

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 616.28-008.1-07-085.2(043.2)

PARIU SERGIU

**EFICIENTIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI FARMACOTERAPIEI
AFECȚIUNILOR ANALIZATORULUI AUDITIV**

314.01 – Farmacologie, farmacologie clinică

321.16 – Otorinolaringologie

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

CHIȘINĂU, 2021

Teza a fost elaborată la Centrul Științific al Medicamentului, IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.

Consultanți științifici:

Gonciar Veaceslav, dr. hab. șt. med., profesor universitar

Curocichin Ghenadie, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Referenți oficiali:

Mârțu Dan Vasile, dr. șt. med., profesor universitar, *Doctor honoris causa* (Iași, România)

Negreș Simona, dr. șt. farm., profesor universitar (București, România)

Mogoșan Cristina Ionela, dr. șt. farm., profesor universitar (Cluj-Napoca, România)

Vetricean Sergiu, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Componenta Consiliului Științific Specializat:

Maniuc Mihail, președinte, dr. hab. șt. med., profesor universitar

Stratu Ecaterina, secretar, dr. șt. med., conferențiar universitar

Ababii Ion, membru, dr. hab. șt. med., profesor universitar, academician al AȘM

Ghicavii Victor, membru, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. al AȘM

Dubcenco Valeriu, membru, dr. hab. șt. med., profesor universitar

Bacinschi Nicolae, membru, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Tagadiuc Olga, membru, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Hadjiu Svetlana, membru, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Darciuc Victor, membru, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Danilov Lucian, membru, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Susținerea va avea loc pe data de 19 mai 2021, ora 14⁰⁰ în ședința Consiliului Științific Specializat DH 314.01-21-2 din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, MD-2004, Republica Moldova).

Teza de doctor habilitat în științe medicale și rezumatul lucrării pot fi consultate la Biblioteca Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, str. Testemițanu, 29 și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Rezumatul a fost expediat pe data de 12 aprilie 2021

Secretar științific al Consiliului Științific

Dr. șt. med., conferențiar universitar

Consultanți științifici:

Dr. hab. șt. med., profesor universitar

Dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Autor:

Dr. șt. med., conferențiar cercetător

Specializat:

Stratu Ecaterina _____

Gonciar Veaceslav _____

Curocichin Ghenadie _____

Parii Sergiu _____

© Parii Sergiu, 2021

CUPRINS

Reperetele conceptuale ale cercetării	4
Actualitatea temei și identificarea problemelor de cercetare.....	4
Metodologia cercetării științifice.....	5
Conținutul tezei.....	9
1. Diagnosticul, farmacoterapia și utilizarea rațională a medicamentelor în afecțiunile urechii.....	9
2. Materiale și metode de cercetare.....	10
3. Elaborarea produselor medicamentoase combinate cu potențiale efecte otoprotectoare.....	11
3.1. Elaborarea picăturilor auriculare CB-12	11
3.2. Evaluarea farmaceutică a NH-01 capsule.....	14
4. Cercetarea toxicității și eficacității farmacologice preclinice ale produselor medicamentoase combinate otoprotectoare.....	16
4.1. Studii de determinare a inofensivității și eficacității medicamentoase ale produsului CB-12.....	16
4.2. Evaluarea inofensivității produsului NH-01.....	18
4.3. Studii preclinice de determinare a inofensivității compusului medicamentos emulsie orală CAF-01.....	19
4.4. Studii preclinice de determinare a inofensivității suspensiei MI.....	23
4.5. Studii preclinice de determinare a eficacității otoprotectoare a produselor medicamentoase combinate în SSN.....	24
5. Aspecte clinice de optimizare a diagnosticului și recuperării auditive a SSN.....	29
5.1. Rezultatele diagnosticului genetic al mutației genei GJB2 în surditatea senzorieurală.....	29
5.2. Rezultatele diagnosticului auditiv la nou-născuți.....	32
5.3. Elaborarea principiilor de prognostic al scorului de inteligibilitate vocală.....	33
5.4. Elaborarea principiilor de prognostic al eficacității recuperării auditive.....	33
5.5. Studiul clinic de determinare a eficacității antioxidante a produsului NH-01.....	35
5.6. Studiul clinic de determinare a eficacității produsului CAF-01.....	35
5.7. Cercetări privind utilizarea rațională a medicamentelor otoprotectoare.....	36
Sinteza rezultatelor.....	36
Concluzii generale și recomandări.....	38
Bibliografie.....	40
Lista lucrărilor științifice publicate la tema tezei.....	42
Adnotare (română, rusă, engleză).....	46
Lista abrevierilor.....	49

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța problemelor abordate. Problema surdității își păstrează actualitatea în condițiile tendinței de majorare a numărului de persoane care au deficiență de auz [1, 2]. Conform datelor din literatură, cca 1,5-4% din populația *Terrei* suferă de diferite forme ale otitei medii cronice. Până la 30% din populație a suferit de cel puțin un puseu de otită medie acută [3]. În Republica Moldova, arsenalul de produse medicamentoase autohtone cu aplicare topică auriculară este destul de ne semnificativ. În tratamentul otitelor se utilizează picături ce conțin, ca principii active, substanțe de sinteză, precum și naturiste, însă nu am identificat o combinație de aceste principii într-o singură formă farmaceutică [1, 4, 5].

Principiile de bază ale tratamentului surdității sensorineurale (SSN) acute sunt: eliminarea factorului etiologic; începerea tratamentului într-un termen cât mai precoce de la debutul bolii. În același timp, eficacitatea tratamentului medicamentos în formele subacute de SSN este rezervată, iar peste 90% din SSN cronice nu sunt compliante farmacoterapiei, favorizând astfel un procentaj înalt de invalidizare a persoanelor hipoacuzice [6, 7, 8]. Medicamentele pot pătrunde spre celulele-țintă prin utilizarea nanoparticulelor. Produsele medicamentoase combinate (PMC) presupun asocierea într-un singur preparat comercial a două sau mai multe substanțe active în doză fixă și sunt de perspectivă în tratamentul afecțiunilor analizatorului auditiv (AA) [8, 9].

Terapia medicamentoasă personalizată utilizează indicatori biologici sau „biomarkeri”, cum ar fi: secvențe de ADN, prezența sau lipsa unor receptori de substanțe chimice - ca indicatori ai modului în care pacienții ar trebui tratați, dar și pentru a estima probabilitatea ca intervenția să producă efectele scontate sau cele nescontate. În acest context relevăm faptul că nu doar tehnologiile genomice sau alte *omics*-uri sunt esențiale, ci și factorii ecologici, și stilul de viață sunt parte integrantă a medicinei personalizate [9, 10]. Aspectele menționate sunt actuale pentru diagnosticul genetic și pentru recuperarea protetică a SSN, mutația 35delG a genei GJB2 fiind cea mai răspândită pentru declanșarea SSN nonsindromice prelabice în populația europeană [9].

Până în prezent există aspecte care necesită o elucidare mai amplă privitor la: particularitățile diagnosticului, în special cel molecular-genetic, prognosticul eficacității de recuperare în surditatea de percepție (SSN); micșorarea complianței terapiei antibacteriene locale în afecțiunile inflamatorii ale urechii; eficacitatea rezervată a tratamentului al SSN [11, 12]. În acest context, sunt actuale și importante cercetările științifice ce vor contribui la ameliorarea și/sau preîntâmpinarea consecințelor SSN, a maladiilor inflamatorii acute și a celor cronice ale urechii. Un interes științifico-practic deosebit prezintă elaborarea unor scheme noi de tratament al SSN ce ar include utilizarea medicamentelor combinate care conțin principii active cu eficiență clinică și inofensivitate demonstrată, precum și a unor produse combinate noi pentru farmacoterapia afecțiunilor AA.

Scopul cercetării constă în: elaborarea și studiul acțiunii curative a unor medicamente combinate otoprotectoare, actualizarea diagnosticului molecular-genetic și audiologic, stabilirea factorilor de prognostic al eficacității recuperării auditive în afecțiunile urechii.

Obiectivele cercetării:

- 1) cercetarea farmaceutică, evaluarea inofensivității și eficacității preclinice a unui produs medicamentos combinat, sub formă de picături auriculare, cu conținut de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc pentru tratamentul otitelor;
- 2) determinarea toxicității acute și subcronice a unor produse medicamentoase combinate cu administrare enterală în tratamentul surdității senzoriele (SSN);
- 3) stabilirea eficacității farmacologice otoprotectoare preclinice a unor produse medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul SSN induse;
- 4) studierea spectrului polimorfismelor genetice, implicate în condiționarea SSN nonsindromice la hipoacuzici, și a nivelului de portaj la persoane fără patologie a analizatorului auditiv prin determinarea ponderii mutației 35delG a genei GJB2;
- 5) optimizarea diagnosticului molecular-genetic și a celui audiologic la bolnavii cu SSN, în vederea stratificării tratamentului și profilaxiei maladiei;
- 6) sporirea eficacității și operativității diagnostice prin elaborarea unei metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală;
- 7) studiul clinic de determinare a efectelor antioxidante ale produselor medicamentoase combinate NH-01 capsule și CAF-01 emulsie enterală;
- 8) stabilirea criteriilor de prognostic al eficacității recuperării auditive la bolnavii hipoacuzici și elaborarea unui algoritm de conduită a SSN.

Metodologia cercetării. Studiul disertațional l-am elaborat de tip: preclinic (farmaceutic, farmacologic experimental) și clinic (diagnostic audiologic, genetic și tratament farmacologic). În conformitate cu recomandările actuale, respectând principiile Bunelor practici de laborator, am efectuat cercetările experimentale farmaceutice și farmacologice. Parametrii biochimici, audiologici și genetici i-am examinat în concordanță cu metodele contemporane, accesibile și larg utilizate în practica medicală, conform regulamentului Bunelor practici în studiul clinic. Lucrările de referință au asigurat suportul metodologic al acestui studiu. Cercetările au fost elaborate și examinate conform recomandărilor privind proiectarea, elaborarea și redactarea lucrărilor științifice [1, 7].

Noutatea și originalitatea științifică. Au fost efectuate studii farmaceutice privind combinarea principiilor active cu potențial efect favorabil în corijarea farmacoterapeutică a afecțiunilor inflamatorii ale urechii. S-a elaborat în premieră o metodă de determinare a scorului de inteligibilitate vocală în baza rezultatelor audiometriei tonale la pacienții cu maladii ale

analizatorului auditiv. Au fost stabilite pentru prima dată noi criterii de prognostic a indicilor eficacității protezării auditive la bolnavii cu SSN. S-a determinat eficacitatea otoprotectoare a preparatelor medicamentoase CAF-01 și NH-01 în tratamentul complex al SSN și s-a evaluat eficacitatea antimicrobiană și inofensivitatea preclinică a produsului CB-12. S-a studiat spectrul polimorfismelor genetice și determinată ponderea diferitor forme ale SSN genetice nonsindromice prin determinarea mutației 35delG a genei GJB2 pentru corijarea farmacoterapiei conform principiilor medicinei personalizate.

Problema științifică importantă soluționată în teză. Cercetările experimentale și clinice efectuate au stat la baza elaborării: unui nou concept de utilizare a preparatelor medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul afecțiunilor inflamatorii și a celor neinflamatorii ale urechii, a principiilor de prognostic al eficacității de diagnostic și recuperare auditivă, precum și a diagnosticului genetic al SSN în vederea profilaxiei și majorării eficacității farmacoterapiei otoprotectoare.

Semnificația teoretică. Grație acestui studiu fundamental, am obținut noi cunoștințe teoretice referitoare la diagnosticul audiologic, am revalidat conceptul de testare molecular-genetică a bolnavilor cu SSN nonsindromică, prognosticul eficacității farmacoterapiei, efectelor adverse ale protezării auditive. Pentru prima dată am efectuat cercetarea preclinică a produselor farmacologice combinate cu principii naturiste și de sinteză, din punctul de vedere al efectelor otoprotectoare. În baza acestor studii și a rezultatelor obținute, am elaborat un suport teoretico-practic pentru o abordare interdisciplinară și conceptuală sistemică în aspect de cercetare preclinică și clinică de explorare, un tratament farmacologic de recuperare a SSN și otitelor.

Valoarea aplicativă a lucrării. În baza unor cercetări științifice interdisciplinare complexe, am elaborat unele preparate medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în maladiile inflamatorii și neinflamatorii auriculare și am evaluat eficacitatea clinică otoprotectoare a produselor farmaceutice CAF-01 și NH-01. De asemenea am conceput un algoritm experimental preclinic de monitorizare a funcției analizatorului auditiv la expunerea agenților medicamentoși ototoxici și otoprotectori. În același context am reușit să elaborăm și unele principii de prognostic al parametrilor audiometriei vocale, al eficacității tratamentului farmacoterapeutic și al protezării auditive la bolnavii cu afecțiuni ale urechii și să perfectăm diagnosticul molecular-genetic și audiologic în vederea stratificării pacienților cu SSN și profilaxia patologiei respective.

Rezultatele științifice principale prezentate pentru a fi susținute

Conform studiului elaborat, putem argumenta raționamentul combinării în aceeași formă farmaceutică a substanței active antibacteriene ciprofloxacina hidroclohid cu un produs natural – uleiul volatil de busuioc. Picăturile auriculare cu ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc CB-12

posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacina, comparativ cu unele tulpini bacteriene (*S.aureus* (t.209); *Ps.aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E.faecalis* (t.ATCC 19433)).

Produsele medicamentoase combinate CAF-01, MI și NH-01 manifestă toxicitate redusă (clasa de toxicitate $5 LD_{50} > 2000$ mg/kg) și eficacitate otoprotectoare în tratamentul SSN induse cu gentamicină (parametrii otoemisiei acustice tip OEAT $p < 0,001$). Administrarea acestora la subiecții umani, de asemenea, contribuie la ameliorarea simptomaticei, confirmată prin indicii hematologici, biochimici și audiologici.

Metoda tehnologică de genotipare *TaqMan PCR* sporește performanțele diagnosticării molecular-genetice ale deleției 35delG (rs80338939) în gena GJB2. A fost elaborată și demonstrată eficiența unor noi metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și am stabilit criteriile de prognostic al eficacității recuperării auditive la bolnavii cu hipoacuzie, luând în considerare factorii anamnestici și cei ai audiometriei tonale liminare și supraliminare.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele obținute au fost implementate în activitatea practică a catedrelor și laboratoarelor cu specificul farmacologie, farmacie, genetică umană și a clinicilor ORL din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” (două certificate de autorizare a produselor, 12 acte de implementare a invențiilor și inovațiilor).

Aprobarea rezultatelor lucrării. Conferința Asociației Otologilor și Otoneurologilor a Ucrainei (Kiev, 2007, 2012); Conferința I Moldo-Ucraineană „Actualități în otorinolaringologie” (Chișinău, 2008); Conferința „Probleme actuale în otorinolaringologia pediatrică” (Chișinău, 2010); Congresul al XXXII-lea Național ORL (Iași, România, 2010); Congresul Român de ORL și Chirurgie Cervico-Facială (Târgu-Mureș, 2012); Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare (Iași, România 2013, 2014, 2015, 2016, 2018); Conferința a IV-a ORL Pediatrie (Poiana Brașov, România, 2013); Masa rotundă „Politici de integrare a persoanelor cu dizabilități în câmpul muncii” (Chișinău, 2014); Concursul „Topul Inovațiilor”, ediția a V-a (Chișinău, 2014); Conferințele Științifice Anuale ale Colaboratorilor și Studenților „Zilele Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, (Chișinău, 2007, 2009, 2014); East-Horizon H2020/ICT Training Workshop (Chișinău, 2014); Partnerig scientific Event and work-shop. Estonian Genomic Center (Tartu, Estonia, 2014); Expoziția Internațională Specializată Euroinvent (Iași, România, 2013, 2014, 2015, 2016); Expoziția Internațională Specializată Inventica (Iași, România, 2013, 2014, 2015, 2016); Expoziția Internațională Specializată Infoinvent (Chișinău, Republica Moldova, 2013, 2015, 2017); Expoziția Internațională Specializată Pro Invent (Cluj-Napoca, România, 2014, 2015, 2016); Salonul de Invenții și Inovații Inventika (București, România, 2014); Salonul Național al Cercetării și Inovării (Bacău, România, 2014); Final Conference CHRONEX-RD Project (Chișinău,

2015); Congresul al II-lea Național de ORL Pediatrie (Iași, România, 2016); 16-th International Symposium and Summer School on Bioanalysis (Warsaw, Poland, 2016); Congresul al XVI-lea Național de Farmacie (București, România, 2016); Simpozionul Național de Oncologie, cu participare internațională (Chișinău, 2016); Conferința Națională de Farmacie Clinică (București, România, 2017, 2019); Conferința a XI-a Națională de Bioetică (Iași, România, 2017); Simpozionul „Zilele Medicamentului - Medicamentul de la idee la clinică”. Edițiile a XXVI-a și a XXVII-a (Iași, România, 2018, 2019); Salonul Internațional de Inventică INOVA, ediția a 43-a (Zagreb, Croația, 2018); Conferința națională cu participare internațională „Actualități în otorinolaringologie” (Chișinău, 2018); Conferința științifică „Actualități în farmacologie clinică (Chișinău, 2018); I Congres al Societății Române de Audiologie (Iași, 2019).

Distincții la saloanele de inventică: medalii de aur – opt, medalii de argint – două, medalii de bronz – două. Concursul „Topul Inovațiilor”, ediția a V-a, Chișinău, Republica Moldova, 2014. *Diplomă de mențiune - Locul I, secția Sănătate și Biomedicină* (colectiv de autori).

Rezultatele tezei au fost discutate și aprobate la: Ședința Societății Științifice a Farmacologilor și farmacologilor clinicieni din Republica Moldova, Chișinău, 29.11.2016, 30.01.2020; Ședințele Centrului Științific al Medicamentului din 28.10.2016, 30.10.2017; Ședința comună a Centrului Științific al Medicamentului și Catedrei de farmacologie și farmacie clinică, USMF „Nicolae Testemițanu” din 10.12.2019; Ședința Seminarului științific ad-hoc al Institutului Mamei și Copilului din 23.06.2020; Ședințele Seminarului Științific de Profil 314 Specialitatea 314.01 Farmacologie și farmacologie clinică din 17.11.2016, 30.11.2017, 11.09.2020; Ședința Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” – aviz pozitiv nr. 16 din 14.11.2016.

Publicații la tema tezei. Rezultatele științifice ale studiului sunt reflectate în 59 de lucrări științifice publicate, dintre care 1 monografie monoautor; 3 articole în reviste științifice internaționale cotate (WoS, SCOPUS, COPENICUS), 3 articole în reviste din străinătate recunoscute, 7 articole publicate în reviste din Registrul național cu categoria B, 8 cu categoria C, 5 fără categorie; 17 abstracte publicate în lucrările conferințelor științifice internaționale, 4 naționale; 7 materiale la saloanele de invenții, 4 brevete de invenții.

Structura tezei. Teza este expusă pe 230 de pagini text de bază și cuprinde: adnotare (în limbile română, engleză și rusă), lista abrevierilor, introducere, cinci capitole, sinteza rezultatelor obținute, concluzii generale, recomandări practice, bibliografie din 259 de surse, declarația privind asumarea răspunderii și CV-ul autorului. Teza este ilustrată cu 79 de tabele și 47 de figuri.

Cuvinte-cheie: analizator auditiv, otite, surditate, diagnostic, farmacoterapie, recuperare auditivă.

CONȚINUTUL TEZEI

1. DIAGNOSTICUL, FARMACOTERAPIA ȘI UTILIZAREA RAȚIONALĂ A MEDICAMENTELOR ÎN AFECȚIUNILE URECHII

În capitolul 1 se face o analiză a datelor literaturii de specialitate referitoare la: aspectele de etiopatogenie, diagnosticul audiologic și cel genetic, particularitățile medicației afecțiunilor AA.

Tratamentul farmacoterapeutic al SSN diferă în perioada acută de cea cronică. Medicația este complexă și include administrarea remediilor din grupuri farmacologice diferite și utilizarea metodelor fizioterapeutice [12]. Eficacitatea terapiei SSN brusc instalate este în strânsă corelare atât cu timpul de începere a tratamentului medicamentos, cât și cu modul de administrare a preparatelor [13]. PMC, conținând în sine substanțe active cu diferită acțiune, pot avea o șansă de succes mai mare, deoarece, acționând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice, cresc probabilitatea de a obține un răspuns terapeutic sporit și diminuează reacțiile adverse. Intoxicațiile medicamentoase și nemedicamentoase ocupă un loc important în etiologia unor forme de SSN [14]. Strategiile de tratament moderne al SSN sunt: farmacoterapia, protezarea auditivă, mascarea electro-acustică a acufenelor, tratamentul chirurgical, psihoterapia etc. [6, 7, 15].

Prevalența și caracterul potențial invalidizant al SSN justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților terapeutice și reabilitologice în acest domeniu [15, 16, 17]. În același timp, eficacitatea tratamentului medicamentos al afecțiunilor AA subcronice și, în special al formelor cronice, este destul de rezervată [16, 18]. Un procentaj înalt de utilizatorii PA nu sunt satisfăcuți de rezultatele protezării [6,7]. Procesele inflamatorii ale urechii medii, la rândul lor, prezintă pericol prin posibilitatea dezvoltării SSN și a complicațiilor supurate endocraniene și generalizate. Astfel, devin oportune studiile ce vor contribui la preîntâmpinarea SSN (otoprotecție) ori ameliorarea consecințelor SSN [3,17]. Importantă este elaborarea noilor medicamente pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii supurative și nesupurative ale AA, în scopul prevenirii dezvoltării complicațiilor senzorieurale ale urechii interne [4, 19, 20].

Caracterul maladiei este un factor al conceptului de optimizare a compoziției medicamentului, luând în considerare exigențele față de tratament și procesul evolutiv al acestuia. Un medicament, conceput în concordanță cu cerințele moderne, trebuie să fie o formă farmaceutică comodă, stabilă, acceptată de pacient, care să furnizeze în același timp o doză corectă de substanță medicamentoasă, într-un sistem fizico-chimic biodisponibil și activ terapeutic [21, 22]. Realizarea acestor principii poate fi efectuată prin alegerea optimă a parametrilor corespunzători fizico-chimici și biofarmaceutici ai substanțelor active și auxiliare. Astfel, elaborarea și aprobarea noilor produse medicamentoase, inclusiv pentru tratamentul afecțiunilor AA, în țara noastră continuă să fie o problemă medico-socială de actualitate [7].

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

Studiul elaborat reprezintă o cercetare complexă, în care au fost utilizate numeroase metode moderne de investigare, conform etapelor stabilite: studii experimentale preclinice (farmaceutice și farmacologice), studii clinice: randomizate, retro-prospective. Cercetările preclinice farmacologice, farmaceutice, biochimice și microbiologice ale produselor medicamentoase au fost efectuate la: Centrul Științific al Medicamentului; Catedra de farmacologie și farmacie clinică; Laboratorul de biochimie; Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare; Catedra de epidemiologie.

În cercetările preclinice au fost utilizați: 192 de șoareci (*Rodeta Muridae domesticus*); 228 de șobolani (*Rattus Muridae*) pentru a determina toxicitatea și 30 de șobolani pentru a stabili efectele otoprotectoare ale următoarelor produse medicamentoase combinate: „Flamena”, emulsie orală, 100 ml (denumirea de lucru - CAF-01). Principii active: glicină – 150 mg, dihidroquercetină – 6 mg/5 ml. Certificat de autorizare în Republica Moldova nr. 23972. Produsul medicamentos combinat „Neamon-hepa”, capsule, 834 mg (NH-01), elaborat în cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu”, conține următoarele *substanțe active*: aspartat de arginină – 450 mg, spironolactonă – 24 mg și produsul indigen BioR – 9 mg, pentru prima dată propuse sub forma unei combinații fixe de medicamente (Certificat de inovator nr. 5177 din 10.01.2013). Produsul „Merion”, suspensie, 100 ml (MI), reprezintă un complex de vitamine lipo- și hidrosolubile, microelemente, nanoparticule de zinc (Aviz Sanitar pozitiv al MS RM pentru produsele alimentare și nealimentare (nr. 2253 din 24.09.2015). Produsul CB-12 picături auriculare, elaborat în cadrul CȘM (Certificat de inovator nr. 5308 din 15.02.2014). Principii active: ciprofloxacina clorhidrat – 150 mg, ulei volatil de busuioc – 200 mg. În acest scop am utilizat următoarele metode de cercetare chimico-farmaceutică: spectrofotometria UV, cromatografia HPLC și GC; metode farmacologice – determinarea toxicității acute, toxicității subcronice și modelarea SSN cu evaluarea efectelor ototoxice și otoprotectoare ale produselor farmaceutice; estimarea activității antimicrobiene a picăturilor auriculare CB-12.

Studiile clinice au ținut de diagnosticul audiologic, genetic și protezarea auditivă a SSN, precum și de evaluarea tratamentului farmacologic al produselor combinate CAF-01 și NH-01. Cercetările au fost efectuate în cadrul: Laboratorului de genetică – preluarea probelor sangvine și diagnosticul mutațiilor genetice la bolnavii cu SSN și la persoane fără patologie auriculară; Catedrei de otorinolaringologie și Centrul de Audiologie, protezare auditivă și reabilitare medico-pedagogică – stabilirea criteriilor de prognostic al inconvenientelor protezării auditive, precum și a scorului de inteligibilitate vocală; Spitalului Medpark - diagnosticul audiologic al nou-născuților și al sugarilor; Catedrei de oncologie, USMF „Nicolae Testemițanu” - determinarea eficacității antioxidante a produsului CAF-01.

Grupurile pacienților din cadrul studiilor clinice: a) 20 de pacienți (bărbați, femei), vârsta 18-29 de ani, cu SSN (determinarea mutației genei GJB2 35 del G); b) 83 de pacienți, de ambele sexe, vârsta 7-40 de ani, cu SSN cronică, protezați auditiv pentru stabilirea criteriilor de prognostic al audiometriei vocale și a inconvenientelor protezării auditive; c) 502 copii nou-născuți pentru diagnosticul audiologic primar; d) 100 de adulți, 18-30 de ani, de ambele sexe, fără patologie auriculară, pentru determinarea portajului mutației 35delG în gena GJB2; e) 38 de bolnavi pentru determinarea efectelor antioxidante ale produselor CAF-01 și NH-01. Studiul genetic a fost unul de tip „nested case control”. Pacienții au fost testați molecular-genetic pentru evidențierea polimorfismului mononucleotidic al mutației genei GJB2 prin aplicarea soluției de genotipare prin tehnica TaqMan, bazată pe setul de primeri specifici și sonde oligonucleotidice, marcate cu fluorescent. În acest scop am utilizat setul *Custom TaqMan SNP Genotyping Assay, Human* (ThermoFisherScientific, <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4351379>), cu următoarea descriere tehnică de sonde oligonucleotidice cu fluorescență: FAM - pentru a identifica *Wild Type Allele* (wt) și, respectiv, VIC - pentru a constata forma alelică cu deleția 35delG (rs80338939). Am utilizat criteriile de calitate precum $\geq 95\%$, în condiții de analiză a rezultatelor, în baza datelor pre-PCR și post-PCR, pentru determinarea automată a genotipului. Probele, care nu satisfăceau condiția dată, se eliminau din analiza curentă și se regenotipau.

Rezultatele cercetărilor au fost prelucrate statistic, utilizându-se metodele: calculul mediei aritmetice (M) și al erorii aritmetice (m); criteriul de corespundere X^2 ; coeficientul de corelare; analiza discriminantă. Pentru a compara variabilele continue între grupe, am aplicat testele t-Student și Fisher. Am calculat diferențele dintre valorile medii statistic semnificative ($p < 0,05$) și intervalul lor de încredere 95%. Pentru a stabili gradul de coincidență a fenomenului studiat, am utilizat indicele Pearson.

3. ELABORAREA PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBinate CU POTENȚIALE EFECȚE OTOPROTECTOARE

3.1. Elaborarea picăturilor auriculare CB-12

În urma studiilor efectuate în cadrul Centrului Științific al Medicamentului și Clinicii ORL Pediatrie a USMF „Nicolae Testemțanu”, am obținut o nouă compoziție medicamentoasă combinată CB-12 - picături auriculare pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii. Ne-am propus ca obiectiv extinderea portofoliului de preparate medicamentoase pentru tratamentul otitelor externe, otitelor medii acute și a celor cronice atât fără perforația membranei timpanice, cât și la cele perforative.

Aspecte tehnologice de formulare a picăturilor auriculare. Procesul de elaborare a preparatului medicamentos CB-12, care conține în calitate de principii active clorhidratul de

ciprofloxacină și uleiul volatil de busuioc, s-a efectuat prin parcurgerea unor etape clasice de cercetare farmaceutică: 1) studiul compatibilității ciprofloxacinei și uleiului de busuioc în aceeași formă farmaceutică; 2) elaborarea compoziției și tehnologiei de preparare; 3) preformularea și conceperea tehnologiei de preparare pentru picături auriculare combinate; 4) elaborarea metodelor de analiză pentru CB-12; 5) standardizarea formei farmaceutice.

La etapa de preformulare am pornit de la premisa realizării unei concentrații suficient de mare de medicament în țesuturi cu un minim de doze, astfel încât să poată fi utilizat un regim de dozare simplu pentru tratarea sau prevenirea infecțiilor bacteriene. În acest scop, am elaborat o tehnică de încorporare specifică pentru formarea sau furnizarea unui depozit antibacterian la contact cu suprafețele urechii. Absorbția substanțelor active depinde atât de concentrația de medicament dizolvată, cât și de durata de contact a țesutului extern cu fluidul care conține medicamentul. Deoarece medicamentul poate fi eliminat printr-un fluid și/sau absorbit în țesutul urechii, este foarte importantă etapa de selectare a excipienților, care ar facilita încărcarea țesutului otic, având în vedere rata de penetrare tipică lentă și cea scăzută a antibacterienelor slab solubile în apă.

Pentru a ajusta un mediu optim fiziologic al urechii, am utilizat soluția tampon citrat cu pH 7,8, care asigură menținerea pH-ului în forma farmaceutică în limitele 5,5-7,5. S-a asigurat o vâscozitate constantă pentru eliberarea lentă a ciprofloxacinei, inclusiv pentru creșterea timpului de contact al antibioticului cu țesuturile urechii, măbind astfel gradul de absorbție a medicamentului și durata acțiunii formulării în ureche, prin adăugarea, în formula picăturilor, a polietilenglicolului (PEG) 400. Polisorbitul 20 are menirea de a funcționa în calitate de tensioactiv, ajutând la încorporarea uleiului volatil de busuioc, fiind mai inert și puțin sensibil la variații ale pH-ului. Nipagina, în calitate de conservant, asigură stabilitatea compoziției.

La elaborarea tehnologiei de preparare a picăturilor auriculare combinate, am respectat etapele prevăzute de FR X [12]: etapa pregătitoare, dizolvarea, filtrarea, ambalarea, controlul calității, fiind abordate mai multe particularități ce țin de caracterul încorporării principiilor active. Astfel, inițial a fost preparată emulsia primară de ulei volatil de busuioc cu polisorbit 20. La emulsia primară am adăugat porționat apă purificată (circa ½ din volumul ei) și excipienții (PEG 400 și nipagină), prealabil dizolvați într-o cantitate minimă de apă purificată din restul volumului. S-a amestecat minuțios și apoi am adăugat clorhidratul de ciprofloxacină, dizolvat într-o cantitate minimă de apă din restul volumului. Iarăși s-a amestecat minuțios și am omogenizat emulsia. S-a măsurat pH-ul și, la necesitate, am ajustat, cu ajutorul soluției tampon citrat cu pH=7,8 (*ad* 1 ml), până la pH-ul convenit 5,0-7,5. Emulsia obținută am transferat-o într-un pahar gradat de 50 ml și l-am completat până la cotă cu cealaltă parte a solventului.

Elaborarea metodelor de analiză pentru picăturile auriculare cu ciprofloxacina

FR X prevede controlul unor parametri specifici pentru picăturile otice. Am determinat pH-ul potențiomtric (valoarea obținută - 5,3): masa totală pe recipient am stabilit-o prin cântărirea individuală a conținutului din zece recipiente, abaterile de la masă constituind 2,1%, ceea ce corespunde normelor prevăzute. Clorhidratul de ciprofloxacina l-am identificat prin metoda spectrofotometrică în UV și prin efectuarea reacției la cloruri.

Dozarea clorhidratului de ciprofloxacina s-a efectuat la fel spectrofotometric, în raport cu ciprofloxacina standard cu puritate 99,99%. La elaborarea tehnicii de lucru, am ținut cont de studiul comportamentului spectral al substanței standard.

A fost preparată soluția etalon cu concentrația 4 $\mu\text{g/ml}$ în *HCL 0,1M*, soluția probă de formă farmaceutică și soluția placebo; am evaluat absorbanta la spectrofotometru în cuva cu grosimea 1 cm, la lungimea de undă 277 ± 2 nm (fig. 3.1). În calitate de soluție de referință a servit soluția 0,1M de HCl. Rezultatele dozării au fost evaluate statistic. Astfel, am validat metoda spectrofotometrică de dozare a clorhidratului de ciprofloxacina din picăturile auriculare [23].

Uleiul volatil de busuioc a fost dozat prin cromatografie de gaze, în baza conținutului de linalool, deoarece acest principiu activ se regăsește în cantități maxime [24].

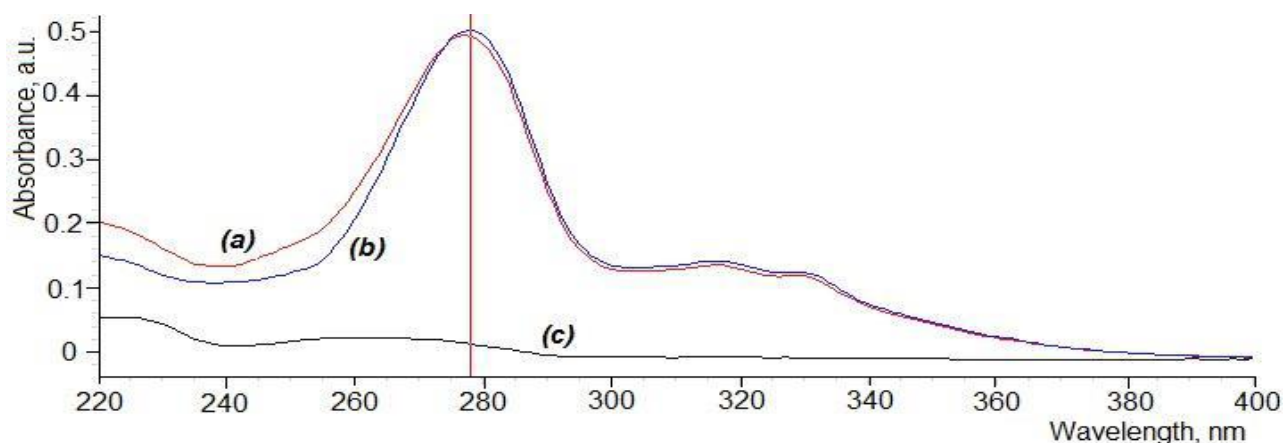


Fig. 3.1. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluției standard de clorhidrat de ciprofloxacina 4,0 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (a), soluție probă (b) și placebo (c)

În procesul elaborării picăturilor auriculare combinate CB-12, a fost argumentat teoretic raționamentul combinării, în aceeași formă farmaceutică, a remediei antibacterian cu un produs natural – uleiul volatil de busuioc. Am studiat compatibilitatea ciprofloxacinei cu uleiul de busuioc prin metode spectrale și cromatografice, care au demonstrat că substanțele sunt compatibile și pot fi asociate în aceeași formă farmaceutică. În procesul de preformulare am studiat excipienții în funcție de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase, fiind stabilită tehnologia de preparare pentru picăturile auriculare. Au fost elaborate metodele de analiză și de standardizare a principiilor active din picăturile auriculare. S-a validat metoda spectrofotometrică UV de dozare a clorhidratului de ciprofloxacina și am introdus-o în proiectul specificației de calitate (DAN).

3.2. Elaborarea produsului NH-01

În cadrul CȘM, am conceput tehnologia produsului farmaceutic „Neamon-hepa”, capsule, 834 mg N30 (NH-01), având ca principii active L-aspartat de L-arginină, spironolactona și produsul BioR, elaborat la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM, sub conducerea academicianului Valeriu Rudic, dr.hab.șt.med., profesor universitar.

Fluxul tehnologic de elaborare a NH-01 a inclus următoarele etape de bază: cercetarea materiei prime și a excipienților, uscarea componentelor cernute, cântărirea și măsurarea volumului componentelor, impregnarea lactozei cu sol. BioR, uscarea lactozei cu BioR și pulverizarea amestecului uscat, pregătirea mixurilor: I (spironolactonă: lactoză anhidră în raport 1:2), II (se amestecă mixul I cu lactoza impregnată cu BioR), III (se amestecă mixul II, amidon de porumb, celuloză microcristalină, stearat de magneziu), IV- final (se amestecă mixul III cu aspartat de L-arginină uscată), condiționarea în capsule, ambalarea capsulelor în ambalaj primar (flacoane), amplasarea ambalajului primar în unul secundar, ambalarea colectivă. Conținutul capsulei reprezintă o pulbere de culoare albă, cu nuanță gălbuie și miros caracteristic slab.

În cadrul cercetărilor de elaborare a metodelor de standardizare și a tehnologiei produsului farmaceutic NH-01, efectuate în Laboratorul analiza, standardizarea și controlul medicamentului al CȘM, a fost studiată aplicabilitatea unor metode farmaceutice și nefarmaceutice de analiză a substanțelor active. Pentru a standardiza produsul finit, s-a elaborat metoda spectrofotometrică a dozării spironolactonei pentru testul de dizolvare a produsului. A fost concepută metoda de identificare a preparatului BioR, în componența formei farmaceutice, după conținutul acidului glutamic, precum și metoda HPLC corespunzătoare. Pe baza rezultatelor obținute, am perfectat toată documentația tehnică de normare a produsului cercetat.

În procesul de elaborare a metodelor de analiză și standardizare, am ținut cont de structura și cerințele prezentate de ghidurile internaționale de perfectare a documentației analitice de normare a calității produselor medicamentoase [19]. Pentru a identifica spironolactona și aspartatul de arginină, a fost elaborată metoda de cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC). Aceeași metodă am utilizat și în cazul elaborării metodelor de dozare a acestor substanțe. Perioadele de retenție a picurilor cromatografice, din proba analizată la efectuarea testului „Dozarea spironolactonei”, trebuiau să corespundă timpilor de retenție a picurilor din soluția standard. Similar am procedat și în cazul aspartatului de arginină, în care timpii de retenție a picurilor cromatografice din proba analizată la efectuarea testului „Dozarea aspartatului de arginină” trebuie să corespundă timpilor de retenție a picurilor din soluția standard de arginină și acid aspartic. Metoda HPLC de dozare a principiilor active am realizat-o, utilizând faza staționară inversă „Phenyl”, ea fiind optimă, care

permite a doza preparatul prin calcularea unui singur pic cromatografic. În acest sens am verificat liniaritatea și repetabilitatea metodei propuse.

Am obținut și condiții de separare cromatografică optimă, utilizând în compoziția fazei mobile acetonitrilul (ACN), în loc de metanol, fapt care a influențat pozitiv forma picurilor și eficiența sistemului cromatografic. Această metodă poate fi utilizată pentru identificarea spironolactonei după timpul de retenție și pentru a determina concentrația în testul de dizolvare. Concomitent, am optimizat și metoda de spectrofotometrie în UV pentru a stabili concentrația spironolactonei în testul de dizolvare.

Metoda HPLC de dozare a aspartatului de L-arginina a început cu studiul preliminar al spectrului UV, care permite detecția lui directă în concentrații relativ mari. Pe faza staționară ACN (în regim cu faza normală) L-arginina se reține mai bine (fig. 3.2). Metodele elucidate le-am inclus în compartimentul *Dozare* al monografiei farmaceutice *Neamon-hepa*. Elaborarea produsului medicamentos combinat respectiv a fost posibilă inclusiv datorită cercetărilor regretatului profesor universitar Boris Parii.

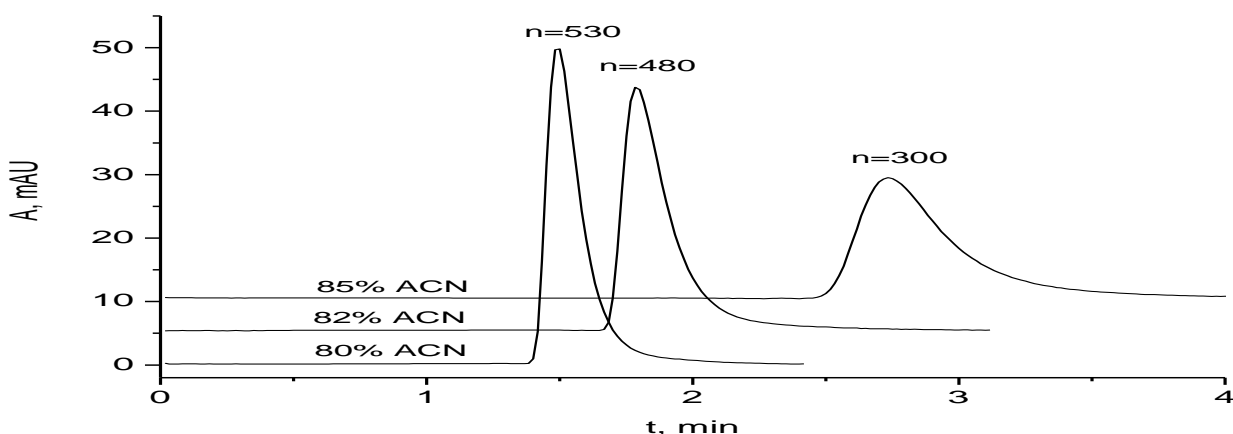


Fig. 3.2. Forma picului L-argininei și eficiența sistemului cromatografic în funcție de concentrația acetonitrilului în faza mobilă. Condiții cromatografice: coloana Extrasil CN, 3 μ m, 4 x 75 mm; faza mobilă: acetonitril – tampon fosfat (0,01M H_3PO_4 + 0,01M KH_2PO_4), debit 1,5 ml/min.; detecție în UV, 210 nm

În cadrul cercetărilor farmaceutice am studiat și am prezentat excipienții utilizați la formularea picăturilor auriculare CB-12, în funcție de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase selectate, ceea ce a servit ca bază pentru efectuarea studiilor de preformulare. Drept confirmare a cercetărilor la etapa de preformulare, am constatat formula optimă pentru picăturile auriculare combinate. Studiile farmaceutice demonstrează compatibilitatea fizică și cea chimică ale componentelor, stabilitatea acestora atât în procesul de formulare, cât și pe toată perioada de valabilitate a medicamentului și determină parametrii tehnologici de preparare a formei farmaceutice selectate a produselor CB-12, picături auriculare, și NH-01 capsule. Rezultatele cercetărilor farmaceutice au servit ca reper pentru inițierea investigațiilor farmacologice preclinice,

pe animale de laborator, de determinare a inofensivității și eficacității produselor medicamentoase combinate CB-12 și NH-01. Metodele de analiză și de standardizare, precum și cele de preformulare, formulare și optimizare a CB-12, elucidate în prezenta lucrare, pot fi utilizate la aprecierea calității, la elaborarea documentației analitice și ca bază metodologică pentru laboratoarele de cercetare-dezvoltare a producătorilor preocupați de ajustarea formulelor și tehnologiilor pentru medicamentele combinate.

4. CERCETAREA TOXICITĂȚII ȘI EFICACITĂȚII FARMACOLOGICE PRECLINICE ALE PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBinate OTOPROTECTOARE

4.1. Studii de determinare a inofensivității și eficacității medicamentoase ale produsului CB-12

Prin metoda dozelor fixe, am constatat **toxicitatea acută (TA)** a produsului CB-12, stabilind clasa de toxicitate, conform TG 423: *Acute Toxic Class Method (ATCM)*, recomandat de *Organizația Economică pentru Cooperare și Dezvoltare (OECD)*, și după metoda Kerber, prin determinarea dozei letale medii LD₅₀ (LD₅₀), care indică mortalitatea a ½ din animalele de laborator incluse în experiment (10, 11).

La 24 de femele, am administrat enteral preparatul studiat pentru loturile investigate (CB-12) și substanța de referință sol. 0,9 % NaCl la șase femele din lotul- martor. În același timp, la 24 de masculi, am inoculat intraperitoneal preparatul studiat la loturile cercetate și aceeași substanță de referință la șase din lotul-martor. Produsele testate le-am administrat într-o singură priză. Cantitatea de lichid administrată a fost calculată în funcție de masa individuală a animalelor de laborator, cântărite înainte de experiment (0,3 ml/g). Pentru a stabili TA, produsul CB-12 a fost administrat șoriceilor enteral, prin gavaj, în doze de 100, 600, 1000, 2000 mg/kg, și intraperitoneal, prin injectare, în doze de 75, 300, 600, 1250 mg/kg. Preparatul studiat l-am diluat în volume constante de soluție fiziologică de 0,9% (câte 3-5 ml pentru fiecare animal de laborator), în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maxim admisibil pentru administrare.

Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că LD₀ pentru administrarea enterală este de 300 mg/kg, iar pentru inocularea parenterală - 100 mg/kg. Procentajul maxim de letalitate LD₃₄ pentru administrarea enterală l-am stabilit la dozele 600, 1000 mg/kg. Astfel, matematic, am calculat posibila LD_{25%} = 441 mg/kg, dozele LD_{50%}, LD_{84%}, LD_{100%} nefiind stabilite. Procentajul maxim de letalitate LD₅₀ pentru administrarea parenterală a fost stabilit la doza 1000 mg/kg. Am calculat și probabilitatea LD₂₅ = 490 mg/kg, dozele LD₈₄, LD₁₀₀ nefiind stabilite. Din cauza imposibilității de a determina LD₁₀₀, nu am reușit să calculăm LD₅₀ după metoda Kerber.

Așadar, rezultatele studiului au relevat o toxicitate redusă a preparatului respectiv și, totodată, au servit ca premisă pentru continuarea investigațiilor farmacologice a produsului CB-12.

Determinarea inofensivității otoprotectoare a produsului CB-12

Concentrațiile farmaceutice cu corespunderea dozelor respective de 100 mg/kg și 1000 mg/kg a compușilor studiați au fost diluate în volume constante de soluție fiziologică de 0,9%, în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrare.

Studiul farmacologic a fost efectuat pe: 18 șobolani (masculi). Lotul 1 – martor (administrarea soluției 0,9% NaCl), lotul 2 – ototoxicitate medicamentoasă cu soluție de gentamicină, lotul 3 – soluție 0,9% NaCl + CB-12. Animalele au fost obținute din aceeași sursă și menținute în condițiile de viață ale laboratorului (cutii standarde de masă plastică) pentru aclimatizare. Condițiile de trai și cele de alimentare au corespuns cerințelor sanitare și normelor de alimentare. Pentru utilizarea apei au fost stabilite autoapeducte. Animalele au fost supravegheate timp de 30 de zile. În timpul observațiilor, am înregistrat comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanții fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. Vizual am determinat tabloul clinic al intoxicației. Animalele au fost cântărite la prima, a 14-a și a 30-a zile (înainte de eutanasiere).

În cadrul studiului preclinic pe animale de laborator (șobolani), am constatat că compusul CB-12 nu posedă efect ototoxic. Astfel, poate fi administrat local în conductul auditiv extern, pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și urechii medii, cu și fără perforația membranei timpanice.

Cercetări bacteriologice de determinare a eficacității produsului CB-12

Activitatea bacteriostatică (CMI) a produsului CB-12 variază în limitele diluțiilor 1:8 - > 1:512 și constituie față de *Acinetobacter* în diluție 1:8, față de *E.coli*, *Ps.aeruginosa*, *Kl.pneumoniae* și *Styphimurium* - în diluție < 1:128, față de *S.aureus* (t.209), *E.fecalis* și *Pr.vulgaris* - în diluție < 1: > 512 (p<0,001) (tabelul 4.1).

Activitatea bactericidă - (CMB) a produsului CB-12 variază în limitele diluțiilor 1:2 - < 1:512 și constituie: față de *Kl.pneumoniae* - în diluție de 1:2, față de *E. faecalis*, *S.Typhimurium* și *Acinetobacter* - în diluție de 1:4, față de *S.aureus* (t.209) - în diluție de 1 :32, față de *E.coli* și *Ps.aeruginosa* - în diluție < 1: 128, iar față de *Pr.vulgaris* - în diluție < 1:512.

Rezultatele testărilor denotă faptul că picăturile auriculare CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacina, comparativ cu unele tulpini bacteriene (*S.aureus* (t.209); *Ps.aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E.faecalis* (t.ATCC 19433, p<0,001. De aici putem deduce că uleiul volatil de busuioc potențează activitatea ciprofloxacinei în combinație, în special asupra unor tulpini de microorganisme, care prevalează în declanșarea otitelor.

Tabelul 4.1. Rezultatele cercetărilor microbiologice ale produsului CB-12

Substanța		Test-culturi bacteriene							
		<i>S.aureus</i> (t.209)		<i>E.faecalis</i> (t.ATCC 19433)		<i>E.coli</i> (t.ATCC 25922)		<i>Ps.aeruginosa</i> (t.ATCC 27853)	
		CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Produsul CB -12	diluție	>1:512	1:32	>1:512	1:4	>1:128	>1:128	>1:128	>1:128
	μg/ml cip)	5,8593*	93,75*	5,8593*	750	23,4375	23,4375	23,4375*	23,4375*
	μg/ml bus	7,81*	125,0*	7,81*	1000	31,25	31,25	31,25*	31,25*
Ciprofloxacina +ulei de busuioc - separate	diluție	>1:256	1:16	>1:256	1:4	>1:128	>1:128	>1:64	>1:64
	μg/ml cip)	11,7185*	187,5*	11,719*	750	23,4375	23,4375	46,875*	46,875*
	μg/ml bus	15,625*	250,0*	15,625*	1000	31,25	31,25	62,5*	62,5*
„Placebo excipienți ” dil.		1:1	1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1
CIP substanțe active curate (date bibliografice) μg/ml		0,06-2,0		0,25-2,0		0,01-0,16		0,03-4,0	
„Oleum basilicum”	%	0.062	0.25	0.125	0.25	0.031	0.031	>0.5	>0.5
	μg/ml	620,0	2500,0	1250,0	2500,0	310,0	310,0	5000,0	5000,0

CMI reprezintă concentrația minimă de inhibiție (μg/ml), CMB – concentrația minimă bactericidă (μg/ml).

* – diferența statistic semnificativă dintre CB-12 și forma farmaceutică separată ciprofloxacina și uleiul volatil de busuioc, $p < 0,001$.

Farmacoterapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii auriculare inflamatorii acute și cronice sunt în corelație cu valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor lor cu efecte antimicrobiene. Numărul surselor vegetale cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Pentru soluționarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea medicamentelor combinate, obținute din preparate cu eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrate, cu efecte polivalente. Astfel, este salutar uleiul de busuioc în produsul CB-12, prin majorarea efectului de potențare antimicrobian.

4.2. Evaluarea inofensivității produsului NH-01

Pentru a stabili TA, am administrat produsul CB-12 șoricilor enteral, prin gavaj, în doze de 100, 600, 1000, 2000 mg/kg și intraperitoneal, prin injecție, în doze de 75, 300, 600, 1250 mg/kg.

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile, nu am constatat modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea NH-01 în doze de 300, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducerea reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul a primelor 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg/kg). La animalele din lotul, cărora le-am administrat NH-01, am constatat inapetență și diaree pe parcursul primelor 48-72 de ore. La o femelă, căreia i-am inoculat NH-01 în doză de 2000 mg/kg, am constatat diaree, diminuarea activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (gasping) și decesul acesteia în decurs de 48 de ore (la a 2-a zi).

În perioada primelor trei zile după administrarea preparatelor studiate la animale, ocazional, la dozele de 300 și 2000 mg/kg, am constatat: somnolență, adinamie, inapetență, diaree, simptome care au revenit la normalitate în una-două zile. Pornind de la rezultatele obținute pe șobolani, am estimat LD₅₀. De asemenea, nu am constatat deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din lotul de cercetare și cel martor. La necropsie, nu am stabilit modificări patologice vizibile în lotul experimental și cel martor.

Produsele NH-01, capsule (care conține BioR - extract din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*; aspartat de arginină și spironolactonă) și CAF-01 (care reprezintă o combinație dintr-un principiu activ de sinteză – *glicina* și unul vegetal – *dihidroquercitina*) posedă un potențial efect oto-protector și pot fi utilizate în „schemele” farmacoterapeutice ale SSN. De perspectivă sunt studiile de determinare a eficacității produselor NH-01, CAF-01 în tratamentul complex al bolnavilor cu afecțiuni cronice asociate cu SSN. O direcție importantă pentru tratamentul SSN constituie elaborarea și utilizarea în practica medicală a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin atât substanțe de sinteză, cât și naturiste.

4.3. Studii preclinice de determinare a inofensivității compusului medicamentos

CAF-01

Anterior, în cadrul determinării toxicității acute, administrarea produsului CAF-01 în doze de 300, 1000, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea inițială pe parcursul primelor patru ore (300 mg/kg) și 24 de ore (pentru 1000, 2000 mg). LD₅₀, conform metodei TG 423: *Acute Toxic Class Method*, am estimat-o la ≥ 5000 mg/kg inofensivă, clasa de toxicitate 5.

Influența preparatului asupra supraviețuirii și masei corporale. Pe parcursul studiului **toxicității subcronice**, nu am constatat decese, modificări în comportamentul și activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor și cel experimental. Șobolanii erau în mișcare activă,

întrebuințau hrană și apă. Starea mucoaselor și învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie, dinții păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpare, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

Așadar, în timpul desfășurării experimentului, nu am constatat decese ale animalelor de laborator, ceea ce indică cumularea redusă a preparatului cercetat și tendința de dezvoltare a dependenței în dozele cercetate. Dinamica masei corporale la șobolanii din lotul-martor și cei cărora le-am administrat CAF-01 nu au prezentat deosebiri statistic semnificative.

Analiza datelor obținute evidențiază faptul că masa animalelor a crescut neînsemnat, uniform, pe toată perioada studiului, atât în lotul-martor, cât și în lotul în care am administrat doza de 100 mg/kg. La cei cărora am administrat doza de 1000 mg/kg, nu am constatat creșterea masei corporale. De asemenea nu am remarcat nicio diferențiere ce ține de nivelul de dozare. Însă nu în toate loturile creșterea ponderală era veridică față de masa inițială.

După decapitarea și prepararea organelor, le-am cântărit și am stabilit următoarele rezultate: la animalele din lotul în care am administrat CAF-01 100 mg/kg, în comparație cu cele din lotul-martor, după 30 de zile am constatat o micșorare a masei rinichilor și a splinei ($p < 0,01$). În lotul CAF-01 1000 mg/kg, în comparație cu lotul-martor, după 30 de zile am remarcat o micșorare a masei rinichilor, splinei ($p < 0,01$) și cordului ($p < 0,05$).

Referitor la indicele raportului masa ficatului/masa corpului, putem constata o tendință de creștere a indicelui respectiv în loturile experimentale, îndeosebi în cele cu doza de 1000 mg/kg și mai puțin în cele cu doza de 100 mg/kg, dar aceste devieri s-au dovedit a fi nerelevante statistic. Deci, după administrarea produsului medicamentos, am stabilit o majorare minimă a masei ficatului.

Rezultatele investigațiilor hematologice

Rezultatele investigațiilor hematologice au demonstrat că administrarea produsului medicamentos testat nu modifică indicii eritrocitari. Nivelul eritrocitelor, hemoglobinei, hematocritului nu s-a modificat. Analiza rezultatelor obținute demonstrează că, la administrarea CAF-01 1000 mg/kg și 100 mg/kg, numărul leucocitelor scade autentic față de valorile lotului-martor (tabelul 4.2). În loturile supuse acțiunii CAF-01, în ambele doze am înregistrat o limfopenie evidentă, manifestată prin micșorarea veridică a numărului absolut de limfocite. Cercetările efectuate indică o scădere veridică a nivelului neutrofilelor segmentate și o creștere relativă a nivelului limfocitelor la administrarea produsului CAF-01 la 1000 mg/kg, respectiv, $57,5 \pm 1,78\%$, față de valorile lotului-martor $47,3 \pm 1,75\%$ ($p < 0,01$).

În concluzie, după o lună de administrare, substanța cercetată poate provoca leucopenie și limfopenie dozo-dependentă (mai evident la doza de 1000 mg/kg), cu o scădere neesențială a nivelului neutrofilelor segmentate și o creștere relativă a nivelului limfocitelor, în comparație cu valorile din lotul-martor.

Tabelul 4.2. Influența CAF-01 asupra indicilor sângelui periferic

Lotul de studiu	Eritrocite, *10 ¹²	Hemoglobină, g/L	Hematocrit, l/L	Leucocite, *10 ⁹	Limfocite *10 ⁹
Lotul-martor	8,18±0,36 (100%)	171,6±10,68 (100%)	0,47±0,02 (100%)	9,25±0,19 (100%)	4,60±0,12 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	8,28±0,52 (101%)	176,5±10,87 (103%)	0,49±0,03 (104%)	6,73±0,41*** (73%)	3,61±0,25 ** (78%)
CAF-01 100 mg/kg	8,28±0,16 (101,2%)	164,3±3,41 (96%)	0,49±0,01 (103%)	5,70±0,27*** (62%)	3,81±0,16 ** (83%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Rezultatele investigațiilor biochimice

În tabelele 4.3 și 4.4 sunt prezentate datele despre influența CAF-01 asupra indicilor biochimici de bază ai sângelui șobolanilor albi la studierea toxicității subacute. În loturile experimentale și cele de referință am determinat numeroși parametri, ce caracterizează metabolismul glucidic, proteic și lipidic, funcțiile ficatului, precum și indicii de bază ai stresului oxidativ și ai sistemului de protecție antioxidantă. La administrarea CAF-01, modificări relevante ale indicilor proteinei totale la animalele din loturile de studiu, în raport cu cele din lotul-martor, nu am înregistrat. În același timp, se constată o majorare statistic semnificativă a nivelului ureei, albuminei și creatininei ($p < 0,05$) la ambele doze cercetate. Rezultatele respective sunt caracteristice pentru modificările metabolismului azotic al preparatului studiat în doze toxice.

Prin studierea activității transaminazelor AlAT, AsAT și a fosfatazei alcaline (FA), am evaluat influența preparatului CAF-01 asupra stării funcționale a ficatului. Din datele prezentate reiese că produsul cercetat în dozele de 100 mg/kg și 1000 mg/kg determină o scădere statistic semnificativă dozo-dependentă a activității AsAT ($p < 0,05$ pentru doza de 100 mg/kg și $p < 0,01$ la 1000 mg/kg), iar activitatea AlAT și FA nu se modifică. Deci, preparatul CAF-01 nu manifestă efecte hepatotoxice. Fiind administrat în dozele de 100 mg/kg și 1000 mg/kg timp de 30 de zile, CAF-01 nu provoacă modificări cu semnificație statistică ale nivelului glicemiei, colesterolului total și trigliceridelor serice. Produsul cercetat nu modifică esențial concentrația de calciu și fosfor. Menționăm faptul că valorile medii ale acestui indice nu depășesc limita de sus a normei de referință pentru calciu, care oscilează între 2,25 și 2,75 mmol/l. Astfel, administrarea în dozele cercetate timp de 30 de zile nu provoacă tulburări ale metabolismelor proteic, glucidic, lipidic și mineral, nici dereglări în funcțiile ficatului.

Datele obținute relevă faptul că administrarea produsului CAF-01 șobolanilor timp de 30 zile nu influențează principalii indici ai stresului oxidativ – AGEs, PPOA și AIM, cu excepția PPOA care crește la administrarea dozei de 100 mg/kg. Rezultatele investigațiilor demonstrează că CAF-01 nu modifică AAT-ABTS, dar scade veridic AAT-CUPRAC (771,8±20,51 - lotul-martor, CAF-01 100 mg/kg - 396,4±50,51 și 418,5±46,30 nM/L - CAF-01 1000 mg/kg, $p < 0,001$). Concomitent, se înregistrează creșterea statistic veridică a nivelului SH-grupe în proteinele și albuminele serice, mai pronunțată la administrarea CAF-01 în doza de 100 mg/kg, fapt ce potențează sistemul antioxidant prin reducerea deficitului de AO hidrosolubili (tabelul 4.4). Astfel, administrarea CAF-01 în dozele cercetate timp de 30 de zile nu manifestă acțiune toxică asupra metabolismelor proteic, lipidic și mineral, nu dereglează funcțiile ficatului la șobolanii albi. CAF-01 influențează pozitiv echilibrul dintre sistemele pro- și antioxidante. În același timp, este cunoscută importanța disfuncțiilor ce au loc în sistemele respective pentru etiologia SSN.

Tabelul 4.3. Influența emulsiei CAF-01 asupra principalilor indici ai stresului oxidativ

Loturile de studiu	AGEs, $\mu\text{g/ml}$	PPOA, $\mu\text{M/L}$	AIM, mM/L
Martor	1435,8±23,76 (100%)	21,2±1,60 (100%)	0,54±0,01 (100%)
CAF-01, 1000 mg/kg	1490,2±93,43 (104%)	24,2±1,70 (114%)	0,54±0,01 (100%)
CAF-01, 100 mg/kg	1447,4±34,53 (101%)	29,9±3,41** (141%)	0,53±0,01 (98%)

** – $p < 0,01$.

Tabelul 4.4. Influența emulsiei CAF-01 asupra principalilor indici ai sistemului antioxidant și asupra nivelului SH-grupe în proteinele și în albuminele serice

Loturile de studiu	AAT-ABTS, mM/L	AAT-CUPRAC, nM/L	SH-grupe în prot., $\mu\text{M/g.prot.}$	SH-grupe în albumine, $\mu\text{M/g.album.}$
Lotul martor	3,58±0,07 (100%)	771,8±20,51 (100%)	7,59±0,56 (100%)	3,67±0,28 (100%)
CAF-01, 1000 mg/kg	3,63±0,07 (101%)	418,5±46,30* **(54%)	8,37±0,70 (110%)	4,59±0,39 (125%)
CAF-01, 100 mg/kg	3,65±0,08 (102%)	396,4±50,51* ** (51%)	9,67±0,73* (127%)	5,33±0,48** (145%)

* – diferența statistic semnificativă față de lotul-martor, $p < 0,05$;

** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Rezultatele cercetării patomorfologice

Rezultatele cercetării histologice produsul CAF-01

În cadrul studiului obiectele pentru examenul morfologic au fost fixate în formalină de 10% și în parafină, iar secțiunile organelor interne le-am colorat cu hematoxilină-eozină, după *Van Gison*.

La examinarea preparatelor histologice a organelor studiate ale animalelor din lotul-martor și celor tratate cu produsele testate în doze de 100 mg/kg și 1000 mg/kg, nu am remarcat diferențe esențiale (figura 4.1).

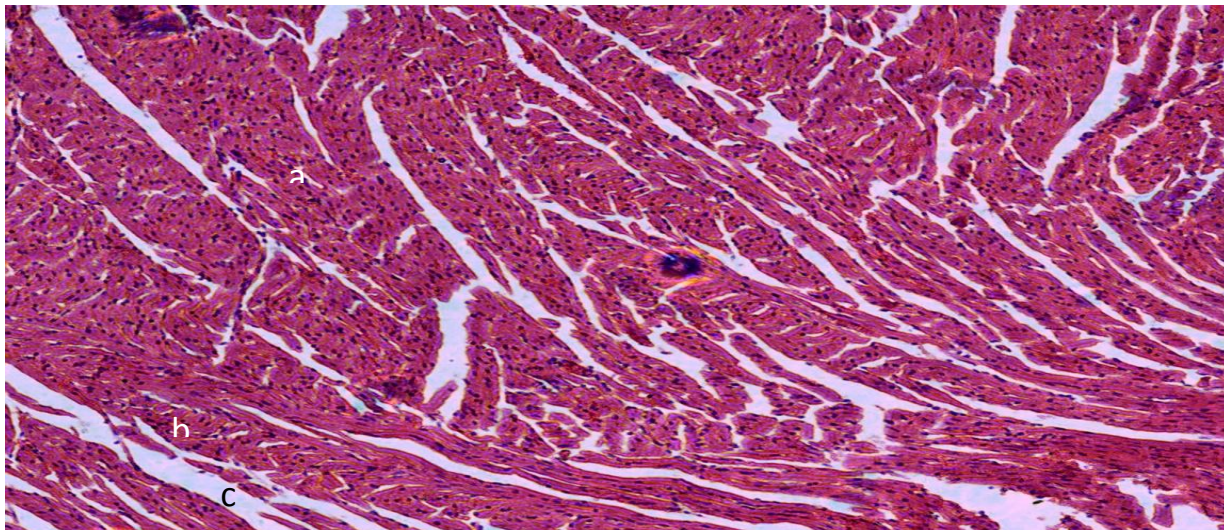


Fig. 4.1. Șobolani CAF01-100 mg. Cordul cu: a) nucleele cardiomiocitelor sunt conturate, hiperchrome; b) striațiile cardiomiocitelor sunt păstrate; c) edem interfibrilar. H-E x 90

Modificări patomorfologice vizibile ale organelor interne nu am constatat. La examinarea cavității toracice și a celei abdominale, nu am depistat exsudat. De asemenea nu am observat nici modificări în amplasarea organelor interne. Rezultatele studiului efectuat au demonstrat că CAF-01 este, practic, netoxică și nu posedă proprietăți cumulative. Administrarea îndelungată a produsului medicamentos elaboret stopază dezvoltarea proceselor toxice în organismul animalelor.

4.4. Determinarea toxicității produsului medicamentos MI

Procentajul maxim de letalitate LD 17% pentru administrarea enterală a fost stabilit la dozele 1000 și 2000 mg/kg. Astfel, am calculat posibilul $LD_{25} = 1471$ mg/kg, dozele LD_{50} , LD_{84} , LD_{100} nefiind stabilite pe parcursul experimentului. LD 50% a fost estimată după metoda TG 423 la doza 2500 mg/kg. Procentajul maxim de letalitate LD_{100} pentru administrarea parenterală l-am stabilit la doza 1000 mg/kg. După metoda Kerber, LD_{50} am constatat la doza de 525 mg/kg. Astfel, am calculat posibila $LD_{25} = 263$ mg/kg și LD_{84} la doza de 840 mg/kg.

Rezultatele studiului denotă toxicitate acută redusă atât la administrarea enterală, cât și la cea parenterală. Aceasta poate servi ca premisă pentru continuarea cercetărilor preclinice de determinare a toxicității cronice și eficacității cu planificarea ulterioară a studiilor clinice pentru produsul MI. Drept rezultat al cercetărilor farmaceutice, am elaborat un nou produs combinat cu acțiune polivalentă. Pentru prima dată am recomandat, sub formă de suspensie, combinația dintre vitamine, microelemente și nanoparticule de Zn.

Rezultatele investigațiilor hematologice au demonstrat că administrarea produsului medicamentos testat nu modifică indicii eritrocitari. Nivelul eritrocitelor, hemoglobinei, hematocritului nu s-a modificat. Analiza rezultatelor obținute demonstrează că, la administrarea MI (Meriom suspensie) 1000 mg/kg și 100 mg/kg, numărul leucocitelor scade față de valorile lotului-martor, dar datele nu sunt statistic semnificative. Se constată o trombocitopenie la administrarea MI 1000 mg/kg cu 22 % inferior față de lotul martor ($p < 0,05$). În loturile MI 100 și MI 1000 se constată o tendință de micșorare a indicilor RDW-SD, RDW-CV, PDW și MPV, comparativ cu lotul-martor, fapt ce indică acțiunea nefavorabilă a produsului în doze majorate asupra volumului și repartizării eritrocitelor și devierii lor standarde. Produsul studiat nu manifestă unele efecte nefavorabile asupra formulei trombocitare.

După o lună de administrare, produsul cercetat în dozele 100 și 1000 mg/kg nu a provocat decesul și modificări în comportamentul și masa corporală a animalelor de laborator. Rezultatele cercetărilor hematologice indică faptul că MI poate provoca limfopenie și trombocitopenie dozo-dependență (mai evident la doza de 1000 mg/kg), cu o scădere neesențială a nivelului neutrofilelor nesegmentate și o creștere relativă a nivelului limfocitelor, în comparație cu valorile din lotul-martor.

Cercetările biochimice au demonstrat că MI nu provoacă acțiune toxică semnificativă asupra metabolismelor proteic, lipidic și mineral, nu dereglează funcțiile ficatului la șobolanii albi. Substanțele medicamentoase testate influențează pozitiv echilibrul dintre sistemele pro- și antioxidante. În același timp, este cunoscută importanța disfuncțiilor ce au loc în sistemele respective pentru etiologia SSN. Rezultatele toxicității acute și celei subcronice ale produsului MI ne permit să-l recomandăm la continuarea studiilor preclinice farmacologice de determinare a eficacității și inofensivității, precum și la planificarea ulterioară a studiilor clinice.

4.5. Studii preclinice de determinare a eficacității otoprotectoare a produselor medicamentoase combinate în SSN

Un rol important în prevenirea consecințelor SSN le revine metodelor profilactice, în special farmacoterapiei otoprotectoare. În acest scop, până la efectuarea studiilor clinice, sunt necesare cercetările preclinice, cu implicarea animalelor de laborator.

Numeroase surse indică modelarea SSN la animalele de laborator, controlul reflexelor fiziologice la stimulii sonori și audiometria computerizată (OEA, PEA) în scopul studierii funcției analizatorului auditiv în diferite stări patologice.

În literatura de specialitate sunt prezentate mai multe metode de inducere a SSN medicamentoase la animalele de laborator (antibacteriene ototoxice – neomicina, kanamicina, gentamicina, streptomycină; antineoplazice – cisplastina etc.). Produsele respective pot fi administrate intravenos, intramuscular și intraperitoneal în bula otică [12].

Studiile preclinice pe animale de laborator au fost efectuate în Laboratorul de evaluare preclinică și clinică al CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu”. Anterior am demonstrat eficacitatea produsului CAF-01 în SSN indusă prin gentamicină la șobolani. Rezultatele obținute am reușit să le confirmăm prin îmbunătățirea indicilor OEA și a reflexului Preyer, după ce animalelor le-am administrat CAF-01. În acest context, scopul studiilor preclinice s-a referit la stabilirea efectelor farmacologice otoprotectoare pentru produsele CAF-01, MI și NH-01.

Cercetarea a fost efectuată pe 32 de șobolani albi, masculi repartizați în patru loturi a câte opt indivizi: 1 – lotul-martor (animale sănătoase); lotul 2 - cu SSN indusă (li s-a inoculat sol. 0,9% NaCl, i/g, 3 ml, 14 zile); lotul 3 - cu SSN indusă și CAF-01+MI, 3 ml, 14 zile: șapte zile până la ototoxicitate și șapte după; lotul 4 - cu SSN indusă și NH-01, 3 ml, 14 zile: șapte zile până la ototoxicitate și șapte după. Sedație – sol. Diazepam, 2 mg/kg, i/p, i/m.

Modelarea experimentală. Injectând gentamicină, 40 mg/ml, câte 1 ml i/m în două-trei prize, am reușit să modelăm ototoxicitatea. Până a începe experimentul, am evaluat auzul animalelor de laborator, după ototoxicitate/sau tratament: otoscopie – AD, AS (figurile 4.4 și 4.5); determinarea reflexului Preyer la zgomot de 80 dB; stabilirea otoemisiunilor acustice tip TOEA (figura 4.6). Morfologic, am demonstrat provocarea SSN prin administrarea sol. gentamicină. La animalele, cărora nu li s-a injectat gentamicină, am constatat structurile anatomice ale urechii interne și organului Corti neafectate, iar la cele care s-a administrat gentamicină, morfologic, am stabilit SSN: organul Corti, stria vasculară prezintă elemente de apoptoză și necroză (figurile 4.2 și 4.3).

Rezultatele morfologice în lotul cu ototoxicitate

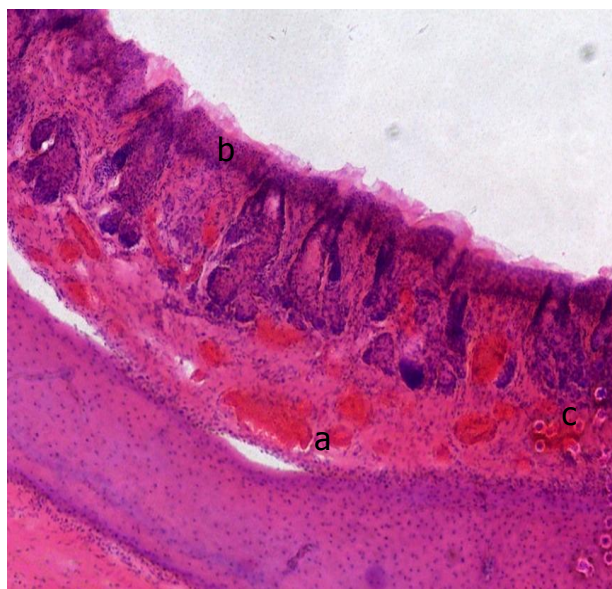


Fig. 4.2. Stria vasculară: a) vase congestionate; b)diminuarea conturului celular; c) modificări de apoptoză. H-E×90

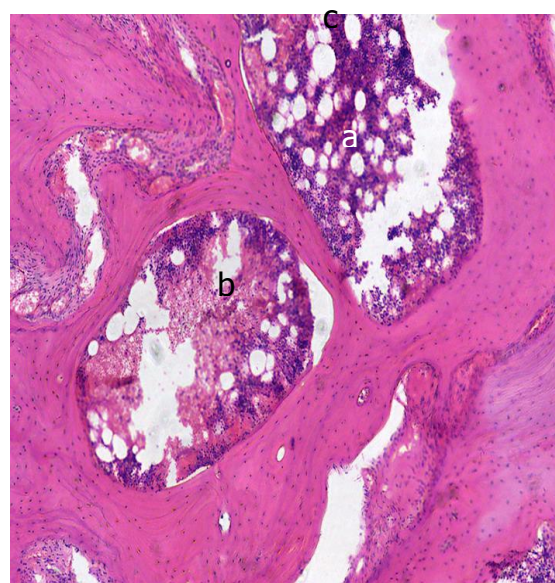


Fig. 4.3. Secțiune transversală a canalelor melcului: a) endolimfă cu elemente celulare repartizate difuz, haotic; b) plasmă neomogenă; c) vezicule hidropice. H-E×90



Fig. 4.4. Procesul de efectuare a otoscopiei la șobolan



Fig. 4.5. Otoscopie. Conductul auditiv extern și membrana timpanică la șobolan

La animalele de laborator din toate loturile experimentale, la efectuarea otoscopiei nu am constatat modificări patologice ale CAE (fig. 4.2) și ale membranei timpanice. Acest lucru denotă funcția normală a urechii externe, precum și a celei medii, la animalele incluse în experiment. Întrucât OEA depinde de starea urechii medii, am efectuat și impedansmetria (timpanometria). În toate cazurile am obținut timpanograma tip A, ce denotă funcția normală a urechii externe și a celei medii.



Fig. 4.6. Procesul de înregistrare a OEA cu aparatul Neurosoft la șobolan în stare de somn medicamentos

Anterior, pe un lot de șase animale cu surditate indusă, am demonstrat eficacitatea otoprotectoare a CAF-01. Reflexul Preyer reprezintă tresărirea (ciulirea urechilor, insensibilitatea) organismului animalelor de laborator – a șobolanilor, sub influența stimulilor sonori puternici. Prin

urmare, la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt, fapt ce denotă un auz normal. La animalele din lotul cu surditate indusă, am atestat un procentaj minim (până la 33%), ceea ce înseamnă că, la majoritatea animalelor, cărora le-am administrat gentamicină, s-a instalat o deficiență auditivă. La majoritatea animalelor, cărora le-am inoculat CAF-01, rezultatele pozitive au constituit circa 75%, fapt ce poate fi atribuit efectului farmacologic benefic al produsului studiat (tabelul 4.5).

Tabelul 4.5. Reflexul Preyer: răspunsurile pozitive (numărul de animale/%)

Frecvența	Lotul de control	Lotul cu surditate indusă	Lotul cu surditate+ CAF-01
500 Hz	4/67	3/50	3/50
1000 Hz	5/83	4/67	5/83
2000 Hz	5/83	2/33	3/50
3000 Hz	5/83	2/33	4/67
4000 Hz	5/83	2/33	4/67

Rezultatele „audiometriei reflectorii” le-am confirmat prin audiometria obiectivă (înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii). Așadar, constatăm o deosebire statistic semnificativă între pragul de înregistrare a otoemisiunilor acustice (OEAT) și raportul semnal/zgomotul de fon la animalele din lotul-martor și la cele cărora le-am administrat doar gentamicină (tabelul 4.6). La animalele din lotul-martor, OEAT am înregistrat la valori superioare de 5 *decibelli*, *Sound Pressure Level* (dB SPL), cu un raport semnal/zgomot pozitiv. La animalele din lotul cu surditate indusă, nu am înregistrat valori $\geq 1,55$ dB SPL (2000-3500Hz), iar, la frecvența de 3500 Hz, am atestat o valoare medie negativă - 0,46,17 \pm 1,03 dB SPL, ceea ce confirmă faptul că la majoritatea animalelor, cărora le-a fost injectată gentamicină, s-a instalat o deficiență auditivă.

Tabelul 4.6. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice

Frecvența	Lotul-martor	Surditate indusă	p
	OEAT, M \pm m	OEAT, M \pm m	
1500 Hz	5,07 \pm 0,31	1,55 \pm 0,67	< 0,001
2000 Hz	8,05 \pm 0,41	1,36 \pm 0,90	< 0,001
2500 Hz	7,75 \pm 0,46	1,15 \pm 0,81	< 0,001
3000 Hz	8,28 \pm 0,47	0,78 \pm 0,96	< 0,001
3500 Hz	10,05 \pm 0,56	-0,46 \pm 1,03	< 0,001
4000 Hz	12,24 \pm 0,73	1,42 \pm 1,12	< 0,001

La animalele, cărora le-am inoculat NH-01 și CAF-01+MI, am constatat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor (nu se determină o deviere statistic semnificativă nici la o frecvență studiată), fapt ce confirmă obiectiv efectul otoprotector al produsului studiat. Deci, se determină deosebiri statistic semnificative la frecvențele de 3500 și 4000 Hz între lotul-martor și cel cu surditatea indusă (tabelul 4.6), între lotul-martor și lotul cu surditate indusă+NH-01 și CAF-01+MI și între lotul cu surditate indusă+NH-01 și lotul 2 doar cu surditatea indusă (tabelul 4.7). În același timp, între lotul-martor și loturile, cărora li s-a administrat CAF-01+MI și NH-01, practic nu am constatat o deosebire statistic semnificativă, fapt ce denotă despre efectele otoprotectoare marcante

ale produselor cercetate. Comparând loturile cu NH-01 și CAF-01+MI, putem concluziona despre efectul otoprotector mai ridicat la CAF-01+MI la frecvența de 3500 Hz (tabelul 4.8). Odată ce rezultatele la 1500-3000 Hz diferă puțin între toate grupurile de studiu, considerăm că SSN a fost generată în special la frecvențele cuprinse în spectrul 3500-4000 Hz și mai mult. Șobolanii percep sunetele de la 500 până la 70 000 Hz, labirintul osos având trei spire, și nu 2,5 ca la om. În același timp, unul dintre pereții labirintului membranos concrește cu labirintul osos, iar altul se unește prin membrana bazilară de modioul urechii interne. Referitor la diapazonul auditiv maxim, datele diferă. Conform unora, auzul optim ar fi de circa 1000 Hz sau de 3000-4000 Hz, alți autori consideră 6000-10000 Hz [10, 17]. În concluzie, luând în considerare rezultatele cercetărilor noastre, constatăm o sensibilitate sporită a organului auditiv la șobolanii cu frecvențele medii și acute (≥ 3500 Hz).

Tabelul 4.7. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice

Frecvența	Surditate indusă	Surditate indusă+CAF-01 și MI	p
	OEAT, M±m	OEAT, M±m	
1500 Hz	1,55±0,67	4,08±0,24	< 0,001
2000 Hz	1,36±0,90	6,85±0,29	< 0,001
2500 Hz	1,15±0,81	7,11±0,31	< 0,001
3000 Hz	0,78±0,96	6,87±1,48	< 0,001
3500 Hz	-0,46±1,03	9,38±0,42	< 0,001

Așadar, la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt (ceea ce denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, nu am înregistrat valori pozitive (> 0 dB SPL, raport semnat/zgomot > 3 dB SPL), ceea ce confirmă faptul că la majoritatea animalelor, cărora le-am inoculat gentamicină, s-a instalat o deficiență auditivă. La animalele din lotul, cărora li s-a administrat CAF-01+MI și NH-01, am constatat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor, fapt ce confirmă obiectiv efectul otoprotector al produsului studiat (tabelele 4.6 și 4.7). Diminuarea modificărilor degenerative ale CC (lipsa proceselor de cariopicnoză la CCE, nuclee vizibil intacte la CCI) din spiralele 1 și 2 ale OC pe fundalul funcției păstrate a verigii de percepție a OC, conform rezultatelor OEAT, denotă efectele benefice ale produselor NH-01 și CAF-01 la surditatea indusă prin gentamicină. Produsele CAF-01, MI, NH-01 reprezintă combinații medicamentoase fixe, cu principii active naturiste și de sinteză, bogate în vitamine, în minerale și oligoelemente, cu acțiune antioxidantă și alte efecte polivalente și constituie o sursă echilibrată de compuși necesari pentru metabolismul uman în caz de carențe, afecțiuni cronice, supraefort fizic și intelectual [28]. Produsele respective inhibă hiperactivarea POL și majorează activitatea antioxidantă prin restabilirea glutatationului, activității enzimelor antioxidante (catalaza, glutatationperoxidaza și superoxidismutaza). În opinia noastră, prin mecanismele respective, precum și prin eliminarea spasmului arteriolelor și capilarelor striei vasculare din labirintul membranos, se conturează distinct acțiunea benefică otoprotectoare asupra componentelor senzorie neurale ale AA (organul Corti, nervul auditiv).

Tabelul 4.8. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice

Frecvența	Surditate indusă+CAF-01 și MI	Surditate indusă+NH-01	P
	OEAT, M±m	OEAT, M±m	
1500 Hz	4,08±0,24	3,12±0,21	> 0,05
2000 Hz	6,85±0,29	4,73±0,32	> 0,05
2500 Hz	7,11±0,31	6,12±0,81	> 0,05
3000 Hz	6,87±1,48	5,66±1,67	> 0,05
3500 Hz	9,38±0,42	7,11±0,48	< 0,05
4000 Hz	10,11±0,55	9,11±0,51	> 0,05

Capitolul 4 este consacrat studiilor preclinice farmacologice pe animale de laborator - inofensivității (toxicității acute și subcronice), proprietăților otoprotectoare ale produselor medicamentoase combinate. Rezultatele obținute ne-au permis să constatăm toxicitatea redusă, conform metodei ATCM - $LD_{50} \geq 2000$ mg/kg pentru CAF-01, NH-01, CB-12 și $LD_{50} = 525$ mg/kg pentru MI. În cadrul toxicității subcronice, prin stabilirea parametrilor fiziologici și biochimici, am demonstrat lipsa efectelor adverse la administrarea enterală a preparatelor cercetate timp de 30 de zile (CAF-01, NH-01). Datorită cercetărilor preclinice, am reușit să elaborăm un algoritm de modelare și monitorizare audiologică preclinică a eficacității farmacologice.

În experimentul de modelare a SSN, inițial, am elaborat un protocol original de determinare a funcției urechii la animalele de laborator, care constă în inducerea farmacologică a SSN și efectuarea audiologiei experimentale care a constituit în: otoscopie, stabilirea reflexului Preyer și înregistrarea în stare de somn medicamentos a otoemisiunilor acustice tip TEOEA. Astfel, am stabilit o direcție importantă pentru tratamentul afecțiunilor auriculare ce constă în elaborarea și utilizarea în medicație a preparatelor medicamentoase multicomponente, care conțin substanțe de sinteză și naturiste. Așadar, pentru farmacoterapia afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și medii, științific am elucidat importanța inoculării produselor combinate: CB-12 picături auriculare, iar, în tratamentul maladiilor senzorieurale ale urechii interne și nervului auditiv, CAF-01, NH-01, MI.

5. ASPECTE CLINICE DE OPTIMIZARE A DIAGNOSTICULUI ȘI DE RECUPERARE AUDITIVĂ A SURDITĂȚII DE PERCEPȚIE

5.1. Rezultatele diagnosticului genetic al mutației genei GJB2 în SSN

Studiul molecular-genetic pentru depistarea mutației 35delG (rs80338939) a genei GJB2 l-am realizat în Laboratorul de genetică al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Prezenta cercetare am desfășurat-o pe următoarele loturi de studiu:

1. *Lotul de studiu* a fost reprezentat de 20 pacienți din Republica Moldova, diagnosticați cu SSN bilaterală, forma severă profundă, instalată prelingual, care au fost selectați pe baza anamnezei și examinării clinico-audiologice;

2. *Lotul de referință* a fost constituit din 100 de participanți sănătoși, fără deficiențe de auz la examinarea statusului ORL, selectați în baza de date a proiectului instituțional „Studiul polimorfismului molecular genetic al factorilor de risc metabolic la populația tânără din Republica Moldova”, aprobat prin Hotărârea Consiliului Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al AȘM, din 20.12.2010 (cifru 11.817.09.21A) și Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”.

Metode de biologie moleculară. Studiul molecular-genetic l-am realizat conform unei metodologii de genotipare, bazată pe soluția tehnică TaqMan, elaborată în Laboratorul de genetică, USMF „N.Testemițanu”, în cadrul proiectului bilateral moldo-român „Optimizarea tratamentului cu implant Cochlear la copiii cu hipoacuzie senzorieurală autosomal recesivă nonsindromică, cu mutații la nivelul genei GJB2” (cifru proiectului 16.80013.8007.13/Ro).

Genotiparea polimorfismelor de un singur nucleotid. Prin tehnica TaqMan PCR, am evidențiat polimorfismul mononucleotidic. În acest scop, am utilizat setul *Custom TaqMan SNP Genotyping Assay, Human* (4351379, ThermoFisher Scientific, <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4351379>), cu următoarea prezentare tehnică de sonde oligonucleotidice cu fluorescență: FAM - pentru a identifica Wild Type Allele (wt) și, respectiv, VIC - pentru a identifica forma alelică cu deleția 35delG (rs80338939).

Pe lotul din 20 de pacienți, preselectați după criteriile stabilite pentru genotipare, repartizarea pe sexe a fost următoarea: șase pacienți de sex feminin, ceea ce reprezintă 30% și 14 pacienți de sex masculin - 70%.

Repartiția pe grupe de vârstă a pacienților investigați molecular-genetic a fost următoarea: sublotul de adulți s-a caracterizat prin subiecți cu vârsta cuprinsă între 21 și 30 de ani (vârsta medie - 25 de ani), a inclus patru subiecți de sex feminin (50%) și patru de sex masculin (50%). Sublotul de copii a inclus 12 subiecți cu vârsta cuprinsă între 1 și 10 ani, vârsta medie - patru ani, doi indivizi de sex feminin (16%) și zece de sex masculin (84%).

Tabelul 5.1. Repartiția genotipurilor determinate la pacienți cu SNN (N=20)

Mutație	Genotipul determinat, % cazuri		
	Homozigote 35delG/35delG	Heterozigote wt/35delG	Homozigote wt/wt
Deleția 35delG (rs80338939)	8 (40%)	2 (10%)	10 (50%)

Frecvența de apariție a acestei mutații în lotul studiat este: opt pacienți au prezentat mutația 35delG sub formă homozigotă (35delG/35delG), ceea ce constituie 40%, doi copii - mutația 35delG sub formă heterozigotă (wt/35delG), 10%, zece pacienți - genotipul normal (wt/wt), 50% de cazuri. Pentru a valida rezultatele genotipate prin metoda *Taq Man*, au fost secvențiate probele biologice. Gradul de coincidență a constituit 98% [32].

Frecvența de apariție a homozigoților pentru alela patologică în lotul pacienților cu SSN a fost de 40%. În cazul copiilor homozigoți, putem afirma cu certitudine că aceasta este cauza apariției SSN. În cadrul lotului studiat, la cei opt copii, care prezintă un genotip homozigot pentru mutația 35delG, am constatat că hipoacuzia este severă-profundă, date ce corespund celor din studiul lui Cryns K. și colab. [32], care raportează o concordanță importantă între genotipul genei GJB2 și gradul hipoacuziei. Așadar, conchidem: aproximativ 50% dintre bolnavi nu au avut deleția 35delG, ceea ce sugerează alte defecte în genele GJB2, GJB6 sau unele nestabilite.

Pentru pacienții cu SSN heterozigoți pentru mutația 35delG (reprezentând 10% din cazurile în lotul studiat) și cei homozigoți pentru alela normală (50% din cazurile investigate molecular-genetic) ar trebui continuate investigațiile molecular-genetice, în sensul depistării tuturor mutațiilor la nivelul genei GJB2, deoarece din cercetările recente [12] se știe cu certitudine că asocierea acestei mutații cu una non-35delG pentru gena GJB2 sau cu o mutație pentru gena GJB6, în caz de transmitere digenică, pot fi cauzate de apariția SSN. În context, recomandăm testarea mai profundă prin secvențierea acestei gene, mai ales la pacienții cu SSN și la alți membri ai familiei, care au prezentat un genotip normal în formă wt/wt, ceea ce poate depista și alte mutații la nivelul genei GJB2 (chiar dacă acestea sunt mult mai rare decât mutația 35delG), responsabile de apariția hipoacuziei congenitale în populația Republicii Moldova.

Datele obținute suportă ipoteza studiului efectuat de Snoeckx R.L. și colab. [12], care afirmă existența unei corelații între gradul hipoacuziei și amploarea mutației, dar remarcă și existența unei variabilități semnificative a fenotipului în cadrul aceluiași genotip. Această variabilitate fenotip-genotip poate fi explicată prin efectul atât al genelor modificatoare, cât și al factorilor de mediu, care pot genera o penetranță incompletă și o exprimare variabilă.

În lotul de referință constituit din 100 de persoane sănătoase, preselectate după criteriile stabilite pentru genotipare SNP-ului rs803389939, nu am depistat mutația 35delG la nivelul genei GJB2, majoritatea fiind homozigoți wt/wt (100%) după alela normală. Ulterior, am extins lotul de referință până la 300 de persoane și am depistat patru purtători ai mutației 35delG, fără patologii auriculară, ce constituie 1,33%. În concluzie, pentru a depista purtătorii acestei mutații, este necesară efectuarea diagnosticului genetic la toți copiii de vârstă precoce cu SSN. De asemenea, este salutară extinderea lotului de referință până la cca 1000 de persoane.

Prin urmare, analiza genetică a acestei mutații, frecvent implicată în apariția SSN, trebuie inclusă în testele uzuale din perioada prenatală. Problematika și recomandările în domeniul respectiv sunt accentuate și în cercetările lui Cohn E.S. și colab. (1999), direcționând investigațiile genetice ulterioare și indicațiile genetice, chiar un screening genetic, după cum susțin Ryan M. și colab. (2003), Schmmmenti L.A. și colab. (2004) [18, 32].

5.2. Rezultatele diagnosticului audiologic la nou-născuți

În cadrul serviciului audiometrie, am examinat 505 nou-născuți (la termen), fără patologie perinatală a SNC, la Spitalul privat Medpark: băieți – 250, fete – 255 (în total, 1010 urechi examinate). La toți copiii, am efectuat investigații audiologice primare în decursul a 21-28 de zile. Din punctul de vedere al rezultatelor testelor auditive, la prima etapă de testare a otoemisiunii acustice tip TEOEA, au fost 484 de copii (95,84%) cazuri cu rezultate *pass bilateral* (test pozitiv caracteristic funcției normale a analizatorului auditiv), 19 (3,76%) rezultate *refer unilateral* și 2 (0,40%) caz *refer bilateral*. La etapa a II-a, surditatea SSN bilaterală a fost confirmată doar la un (0,20%) nou-născut. Deci, rezultate false pozitive am înregistrat doar la 20 de cazuri (copii) din 505, ceea ce constituie doar 3,96%. Acest indice este net inferior rezultatelor de screening auditiv, efectuat în prima săptămână după naștere, unde rata rezultatelor false pozitive (presupusa deficiență auditivă în cazul unui auz normal) este în medie de 5-10% [7,18,33]. Cauzele pot fi: prezența lichidului miconeal în CAE, prolapsul porțiunii cartilaginoase al CAE, depistat mai des în primele zile și, nu în ultimul rând, efectuarea procedurii de către personalul medical cu o instruire imperfectă în domeniul audiometriei pediatrice.

Principiile de bază ale evaluării auditive la sugari: confirmarea pierderii auzului în primele luni de viață; necesitatea existenței unui set de teste pentru a confirma și a descrie pierderea auzului; importanța rezultatelor evaluării audiologice pentru a planifica strategiile de intervenție; evaluarea audiologică la sugari este un proces în derulare [7, 18].

Nivelul științific de cunoaștere și experiența din practica actuală denotă faptul că aproximativ toți copiii, chiar și cei cu surditate profundă, pot fi educați să audă și, astfel, să însușească limbajul sonor. Pentru a obține aceste rezultate impunătoare este necesar de a efectua: depistarea și diagnosticarea precoce a deficienței de auz (screeningul audiologic al nou-născutului); protezarea auditivă timpurie; verificarea critică permanentă a eficacității aparatelor auditive; intervenția pedagogică imediată în cazul deficienței de auz, în scopul formării unei personalități integre a copilului; dezvoltarea auzului și formarea comunicării verbale. Deci principiul de bază în asigurarea calității în cadrul audiologiei și, în special, audiologiei pediatrice îl constituie colaborarea disciplinară dintre părinți, medici, surdopedagogi și audioproteziști [6].

5.3. Elaborarea principiilor de prognostic al scorului de inteligibilitate vocală

Audiometria tonală reprezintă cea mai accesibilă metodă de diagnosticare a deficienței de auz [7]. Problema pe care o soluționează metoda propusă constă în sporirea eficacității diagnosticului audiologic, datorită unei metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală. Rezultatele audiometriei tonale, efectuate pacienților examinați, denotă o deosebire statistic semnificativă ($p < 0,01$) între pragul auditiv și gradul surdității, concomitent cu diminuarea atât a pragului auditiv, cât și a numărului de răspunsuri pozitive la spectrul frecvențial.

Din punct de vedere matematic, problema, fiind formalizată, se reduce la deducerea unei reguli în baza analizei datelor audiometriei tonale, care permite a prognostica parametrul scorului maxim de inteligibilitate în dB, drept confirmare a rezultatelor audiometriei tonale liminare și a celei supraliminare. Utilizarea analizei de regresie în prelucrarea datelor statistice privind pacienții investigați ne-a permis să deducem formula propusă *infra*, care constituie esența metodei de prognosticare.

Esența metodei constă în selectarea criteriilor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală, în baza rezultatelor audiometriei tonale liminare și a celei supraliminare, după următoarea formulă:

$$Y = 0,784*PA + 0.230*PD - 1,192* x CA - 0,214*IA - 0,590*GS + 51,055,$$

în care CA reprezintă aspectul curbei audiometrice, determinat la audiometria tonală liminară descendentă – 1, descendent abruptă – 2, plată – 3, ascendentă – 4, în clopot – 5; PA - media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (100-6000 Hz), deciBeli (dB); GS - media gradului de surditate, atestat la audiometria tonală (500, 1000,2000 Hz), deciBeli (dB); PD - media pragului de disconfort, evaluat la audiometria tonală (500-4000 Hz), deciBeli (dB); IA - indicele de articulare, calculat în baza audiometriei tonale liminare (%).

Controlul modelului propus pe date reale (32 pacienți cu SSN) a permis să constatăm că o eroare ce nu depășește 5 % din valoarea reală constituie 54,9 %, iar o eroare care nu depășește 10 % din valoarea reală – 94,1 % din numărul de urechi investigate. Coeficientul de determinație R^2 pentru modelul în cauză, la pacienții testați, fiind destul de avansat: $R^2 = 0,7255$. Coeficientul de determinație R^2 cu valori cuprinse între 0 - 0,2999 fiind nesatisfăcător; 0,3000 - 0,6999 satisfăcător; 0,7000 - 1 înalt. Rezultatul constă în majorarea eficacității diagnosticului audiometric.

Avantajul aplicării metodei respective constă în obiectivizarea prognosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală. Metoda propusă permite efectuarea diagnosticului în lipsa testelor de audiometrie vocală, fapt ce ulterior va fi important pentru reabilitare și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu deficiență auditivă.

5.4. Elaborarea principiilor de prognostic al eficacității recuperării auditive

Potrivit datelor din literatură, doar 40-50 % din utilizatorii protezelor auditive sunt satisfăcuți de rezultatele protezării auditive. Un rol important, în acest context, revine reglării individuale cât

mai exacte a protezelor auditive. Astfel, devine oportună implementarea unor principii de prognozare a eficacității protezării auditive [6,18].

Esența metodei elaborate constă în selectarea factorilor decisivi în baza analizei discriminante de prognozare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții care suferă de surditate, potrivit datelor anamnestice și investigațiilor audiometrice. Funcția discriminantă (F) se calculează conform unei formule, care include următorii indici: vârsta pacientului (ani împliniți); factorul etiologic de surditate - infecțiile virotice și bacteriene (gripa, rujeola, rubeola, oreionul, parotita, meningita etc.) suportate în anamneză: nu – 0, da – 1; evoluția surdității: regresivă, progresivă, stabilizantă; pragul auditiv, stabilit la audiometria tonală cu cască de telefon, cuprinde limitele între 0 și 120 deciBeli (dB HL); indicele de articulare (%) exprimă scorul de recunoaștere a vorbirii și reprezintă o aplicație care manifestă transpunerea spectrului vorbirii în graficul audiometriei tonale.

Proporția, în care sunt audiate informațiile necesare pentru perceperea vorbirii, reprezintă indicele de articulare (IA). Deci IA indică ce proporție din informația unui semnal de vorbire normală este disponibil într-o anumită situație de ascultare. Se exprimă printr-un indice care are valoarea cuprinsă între 0 și 1 (sau 1-100 %) și reprezintă semnalul mediu de vorbire care este auzit de un subiect dat. Indicele de articulare are următoarele aplicații clinice: servește la explicațiile date pacientului privind impactul hipoacuziei asupra capacității de a percepe vorbirea; are o relație cunoscută cu capacitatea de recunoaștere a cuvintelor, astfel încât scorurile de recunoaștere a vorbirii pot fi reprezentate prin IA [7].

Analiza discriminantă a permis de a calcula ponderea fiecăruia din acești factori în riscul dezvoltării inconvenientelor protezării auditive. Precizia clasificăției conform acestor 5 factori pentru grupul cu prognostic nefavorabil este de 93,75% și pentru grupul cu prognostic favorabil - de 84,21%. În cazul în care $F > 0$, se face prognosticul unui rezultat favorabil al protezării auditive (lipsa efectelor adverse), iar $F < 0$ - a unui rezultat nefavorabil (prezența efectelor adverse), deoarece necesită reglări suplimentare mai frecvente ale protezelor auditive și o perioadă de reabilitare mai îndelungată.

Avantajul constă în sporirea exactității și obiectivizării prognosticării evoluției nefavorabile a eficacității protezării auditive la pacienții cu surditate. Metoda propusă permite depistarea precoce a bolnavilor cu risc sporit de dezvoltare a efectelor adverse, fapt ce impune o atenție deosebită pentru această categorie de pacienți, cu corijarea la timp a programului de tratament, selectarea protezelor auditive, reabilitare și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu deficiențe auditive.

5.5. Studiu clinic de determinare a eficacității antioxidante a produsului NH-01

La 18 pacienți adulți am cercetat efectul antioxidant al preparatului NH-01 în cadrul Laboratorului de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu” (șef laborator – Valentin Gudumac, dr.hab.șt.med., prof.univ.). Drept rezultat al investigării biochimice a enzimelor anitoxidante și a hidroxiperoxizilor lipidelor, am constatat o ameliorare semnificativă a indicilor stresului oxidativ la pacienții din lotul tratat cu produsul studiat. Indicii sistemului antioxidant i-am precizat prin determinarea următorilor parametri: activitatea antioxidantă totală [AAT], nivelul superoxidismutazei [SOD], catalazei, activitatea glutatationperoxidazei [GPO], nivelul ceruloplasminei, Zn, Cu. Potrivit testărilor, am stabilit o ameliorare în sistemul antioxidant, manifestată prin majorarea veridică a indicilor SOD: inițial – $1096 \pm 23,5$ U/g, după tratament – $1199 \pm 30,6$ U/g ($p < 0,01$); a indicilor ceruloplasminei: inițial – 243 ± 17 mg/l, după tratament – $316 \pm 11,4$ mg/l ($p < 0,05$), precum și o intensificare a activității antioxidante totale, a catalazei și Zn la pacienții tratați cu NH-01. Totodată, am constatat și diminuarea indicilor pro-oxidanți, cum ar fi dialdehida malonică și reducerea activității hidroxiperoxizilor lipidici. Pentru a aprecia starea sistemului pro-oxidant la pacienții cu ciroză hepatică, am evaluat nivelul dialdehidei malonice și cel al hidroxiperoxizilor lipidici (HPL).

5.6. Studiu clinic de determinare a eficacității produsului CAF-01

Studiul clinic care a implicat produsul a constatat în evaluarea eficacității și inofensivității compusului medicamentos CAF-01, ca adjuvant în terapia complexă a cancerului glandei mamare.

Repartizarea pacientelor în studiu: lotul I – 20 de femei cu diagnosticul cancer al glandei mamare (CGM) după polichimioterapie neoadjuvantă, care au urmat terapia de bază + CAF-01.

Rezultatele investigațiilor hematologice, biochimice și imunologice au demonstrat eficacitatea statistic semnificativă a produsului, în comparație cu lotul studiat și cel de control [30]. În urma administrării CAF-01, indicii hemoglobinei în loturile de studiu s-au majorat de la $110 \pm 0,71$ până la $116,0 \pm 1,28$ g/L ($p < 0,05$) și, respectiv, de la $109,44 \pm 0,43$ până la $120,18 \pm 0,4$ g/L ($p < 0,05$), iar în loturile de control nu am determinat o diferență statistic semnificativă ($p > 0,05$) [30]. CAF-01 posedă proprietăți detoxifiante evidente: micșorează bilirubina totală cu $1,1 \pm 0,3$ ($p < 0,05$), ameliorează indicii sistemului de peroxidare a lipidelor: glutatationperoxidazei – cu $1,1 \pm 0,02$ mM/L, catalazei – cu $2,05 \pm 0,07$ mM/L, ceruloplasminei – cu $53,3 \pm 1,2$ mg/dL, dialdehidei malonice – cu $0,7 \pm 0,04$ mM/L, hidroxiperoxizilor lipidici, activității antioxidante totale – cu $1,1 \pm 0,03$ mM/L.

Produsul medicamentos CAF-01 a manifestat o acțiune antioxidantă. Așadar, în urma efectuării studiului clinic, am constatat că administrarea produsului farmaceutic CAF-01 la bolnavii oncologici a înregistrat acțiuni benefice: îmbunătățirea stării generale, creșterea poftei de mâncare și a masei corporale cu $1,8 \pm 0,2$ (kg) ($p < 0,05$), ameliorarea statusului psihoemoțional, diminuarea

sindromului astenovegetativ cu 30%, a sindromului dispeptic cu 10% și a sindromului dolor. La pacientele cu SSN asociată rezultatele indică o îmbunătățire a pragului auditiv, majorarea diapazonului dinamic al auzului, scorului vocal și micșorarea intensității acufenelor cu până la 10-15 dB. Preparatul CAF-01 este acceptabil, ușor de administrat și se recomandă bolnavilor oncologici după polichimioterapie și radioterapie, ca adjuvant, detoxifiant și otoprotector.

5.7. Cercetări privind utilizarea rațională a medicamentelor otoprotectoare

Eficacitatea terapiei SSN este în strânsă corelație cu începerea tratamentului medicamentos și cu forma de administrare a preparatelor. Intoxicațiile medicamentoase și nemedicamentoase au un rol important în etiologia SSN, care reprezintă o afecțiune cu morbiditate avansată.

Astfel, conform cercetărilor profesorului **Boris Parii**, inofensivitate sporită posedă următoarele produse medicamentoase: cu temperatura de topire $< 100^{\circ}\text{C}$; cu masa moleculară mică (≤ 1000 UC); în stare amorfă; utilizate în doze $< 0,5$ g; cu solubilitate înaltă (≥ 20 g/l). Prognozarea farmacodinamiei și farmacocineticii substanțelor chimice de sinteză poate fi efectuată în baza proprietăților lor fizico-chimice, inclusiv a indicilor termodinamici: solubilitatea în apă sau lipide, starea de agregare, punctul de topire [21].

Farmacoterapia SSN este caracterizată prin: administrarea preparatelor din diverse grupe farmacologice (vasodilatatoare cerebrale, glucocorticoizi, vitamine, antioxidanți etc.), prescrierea combinată a medicamentelor, administrarea medicamentelor cu potențial efect ototoxic (diuretice, antiinflamatorii, antibacteriene), în special pentru tratamentul SSN de etiologie infecțioasă. Aspectele menționate indică importanța farmacoterapiei asociate în tratamentul SSN.

Așadar, în cele enunțate *supra* am prezentat medicamentele utilizate frecvent în tratamentul SSN după metoda propusă [21] și am stabilit următoarele aspecte: majoritatea produselor au punctul de topire între 100 și 200°C , masă moleculară minimă, dar, în formă cristalină, denotă un grad mediu de reacții adverse. Pornind de la aceste raționamente, putem afirma cu certitudine importanța prudenței deosebite a medicului practician la utilizarea asociată a produselor medicamentoase în farmacoterapia SSN.

Compartimentul **Sinteza rezultatelor** reflectă datele științifice de bază obținute, datorită cercetărilor farmacologice, farmaceutice și clinice efectuate în cadrul studiului disertațional „Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv”. În acest sens am elaborat un concept de utilizare a preparatelor medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul afecțiunilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii, precum și unele principii de prognostic al eficacității de diagnostic și recuperare auditivă în vederea profilaxiei și majorarea eficacității farmacoterapiei SSN.

Pentru a aprecia valoarea diagnostică și a optimiza eficacitatea farmacoterapeutică, precum și pentru a spori efectul de recuperare, am elaborat un algoritm complex de metode subiective și obiective de efectuare a diagnosticului SSN, farmacoterapie ce permite asigurarea, în limita posibilităților, a efectului scontat de reabilitarea auditivă (figura 5.1). Metodele algoritmului sunt divizate în două etape. La prima etapă are loc efectuarea metodelor audiometrice obiective și subiective, în favoarea stabilirii diagnosticului patologiei și formelor de surditate, precum și necesitatea protezării auditive, cu utilizarea metodelor de prognostic al scorului vocal și al eficacității protezării auditive. Etapa a doua include metodele complexe de farmacoterapie, selectare a PA, controlul eficacității lor. Un factor important este controlul audiologic în dinamică. Algoritmul propus permite respectarea succesiunii etapelor de diagnostic și prognosticarea formelor de surditate. Astfel, va fi respectată logica profesională dintre scopul inițiat și efectul scontat al asistenței medicale în managementul afecțiunilor analizatorului auditiv.

Contribuția personală a autorului în realizarea obiectivelor tezei este de peste 90%. Proprietatea intelectuală a autorului a fost asigurată prin 4 brevete de invenții și 6 certificate de inovator. Valorificarea practică este dovedită prin: un certificat de autorizare a produselor medicamentoase, un certificat de autorizare supliment, 12 acte de implementare a invențiilor și inovațiilor în activitatea științifică și clinică.

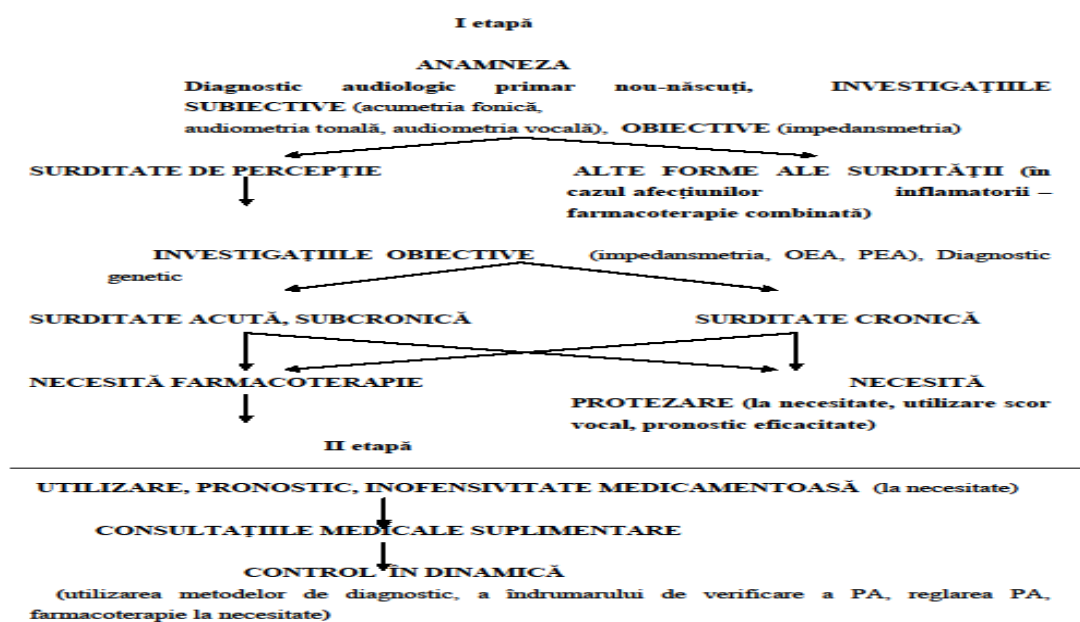


Fig. 5.1. Algoritm diagnosticului și tratamentului pacienților cu surditate

CONCLUZII GENERALE

1. A fost argumentat raționamentul combinării în aceeași formă farmaceutică a substanței active antibacteriene ciprofloxacina hidroclohid cu un produs natural – uleiul volatil de busuioc. S-a stabilit compatibilitatea ciprofloxacinei și uleiului volatil de busuioc. Studiile farmaceutice de preformulare au condus la elaborarea formulei optime și a tehnologiei de preparare pentru produsul CB-12 [23, 24].
2. Picăturile auriculare cu ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă ($p < 0,001$) decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacina, comparativ cu unele tulpini bacteriene (*S.aureus* (t.209); *Ps.aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E.faecalis* (t.ATCC 19433)) [23, 24].
3. Cercetările farmacologice ale toxicității acute (clasa de toxicitate $5 LD_{50} > 2000$ mg/kg), precum și a celei subcronice (parametrii hematologici, biochimici și morfologici), ale produselor farmacologice combinate CB-12, CAF-01, NH-01 au demonstrat o toxicitate redusă a produselor respective, fiind clasificate practic ca inofensive [7, 25, 26, 27].
4. Produsele medicamentoase combinate CAF-01 și NH-01 manifestă o eficacitate otoprotectoare preclinică deosebită în tratamentul SSN induse cu gentamicină (indicii reflexului Preyer, OEAT $p < 0,001$). De asemenea, administrarea acestor produse medicamentoase la subiecții umani contribuie la ameliorarea simptomaticei, confirmată prin indicii hematologici, biochimici și audiologici [7, 28].
5. În cadrul studiilor clinice, am demonstrat efectele antioxidante otoprotectoare ale produselor medicamentoase combinate CAF-01 și NH-01 prin ameliorarea statistic semnificativă ($p < 0,05$) a indicilor biochimici: superoxidismutaza, catalaza, ceruloplasmina, glutionperoxidaza [29, 30, 31].
6. A fost elaborată și validată o nouă metodă tehnologică de diagnostic molecular-genetic al deleției 35delG (rs80338939) în gena GJB2, mutație responsabilă pentru instalarea SSN prin genotiparea *TaqMan PCR* [32].
7. În cadrul cercetărilor genetice, s-a depistat o frecvență sporită (50%) la bolnavii cu SSN prelingvală nonsindromică și a nivelului infim de portaj la persoane fără patologie auriculară a mutației 35delG în gena GJB2 [32].
8. A fost elaborată și demonstrată eficiența unei noi metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și am stabilit criteriile de prognostic al eficacității recuperării auditive la bolnavii cu hipoacuzie, în baza factorilor anamnestici, audiometriei tonale liminare și supraliminare [33, 34, 35].

9. Datorită studiilor experimentale, am elaborat un protocol de monitorizare preclinică a produselor farmacologice, cu posibile efecte ototoxice sau otoprotectoare. Studiile clinice audiologice, farmacologice și genetice au favorizat conceperea unui algoritm complex de explorare și tratament medicamentos și recuperare la pacienții cu afecțiuni ale analizatorului auditiv, în special pentru conduita medicală a SSN.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Metodele de analiză și standardizare a produselor medicamentoase combinate (CB-12 picături auriculare și NH-01 capsule) sunt recomandate pentru utilizare în cadrul laboratoarelor de control al calității medicamentelor și în departamentele de cercetare-dezvoltare a companiilor farmaceutice, certificate cu dreptul de a produce medicamente combinate.
2. Protocolul, elaborat de determinarea funcției auditive la animalele de laborator cu utilizarea reflexului Preyer, impedansmetriei și otoemisie acustice, poate fi utilizat pentru a stabili efectele ototoxice și otoprotectoare ale produselor medicamentoase și în alte cercetări preclinice asupra analizatorului auditiv.
3. Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG) prin soluția TaqMan PCR sporește performanțele diagnosticării molecular-genetice și poate fi recomandată ca metodă de screening genetic mai accesibilă la copiii și adulții cu SSN.
4. Crearea unui nucleu multidisciplinar de competență în investigare, în diagnosticul molecular-genetic, în reabilitarea copiilor și adulților cu SSN pentru a stratifica tratamentul conform principiilor medicinei personalizate.
5. Efectuarea unui studiu multicentric pentru a stabili răspândirea factorilor genetici ai SSN nonsindromice și a nivelului de portaj în regiunile țării noastre și elaborarea unui program național pentru determinarea nivelului de risc al SSN la copiii părinților fenotipic sănătoși.
6. Metoda de diagnostic, cu prognosticarea scorului de inteligibilitate vocală, în baza a astfel de factori ca: aspectul curbei audiometrice, media pragului auditiv stabilit la audiometria tonală, media pragului de disconfort, indicele de articulare, se recomandă a fi implementată în cadrul serviciilor audiologice și ORL din republică.
7. Metoda de prognostic al eficacității protezării auditive în baza vârstei bolnavului, prezența, ca factor declanșator al surdității a infecțiilor virotice și/sau bacteriene, evoluția deficienței auditive, pragul auditiv sau severitatea surdității, indicele de articulare, se recomandă a fi aplicată în cadrul selectării protezelor auditive la bolnavii cu SSN cronică.
8. Produsul medicamentos combinat Flarena, emulsie orală, 100 ml (CAF-01), se recomandă a fi administrat în tratamentul complex al bolnavilor cu SSN.

9. Utilizarea algoritmului de diagnostic și farmacoterapie, precum și continuarea cercetărilor clinice privind elaborarea produselor combinate de sinteză și naturiste pentru tratamentul complex al afecțiunilor analizatorului auditiv.
10. Metodele aplicate și rezultatele obținute pot fi utilizate în procesul de instruire universitară și postuniversitară în cadrul disciplinelor: farmacologie și farmacologie clinică, farmacie clinică, otorinolaringologie, chimie farmaceutică și toxicologică, biologie și genetică umană; în activitatea Centrului Științific al Medicamentului, laboratorului de otorinolaringologie, laboratorului de genetică și în centrele medicale (specialitatea otorinolaringologie).
11. Elaborarea, în baza rezultatelor studiului disertațional, a unui standard național de conduită farmacoterapeutică și de protezare auditivă a bolnavilor cu SSN.

BIBLIOGRAFIE

1. ABABII, I., POPA, V., VETRICEAN, S., ANTOHI, I., ANTOHI, A. *Otita medie cronică supurată la adult. Protocol clinic național*. Chișinău, 2016, 25 p.
2. FAZEL, M.T., JEDLOWSKI, P.M., CRAVENS, R.B JR., ERSTAD, B.L. Evaluation and Treatment of Acute and Subacute Hearing Loss: A Review of Pharmacotherapy. *Pharmacotherapy*. 2017. doi: 10.1002/phar.2044.
3. FALUP-PECURARIU, O., LEIBOVITZ, E., MERCAS, A., BLEOTU, L., et al. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. In: *Int J Infect Dis*. 2013, 17(9), pp.702-706. ISSN: 12019712
4. ABABII, I., MANIUC, M., ERENCOV, V. *Terapia medicamentoasă în otorinolaringologia pediatrică. Ghid*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, Chișinău, 2004. 455 p. ISBN 9975-907-45-8.
5. GHICAVÎL, V., BACINSCHI, N., GUȘUILĂ, G. *Farmacologie*, Tipografia Centrală, Chișinău, 2012, 129-132, 377, 383-384. ISBN: 978-9975-53-068-2
6. MĂRȚU, D., TANASI, D., COZMA, S. Particularitățile tratamentului copilului hipoacuzic. Idei pentru prezent și viitor. *Audionews*. Vol. 1. 2002, pp. 22-26. ISSN: 0130-1535
7. **PARII, S.** *Surditatea și tratamentul medicamentos*. Chișinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*. 136 p. ISBN 978-9975-82-091-2.
8. EWERT, D.L., LU, J., LI, W., DU, X., FLOYD, R., KOPKE, R. Antioxidant treatment reduces blast-induced cochlear damage and hearing loss. In: *Hear Res*. 2012 Mar; 285(1-2) pp.29-39. doi: 10.1016/j.heares. 2012.01.013. Epub 2012 Feb 6. ISSN: 03785955
9. OMICHI, R., SHIBATA, S., MORTON C., SMITH, R. Gene therapy for hearing loss. *Hum Mol Genet*. 2019 Jun 22. pii: ddz129. doi: 10.1093/hmg/ddz129.
10. ORLANDO, S., CHIORINI, J.A. et al. Coordinated control of connexin 26 and conexin 30 at the regulatory and functional level in the inner ear. In: *Proc Natl Acad Sci, USA*, 2008 dec2; 105(48): 18776-81. ISSN: 0027-8424
11. ELAHEH, A., GHOLAMI PARIZAD et al. The Prevalence of Hearing Loss in Patients with Hepatitis B Infection Compared with Healthy Volunteers. In: *Iranian. Journal of Otorhinolaryngol* 2017 May; 29(92): 127-132 ISSN 2251-726X
12. ЖУРАВСКИЙ, С.Г., ЛОПОТКО, А.И., ТОМПСОН, В.В., ЦЫВЛЕВА, И.Д. Общепатологические аспекты повреждения волосковых клеток спирального органа. *Архив патологии*. 2004. №1, стр. 44-50. ISSN 0004-1955
13. FETONI, A. R., GARZARO, M., RALLI, M., LANDOLFO, V., SENSINI, M., PECORARI, G. et al. The monitoring role of otoacoustic emissions and oxidative stress markers in the protective effects of antioxidant administration in noise-exposed subjects: A pilot study. *Medical Science Monitor*. In: *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2009, 15(11), PR1-8. ISBN:

- 1643-3750.
14. FJALSTAD, J.W., LAUKLI, E., VAN DEN ANKER, J.N., KLINGENBERG, C. High-dose gentamicin in newborn infants: is it safe? In: *European Journal of Pediatrics*. 2014, (173:4), pp. 489-495. <https://doi.org/10.1007/s00431-013-2194-1> ISSN: 1432-1076
 15. JOACHIMS, H.Z., SEGAL, J., GOLZ, A., NETZER, A., GOLDENBERG, D. Antioxidants in Treatment of Idiopathic Sudden Hearing Loss. In: *Otology & Neurotology*, 2003, vol 24, pp. 572-575. ISSN: 15317129
 16. MUHIN, E., GHICAVÎ, V., GONCIAR, V., BACINSCHI, N. *Medicația dereglărilor circulației cerebrale și periferice*. Chișinău, 1998, 137 p.
 17. FELDMAN, L., EFRATI, S., EVIATAR, E., ABRAMSOHN, R., YAROVYOY, I., GERSCH, E. et al. *Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine*. *Kidney International*, 2007, 72(3), pp.359-363. ISSN: 00852538
 18. ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А., МАРКОВА, Т.Г., ЧИБИЦОВА, С.С., АЛЬШАРДЖАБ И И., ЦЫГАНКОВА, Е.Р. Российский и международный опыт реализации программ универсального аудиологического скрининга новорожденных. *Вестник оториноларингологии*. 2016;81(2) с. 7-12. <https://doi.org/10.17116/otorino2016> ISSN 8127-12
 19. BANGALORE, S., KAMALAKKANNAN, G., PARKAR, S., MESSERLI, FH. Fixed-dose combinations improve medication compliance: a meta-analysis. In: *American Journal of Medicine* 2007; nr. 120(8): pp. 713-719, www.ncbi.nlm.nih.gov DOI : 10.1016/j.amjmed.2006.08.033 ISSN: 00029343
 20. VENEKAMP, R.P., SANDERS, S.L., GLASZIOU, P.P., DEL MAR, C.B., ROVERS, M.M. *Antibiotics for acute otitis media in children*. The Cochrane database of systematic reviews 2015, 23;6CD000219 ISSN: 1469493X
 21. PARII, B. *Majorarea eficacității medicamentelor și prognozarea efectelor lor secundare*. Teză de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 1994, 201 p.
 22. ЛАПОЧКИНА, Н.П. Фармакокинетика. Суспензия Фламена на здоровых добровольцах (фаза 1) и перспективы ее применения в онкологии. În: *Revista InfoMed*. Chișinău, 2016, nr. 2/1, pp. 83-88. ISSN 1810 - 4800.
 23. UNCU, L., DONICI, E., VALICA, V., VÎSLOUH, O., GONCIAR, V., **PARII, S.** Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova*. Chisinau, 2019, nr. 2(14), pp. 56-61. ISSN 1857-1727.
 24. СЮБАНУ, Н., UNCU, L., DAMASCHIN, N., FABIAN, L., POSTICĂ, M. Evaluarea fitochimică a uleiului volatil de busuioc. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale*. Chișinău, 2010, nr. 1(24), pp. 74-77. ISSN 1857-0011.
 25. **PARII, S.** et al. Preclinical studies of a new drug combination of ear drops form. Volumul de rezumate. Al II-lea Congres Național de ORL Pediatrie. În: *Revista de educație medicală continuă ORL.ro*. Iași, România, 2016, nr. 2(31), p. 65. ISSN 2067-6530.
 26. **PARII, S. ș.a.** Determinarea toxicității cronice a unui nou compus medicamentos combinat. În: „*Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*” (*științe medicale*). Chișinău, 2016, nr. 1, pp. 214-219. ISSN 1857-0011.
 27. **PARII, S.** Produse medicamentoase combinate în farmacoterapia afecțiunilor auriculare. În: *Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la nașterea profesorului Efim Alexeevici Muhin*. *Revista Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. Chișinău, 2018, nr. 4 (78), pp.78-88. (*Categoria B*) ISSN: 1729-8687
 28. **PARII, S.,** GONCIAR, V., NACU, V., VALICA, V. Noi perspective în medicația otoprotectoare a surdității senzorieurale (studii preclinice). În: MUNGIU, O.C., BILD, V. *Medicamentul: tradiție și modernitate*. Iași, România: Editura Gr.T.Popa, 2019, vol.1, pp. 204-215. ISBN 978-606-544-625-0.
 29. MEREUȚĂ, I., VALICA, V., **PARII, S.** ș.a. Rezultatele cercetării clinice: Studiul proprietăților citoprotectoare (chimio-, radioprotectoare) ale emulsiei orale Flamena 100 ml la pacientele cu cancer mamar și cancerul organelor reproductive supuse chimio- sau radioterapiei. În: *Revista InfoMed*. Chișinău, 2016, nr. 2/1, pp. 75-83. ISSN 1810-3936
 30. **PARII, S.,** RUDIC, V. *Utilizarea extractului din biomasa tulpinii cianobacteriei Spirulina platensis (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie*. Brevet de invenție MD 4277 C1 din 2014.10.27. În: BOPI. Chișinău, 2014, nr. 03, p. 27.
 31. VALICA, V., TODIRAȘ, M., **PARII, S.,** ș.a. Neamon-hepa, capsule, în tratamentul hepatitelor și cirozei hepatice. În: *Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 70-a de la*

- nașterea profesorului Boris Parii „Medicamentul de la idee la farmacie”, *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 1-2, pp. 37-42. ISSN 1812-5077.
32. RADULESCU, L., CUROCICHIUN, G., BUZA, A., **PARII, S.**, et al. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: *Revista de Chimie*. Bucuresti, Romania, 2018, vol. 69, nr. 8, pp. 2273-2277. ISSN 0034-7752
 33. **PARII, S.**, JOSANU, V., CIOCANU, M. Screening-ul auditiv la nou-născuți. În: *Revista de educație medicală continuă ORL.ro*. București, România, 2013, nr. 2(19), pp. 42-44. ISSN 2067-6530.
 34. **PARII, S.**, JUCOVSCI, C. Noi perspective de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2014, nr. 3-4, pp. 105-106. ISSN 1812-5077.
 35. **PARII, S.**, CHIABURU, A., ș.a. Prognosticul eficacității protezării auditive. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2012, nr. 4(13), pp. 292-296. ISBN 978-9975-113-45-8.

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

1. Monografii monoautor

- 1.1. **PARII, S.** *Surditatea și tratamentul medicamentos*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, 2018. 136 p. ISBN 978-9975-82-091-2.

2. Articole în reviste științifice

2.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS

- 2.1.1. RADULESCU, L. et al. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: *Revista de Chimie*. Bucuresti, Romania, 2018, vol. 69, nr. 8, pp. 2273-2277. ISSN 0034-7752, doi: [10.37358/RC.18.8.6514](https://doi.org/10.37358/RC.18.8.6514) (IF: 1,61).
- 2.1.2. UNCU, L. et al. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova*. Chisinau, 2019, nr. 2(14), pp. 56-61. ISSN 1857-1727. doi: [10.19261/cjm.2019.607](https://doi.org/10.19261/cjm.2019.607) (IF: 0,54).

2.2. în reviste științifice din străinătate recunoscute

- 2.2.1. **PARII, S.**, JOSANU, V., CIOCANU, M. Screening-ul auditiv la nou-născuți. În: *Revista de educație medicală continuă ORL.ro*. București, România, 2013, nr. 2(19), pp. 42-44. ISSN 2067-6530.
- 2.2.2. ВАЛИКА, В.В. и др. Результаты доклинических исследований нового комбинированного гепатопротектора Neamon-hera. В: журнал *Фармакологія та лікарська токсикологія*. Киев, Украина, 2014, №1(37), с. 40-47. ISSN 2227-7943.
- 2.2.3. **PARII, S.** Evaluarea inofensivității unui nou produs medicamentos. În: *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași*. 2018, vol. 122, nr. 2 (supl. 1), pp. 195-202. ISSN 0048-7848.

2.3. în revistele din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei:

- categoria B

- 2.3.1. **PARII, B.**, VALICA, V., RUSNAC, L., **PARII, S.** Some directions of pharmaceutical industry development in Republic of Moldova. În: *Curierul Medical*. 2009, nr. 1(308), pp. 61-66. ISSN 1875-0666.
- 2.3.2. **PARII, S.** Hipoacuzia neurosenzorială genetică: particularități clinice și aspecte diagnostice. În: *Curierul Medical*. 2012, nr. 4(328), pp. 50-53. ISSN 1875-0666.
- 2.3.3. **PARII, S.**, CHIABURU, A. Particularitățile inconvenientelor protezării auditive. În: *Curierul Medical*. 2012, nr. 5(329), pp. 14-18. ISSN 1875-0666.
- 2.3.4. **PARII, S.** ș.a. Some aspects of biomedical preclinical research involving laboratory animals. În: *Curierul Medical*. 2015, nr. 4(58), pp. 55-57. ISSN 1875-0666.
- 2.3.5. **PARII, S.** ș.a. Determinarea toxicității cronice a unui nou compus medicamentos combinat. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. Chișinău, 2016, nr. 1 (50), pp. 214-219. ISSN 1857-0011.
- 2.3.6. COJOCARU-TOMA, M., **PARII, S.** ș.a. Determinarea toxicității acute a extractelor din *Argimoniae herba* și *Cichorii herba: studiu experimental*. În: *Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2018, nr. 2(16), pp. 35-43. ISSN 2345-1467.

2.3.7. PARII, S. Produse medicamentoase combinate în farmacoterapia afecțiunilor auriculare. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. Chișinău, 2018, nr. 4(78), pp. 78-88. ISSN 1729-8687.

- categoria C

2.3.8. PARII, S. Particularități ale managementului pacienților cu tinnitus. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2011, nr. 4(12), pp. 333-339. ISBN 978-9975-113-45-8.

2.3.9. UNCUCU, L., IURESCO, T., PARII, S., CIOBANU, N. Utilizarea medicamentelor combinate în tratamentul maladiilor otorinolaringologice. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2011, nr. 1-4, pp. 32-36. ISSN 1812-5077.

2.3.10. DIACOVA, S. ș.a. Clinical, functional and morphological correlations in otitis media in childhood. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2011, nr. 4(12), pp. 298-303. ISBN 978-9975-113-45-8.

2.3.11. PARII, S. ș.a. Prognosticul eficacității protezării auditive. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2012, nr. 4(13), pp. 292-296. ISBN 978-9975-113-45-8.

2.3.12. PARII, S. Studiul criteriilor comparative în vederea diagnosticului diferențial al formelor de surditate neurosenzorială. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2012, nr. 4(13), pp. 301-306. ISBN 978-9975-113-45-8.

2.3.13. PARII, S. Particularitățile clinice și farmacoterapeutice ale vertijului. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2012-2013, nr. 1-4, pp. 27-32. ISSN 1812-5077.

2.3.14. MEREUȚĂ, I. ș.a. Rezultatele cercetării clinice: Studiul proprietăților citoprotectoare (chimio-, radioprotectoare) ale emulsiei orale Flamenă 100 ml la pacientele cu cancer mamar și cancerul organelor reproductive supuse chimio- sau radioterapiei. În: *InfoMed*. 2016, nr. 2/1(28), pp. 75-83. ISSN 1810-3936.

2.3.15. PARII, S. ș.a. Evaluarea toxicității acute a suspensiei ”Merion” 100 ml. În: *InfoMed*. 2016, nr. 2/2(28), pp. 240-244. ISSN 1810-3936.

- fără categorie

2.3.16. PARII, S., CHIABURU, A., DIACOVA, S., PARII, B. Farmacoterapia surdității neurosenzoriale acute și cronice: medicamente ototoxice și otoprotectoare. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2008, nr. 3-4, pp. 48-52. ISSN 1812-5077.

2.3.17. PARII, S., JUCOVSCI, C. Noi perspective de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2014, nr. 3-4, pp. 105-106. ISSN 1812-5077.

2.3.18. PARII, S. ș.a. Evaluarea toxicității acute a unor noi compuși medicamentoși combinați. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2015, nr. 1-2, pp. 35-38. ISSN 1812-5077.

2.4. Articole în culegeri științifice

- în lucrările conferințelor științifice naționale:

2.4.1. CHIABURU, A. ș.a. Surditatea la copii. Materialele Conferinței naționale științifico-practică în domeniul otorinolaringologiei pediatrie. În: *Curierul Medical*. 2009, nr. 5(311), pp. 29-31. ISSN 1875-0666.

2.4.2. VALICA, V. ș.a. Neamon-hepa, capsule în tratamentul hepatitelor și cirozei hepatice. Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 70-a de la nașterea profesorului Boris Parii „Medicamentul de la idee la farmacie”. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 1-2, pp. 37-42. ISSN 1812-5077.

- în alte culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

2.4.3. PARII, S., GONCIAR, V., NACU, V., VALICA, V. Noi perspective în medicația otoprotectoare a surdității senzoriale (studii preclinice). În: MUNGIU, O.C., BILD, V. *Medicamentul: tradiție și modernitate*. Iași, România: Editura Gr.T.Popa, 2019, vol.1, pp. 204-215. ISBN 978-606-544-625-0.

3. Teze în culegeri științifice

3.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

3.1.1. АБАБИЙ, И.И., ПАРИЙ, С.Б., КЯБУРУ, А.И., ДЪЯКОВА, С.А. Диагностика и слухопротезирование детей с сенсоневральной тугоухостью. Материалы Первой Международной конференции Украинской ассоциации отологов, отоневрологов и отонейрохирургов. В: *Журнал вушних, носових і горлових хвороб*. Киев, №6, 2007, с. 50-51. ISSN 0044-4650.

- 3.1.2. РУСНАК, Л.Г., ПАРИЙ, Б.И., ПАРИЙ, С.Б. Лекарственная аллергия-супрамолекулярные механизмы. В: *Материалы XVI Российский национальный конгресс „Человек и лекарство”*. Москва, 2009, с. 123.
- 3.1.3. PARII, V., RUSNAC, L., PARII, S. The role and place of Magnesium among other bioelements: physico-chemical aspects. Abstracts of XII-th International Magnesium Symposium. Iasi, Romania. In: *Magnesium Research*. Montrouge, France, 2009, vol.22, nr.3, pp. 208S-209S. ISSN 0953-1424, doi: [10.1684/mrh.2009.0178](https://doi.org/10.1684/mrh.2009.0178) (IF 1,27)
- 3.1.4. ПАРИЙ, Б.И. и др. Гепатопротекторное воздействие препарата "Neamon-hera" при индуцированном токсическом гепатите. Материалы II Конгресса Международного общества клинических фармакологов и фармацевтов стран СНГ. В: *Биомедицина*. Москва, Российская Федерация, 2010, № 5, с. 112-114. ISSN 2074-5982. (IF 0,22)
- 3.1.5. ПАРИЙ, С., ЖОСАН, В., НИКИТИНА, Т. Внедрение скрининга слуха новорожденных. В: *Материалы Второй Международной конференции Украинской ассоциации отологов, отоневрологов и отонейрохирургов*. Киев, 2012, с. 23-24.
- 3.1.6. PARII, S. et al. Hearing loss screening in newborns. În: *Volum de rezumate. Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Recuperarea multidisciplinară”*. Ediția a XI-a. Iași, România, 2013, p. 71. ISSN 0048-7848
- 3.1.7. PARII, S., BUZA, A., TODIRAS, M., CUROCICHIN, G. Molecular diagnosis in nonsyndromic genetic hearing loss. În: *Volum de rezumate. Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Interdisciplinaritate în tratamentul recuperator”*. Ediția a XII-a. Iași, 2014, pp. 51-53. ISSN 0048-7848
- 3.1.8. VALICA, V. et al. Nanopharmaceuticals - Analytical Measurement Challenges. În: *Volum rezumate. Congesul National de Farmacie „Viziune și inovație în practica farmaceutică Orizont 2020”*. Ediția XV-a. Iași, Romania, 2014, p. 348. ISBN 978-606-544-252-8
- 3.1.9. PARII, S., NICOLAI, E., PARII, I. Elaborarea principiilor de prognostic a eficacității tratamentului medicamentos al surdității. În: *Volumul de rezumate. Al XVI-lea Congres Național de Farmacie din România*. București, 2016, p. 92.
- 3.1.10. NICOLAI, E. et al. Determination of Ciprofloxacin in multicomponent mixture by HPLC method. In: *Book of abstracts, the 16th CEEPUS Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Warsaw, Poland, 2016, p. 75.
- 3.1.11. PARII, S. Surditatea senzorieurală: farmacoterapia otoprotectoare și medicamente combinate. În: *Volumul de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică „Provocări ale farmacoterapiei contemporane”*. Ediția a II-a. București, România, 2017, pp. 30-32. ISBN 978-973-0-24609-4.
- 3.1.12. NICOLAI, E., PARII, S., VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea conținutului de impurități de etilendiaminoderivat de ciprofloxacina în studiul stabilității picăturilor auriculare combinate. În: *Volumul de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică „Provocări ale farmacoterapiei contemporane”*. Ediția a II-a. București, România, 2017, pp. 195-197. ISBN 978-973-0-24609-4.
- 3.1.13. PARII, S. Conduita pacienților cu surditate senzorieurală și aspecte bioetice În: *Volumul de rezumate. A XII-a Conferințe Naționale de Bioetică „20 de ani de la Convenția de la Oviedo” și „Instituționalizarea bioeticii”*. Iași, România, 2017, pp. 33-34. ISSN 2344-388X.
- 3.1.14. BUZA, A. et al. Molecular genetic profile of nonsyndromic sensorineural hearing loss. În: *Volum rezumate. Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare”*. Ediția a-XVI-a. Iași, Romania, 2018, pp. 89-90.
- 3.1.15. PARII, S. et al. Medicamente combinate și surditatea sensorineurală. În: *Volumul de rezumate. Simpozionul „Zilele Medicamentului - Medicamentul de la idee la clinică”*. Ediția a XXVI-a. Iași, România, 2018, pp. 89-90. ISSN-L 1843-1038.
- 3.1.16. PARII, S. Tratamentul medicamentos în afecțiunile urechii. În: *Volumul de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică „Farmacia clinică în secolul XXI”*. Ediția a III-a. București, România, 2019, p. 47. ISBN 978-973-0-24609-4.
- 3.1.17. NICOLAI, E. ș.a. Aspecte de elaborare a unui produs medicamentos combinat nou pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii. În: *Volumul de rezumate. Simpozionul „Zilele Medicamentului - Medicamentul de la idee la clinică”*. Ediția a XXVII-a. Iași, România, 2019, pp. 152-153. ISSN-L 1843-1038.
- 3.2. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională
- 3.2.1. UNCU, L. ș.a. Medicamente combinate în tratamentul hipoacuziei neurosenzoriale. Materialele Conferinței științifice consacrate jubileului de 50 de ani de la fondarea Facultății de Farmacie și 80 de

- ani de la nașterea patriarhului farmaciei moldave Vasile Procopișin. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 52. ISSN 1812-5077.
- 3.2.2. UNCU, L., PARII, S., DONICI, E., POPA, C. The combined drugs used in the treatment of otomycosis. The XIX-th Session of the Balkan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. Celsius Publishing House, 2013, vol.48, nr. 3, p.107. ISSN 0041-6940. (IF: 0,16)
- 3.2.3. UNCU, L. ș.a. Evaluarea calitativă a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele Conferinței științifice cu participare internațională „Farmacia etică: istorie, realități și perspective”* Chișinău, 2018, pp. 172-173. ISBN 978-9975-3159-5-1.
- 3.3. în lucrările conferințelor științifice naționale
- 3.3.1. NICOLAI, E. ș.a. Perspectivele utilizării noilor picături auriculare combinate. În: *Volum de rezumate. „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*. Chișinău, 2014, p. 25. ISBN 978-9975-4257-2-8.

4. Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții

4.1. brevete de invenții

- 4.1.1. ABABII, I., PARII, S., CHIABURU, A., JUCOVSCI, C. Metodă de pronostic apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. Brevet de invenție 291 Z, A261B 10/00, 5/12. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Nr. depozit s 2010 0154. Data depozit 19.07.2010. Publicat 30.11.2010. In: BOPI. 2010, nr. 11, pp. 24-25.
- 4.1.2. PARII, S., JUCOVSCI, C. Metodă de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală. Brevet de invenție 732 Z, A261B 5/12. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Nr. depozit s 2013 0066. Data depozit 12.04.2013. Publicat 28.02.2014. In: BOPI. 2014, nr. 2, p. 29.
- 4.1.3. PARII, S., RUDIC, V. Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. Brevet de invenție 4277 C1, A61K 36/05, A61P27/16. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Nr. depozit a 2013 0056. Data depozit 24.05.2013. Publicat 31.03.2014. In: BOPI. 2014, nr. 3, p. 27.
- 4.1.4. MEREUȚĂ, I., VALICA, V., CARAUȘ, V., PARII, S. Sirop pentru tratamentul starilor precanceroase. Brevet de invenție 4341 C1, A61K 9/08, 31/07, 31/592, 31/355, 31/375. Nr. depozit a 2013 0088. Data depozit 21.11.2013. Publicat 30.04.2015. In: BOPI. 2015, nr. 4, pp. 23-24.

4.2. materiale la saloanele de invenții

- 4.2.1. ABABII, I., PARII, S., CHIABURU, A., JUCOVSCI, C. Method for predicting the development of adverse effects in hearing aids fitting. In : *The 17-th International Salon of Research, Innovation and Tehnological Transfer Inventica*. Iasi, Romania, 2013, pp. 738-739. ISSN 1844 – 7880, doi: [10.13140/RG.2.2.31073.04963](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.31073.04963).
- 4.2.2. RUDIC, V. et al. Treatment of patients with sensorineural deafness using extract of *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl., CNMN-CB-02 cyanobacterium biomass. In: *Proceedings of the 6th Edition of European Exhibition of Creativity and Innovation Euroinvent*. Iasi, Romania, 2014, p. 99. ISBN 978-606-13-2474-3.
- 4.2.3. PARII, S., JUCOVSCI, C. Method for the determination of Speech Intelligibility Score. In: *Proceedings of The 6th Edition of European Exhibition of Creativity and Innovation Euroinvent*. Iasi, Romania, 2014, p. 99. ISBN 978-606-13-2474-3.
- 4.2.4. RUDIC, V. ș.a. Tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială cu utilizarea extractului din biomasa *Spirulina platensis*. In: *The 18-th International Salon of Research, Innovation and Tehnological Transfer Inventica*. Iasi, Romania, 2014, pp. 530-531. ISSN 1844 – 7880, doi: [10.13140/RG.2.2.31852.92808](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.31852.92808).
- 4.2.5. PARII, S. Invenții. În: *Dicționar al inventatorilor români contemporani*. Cluj-Napoca, ed. Risoprint, 2015, vol. 4, pp. 388-391. ISBN 978-973-53-1246.
- 4.2.6. PARII, S. ș.a. Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor analizatorului auditiv. În: *Catalogul Oficial al Expoziției Internaționale Specializate Infoinvent*. Chișinău, 2015, pp. 123-124.
- 4.2.7. PARII, S. ș.a. Noi metode de diagnostic audiologic, pronostic de eficacitate a protezării auditive și tratament medicamentos în afecțiunile ORL. În: *Catalogul Oficial al Salonului Internațional al Cercetării, Inovării și Inventicii Pro Invent*. Cluj-Napoca, România, 2016, pp. 199-200. ISBN 978-606-737-048-5.

ADNOTARE

Parii Sergiu

”Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv”

Teza de doctor habilitat în științe medicale, Chișinău, 2021

Structura tezei: introducere, cinci capitole, concluzii generale și recomandări, 259 surse bibliografice, 11 anexe, 210 pagini text de bază, 79 tabele, 47 figuri. Rezultatele obținute sunt publicate în 59 lucrări științifice inclusiv 1 monografie, 20 articole în reviste recenzate, 4 brevete de invenții.

Cuvinte cheie: analizator auditiv, otită, surditate senzorieurală, diagnostic, prognostic, farmacoterapie, medicamente combinate, preparate otoprotectoare.

Domeniul de studiu: 314.01 - Farmacologie, farmacologie clinică, 321.16 – Otorinolaringologie

Scopul studiului: elaborarea și studiul acțiunii curative a unor medicamente combinate otoprotectoare, actualizarea diagnosticului molecular-genetic și audiologic și stabilirea factorilor de prognostic a eficacității recuperării auditive în afecțiunile inflamatorii ale urechii și surditatea senzorieurală (SSN).

Obiectivele lucrării: Propunerea unui nou concept și utilizarea preparatelor medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul afecțiunilor urechii, elaborarea principiilor de prognostic a eficacității recuperării auditive și diagnosticul genetic al SSN, majorarea eficacității farmacoterapiei afecțiunilor urechii.

Noutatea științifică. Evaluarea eficacității preclinice otoprotectoare a produselor farmaceutice CAF-01, NH-01 și CB-12. Au fost obținute noi cunoștințele teoretice referitor la diagnosticul audiologic și molecular-genetic, prognosticul eficacității farmacoterapiei, efectelor adverse ale protezării auditive în maladiile otologice.

Rezultatele principial noi pentru știință și practică obținute constau în elaborarea în baza unor cercetări științifice interdisciplinare complexe a unor preparate medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste și cercetarea inofensivității farmacologice și eficacității otoprotectoare. Elaborarea principiilor de prognostic a parametrilor audiometriei vocale, a eficacității tratamentului farmacoterapeutic și protezării auditive în maladiile auriculare. Perfectarea diagnosticului molecular-genetic în vederea stratificării pacienților cu SSN și profilaxia patologiei respective.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării. În baza studiilor efectuate și a rezultatelor a fost creat un suport teoretico-practic pentru o abordare interdisciplinară și conceptuală sistemică în aspect de cercetare preclinică și clinică de explorare, tratament farmacologic a otitelor și SSN.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele au fost implementate în activitatea practică a catedrelor și laboratoarelor cu specificul farmacologie, farmacie, genetică umană și a clinicilor ORL din cadrul USMF ”Nicolae Testemițanu” (2 certificate de autorizare a produselor, 7 acte de implementare a invențiilor, 5 acte de implementare a inovațiilor).

АННОТАЦИЯ

Парий Сергей Борисович

”Повышение эффективности диагностики и фармакотерапии заболеваний слухового анализатора”

Диссертация доктора медицинских наук, Кишинев, 2021

Структура диссертации: введение, пять глав, выводы и рекомендации, список литературы включающий 259 источника, 11 приложений, 210 основных страниц текста, 47 рисунка и 79 таблиц. Результаты исследования опубликованы в 59 научных работах включительно 4 патентов.

Ключевые слова: слуховой анализатор, отит, сенсоневральная тугоухость, диагностика, прогноз, фармакотерапия, комбинированные препараты, отопротективные препараты

Область исследования: 314.01 – фармакология и клиническая фармакология, 321.16 - оториноларингология.

Цель исследования: разработка и изучение лечебного действия комбинированных отопротективных препаратов, обновление молекулярно-генетической и аудиологической диагностики, а также установление прогностических факторов эффективности восстановления слуха при воспалительных заболеваниях уха и сенсоневральной тугоухости (СНТ).

Задачи исследования: Предложить новые концепции использования комбинированных лекарственных препаратов содержащие активные вещества синтетического и натурального происхождения в лечении заболеваний уха, разработку принципов прогнозирования эффектов слуховых эффектов и генетической диагностики несиндромной СНТ, повышение эффективности фармакотерапии патологии уха.

Научная новизна. Оценка доклинической эффективности лекарственных препаратов САФ-01, NH-01 и СВ-12. Получены новые теоретические знания по аудиологической и молекулярно-генетической диагностике, прогнозу эффективности фармакотерапии, побочным эффектам слухопротезирования.

Научная проблема, решенная в данной области состоит в разработке на основе комплексных междисциплинарных научных исследований лекарственных препаратов с активными веществами синтетического и натурального происхождения, а также исследования фармакологической безопасности и отопротективной эффективности. Разработка принципов прогнозирования параметров речевой аудиометрии, эффективности фармакотерапевтического лечения и слухопротезирования больных с нарушениями слуха. Совершенствование молекулярно-генетической диагностики для стратификации пациентов с СНТ и профилактики соответствующей патологии.

Прикладная ценность работы. Разработана теоретическая и практическая основа междисциплинарного и системного концептуального подхода доклинических и клинических исследований по разработке, фармакологическому лечению отитов и СНТ.

Научные результаты внедрены в практическую деятельность кафедр и лабораторий со спецификой фармакологии, фармации, генетики человека и ЛОР-клинике ГУМФ им. Н.А. Тестемицану (2 регистрационных сертификата, 7 акта внедрения изобретений, 5 акта внедрения инноваций).

ANNOTATION

Sergiu Parii

“Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders”

PhD Thesis in Medical Sciences, Chisinau, 2021

Thesis structure: introduction, five chapters, conclusions and recommendations, 259 bibliographic sources, 11 annexes, 210 pages basic text, 47 figures and 79 tables. The obtained results are published in 59 scientific papers including 4 patents.

Key words: auditory analyzer, otitis, sensorineural deafness, diagnosis, prognosis, pharmacotherapy, combined drugs, otoprotective preparations.

Field of study: Pharmacology and clinical pharmacology, Otorhinolaryngology.

Purpose of study: development and study of the therapeutic effect of combined optrotectant drugs, updating of molecular genetic and audiological diagnostics, as well as the establishment of prognostic factors for the effectiveness of hearing recovery in inflammatory diseases of the ear and sensorineural hearing loss (SNHL).

Objectives: To propose new concepts of using combined drugs containing active substances of synthetic and natural origin in the treatment of ear diseases, developing principles for predicting of auditory effects and genetic diagnosis of nonsyndromic SNHL, improving the efficiency of pharmacotherapy of ear pathology.

Scientific innovation. Evaluation of the pre-clinical efficacy of the pharmaceutical products CAF-01, NH-01 and CB-12. There was obtained the new theoretical knowledge on audiological and molecular-genetic diagnosis, the prediction of efficacy of pharmacotherapy, the adverse effects of hearing aids.

The fundamentally new results in science and practice consist in the development of comprehensive research on the basis of complex interdisciplinary research of medicinal products with active substances of synthetic and natural origin, as well as a study of pharmacological safety and otoprotective efficacy. Development of principles for predicting the parameters of speech audiometry, the effectiveness of pharmacotherapeutic treatment and hearing aids for hearing impaired patients. Improvement of molecular genetic diagnostics for stratification of patients with SNHL and prevention of the corresponding pathology.

Theoretical significance and applied value of the work. Has been developed a theoretical and practical basis for an interdisciplinary and systemic conceptual approach of preclinical and clinical studies on the development, pharmacological treatment of otitis media and SNHL.

Implementation of scientific results. The results were implimented in the practical activities of the departments and laboratories with the specifics of pharmacology, pharmacy, human genetics and the ENT clinic of the SUMFh N. Testemitanu (2 registration certificates, 7 acts of implementation of inventions, 5 acts of implenetation of innovations).

LISTA ABREVIERILOR

AA – analizatorul auditiv
ABTS- activitatea antioxidantă totală
AD/AS – urechea dreaptă/urechea stângă
AAT – activitatea antioxidantă totală
AGE - produșii finali de glicare avansată
AlAT – alaninaminotransferaza
AsAT – aspartataminotransferaza
AT – audiometrie tonală
ATL – audiometrie tonală liminară
AV – audiometrie vocală
CAE – conductul auditiv extern
CCE/CCI – celule ciliate externe/interne
CȘM – Centrul Științific al Medicamentului
CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*)
DAM – dialdehida malonică
dB - deciBell
FA – fosfataza alcalină
FR – Farmacopeea Română
GC – gaz cromatografie
GPO - glutatationperoxidaza
GSH – glutatationul redus
GST – glutatation-S-transferaza
HCT – hematocrit
HGB- hemoglobină
HPLC – Cromatografie lichida
IA – indicele de articulare
LDH – lactatdehidrogenaza
LD50 – doza letală medie
LD100 – doza letală maximă
MCV - media volumului hemoglobinei
MCH - media volumului globulelor roșii
MCHC – concentrația medie a hemoglobinei
NA – nerv auditiv

OC – Organul Corti
OEA – otoemisiuni acustice
PA – proteză auditivă
PEA – potențiale evocate auditiv
P-LCR — coeficientul trombocitelor “mari”
PCT (platelet crit) — trombocrit
PMC – produse medicamentoase combinate
POL – peroxidare lipidică
PCR – reacție de polimerizare în lanț
RBC – eritrocite/globule roșii
RDW-CV, repartizarea eritrocitelor vol %
RDW-SD - devierea standard a repartizării eritrocitelor.
RS – reflexul stapedian
RWD – Red cell Distribution Width — “aria” de repartizare a eritrocitelor
SNC – sistemul nervos central
SOD – superoxidismutaza
SSN – surditate senzorieurală, sinonime hipoacuzie (surditate) neurosenzorială
ST – surditate de transmisie
SRO – specii reactive ale oxigenului
SRN – specii reactive ale azotului
TA – toxicitate acută
UC – unități convenționale
UE/UI – ureche externă/ ureche internă,
UM – ureche medie
WBC – leucocite/globule albe

Produse medicamentoase

CAF-01 – Flamera emulsie orală
CB-12 – picături auriculare cu conținut ciprofloxacina și ulei de busuioc
MI – Merion suspensie
NH -01 – Neamon-hepa capsule

PARIU SERGIU

**EFICIENTIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI FARMACOTERAPIEI
AFECȚIUNILOR ANALIZATORULUI AUDITIV**

314.01 – Farmacologie, farmacologie clinică

321.16 – Otorinolaringologie

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

Aprobat spre tipar. 31.03.2021

Hârtie ofset. Tipar ofset

Coli de tipar: 3,25

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Tiraj 50 ex.

Comanda nr. 1104

SRL Tipografie-Sirius
MD-2004, Chișinău, str.Lăpușneanu, 2
Tel. (022) 23 23 52