ajpa. 1330940210. ISSN 0002-9483. PMID 8085617.
13. Trail RR. Richard Morton (1637-1698). *Med Hist.* 14(2):166-74. PMID 4914685.
14. Waddington K. To stamp out „So Terrible a Malady”: bovine tuberculosis and tuberculin testing in Britain, 1890-1939”. *Med Hist.* 48(1):29-48. PMID 14968644.
15. Zink A, Sola C, Reischl U, et al. Characterization of Mycobacterium tuberculosis Complex DNAs from Egyptian Mummies by Spoligotyping. *J Clin Microbiol.* 2003;41(1):359-67. 10.1128/JCM. 41.1.359-367.2003. PMID ,12517873.
16. Format: WhoNamedIt „Frequently asked questions about TB and HIV”.World Health Organization. Hippocrates. Aphorisms. Accessed 7 October 2006.
17. Kentucky: Mammoth Cave long on history. CNN. 27 February 2004. Accessed 8 October 2006.
18. McCarthy OR. The key to the sanatoria”. *J R Soc Med.* 94(8):413-7. PMID 11461990. PMC 1281640.
19. Nobel Foundation. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1905.
20. The Chambers Dictionary. New Delhi: Allied Chambers India Ltd, 1998;352. ISBN 978-81-86062-25-8.
21. Zur Pathogenie der Impetiginos. Auszug aus einer brieflichen Mitteilung an den Herausgeber. [Müller's]. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin.* 1839;82.
22. www.memoria.ro/multimedia/galerie de imagini/sanatorii.../66825/Sanatorii și spitale interbelice. Memoria.ro



**Nicolae
Gladun**

70 de ani

Renumitul chirurg, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, șef Catedră de chirurgie, Facultatea de Educație Continuă în Medicină și Farmacie, Nicolae Gladun s-a născut la 16 mai 1945, în satul Drepcăuți, raionul Briceni, într-o familie de învățători, de la care avea să moștenească setea de carte, caracterul puternic, dorința de muncă și perseverența.

Și-a început studiile la gimnaziul din satul Drepcăuți, raionul Briceni, apoi a urmat studiile la Școala de cultură generală nr. 2 din Lipcani, pe care a absolvit-o în 1963. În același an, după susținerea cu succes a examenelor de concurs, a fost înmatriculat la Facultatea de Medicină generală a Institutului de Stat de Medicină din Chișinău. Pe parcursul anilor 1963-1969, Nicolae Gladun studiază cu multă sârguință, evidențiindu-se ca adevărat lider în viața studentescă, la facultate și instituție. Urmează internatura în domeniul Chirurgie în cadrul Clinicii de chirurgie a Spitalului Clinic Republican, or. Chișinău. Activitatea practică medicală, conform repartizării, o începe la Spitalul Raional Orhei în calitate de medic chirurg (1970). Lucrează cu abnegație și dăruire de sine, meritând pe bune stima pacienților și colegilor săi. În 1972, la recomandarea Ministerului Sănătății, este transferat la Spitalul Clinic Republican în calitate de medic chirurg în secția chirurgie toracică. Capacitatea de a avansa și de a reuși în tot ce face, l-a încurajat să treacă cu insistență și tenacitate prin multe încercări.

În 1972 efectuează o specializare în domeniul chirurgiei toracice la Institutul de Perfecționare a Medicilor din Kiev sub egida profesoarei Avilova Olga Matveevna. Dl Nicolae Gladun devine "fenomen" în chirurgie, cu un dar deosebit de a inventa și improviza în situațiile dificile din chirurgie. În 1974 devine șef secție de Chirurgie toracică. Buna reputație, cunoștințele temeinice în domeniul profesional, calitățile morale excepționale l-au ajutat să-și îndeplinească cu dăruire obligațiunile în activitatea sa curativă și managerială. Anume prin prestanța sa deosebită în domeniul chirurgiei toracice, meșteșugul acesta a fost ridicat la nivel de artă, fiind efectuate cu succes operații plastice pe trahee, bronhii, esofag, iar colaboratorii secției erau în postura de discipoli într-o școală chirurgicală, în care manopera unică și studiul științific sunt condiții indispensabile.

Numai de colaboratorii secției Chirurgie toracică au fost susținute trei teze de doctor habilitat și patru teze de doctor în medicină, iar Departamentul de Chirurgie Toracică a perpetuat și progresat, aici fiind tratați la nivel contemporan distrucțiile pulmonare acute și cronice, echinococoză, traumatismele toracice severe, malformațiile traheo-bronșice congenitale. Pacienții cei mai gravi cu cancer pulmonar și esofagian, necesitând procedee plastice moderne, care nu sunt efectuate în alte colective chirurgicale, sunt operați cu succes de maestrul Nicolae Gladun.

În 1993, omagiatul a fost angajat în calitate de asistent la Catedra de chirurgie, Facultatea de Perfecționare a Medicilor a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și, astfel, și-a început activitatea pedagogică. Muncind zi de zi, a contribuit la in-

struirea multor generații de studenți, rezidenți, medici-cursanți, care își amintesc cu căldură de atitudinea pe care o avea față de discipolii săi. În 1994, îndrumat de profesorul Constantin Țibirnă, susține teza de doctor în medicină cu tema „Tactica tratamentului chirurgical în procesele gangrenoase pulmonare”. Spiritul enciclopedic și dorința arzătoare de a efectua noi cercetări științifice l-au determinat pe dl Nicolae Gladun să acumuleze material pentru teza de doctor habilitat în științe medicale la tema „Electiunea procedeelelor chirurgicale, materialelor grefale și tehnicilor operatorii în platiile de esofag”, pe care în 2006 a susținut-o cu succes sub egida academicianului Gheorghe Ghidirim. Profesorul Nicolae Gladun este autor și coautor al peste 250 de publicații științifice, inclusiv o monografie, multiple inovații și invenții. A elaborat programe de instruire postuniversitară a medicilor-chirurghi. Sub îndrumarea domniei sale au fost pregătite și susținute 7 teze de doctor în științe medicale. Actualmente este conducătorul a doi doctoranzi și consultant la pregătirea unei teze de doctor habilitat. Fiind mereu un cercetător și inovator, a efectuat numeroase stagii în țară și străinătate: Virginia de Est (SUA), București, Craiova, Timișoara (România), Sankt-Petersburg, Moscova (Rusia), Kiev (Ucraina). Rezultatele cercetărilor științifice au fost raportate de multiple ori în cadrul congreselor Asociației Chirurghilor „Nicolae Anestiadi”, congreselor naționale de Chirurgie din România, Ucraina, Rusia, Austria.

Îl deosebesc profesionalismul, spiritul înalt al responsabilității, dorința de a contribui din plin la eficientizarea procesului de instruire universitară și postuniversitară la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Și în această calitate, s-a dovedit a fi un reprezentant de referință al sistemului de instruire în medicină, fapt confirmat prin conferirea titlului științifico-didactic de profesor universitar. Întreaga comunitate universitară îi poartă respect pentru ceea ce a izbutit să realizeze cu generozitate și mult suflet și câte le face până în prezent în calitate de șef Catedră de chirurgie FECMF a USMF „Nicolae Testemițanu” (din 1998).

Este Președinte al Congresului al XI-lea al Chirurghilor din Moldova (2011); Președinte al Asociației Chirurgicale din Republica Moldova „Nicolae Anestiadi”; membru al Comisiei de atestare a chirurgilor; membru al comisiei în probleme de profil chirurgical. Activitatea dlui profesor Nicolae Gladun este apreciată cu ordinul „Insigna de onoare”.

Domnia sa este o personalitate în lumea medicală, de o înaltă valoare și ținută științifică, didactică și practică, care și-a dăruit sufletul profesiei din care a făcut o reală pasiune, vocație de-o viață, pe care o slujește cu credință și devotament. Dl profesor Nicolae Gladun este un Om de omenie, onest, principial și iubitor de adevăr, sensibil la nedreptăți, sociabil și deschis, face parte din pleiada de savanți, pe care îi caracterizează profesionalismul, responsabilitatea, înalte calități morale și civice.

Dle profesor, Vă felicităm din inimă cu ocazia celor 70 de trepte urcate în biografia Dumneavoastră de medic, savant, pedagog, Om. Vă asigurăm că suntem mândri de faptul că avem fericita ocazie de a Vă cunoaște și activa alături de Dumneavoastră, o personalitate, înzestrată cu cele mai frumoase calități omenești, cu un talent în-născut de medic și savant.

Întreaga comunitate universitară îi dorește Dlui profesor Nicolae Gladun multă sănătate, fericire, prosperitate și realizări frumoase în continuare, o profundă recunoștință din partea discipolilor. La mulți ani!

Ion Ababii, dr. hab. șt. med., profesor, academician
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”



**Alin
Bour**

50 de ani

Domnul Alin Bour, talentat chirurg, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” este un nume notoriu în comunitatea chirurgicală.

S-a născut la 21 aprilie 1965, într-o familie de intelectuali, în satul Grinăuți, raionul Ocnița (pe atunci raionul Edineț). Dragostea de carte și capacitățile didactice le preia de la mama – profesoară de limba română, de la tata însă moștenește perseverența, onestitatea și sârguința.

În 1981 absolvește școala medie de cultură generală din satul natal cu medalie de aur și, în același an, este admis la Institutul de Stat de Medicină din Chișinău, facultatea Medicină generală, pe care o absolvește în anul 1987. Studiile postuniversitare în domeniul chirurgiei (internatura) le efectuează pe parcursul anilor 1987-1988, în cadrul catedrei de chirurgie, condusă de profesorul Pavel Bîtcă.

Ca tânăr specialist, își începe activitatea profesională la Spitalul Clinic Municipal nr.2 în 1988, ca apoi în 1990 să fie admis în doctoratură cu destinație specială la Centrul științific de Chirurgie al Federației Ruse, orașul Moscova. În 1993, susține cu succes teza de doctor în științe medicale la tema: *“Detoxifierea enterală ca tratament al insuficienței hepatice la pacienții cu ciroză hepatică și hemoragii din varicele esofagiene”*, conducător științific fiindu-i profesorul universitar Alexandr Gheorghievici Șerțingher.

Pe parcursul anilor 1993-1996, dl profesor Alin Bour activează în funcție de colaborator științific superior în Laboratorul de hepatochirurgie și face primii pași în activitatea didactică în calitate de asistent universitar la catedra Chirurgie nr.2 a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Fiind un caracter cu tendință permanentă spre perfecționare, își continuă cercetările și studiile în postdoctoratură la același Centru Științific de Chirurgie al Federației Ruse, orașul Moscova, în perioada 1996-1999. Astfel, obține gradul de doctor habilitat în științe medicale după susținerea cu brio a tezei la tema: *„Metode miniinvazive de hemostază la pacienții cu hemoragii din varicele esofagiene și gastrice”*.

Reîntors în țară, în perioada 1999-2000, își continuă activitatea deja în calitate de conferențiar universitar la catedra Chirurgie nr.2 a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. În anul 2000, în urma activității chirurgicale asidue, obține categoria superioară de calificare profesională. Timp de 2 ani (2000-2002), deține funcția de șef catedră, Catedra de chirurgie a Universității Libere Inter-

naționale din Republica Moldova. În 2002, i se conferă titlul științifico-didactic de conferențiar universitar.

În perioada 2002-2007, activează în funcția de conferențiar universitar la Catedra de chirurgie generală și semiologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și, în același timp, deține funcția de șef Clinică de chirurgie în cadrul Spitalului Clinic Militar Central al Forțelor Armate.

Între anii 2003-2005, efectuează două stagii consecutive peste hotarele țării, în centrele spitalicești *Manchester*, orașul Charleville-Mézières (Franța) și *Princesse Paola*, orașul Marche-en-Famenne (Belgia), dedicate studiilor aprofundate în chirurgia viscerală, digestivă, vasculară, endocrină cu implementarea tehnicilor și tacticilor moderne în activitatea chirurgicală autohtonă.

În ianuarie 2007, prin concurs, obține postul de profesor universitar la Catedra de chirurgie generală și semiologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Din luna septembrie 2007 până în prezent, își exercită funcția de șef al cursului Chirurgie al Facultății de Stomatologie și cea de șef al clinicii de chirurgie în cadrul Spitalului Clinic Central, stația Chișinău (Spitalul Feroviar) și al Spitalului Clinic Militar Central al Forțelor Armate. În 2013, i se conferă titlul științifico-didactic de profesor universitar.

Activitatea științifică și didactică a domniei sale, se remarcă prin cele peste 80 de lucrări științifice de o deosebită valoare, inclusiv 2 monografii, 5 elaborări metodice, un suport de curs în limba engleză, 33 de articole în reviste internaționale.

Sub egida dlui Alin Bour au fost susținute 2 teze de doctor în științe medicale. La momentul actual, este conducător științific a încă 3 teze științifice și consultant la o teză în derulare. Împreună cu discipolii săi, în premieră în Republica Moldova, a implementat metoda laparoscopică de tratament chirurgical al herniilor inghinale (2007) și o metodă inovatoare în chirurgia proctologică – *Ligaturarea transanală a arterelor hemoroidale sub controlul dopplerometriei ultrasonore cu mucopexie* (2014).

Domnia sa este membru al diverselor comisii și societăți naționale și internaționale: Asociației Chirurgilor „Nicolae Anestiadi”; Comisiei de Experti a Consiliului Național pentru Acreditare și Atestare (CNAA); Seminarului științific de profil chirurgical al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”; Comisiei de Atestare a Ministerului Sănătății, specialitatea chirurgie; Consiliului științific al Facultății de Stomatologie și al Societății Europene de Chirurgie Endoscopică. Se bucură de o deosebită recunoștință și respect din partea colegilor, discipolilor și pacienților.

Multstimate dle Alin Bour, întreaga comunitate universitară Vă felicită cordial cu prilejul acestei frumoase aniversări și Vă dorește multă sănătate, realizări marcante profesionale și personale, împlinirea tuturor dorințelor.

Vivat! Crescat! Floriat!

La multi ani!

Ion Ababii, dr. hab. șt. med., profesor, academician
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”

Constantin Matcovschi (1930-2015)

Astăzi, când trăim într-o lume virtuală, detașată de divinitate, contaminată de internet și jocuri politice, suntem toți în căutarea acelei picături de apă autentică și a unui strop de aer de câmpie, vorba poetului Dumitru Matcovschi, cât și în căutarea marilor personalități. Una dintre ele a fost distinsul profesor Constantin Matcovschi, reputat savant, profesor universitar, doctor în științe medicale, fondator și primul decan al Facultății de Farmacie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, personalitate cu o inteligență scilpitoare și o impunătoare experiență de viață, care a întors cea din urmă filă a biografiei sale longevive, alegând și acum, pentru plecarea la cele veșnice, o frumoasă zi de april.

S-a născut la 5 februarie 1930, în satul Lipceni, județul Orhei. La vârsta de 2 ani, împreună cu părinții, se stabilește cu traiul în satul Șipca al aceluiași județ. După absolvirea școlii primare din satul natal, unde a fost un elev model, a învățat la Liceul Industrial de băieți din Iași, la liceul „Vasile Lupu” din Orhei, iar apoi – la școala de cultură generală din Rezina.

În perioada 1947-1952 își continuă studiile la Institutul de Stat de Medicină din Chișinău, Facultatea de Medicină generală. După absolvire, își începe activitatea ca medic de circumscripție în localitățile Cucuruzeni și Chiperceni, raionul Orhei. Peste un an, își continuă studiile postuniversitare, perioadă în care tânărul aspirant colectează asiduu date și cunoștințe, asimilează informații după care, sintetizându-le, susține cu succes teza de doctor în științe medicale cu tema: „Acțiunea comparativă a novocainei, xilocainei și trimecainei asupra sistemului nervos central”. Din 1959, invitat de Nicolae Testemițanu, rectorul Institutului de Stat de Medicină din Chișinău, la catedra de Farmacologie, activează în cadrul ei până în 1993, deținând succesiv funcțiile de asistent universitar, conferențiar, șef de catedră.

Activând în cadrul Catedrei de farmacologie, tânărul doctor în științe medicale contribuie activ la revenirea la predarea medicinei în limba română, ia parte la traducerea manualelor de farmacologie din limba rusă (S. Anicicov, 1958; V. Zakusov, 1972; D. Harkevici, 1990). În perioada 1970-1980, la catedră se studiază efectul unor substanțe medicamentoase în condițiile acțiunii oxigenului hiperbar asupra organismului. Ca rezultat, apar lucrările: *Oxygen Toxicity and Drugs*, VI-th International Hyperbaric Congress, Aberdeen (1977); monografii, diverse materiale didactice.

Profesorul Constantin Matcovschi este fondator și primul decan al Facultății de Farmacie, fondată în 1964 în baza experienței Țărilor Baltice, iar în perioada 1966-1968 a activat în calitate de prorector didactic al Institutului de Stat de Medicină din Chișinău.

De menționat și activitatea profesorului Constantin Matcovschi în or. Vientian, Laos, unde a susținut Cursul de farmacologie în limba franceză. Distinsul savant și pedagog a fondat și Catedra de farmacologie a Institutului de Medicină din Vientian, cu pregătirea specialiștilor în domeniu. Acolo, iese de sub tipar lucrarea „Cours de Pharmacologie donné par C. Matcovschi”, Vientiane, 1980 și versiunea laosiană, Bangkok, 1981.

În 1968 a fost destituit din posturile de profesor și șef catedră pentru „politică antileninistă”, dar și-a păstrat verticalitatea și în acele timpuri, a activat modest în calitate de conferențiar la Catedra de farmacologie.

Odată cu fondarea Centrului Farmaceutic Științific și de



Producție, în 1991, profesorul Constantin Matcovschi este numit în funcția de șef de Laborator Testare Farmacologică a Medicamentului, activând mai apoi în cadrul Institutului Național de Farmacie, actualmente Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale, unde pune bazele științei moldave în domeniul medicamentului.

Profesorul Constantin Matcovschi este autorul a cca 120 de lucrări științifice, publicate în cele mai prestigioase reviste de specialitate, inclusiv cărți, monografii farmaceutice, îndrumare, brevete de invenție, manualul „Receptura” (1967), „Manual de receptură” (1992), un articol în *Большая Медицинская Энциклопедия* cu referință la preparatul Brevicolină (1976), ghiduri elaborate în 5 ediții: „Medicamente omologate în Republica Moldova” (1999), „Compendium Medicamentorum” (2001), „Ghiduri farmacoterapeutice” (2004, 2006, 2010), utilizate pe larg de medici, farmaciști, studenți, consumatori de medicamente.

Pentru meritele ce consfințesc rezultatele muncii sale, profesorul și savantul Constantin Matcovschi a fost decorat cu un șir de distincții de mare notorietate. Astfel, Academia Europeană de Științe Naturale din Hanovra, Germania (Europäische Akademie der Naturwissenschaften in Hannover) îi conferă medalia Wilhelm Conrad Röntgen (2004), medalia Robert Koch (2005) și Ordinul Nicolai Pirogov (2005); Academia Internațională de Științe despre Natură și Societate, Federația Rusă – medalia comemorativă Petru I „Pentru merite în cauza renașterii științei și economiei Rusiei” (1996), și medalia de argint „Ivan Pavlov” a Academiei „Pentru dezvoltarea medicinei și ocrotirii sănătății”. Onoruri speciale i s-au acordat în 2001 prin conferirea Ordinului Suveran Sfântul Ioan de Ierusalim, Ordinul Suveran al Cavalerilor de Malta; Gradul de Comandor din partea Academiei Europene de Științe din Hanovra, culminând cu titlul onorific „Om Emerit” al Republicii Moldova (2000) și ordinul „Gloria Muncii” (2010) „Pentru muncă îndelungată și prodigioasă în domeniul ocrotirii sănătății, contribuției la implementarea în medicină a realizărilor științei și activitate metodico-organizatorică”.

Viața profesorului Constantin Matcovschi a fost un model de moralitate pentru generații și generații de discipoli, impresionând prin atitudine, spirit, respect, inteligență, manieră de a aborda problemele, unele expresii devenite aforisme: „Am ajuns la vârsta, când pot spune lucrurilor pe nume”, „*Sapa din mâini n-o să ne-o ia nimeni*” sau „*Sunt optimist, are să fie și mai rău*”. Profesorul Constantin Matcovschi face parte din matricea noastră culturală, din generația care a redirecționat lucrurile spre bine în Republica Moldova și peste hotarele ei, rămânând a fi un profesionist de elită ce reprezintă „patrimoniul de aur” și care, în același timp, va servi drept exemplu de patriot al neamului, care și-a iubit rădăcinile, iar pentru întreaga comunitate medicală fiind un adevărat exemplu de demnitate, omenie, profesionalism și va dăinui în continuare prin lucrările sale, prin discipolii săi, familie, cât și prin amintirile frumoase, pe care ni le-a lăsat.

Astăzi, întreaga comunitate universitară deplânge pierderea valorosului Om și Profesor. Să-i păstrăm vie memoria și Dumnezeu să-l odihnească în pace.

Ion Ababii, dr. hab. șt. med., profesor, academician
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”

GUIDE FOR AUTHORS

The authors are strongly requested to visit our web site www.curierulmedical.org, and follow the directions of the Publication Ethics and Publication Malpractice Statement.

The articles are accepted for publication in Romanian, English and Russian. All articles are double-blind peer reviewed by two independent experts.

The articles must be sent electronically by the authors, responsible for the correspondence, with a cover letter written to the Editor-in-Chief Boris Topor, MD, PhD, Professor. The letter should contain a statement, saying that the manuscript has been seen and approved by all the authors and the article has not been previously published.

The authors are responsible for the content of the articles. The papers describing a research, involving animal or human subjects, should state in the cover letter that the rules of working with animals have been observed and the official consent has been obtained from the patients, and it has been approved by the designated board of the institution involved. The potential conflict of interests should be acknowledged by all the authors and editorial reviewers. If such a conflict is recognized, the reviewer is excluded from the review process and another reviewer is assigned.

All papers must be executed in the following manner:

1. **The manuscripts should be typed** in format A4, 1.5-spaced, with 2.0 cm margins, printing type 12 Times New Roman, in Microsoft Word.

2. **The title page** should include the first and last names of all the authors, their academic degrees, the name of the department and institution from which the paper has arrived, the phone number and e-mail address of the corresponding author.

3. **The abstract** should be written on the title page in English and be limited from 220 to 240 words. The abstract should end with 3 to 6 key words.

4. **The text of clinical or experimental articles** (has to be less than 16 pages long) should consist of an Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusions and be followed by no more than 40 References. The **review articles** must not exceed 25 pages and contain no more than 100 references.

5. **The tables and figures** must be typed, consecutively numbered and followed by an explanatory text. The figures that have to emphasize a comparison or details are published in colour. If coloured figures are to be placed, the author must pay an additional fee of €100 per page (1-8 figures on a page).

6. **The references** are to be listed in order of their appearance in the text, and the appropriate numbers are to be inserted in the text [in square brackets] in proper places. The references must comply with the general format outlined in the Uniform Requirements for the Manuscripts Submitted to Biomedical Journals developed by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org), chapter IV.A.9. The references in the Cyrillic script should be transliterated into Latin script as follows: A-A, B-B, B-V, G-G, D-D, E-E, E-E, Ж-ZH, 3-Z, И-I, Й-Y, К-K, Л-L, М-M, Н-N, О-O, П-P, P-R, C-S, T-T, У-U, Ф-F, X-KH, Ц-TS, Ч-CH, Ш-SH, Щ-SCH, Ы-Y, Э-E, Ю-YU, Я-YA, Ь and Ъ are omitted. Immediately after the transliteration the translation of the title in English [in the square brackets] should follow. For example: Ivanov IV, Sidorov VM, Kozlov NE. Transplantatsiya organov i tkaney [Transplantation of organs and tissues]. Vestnik Khirurgii [Messenger of Surgery]. 2010; 26(6):45-49.

Address of the Journal Office
192, Stefan cel Mare Avenue
Chisinau, MD-2004
Republic of Moldova
Telephone: +37322244751
Fax: +37322295384
www.curierulmedical.org
editor@curierulmedical.org
secretary@curierulmedical.org

GHID PENTRU AUTORI

Redacția recomandă insistent autorilor să viziteze pagina web a revistei Curierul Medical www.curierulmedical.org pentru a face cunoștință cu cerințele și respectarea ulterioară a „Regulamentului despre etica editorială”.

Sunt acceptate spre publicare articole în limba română, engleză sau rusă. Toate articolele sunt îndreptate pentru recenzare la 2 experți independenți.

Articolele se expediază prin poșta electronică, în adresa redactorului-șef Boris Topor, dr. h., profesor, cu o scrisoare de însoțire din partea autorului, responsabil pentru corespondență. Scrisoarea va confirma faptul că toți autorii sunt de acord cu conținutul articolului și că articolul dat nu a fost publicat anterior.

Pentru conținutul articolelor sunt responsabili autorii. Dacă în articol sunt prezentate date despre rezultatele cercetărilor efectuate pe oameni sau animale, este necesar ca în scrisoarea de însoțire să se indice, că au fost respectate regulile de rigoare în privința experiențelor efectuate pe animale sau a fost obținut acordul pacienților și permisiunea administrației instituției. În caz de apariție a conflictului de interese, despre aceasta vor fi informați toți autorii și colegiul de redacție al revistei. Dacă conflictul se confirmă, persoanele coințesate se exclud din procesul de evaluare a articolului și se numește un nou expert.

Articolele trebuie să respecte următoarea structură:

1. **Articolele se imprimă** în formatul A4, Times New Roman 12, în Microsoft Word la intervalul 1,5, cu câmpurile de 2 cm.

2. **Foia de titlu** conține prenumele și numele autorilor, titlul și gradul științific, instituția, numărul de telefon și adresa electronică a autorului corespondent.

3. **Rezumatul** în limba engleză (220-240 cuvinte) se expune consecutiv pe foaia de titlu, inclusiv cuvintele cheie, de la 3 până la 6. În rezumat este obligat să fie expus scopul cercetării (dacă nu este clar din titlu), metodologia studiului, rezultatele obținute și concluziile.

4. **Textul articolelor clinice, experimentale** (până la 15 pagini) cuprinde: Introducere; Material și metode; Rezultate obținute; Discuții; Concluzii și Bibliografie până la 40 de referințe. Altă structură se acceptă, dacă aceasta corespunde conținutului materialului. **Articolele de sinteză** nu vor depăși 25 de pagini și bibliografia până la 100 de surse.

5. **Tabelele și figurile** trebuie să fie enumerate și însoțite de legendă. Figurile care necesită contrastare sau evidențierea detaliilor sunt executate color. Figurile color se publică din sursele autorului – 100 €, 1-8 figuri pe pagină.

6. **Referințele**, în conformitate cu cerințele Comitetului Internațional al Editorilor Revistelor Biomedicale (www.icmje.org, capitolul IV.A.9), se expun în ordinea apariției în text. În lista referințelor titlul articolului, se traduce în limba engleză, poziționându-se în paranteze pătrate. Referințele bibliografice prezentate în grafie chirilică sunt transliterate în grafie latină, utilizând următoarele semne grafice: A-A, B-B, B-V, G-G, D-D, E-E, E-E, Ж-ZH, 3-Z, И-I, Й-Y, К-K, Л-L, М-M, Н-N, О-O, П-P, P-R, C-S, T-T, У-U, Ф-F, X-KH, Ц-TS, Ч-CH, Ш-SH, Щ-SCH, Ы-Y, Э-E, Ю-YU, Я-YA; Ь și Ъ se omit. Imediat după transliterare, în paranteze pătrate, se prezintă traducerea titlului articolului în limba engleză. De exemplu: Ivanov IV, Sidorov VM, Kozlov NE. Transplantatsiya organov i tkaney [Transplantation of organs and tissues]. Vestnik Khirurgii [Messenger of Surgery]. 2010; 26(6):45-49.

Adresa redacției
Bd. Ștefan cel Mare, 192
Chișinău, MD-2004
Republica Moldova
Telefon: +37322244751
Fax: +37322295384
www.curierulmedical.org
editor@curierulmedical.org
secretary@curierulmedical.org

ГИД ДЛЯ АВТОРОВ

Редакция настоятельно рекомендует авторам посетить электронную страницу журнала Curierul Medical www.curierulmedical.org для ознакомления с требованиями и последующего соблюдения «Положения об издательской этике».

К публикации принимаются статьи на одном из трёх языков: английском, румынском или русском. Все статьи направляются на рецензию двум независимым экспертам.

Статью подают на имя главного редактора, д. м. н., профессора Б. М. Топор, в электронной форме, с сопроводительным письмом от имени автора, ответственного за переписку. Письмо должно содержать подтверждение, что все авторы согласны с содержанием статьи и она нигде ранее не публиковалась.

Ответственность за содержание статьи несут авторы. Если в статье приводятся результаты исследований, проведенных на животных или пациентах, в сопроводительном письме следует указать, что соблюдались правила работы с животными, было получено согласие пациентов и разрешение администрации учреждения. В случае возникновения конфликта интересов об этом извещаются все авторы и редакционный совет журнала. Если конфликт подтверждается, заинтересованные лица исключаются из процесса рассмотрения статьи, и назначается другой эксперт.

Все статьи должны быть оформлены следующим образом:

1. **Статью печатают** в формате A4, с интервалом 1,5, с полями в 2,0 см, шрифтом 12 Times New Roman, Microsoft Word.

2. **Титульный лист** включает в себя фамилию, имя и отчество авторов, ученые степени и звания авторов, название учреждения, из которого поступает работа, а также номер телефона и электронный адрес автора, ответственного за переписку.

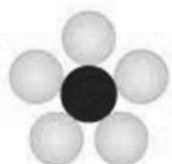
3. **Реферат** (220-240 слов) на английском языке должен быть напечатан на титульном листе. За рефератом приводятся ключевые слова – от 3 до 6. Текст реферата должен содержать обоснование исследования (если оно не отражено в названии), материал и методы, результаты и выводы. При составлении реферата необходимо использовать активный, а не пассивный залог.

4. **Статья клинического и экспериментального характера** (до 15 страниц) должна содержать следующие разделы: введение, материал и методы, результаты, обсуждение, выводы и библиография (не более 40 источников). Иной порядок изложения допустим, если он соответствует содержанию. **Обзорная статья** может содержать до 25 страниц и включать не более 100 ссылок на литературу.

5. **Таблицы и рисунки** нумеруют и сопровождают пояснениями. Рисунки, которые требуют выделения контраста или деталей по цвету, печатаются в цвете. Цветные рисунки оплачивают авторы: 100 € – от 1 до 8 рисунков на странице.

6. **Список литературы** необходимо печатать в порядке появления ссылок в тексте и в соответствии с едиными требованиями Международного Комитета Издателей Медицинских Журналов (www.icmje.org, глава IV.A.9). Библиографические ссылки на кириллице транслитерируют на латиницу следующим образом: A-A, B-B, B-V, G-G, D-D, E-E, E-E, Ж-ZH, 3-Z, И-I, Й-Y, К-K, Л-L, М-M, Н-N, О-O, П-P, P-R, C-S, T-T, У-U, Ф-F, X-KH, Ц-TS, Ч-CH, Ш-SH, Щ-SCH, Ы-Y, Э-E, Ю-YU, Я-YA, Ь и Ъ опускают. Сразу же после transliteratsii приводят в квадратных скобках перевод на английском языке. Например: Ivanov IV, Sidorov VM, Kozlov NE. Transplantatsiya organov i tkaney [Transplantation of organs and tissues]. Vestnik Khirurgii [Messenger of Surgery]. 2010; 26(6):45-49.

Адрес редакции
Пр. Ștefan cel Mare, 192
Кишинев, MD-2004
Республика Молдова
Телефон: +37322244751
Факс: +37322295384
www.curierulmedical.org
editor@curierulmedical.org
secretary@curierulmedical.org



L-Cet[®]

Levocetirizinum

Remediu eficient pentru alergii

