

**Editorial Board**

Editor-in-Chief

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

Editors

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

Emeritus Editor

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

Emeritus Editor-in-Chief

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

Managing Editor

**Anatol Calistru**, MD, PhD, Associate Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Editorial Advisory Board****Yuriy T. Akhtemiychuk**, MD, PhD, Professor, Chernivtsi, Ukraine**Ion Bahnarel**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Alin Bour**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Olga Cernetchi**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Gheorghe Ciobanu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Valentin Friptu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Susan Galandiuk**, MD, Professor, Louisville, KY, USA**Mihai Gavriluc**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Victor Ghicavai**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Nicolae Gladun**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Aurel Grosu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Eva Gudumac**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Gabriel M. Gurman**, MD, Emeritus Professor, Beer Sheva, Israel**Eugen Gutu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Raymund E. Horch**, MD, Professor, Erlangen, Germany**Vladimir Hotineanu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Hisashi Iwata**, MD, PhD, Emeritus Professor, Nagoya, Japan**Sawa Kostin**, MD, PhD, Professor, Bad Nauheim, Germany**Vitalie Lisnic**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Ion Lupan**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Sergiu Matcovschi**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Ion Moldovanu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Petru Moroz**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Anatol Nacu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Anatoliy V. Nikolaev**, MD, PhD, Professor, Moscow, Russia**Hiram C. Polk, Jr.**, MD, Emeritus Professor, Louisville, KY, USA**Irinel Popescu**, MD, PhD, Professor, Bucharest, Romania**Mihai Popovici**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Viorel Prisacari**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**William B. Rhoten**, PhD, Professor, Macon, Georgia, USA**Gheorghe Rojnovceanu**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Valeriu Rudic**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Sergio Serrano**, PhD, Professor, Milan, Italy**Larisa Spinei**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Eugen Tarcoveanu**, MD, PhD, Professor, Iasi, Romania**Gheorghe Tabarna**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Valeriy M. Zaporozhan**, MD, PhD, Professor, Odessa, Ukraine**Emeritus Members of the Editorial Advisory Board****Ion Corcimaru**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Constantin Etco**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Filip Gornea**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Valentin Gudumac**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Ion Marin**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Nicolae Opopol**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Ieremie Zota**, MD, PhD, Professor, Chisinau, the Republic of Moldova**Editorial Staff****Valentina Bureatinscaia**

Editorial assistant

**Ludmila Covalschi**

Romanian copy editor

**Vitalie Mazuru**

English and Russian copy editor

**Ludmila Martinenko**

English copy corrector

**Curierul medical**

SCIENTIFIC MEDICAL JOURNAL

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

Issued bimonthly

Vol. 57, No 2  
April 2014**Welcome to the scientific and medical journal  
Curierul Medical!**

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

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

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

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

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

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

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

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

**Address of the Editorial Office**

192, Stefan cel Mare Avenue, Chisinau, MD-2004

the Republic of Moldova

Phone: (+37322) 244751, (+37322) 205209

Fax: (+38322) 295384

www.curierulmedical.org

editor@curierulmedical.org secretary@curierulmedical.org

Index for subscription – 32130



9 771 857 066600

Printing House "Tipografia Sirius"

2, A. Lapusneanu str., Chisinau, MD-2004

the Republic of Moldova

www.sirius.md

## RESEARCH STUDIES

<b>Gr. Zapuhlii, M. Ivanov, V. Galearschi, A. Peciul, C. Dogaru</b> .....	3
Ultrasound integrated neuronavigation – a standard tool for planning and guidance in the neurosurgery	
<b>O. Korotun, L. Vlasyk</b> .....	6
Hygienic assessment of effectiveness of <i>Echinacea purpurea</i> tinctures in case of combined exposure of imidacloprid and sodium nitrate	
<b>G. R. Adjisaliev, A. P. Rostovschiykov, A. Ya. Bekirov</b> .....	13
Macro- and microscopic structural changes of the stomach by the action of gravity overload and protection from it in the experiment	
<b>V. V. Zakharenko</b> .....	16
The investigation of the influence of Propes on phenotypic and functional characteristics of human and animal immunocompetent cells	
<b>I. E. Herasymyuk, T. I. Romaniuk</b> .....	21
Some improvement opportunities of regenerative processes of rabbit cornea after experimental alkaline burns	
<b>E. S. Pukhlik</b> .....	25
The method of enucleation of eyeball concerning an uveal melanoma using the high-frequency electric welding of soft tissues	
<b>S. M. Pukhlik, M. S. Buchatsky</b> .....	28
Method of ultrasonic scanning of maxillary and frontal sinuses	
<b>E. V. Herasymova</b> .....	33
Protective action of metabolic correctors in treatment of school-age children with uncontrollable bronchial asthma	
<b>V. Lisnic, L. Munteanu, V. Nemtan, O. Misic, M. Sangheli, L. Chetrari, S. Plesca</b> .....	39
Ipigrix (ipidacrin) in the complex treatment of patients with idiopathic axonal polyneuropathy	
<b>V. Cobet</b> .....	42
The cardiac metabolic treatment: effects of trimetazidine	
<b>V. Eder</b> .....	50
Antigenic and genetic characteristic of influenza viruses identified in pre-pandemic, pandemic and post-pandemic periods in the Republic of Moldova	
<b>R. Pretula</b> .....	60
The collagenase participation in the collagen biodegradation in the uterus in the process of post-partum involution	
<b>R. Scerbina, Gh. Ghidirim, V. Lescov, M. Cupcea, A. Muravca</b> .....	65
Pulmonary thromboembolism associated with surgical diseases	
<b>G. Obreja, O. Lozan</b> .....	70
Impact capacities of food industry on elimination of iodine deficiency	
<b>I. Grosu, A. Grosu, I. Guzgan, V. Moscalu</b> .....	73
The oxidative stress in blood hypothermic and normothermic cardioplegia	

## REVIEW ARTICLES

<b>E. Bendelic, I. Moldovanu, C. Curca</b> .....	79
Ophthalmic manifestations of chronic migraine	
<b>S. Suman</b> .....	83
Extrahepatic bile ducts	
<b>C. Matcovschi, V. Gonciar, S. Matcovschi</b> .....	86
<i>Hypericum perforatum</i> L. and its component Hiperforin in the treatment of various diseases	
<b>I. Guzgan</b> .....	94
Myocardial ischemia markers in cardiac surgery	
<b>S. Barnaciuc</b> .....	99
Functional mitral insufficiency management in aortic valve replacement	

## CLINICAL CASES

<b>V. Curca, V. Culiuc, F. Bzovii</b> .....	102
Atypical giant lipomas	
<b>V. Lungu</b> .....	105
Visceral leishmaniasis in the Republic of Moldova	

## BOOK REVIEW

<b>D. Gherman, reviewer</b> .....	109
Monography "Lombar discal hernia. Mini-invasive endoscopic surgical treatment". Author: <b>Aureliu Bodiu</b>	

## ANNIVERSARIES

<b>Aurel Danilov</b> la 80 de ani .....	110
<b>Dumitru Croitoru</b> la 80 de ani.....	111
<b>Ivan Butorov</b> la 70 de ani .....	112

## IN MEMORIAM

<b>Valentina Parfentiev</b> – 100 de ani de la naștere.....	113
---	-----

<b>GUIDE FOR AUTHORS</b> .....	144
--------------------------------	-----

## RESEARCH STUDIES

# Ultrasound integrated neuronavigation – a standard tool for planning and guidance in the neurosurgery

Gr. Zapuhli<sup>1</sup>, M. Ivanov<sup>2,3</sup>, V. Galearschi<sup>1</sup>, \*A. Peciu<sup>1</sup>, C. Dogaru<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Institute of Neurology and Neurosurgery, Chisinau, the Republic of Moldova

<sup>2</sup>Royal Hallamshire Hospital, <sup>3</sup>Sheffield Teaching Hospital, Sheffield, United Kingdom

\*Corresponding author: andrei.peciu@gmail.com. Manuscript received January 22, 2014; accepted April 05, 2014

### Abstract

**Background:** Intraoperative ultrasound provides a low cost real time imaging that is quick and simple to use. In recent years there has been a significant improvement in the quality of ultrasound imaging. Ultrasound integrated neuronavigation can be used to optimize the lesion approach and achieve a safe maximal resection, thereby improving the outcomes of the patients with different localizations and histologic types of brain tumors, vascular pathology, spontaneous intracerebral hemorrhage.

**Material and methods:** From 2007 to 2010 in the Institute of Neurology and Neurosurgery 130 operations with the application of 2D intraoperative ultrasound (US) were performed. From March to May 2012 17 patients underwent a surgical treatment with the usage the intraoperative ultrasound integrated neuronavigation system.

**Results:** We have applied ultrasound neuronavigation system in 17 cases on the patients with diverse pathologies, including brain tumors (craniopharyngeoma, corpus collosum and intracerebral glioblastoma, intraaxial glioma), vascular pathology (arteriovenous malformations, aneurysms), spontaneous intracerebral hemorrhage. The application of ultrasound neuronavigation system helps in improving the postoperative outcomes of these patients.

**Conclusions:** The integration of 3D US with neuronavigation technology has created an efficient and inexpensive tool for intraoperative imaging in neurosurgery. The technology has been applied to optimize the surgery of brain tumors, but it has also been found useful in other procedures, such as operations for aneurysms or arteriovenous malformations. Intraoperative ultrasound is easy to use and has a rapid assessment curve which makes it a useful tool of the neurosurgeons' intraoperative armamentarium.

**Key words:** intraoperative ultrasound, intraoperative monitoring, neuronavigation, neurosurgery.

### Introduction

A reliable intraoperative orientation is essential in neurosurgery. Anatomical topographic landmarks, frame based and frameless neuronavigation and intraoperative ultrasound (iUS) allow the neurosurgeon to localize the lesion and surrounding structures, to optimize the lesion approach and to achieve a safe maximal resection [1, 2]. In the brain tumor surgery a real time imaging has its advantages over preoperatively derived images as during the excision the brain structures move and cerebrospinal fluid (CSF) is lost, and the above leads to the brain shift, which makes the navigation based on preoperative images inaccurate [3, 4]. Also during the surgery some new features can develop (hydrocephalus, haemorrhage, etc) [2]. Intraoperative ultrasound is comparatively inexpensive, easy to use and requires little intraoperative equipment or upkeep.

Intraoperative sonography has been used in neurosurgery since the 50s (initially as A-mode US). In 1960 B-mode ultrasound became available. In the late 80s a computer technology had developed to a stage that made possible the usage of preoperative image data for specifying the position of a tool in the brain, thereby the concept of neuronavigation was born [1]. The recent advances in probe technology, image fusion, 3D techniques have provided considerable improvements of the image quality [2].

### Goals:

- Optimizing the lesion approach and achieving a safe maximal resection using confident intraoperative orientation.
- Improving the outcomes by applying integrated ultrasound neuronavigation for the patients with different localizations and histologic types of brain tumors, vascular pathology, spontaneous intracerebral hemorrhage [2, 5].

### Material and methods

From 2007 to 2010 in the Institute of Neurology and Neurosurgery 130 operations with application of 2D iUS were performed [5]. From March to May, 2012, 17 patients underwent a surgical treatment using the intraoperative ultrasound integrated neuronavigation system (fig. 1, 2, 3, 4).

### Principles of 2D and 3D iUS image acquisition



**Fig. 1.** The patient should be positioned properly in order a vertical access to the lesion can be obtained to fill the operation cavity with water [6].

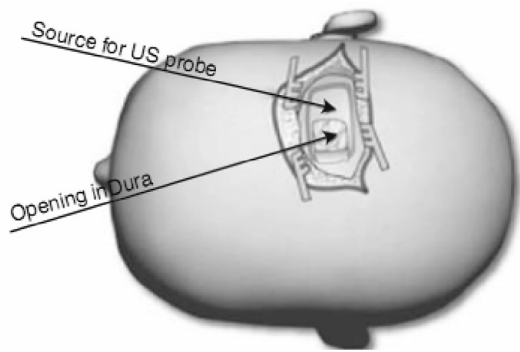


Fig. 2. Images are taken at an angle and aside from the operation access, therefore, reducing the artifacts [6].



Fig. 3. 3D US image acquisition is done during the operation every time it is needed. The probe is moved over the region of interest, while each of the 100–200 images with the position data is tagged from the optical tracking camera and reconstructed into a regular 3D US volume. It takes about 30 seconds to create a new 3D US volume [1].

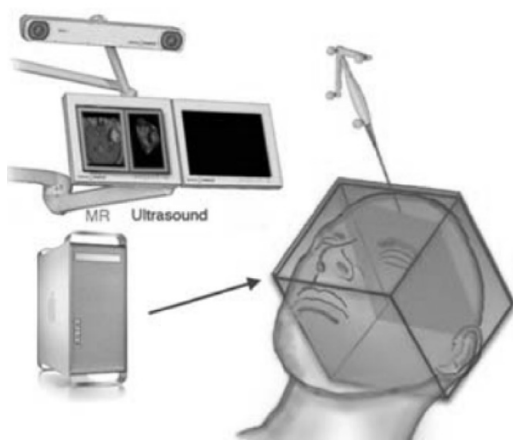


Fig. 4. The pointer steers the display of 3D volume [1].

**Accuracy of 3D ultrasound**

In case of standard neuronavigation system the overall clinical inaccuracy consists of the following: registration inaccuracy (often more than 5 mm), technical inaccuracy (navigation system itself) and the inaccuracy due to the brain

shift. For US integrated neuronavigation the registration inaccuracy is eliminated because both US acquisition and navigation based on 3D images is done in the same reference system. The inaccuracy due to the brain shift can be fixed by the repeated acquisitions of 3D US during the operation.

Once the craniotomy has been performed, iUS can be used to localize the lesion and such neuroanatomical structures as ventricle, falx, choroid plexus, main vessels, and to assess the brain shift (responsible factors – gravity, brain swelling, CSF loss, tumor debulking).

Intraoperative US can be used during the surgical procedure to check if the tumor removal is completely performed before the total excision is finished (the majority of all metastases, meningiomas, cavernomas, abscesses, craniopharyngiomas and some gliomas).

**Applications for 3D ultrasound based neuronavigation**

- Surgery of brain tumors;
- Planning of the surgery;
- Biopsies;
- Operation guiding;
- Resection control;
- Skull base surgery;
- Endoscopy- Cavernous haemangiomas;
- Intracerebral haematomas;
- Aneurysms;
- Arteriovenous malformations (AVMs) surgery.
- Intra-spinal pathology

Our experience (fig. 5, 6, 7, 8, 9, 10). 3D ultrasound based neuronavigation has been applied in:

- Neurooncology (tumor localization, resection control)
  - ▶ Corpus callosum and intracerebral glioblastoma
  - ▶ Intraventricular craniopharyngeoma
  - ▶ Occipital astrocytoma
  - ▶ Recurrent vestibular schwannoma
- Localization and identification of vascular lesions
  - ▶ AVM Spetzler-Martin grade IV
  - ▶ Artery aneurysm
  - ▶ Spontaneous intracerebral hemorrhages.

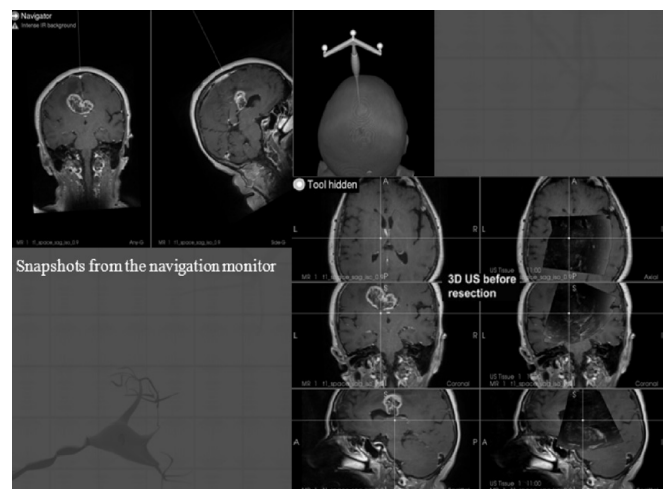


Fig. 5. Intraoperative 3D US image acquisition of the patient F (female, 39 years old) with corpus callosum glioblastoma.

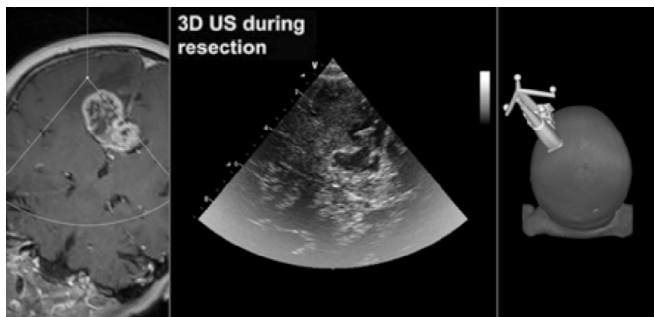


Fig. 6. The same patient. Resection guidance using intraoperative 2D US.

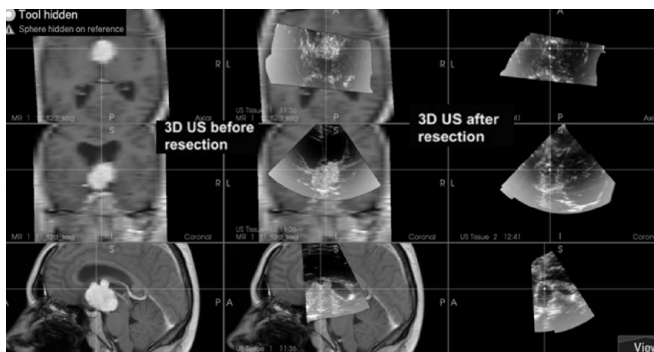


Fig. 7. Patient M (male, 29 year old) with intraventricular craniopharyngeoma.

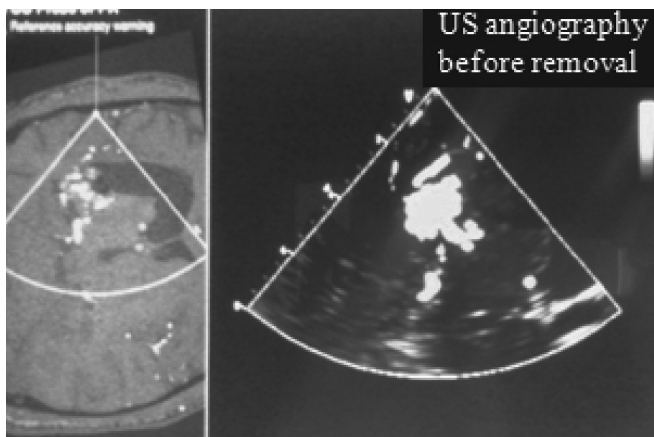


Fig. 8. Patient M, 28YO with left temporal AVM, Spetzler-Martin's grade IV. We have used US angiography based on the recordings of Doppler's signals power from the blood stream.

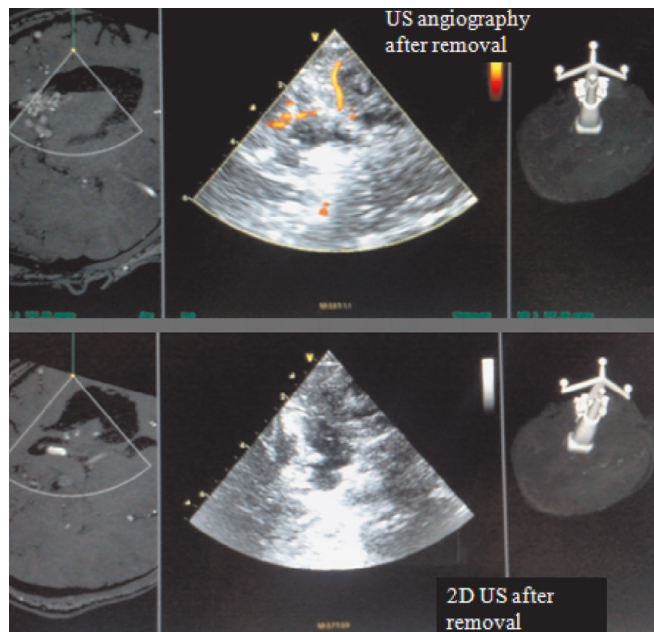


Fig. 9. The same patient. Image acquisition (2US angiography – up and conventional 2D US – down) after AVM removal.

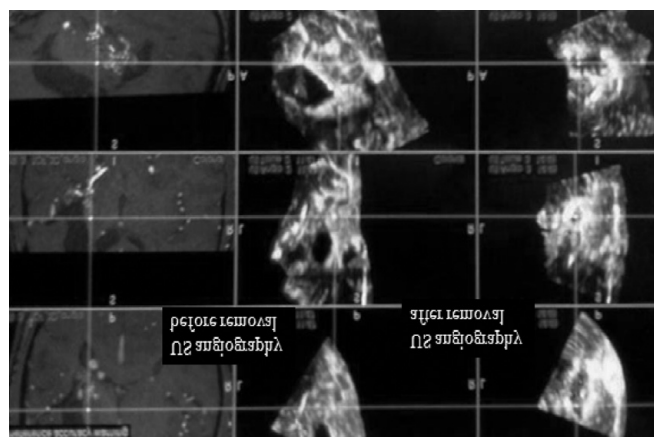


Fig. 10. The same patient. Image acquisition (3D US angiography) before and after AVM removal.

**Conclusions**

Ultrasound integrated neuronavigation is useful in intraoperative imaging of most brain tumors, besides it enables to work safer, faster and always with more confidence in removing intraaxial tumors, especially, in clearly cut-off areas and without producing any permanent neurological deficit. Also iUS can be utilized in the resection guidance and gaining the possibility to perform a total tumor removal. Using intraoperative color Doppler (US angiography) provides the information about vascular structures, aneurysms and deep-seated AVMs localizations, a blood flow and a vasospasm, allows the

real time evidence of vessel patency or flow disruption, following aneurysm clipping or AVM removal. It has also been found useful in identifying feeders and draining vessels and for resection control of AVMs [7]. Our experience showed that ultrasound integrated neuronavigation is efficient in optimizing the surgical procedure and the patient outcome. iUS is a low cost intraoperative imaging modality, which with current technological improvements can be as informative as low-field intraoperative MRI. Intraoperative US is easy to use and has a rapid learning curve which makes it a useful tool of the neurosurgeons' intraoperative armamentarium.

## References

1. Unsgaard G, Rygh OM, Selbekk T, et al. Intraoperative 3D ultrasound in neurosurgery. *Acta Neurochir.* 2006;148:235-253.
2. Ivanov M, Wilkins S, Poeata I, et al. Intraoperative Ultrasound in Neurosurgery – a Practical Guide. *British Journal of Neurosurgery.* 2010;24(5):510-517.
3. Letteboer MM, Willems PW, Viergever MA, et al. Brain shift estimation in image-guided neurosurgery using 3-D ultrasound. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2005;52:268-276.
4. Reinges MHT, Nguyen HH, Krings T, et al. Course of brain shift during microsurgical resection of supratentorial cerebral lesions: limits of conventional neuronavigation. *Acta Neurochir.* 2004;146:369-377.
5. Galearschi V. Ultrasonographic intraoperative navigation in surgical treatment of intracerebral tumors. The thesis of doctor in medicine. Chisinau, 2012;44-46.
6. Sindou M, Unsgaard G. Practical Handbook of Neurosurgery From Leading Neurosurgeons. Vien, 2009;2:407-427.
7. Dempsey RJ, Moftakhar R, Pozniak M. Intraoperative Doppler to measure cerebrovascular resistance as a guide to complete resection of arteriovenous malformations. *Neurosurgery.* 2004;55:155-160.

## Hygienic assessment of effectiveness of *Echinacea purpurea* tinctures in case of combined exposure of imidacloprid and sodium nitrate

\*O. Korotun, L. Vlasyk

Department of Hygiene and Ecology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

\*Corresponding author: elena\_korotun@mail.ru. Manuscript received February 09, 2014; accepted April 03, 2014

### Abstract

**Background:** In conditions of modern denaturated environment, one of the most important tasks of medical science is to find out the possibilities that could enlarge the adaptive-compensatory abilities of the organism. In accordance with the recent scientific data, the stability of biosystems against the action of external factors might be enhanced 1.5-2 times, only with the help of biological methods of prophylactic. The aim was to provide a hygienic evaluation of protective properties of *Echinacea purpurea* tincture in case of oral exposure of imidacloprid and sodium nitrate considering acetylation phenotype.

**Material and methods:** The experiment was conducted on 36 white male rats. Intoxication was modeled by intragastric administration of imidacloprid and sodium nitrate in the threshold doses for 28 days. Tincture of *Echinacea purpurea* was injected 1.5 hours before the introduction of toxins in a dose of 0.25 ml/kg.

**Results:** Pretreatment with a tincture of *Echinacea* leads to an improvement of some indicators of health in case of combined intoxication of imidacloprid and sodium nitrate. Changes of integral indicators (body weight, behavioral reactions) occurred later, moreover, less pronounced hypoxic syndrome, tended to normalize liver detoxication and improvement of antioxidant system were observed in the animals with the "fast" type of acetylation. The signs of improvement in antioxidant defense were found in "slow" acetylators. At the same time, growth of total protein level of blood plasma in "fast" and the increase in plasma cholesterol, as well as an upward trend in alanine transferase in "slow" acetylators were detected.

**Conclusions:** Prescription of *Echinacea purpurea* for the purpose of prevention of harmful effects of imidacloprid and sodium nitrate should be performed selectively according to the type of acetylation and functional state of the liver.

**Key words:** *Echinacea purpurea*, imidacloprid, sodium nitrate, acetylation phenotype.

## Гигиеническая оценка эффективности использования настойки эхинацеи пурпурной при комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия

### Введение

В условиях современной денатурированной окружающей среды важным заданием медицинской науки является расширение адаптационно-компенсаторных возможностей организма, определение их границ до преморбидного состояния. По данным научных исследований стойкость биосистем к внешним воздействиям можно увеличить в 1,5-2 раза, в частности, при помощи средств биологической профилактики [1]. Поэтому одним из приоритетных направлений современной гигиены является поиск средств профилактики вредного воздействия ксенобиотиков. При решении вызовов в области гигиены окружающей среды ВОЗ рекомендует использование во всех возможных случаях профилактических подходов, при особом внимании к высоковосприимчивым группам населения. [2, 3]. Важное

место среди них занимают средства биологической профилактики при помощи натуральных веществ, обладающих общеукрепляющим, антиоксидантным, адаптогенным воздействием [4]. Ранее нами было показано, что «быстрый» тип ацетилирования является биомаркером восприимчивости к токсическому влиянию таких распространенных и опасных загрязнителей как имидаклоприд (инсектицид группы неоникотиноидов) и нитрат натрия [5]. Из данных литературы известно, что настойка эхинацеи пурпурной проявляет протекторные свойства при нитратно-кадмиевой [6], кадмиевой [7], а также свинцово-нитратной [8] интоксикациях. Однако, отсутствуют данные о протекторном влиянии этого препарата при комбинированных нитратно-пестицидных интоксикациях.

Поэтому, целью работы была гигиеническая оценка протекторных свойств настойки эхинацеи пурпурной при пероральном воздействии имидаклоприда и нитрата натрия с учетом фенотипа ацетилирования.

### Материал и методы

Эксперимент проводили на 36 белых нелинейных самцах крыс. Все вмешательства проводили с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных, используемых в экспериментальных и научных целях (Страсбург, 18.03.1986 г.). Тип ацетилирования животных определяли при помощи нагрузочного теста с амидопирином. Среди как «быстрых» так и «медленных» ацетиляторов выделяли подгруппы опытных и контрольных животных. Интоксикацию моделировали путем внутрижелудочного введения имидаклоприда в дозе 50 мг/кг, что соответствует 10 NOAEL [9], и нитрата натрия в пороговой дозе 20 мг/кг ( $lim_{ch}$ ) на протяжении 28 дней. Спиртовую настойку эхинацеи пурпурной вводили за 1,5 часа до введения токсикантов в дозе 0,25 мл/кг [7]. Животным из контрольной группы вводили питьевую воду в соответствующих количествах.

Влияние токсикантов на организм оценивали, используя более 20 интегральных и биохимических показателей.

На 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента изучали функциональное состояние ЦНС по показателям поведенческих реакций (горизонтальной двигательной активности (ГДА), вертикальной двигательной активности (ВДА), норкового рефлекса (НР), эмоциональной реактивности (ЭР) и интегральной поведенческой активности (ИПА)), а также оценивали динамику изменения массы тела животных.

В плазме крови определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) унифицированным спектрофотометрическим методом, трансаминаз (аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ)) унифицированным динитрофенилгидразиновым методом Райтмана-Френкеля, концентрацию холестерина методом Илька и общего белка биуретовым методом. Концентрацию SH-групп в плазме крови определяли по методике Мешишина и Григорьевой. В цельной крови определяли концентрацию гемоглобина, а также метгемоглобина методом Горна.

Состояние прооксидантно-антиоксидантного равновесия в крови и печени животных оценивали на основе определения активности каталазы спектрофотометрически, глутатионредуктазы (ГР) по убыванию количества НАДФН, глутатионпероксидазы (ГП) по количеству окисленного глутатиона, образовавшегося из восстановленного при обезвреживании пероксида водорода в глутатионпероксидазной реакции, глутатион-S-трансферазы (Г-S-T) по накоплению конъюгата восстановленного глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом, образовавшимся в ходе реакции под действием фермента, концентрации церулоплазмينا (ЦП) – модифицированным методом Ревина, содержания малонового альдегида (МА), который определяли спектрофотометрическим методом, в основе

которого лежит образование окрашенного комплекса при реакции с тиобарбитуровой кислотой; содержания окислительно модифицированных белков (ОМБ) в плазме крови, который определяли спектрофотометрически по реакции с 2,4 - динитрофенилгидразином.

Статистическая обработка результатов проведена в пакете программ „Microsoft Excel” и „STATISTICA 6,0”, с использованием параметрических методов оценки полученных данных. Достоверность отличий значений между количественными величинами проводили по t-критерию Стьюдента. В случаях, когда количество групп сравнения превышало две, использовали поправку Бонферони. Статистически достоверными считали отличия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Масса тела животных с «быстрым» типом ацетилирования, получавших эхинацею, на 7-й день эксперимента была на 8% больше массы тела крыс, подвергшихся влиянию токсикантов, и не отличалась от показателей контрольной группы. Однако, начиная со второй недели, масса животных, получавших перед введением токсикантов настойку эхинацеи, достоверно не отличалась от массы животных, которым вводили только имидаклоприд и нитрат, и была достоверно меньше показателей контрольных животных (на 9% на 14-й, 11% на 21-й и на 7% на 28-й день) (рис. 1).

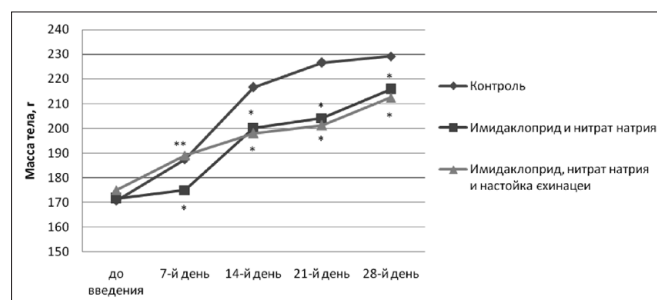
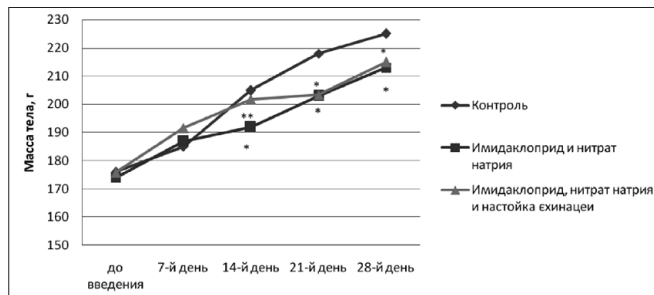


Рис. 1. Влияние настойки эхинацеи пурпурной на динамику массы тела крыс с «быстрым» типом ацетилирования в условиях комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия.

Примечание: 1. \* – достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ). 2.\*\* – достоверные изменения относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

Схожую картину наблюдали и у «медленных» ацетиляторов, однако изменения массы тела развивались позже. А именно: в течении первых двух недель введения масса животных, которым вводили настойку эхинацеи пурпурной не отличалась от показателей контрольных животных (причем, на 14-й день она была на 5% достоверно больше, чем у животных, которым вводили только токсиканты). Однако, на третьей неделе отмечалось уменьшение прироста массы (прирост массы был достоверно меньше показателей как контрольных животных, так и животных, подвергавшихся воздействию токсикантов). И начиная с третьей недели масса тела животных, которые получали

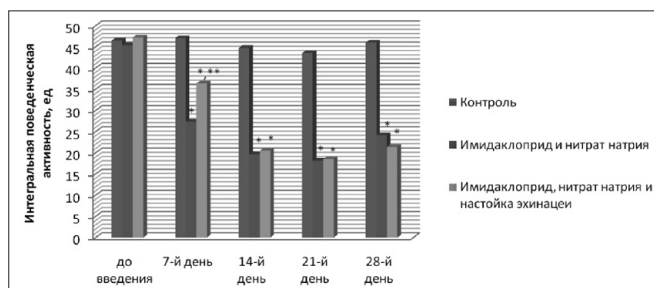
настойку эхинацеи, достоверно не отличалась от массы животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия, и была достоверно меньше контрольных показателей (на 7% и 4% на 21-й и 28-й день соответственно) (рис. 2).



**Рис. 2.** Влияние настойки эхинацеи пурпурной на динамику массы тела крыс с «медленным» типом ацетилирования в условиях комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия.

**Примечание:** 1. \* – достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ). 2. \*\* – достоверные изменения относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

При изучении поведенческих реакций у животных с «быстрым» типом ацетилирования, получавших настойку эхинацеи пурпурной, после первой недели введения ИПА была достоверно выше, чем у животных, которым вводили только имидаклоприд и нитрат натрия на 33% (за счет ГДА и НР), хотя и оставалась достоверно ниже контрольных показателей (на 23%). В дальнейшем ИПА достоверно не отличалась от показателей животных, подвергавшихся комбинированному воздействию токсикантов, и оставалась достоверно ниже контрольных значений (на 54% на 14-й, 57% на 21-й и на 54% на 28-й день исследования) до завершения эксперимента (в основном за счет угнетения ГДА и НР, значения которого были достоверно ниже показателей животных, получавших только токсиканты) (рис. 3).

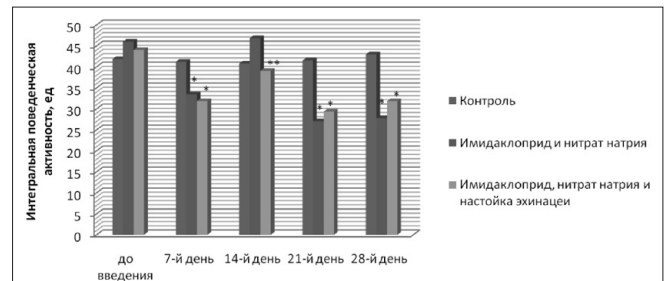


**Рис. 3.** Влияние настойки эхинацеи пурпурной на ИПА животных с «быстрым» типом ацетилирования в условиях комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия.

**Примечание:** 1. \* – достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ). 2. \*\* – достоверные изменения относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

У животных с «медленным» типом ацетилирования, которым вводили настойку эхинацеи пурпурной, ИПА на 7-й, 21-й и 28-й день эксперимента достоверно не

отличалась от показателей животных, подвергавшихся только влиянию токсикантов, и была достоверно ниже контрольных значений (на 23%, 29%, 26% соответственно). На 14-й день ИПА достоверно не отличалась от контроля и была на 17% ниже показателей животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия (рис. 4).



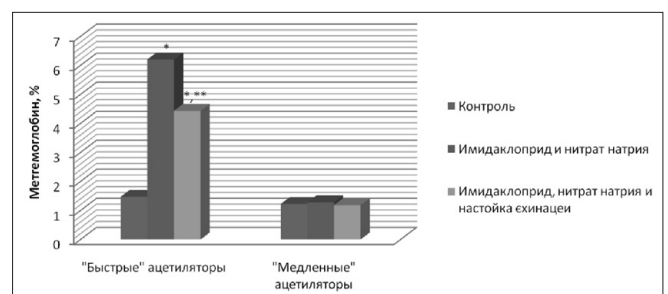
**Рис. 4.** Влияние настойки эхинацеи пурпурной на ИПА животных с «медленным» типом ацетилирования в условиях комбинированной интоксикации имидаклоприда и нитратом натрия.

**Примечание:** 1. \* – достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ). 2. \*\* – достоверные изменения относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

Угнетение ИПА у «медленных» ацетилираторов происходило за счет снижения значений всех показателей. Наибольшие изменения претерпели показатели ГДА на 7-й, 21-й и 28-й день и ВДА на 21-й и 28-й день исследования.

Уровень метгемоглобина в крови животных опытных групп с «медленным» типом ацетилирования не претерпел достоверных изменений.

У «быстрых» ацетилираторов в группе животных, которые перед введением токсикантов получали настойку эхинацеи, уровень метгемоглобина оказался достоверно ниже, чем у крыс, которым вводили только имидаклоприд и нитрат натрия на 29%, хотя и оставался втрое выше контрольных показателей (рис. 5).



**Рис. 5.** Влияние настойки эхинацеи пурпурной на уровень метгемоглобина у животных с различным типом ацетилирования в условиях комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия.

**Примечание:** 1. \* – достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ). 2. \*\* – достоверные изменения относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

Среди других биохимических показателей крови у животных с «быстрым» типом ацетилирования изменения претерпели: уровень гемоглобина, который оказался выше контрольных значений (на 22%) и не отличался



от уровня животных, которым вводили токсиканты, уровень общего белка, который вырос как относительно контроля (на 8%), так и по отношению к животным, подвергшимся воздействию имидаклоприда и нитрата натрия (на 13%). Уровень свободных SH-групп и активность ЩФ достоверно не отличались от контроля, при этом уровень свободных SH-групп был достоверно ниже (на 18%), а активность ЩФ – на 35% выше, чем в исследуемой группе сравнения (табл. 1).

У животных с «медленным» типом ацетилирования уровень гемоглобина, свободных SH-групп и активность ЩФ достоверно не отличались от обеих групп сравнения, хотя наблюдалась тенденция к нормализации этих показателей. Уровень общего белка достоверно не отличался от уровня этих показателей у животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия, но отличался от контрольных показателей (был ниже на 8%) (табл. 1).

Также изменилась активность трансаминаз крови. У животных с «быстрым» типом ацетилирования при условии введения настойки эхинацеи пурпурной, уровень АсАТ достоверно не отличался от показателей животных, подвергавшихся только влиянию токсикантов, однако не было и достоверных изменений относительно контроля.

Активность АлАТ оказалась достоверно ниже, чем у животных, которым вводили нитрат натрия и имидаклоприд (на 6%), хотя и оставалась выше контрольных показателей на 36%. Коэффициент *de Ритиса* был достоверно ниже контроля и не отличался от уровня в опытной группе сравнения.

У «медленных» ацетиляторов достоверных изменений активности трансаминаз не наблюдали, однако, за счет тенденции к росту АлАТ, коэффициент *de Ритиса* оказался достоверно ниже контрольного уровня (табл. 2).

Уровень ОМБ крови и печени «медленных» ацетиляторов не претерпел изменений. У животных с «быстрым» типом ацетилирования этот показатель не отличался от уровня животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия и был выше контрольных значений на 51% в крови и на 30% в печени (рис. 6).

Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крови животных с «быстрым» типом ацетилирования, которым вводили имидаклоприд, нитрат натрия и настойку эхинацеи пурпурной, характеризовались ростом уровня МА (на 43%), активности Г-S-T (на 56%) и угнетением ГР (на 19%) по отношению к контролю (показатели достоверно не отличались от

Таблица 1

**Влияние настойки эхинацеи пурпурной на биохимические показатели животных с различным типом ацетилирования при комбинированном воздействии имидаклоприда и нитрата натрия**

Показатели Группа животных	Гемоглобин, г/л		Общий белок, г/л		Свободные SH-группы, мкмоль/мл		Щелочная фосфатаза, Ед/л	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Контроль	112,30 ± 1,90	117,30 ± 6,30	98,00 ± 2,40	97,00 ± 2,00	0,48 ± 0,03	0,51 ± 0,01	258,77 ± 24,10	268,34 ± 24,50
Имидаклоприд и нитрат натрия	134,30 ± 3,70*	106,30 ± 3,60	94,00 ± 2,30*	87,00 ± 3,10*	0,68 ± 0,04*	0,62 ± 0,03*	204,00 ± 21,00	300,00 ± 27,00
Имидаклоприд, нитрат натрия и настойка эхинацеи	136,80 ± 7,89*	112,00 ± 5,11	106,00 ± 1,14*,**	89,67 ± 2,03*	0,56 ± 0,04**	0,55 ± 0,03	276,00 ± 24,21**	243,33 ± 22,90

**Примечание:** 1. \* – Достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ); 2. \*\* – Достоверные изменения, относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ); 3. I – «быстрые» ацетиляторы; 4. II – «медленные» ацетиляторы.

Таблица 2

**Влияние настойки эхинацеи пурпурной на активность трансаминаз крови у животных с различным типом ацетилирования**

Показатель Группа Животных	«быстрые» ацетиляторы			«медленные» ацетиляторы		
	АсАТ, мкмоль/мл·ч	АлАТ, мкмоль/мл·ч	коэффициент де Ритиса	АсАТ, мкмоль/мл·ч	АлАТ, мкмоль/мл·ч	Коэффициент де Ритиса
Контроль	0,82 ± 0,09	0,53 ± 0,01	1,55 ± 0,05	0,85 ± 0,09	0,46 ± 0,03	1,85 ± 0,05
Имидаклоприд и нитрат натрия	0,95 ± 0,09*	0,77 ± 0,02*	1,23 ± 0,09*	0,85 ± 0,05	0,52 ± 0,04	1,63 ± 0,07*
Имидаклоприд, нитрат натрия и настойка эхинацеи	0,92 ± 0,06	0,72 ± 0,01*,**	1,29 ± 0,06*	0,88 ± 0,06	0,57 ± 0,05	1,54 ± 0,08*

**Примечание:** 1. \* – Достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ); 2. \*\* – Достоверные изменения, относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

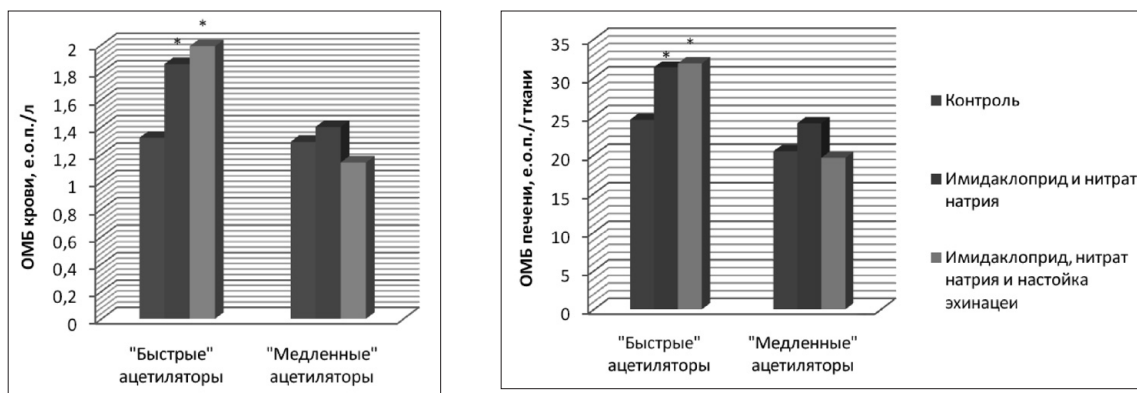


Рис. 6. Влияние настойки эхинацеи пурпурной на уровень ОМБ крови и печени животных с различным типом ацетилирования в условиях комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия.

Примечание: \* – Достоверные изменения относительно контроля (p < 0,05).

уровня в группе животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия). Активность ГП возросла, как по отношению к животным, которые подвергались воздействию токсикантов (на 34%), так и по отношению к контролю (на 11%). Активность каталазы не отличалась от обеих групп сравнения.

У «медленных» ацетиляторов активность каталазы и ГП не претерпела достоверных изменений (наблюдалась тенденция к нормализации активности каталазы). Активность ГР оказалась выше, чем в обеих группах сравнения (на 20% по отношению к животным, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия и на 80% относительно контроля). Уровень МА и активность Г-S-T не отличались от показателей животных, подвергавшихся воздействию токсикантов, соответственно активность Г-S-T была на 89% выше, а уровень МА – на 10% ниже контрольных значений (табл. 3).

В печени животных с «быстрым» типом ацетилирования активность каталазы и Г-S-T не изменились по сравнению с контролем. Соответственно активность каталазы была на 45% выше, а Г-S-T - на 22% ниже, чем у животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия. Уровень МА, активность ГП и ГР не отличались

от показателей животных, подвергавшихся воздействию токсикантов. Уровень МА был на 29% выше, а активность ГП и ГР ниже контрольных показателей (на 43% и 50% соответственно) (табл. 4).

Уровень МА, активность каталазы и ГП печени «медленных» ацетиляторов не претерпели достоверных изменений. Активность ГР и Г-S-T не отличалась от уровня животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия и была выше контрольного уровня (на 77% и 51%) соответственно (табл. 6).

Уровень церулоплазмينا в крови как «быстрых» так и «медленных» ацетиляторов достоверно не отличался от показателей контроля. Соответственно, у животных с «быстрым» типом ацетилирования он был достоверно выше (на 32%), а у животных с «медленным» типом ацетилирования – на 50% ниже чем у животных, которым вводили имидаклоприд и нитрат натрия (табл. 5).

Таким образом, предварительное введение настойки эхинацеи пурпурной в условиях подострого комбинированного воздействия имидаклоприда и нитрата натрия у животных с «быстрым» типом ацетилирования характеризовалось улучшением показателей массы тела и ИПА на начальном этапе (ВДА в течении всего экспе-

Таблица 3

Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крови животных с различным типом ацетилирования в условиях подострого комбинированного воздействия имидаклоприда и нитрата натрия, а также настойки эхинацеи пурпурной

Группа животных	Показатели		Каталаза, U		ГП, нмоль/мин-мг белка		ГР, нмоль/мин-мг белка		Г-S-T, нмоль/мин-мг белка		МА, мкмоль/л	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Контроль	11,71 ± 0,16	12,16 ± 0,16	282,81 ± 1,93	377,70 ± 1,52	2,38 ± 0,11	2,68 ± 0,25	4,50 ± 0,66	3,62 ± 0,22	17,09 ± 0,40	17,56 ± 0,28		
Имидаклоприд и нитрат натрия	10,51 ± 0,53*	9,78 ± 0,17*	233,72 ± 4,60*	374,94 ± 7,33	1,96 ± 0,10*	4,03 ± 0,20*	6,36 ± 0,62	6,24 ± 0,60*	22,67 ± 1,59*	15,05 ± 0,96*		
Имидаклоприд, нитрат натрия и настойка эхинацеи	11,54 ± 0,34	11,15 ± 0,78	313,77 ± 6,81**,	375,48 ± 3,11	1,93 ± 0,11*	4,83 ± 0,19**,	7,01 ± 0,71*	6,83 ± 0,35*	24,47 ± 0,83*	15,74 ± 0,47*		

Примечание: 1. \* – Достоверные изменения относительно контроля (p < 0,05); 2. \*\* – Достоверные изменения, относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия (p < 0,05); 3. I – «быстрые» ацетиляторы; 4. II – «медленные» ацетиляторы.

Таблица 4

Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных с различным типом ацетилирования в условиях подострого комбинированного воздействия имидаклоприда и нитрата натрия и настойки эхинацеи пурпурной

Группа животных	Каталаза, U		ГП, нмоль/мин-мг белка		ГР, нмоль/мин-мг белка		Г-S-T, нмоль/мин-мг белка		МА, мкмоль/л	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Контроль	25,06 ± 2,30	22,20 ± 1,78	305,34 ± 3,92	317,88 ± 4,40	2,08 ± 0,03	2,47 ± 0,08	23,24 ± 1,71	19,41 ± 0,87	22,14 ± 1,22	27,18 ± 0,63
Имидаклоприд и нитрат натрия	16,29 ± 0,37*	23,58 ± 2,20	193,93 ± 4,99*	325,34 ± 4,78	1,25 ± 0,12*	4,21 ± 0,08*	31,30 ± 1,34*	34,94 ± 2,97*	27,61 ± 1,37*	24,74 ± 1,94*
Имидаклоприд, нитрат натрия и настойка эхинацеи	23,66 ± 1,98**	24,91 ± 2,11	175,11 ± 10,48*	323,71 ± 1,83	1,05 ± 0,05*	4,38 ± 0,44*	24,27 ± 1,31**	29,23 ± 1,87*	28,59 ± 2,16*	29,23 ± 2,33

Примечание: 1. \* – Достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ); 2. \*\* – Достоверные изменения, относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ); 3. I – «быстрые» ацетиляторы; 4. II – «медленные» ацетиляторы.

Таблица 5

Уровень церулоплазмина крови животных с различным типом ацетилирования в условиях подострого воздействия имидаклоприда, нитрата натрия и настойки эхинацеи пурпурной

Группа животных	Церулоплазмин крови, мг/л	
	«быстрые» ацетиляторы	«медленные» ацетиляторы
Контроль	219,80 ± 20,34	231,46 ± 29,12
Имидаклоприд и нитрат натрия	208,78 ± 21,91	358,19 ± 51,90*
Имидаклоприд, нитрат натрия и настойка эхинацеи	275,80 ± 20,36**	180,85 ± 9,56**

Примечание: 1. \* – Достоверные изменения относительно контроля ( $p < 0,05$ ); 2. \*\* – Достоверные изменения, относительно группы животных, получавших имидаклоприд и нитрат натрия ( $p < 0,05$ ).

римента), уменьшением метгемоглобинемии, нормализацией уровня свободных SH-групп и активности ЩФ, незначительным уменьшением активности АЛТ крови, нормализацией показателей активности каталазы и Г-S-T печени и уровня церулоплазмина крови животных.

В то же время, введение настойки эхинацеи пурпурной не повлияло на ряд показателей (масса тела и ИПА начиная со второй недели введения, уровень гемоглобина, активность АсАТ и коэффициент  $\Gamma$  де Ритуса, уровень ОМБ крови и печени, уровень МА, активность ГР крови и печени, Г-S-T крови и ГП печени), а уровень общего белка оказался измененным даже больше, чем при комбинированном воздействии токсикантов.

У «медленных» ацетиляторов также наблюдали улучшение показателей массы тела (после второй) и ИПА (после третьей недели введения), тенденцию к нормализации биохимических показателей (уровень гемоглобина, свободных SH-групп, активность ЩФ), и активности каталазы крови, нормализацию уровня церулоплазмина крови.

Однако, введение настойки эхинацеи пурпурной не повлияло на показатели массы тела (начиная с третьей недели) и ИПА (на первых двух неделях и после завершения эксперимента), уровень общего белка, холестерина, МА крови, активность Г-S-T крови и печени, ГР печени, а также вызвало тенденцию к росту АЛТ со снижением

коэффициента де Ритуса, рост активности ГР крови у животных с «медленным» типом ацетилирования.

Следует также отметить, что осуществление гигиенической оценки протекторного влияния настойки эхинацеи пурпурной у животных с «медленным» типом ацетилирования было затруднено в силу меньшей восприимчивости данной группы животных к комбинированному воздействию имидаклоприда и нитрата натрия и, соответственно, тем, что в этой группе животных меньшее количество показателей претерпело изменения.

По данным литературы известно, что препараты эхинацеи пурпурной оказывают стимулирующее влияние на состояние ЦНС [10]. Нейропротекторные свойства и корректирующее воздействие на уровень метгемоглобина «быстрых» ацетиляторов может быть связано с наличием в составе фитопрепарата водорастворимого полисахарида эхинацин [11], который способствует синтезу эндогенных глюкокортикоидов, увеличивает образование пантотеновой кислоты – основной составляющей ацетил-КоА [12]. Данный субстрат необходим для образования N-ацетилтрансферазы. Возможно, у животных с «быстрым» типом ацетилирования этот процесс происходил более интенсивно.

Положительное влияние настойки эхинацеи пурпурной, вероятно, также заключается в том, что это средство блокирует движение электронов-«беглецов» из дыхатель-

ной цепи митохондрий и микросомальной монооксигеназной системы печени, которые являются главными продуцентами супероксидного анион-радикала. Это, в свою очередь, приводит к уменьшению образования продуктов эндогенной интоксикации и липопероксидов и их конечного продукта – МА.

Таким образом, протекторные свойства настойки эхинацеи при комбинированном воздействии имидаклоприда и нитрата натрия заключаются в мембраностабилизирующем и антиоксидантном эффектах этого растительного препарата [4, 13, 14]. Антиоксидантное действие эхинацеи пурпурной реализуется как путем торможения скорости перекисного окисления эндогенных липидов, так и путем активации антиоксидантных систем защиты. Это может быть обусловлено вхождением в состав препарата биофлавоноидов, полифенолов, алкалоидов, ненасыщенных жирных кислот, кофейной кислоты, кератиноидов, витаминов С и Е, макро- и микроэлементов, в частности, селена и цинка, которые являются необходимой составляющей антиоксидантных ферментов [11]. Благодаря этому укрепляется структура клеточных мембран, а это, в свою очередь, способствует их защите от разрушения свободными радикалами. Кроме того, при воздействии вышеуказанных компонентов происходит активация пентозомонофосфатного цикла, что приводит к генерации восстановленных нуклеотидов, которые необходимы для оптимального функционирования системы глутатиона, метгемоглобин-редуктаз, ферментов цикла Кребса, синтеза белка и ДНК [11, 12]. При этом уменьшаются проявления тканевой гипоксии, улучшается энергетическое обеспечение клеток, укрепляется структура клеточных мембран, происходит нормализация обменных процессов как на клеточном, так и на органном уровнях.

### Выводы

1. Предварительное применение спиртовой настойки эхинацеи пурпурной в условиях подострой комбинированной интоксикации имидаклопридом и нитратом натрия приводит к улучшению ряда показателей. Изменения интегральных показателей (масса тела и поведенческие реакции) происходят позже у животных как с «быстрым» так и с «медленным» типом ацетилирования, кроме того, у животных с «быстрым» типом ацетилирования наблюдается менее выраженный гипоксический синдром (за счет уменьшения метгемоглобинемии), тенденция к нормализации детоксикационной функции печени (по показателям уровня АлАТ, ЩФ и свободных SH-групп) и улучшения состояния антиоксидантной системы организма (что проявлялось ростом активности ГП крови, нормализацией уровня каталазы крови и печени, Г-S-T печени, ростом уровня церулоплазмينا крови).

2. У «медленных» ацетиляторов наблюдаются признаки улучшения системы антиоксидантной защиты (тенденция к нормализации активности каталазы, повышение активности ГР крови).

3. В то же время, обнаруживается рост уровня обще-

го белка плазмы крови у «быстрых» и рост уровня холестерина плазмы, а также тенденция к росту АлАТ у «медленных» ацетиляторов.

4. Исходя из вышеизложенного, назначение эхинацеи пурпурной с целью биопротекции вредного воздействия имидаклоприда и нитрата натрия должно проводиться избирательно с учетом типа ацетилирования и функционального состояния печени.

### References

- Serdyuk AM. Ekologichna bezpeka: higienichnyy poglyad cherez roky [Ecological safety: hygienic look over years]. *Medychni perspektyvy [Medical perspectives]*. 2007;4:4-7.
- Kuchak YA. Teoretychne vyryvnyuvannya pokaznyka sytuatsynogo ryzyku nebezpeky obsyagiv schodo zastosuvannya pestytsydiv [Theoretical alignment situational risk indicator of danger volumes for the application of pesticides]. *Sovremennyye problemy toksikologii [Modern Problems of Toxicology]*. 2007;2:50-51.
- Health for all Targets: the Health Policy for Europe. WHO. Regional Office for Europe. Copenhagen, 1993:228.
- Chekman IS. Kliniko-farmakologichni vlastyivosti ehinacei [Clinical and pharmacological properties of Echinacea]. *Liky [Medicines]*. 2001;3:25-26.
- Korotun OP, Vlasyk LI. Gigienichna ocinka biomarkeriv efektu ta shlylnosti za umov kombinovanoi ta izolovanoi dii nitratu natriyu ta imidaklopridu [Hygienic evaluation of biomarkers of effect and susceptibility in case of combined and isolated exposure of sodium nitrate and imidacloprid]. *Gigiena naselenyh misc [Hygiene of populated places]*. 2007;49:109-114.
- Kmet TI, Vlasyk LI. Nitratno-kadmieva intoksykaciya u tvaryn ta protekturnyy vplyv nastoyanky ehinacei purpurovoi [Nitrate-cadmium intoxication in animals and the protective effect of tincture of Echinacea purpurea]. *Problemy harchuvannya [Problems of nutrition]*. 2004;3:41-45.
- Deyneka SE. Koryguuyuchy vplyv ehinacei purpurovoi na funktsionalny stan nervovoi systemy za umov eksperymentalnoi kadmievoi intoksykacii [Corrective action of Echinacea purpurea on the functional state of the nervous system in experimental cadmium intoxication]. *Visnyk problem biologiyi ta medycyny [Messenger of problems in biology and medicine]*. 1999;15:19-21.
- Yanchuk VV, Vlasyk LI. Protekturna rol nastoyanky ekhinatsei purpurovoi za umov izolovannoy ta kombinovannoy nitratno-svintsevoy intoksykatsii u tvarin riznogo viku [Protective effect of tincture of Echinacea purpurea in case of isolated and combined nitrate and lead intoxication in animals of different ages]. *Bukovynskiy medychnyy visnyk [Bukovinian medical Messenger]*. 2002;4:14-21.
- RTECS: Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio (Internet Version). MICROMEDEX, Greenwood Village, 2001.
- Facino RM, Carini, G. Aldini Echinacoside and caffeoyl conjugates protect collagen from free radical-induced degradation: a potential use of Echinacea extracts in the preparation of skin protodamage. *J. Planta Med.* 1995;61(6):510-514.
- Samorodov VN. Fitohimicheskiy sostav predstavitelej roda ehinacea (*Echinacea Moench.*) i ego farmakologicheskie svoystva (obzor) [Phytochemical composition of the genus Echinacea (*Echinacea Moench.*) and its pharmacological properties (review)]. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal [Pharmaceutical Chemistry Journal]*. 1996;30(4):32-37.
- Voronina LM, Denysenko VF, Madievska NM, et al. Biologichna himiya [Biological Chemistry]. Kharkiv: Osnova, 2000;608.
- Gerush IV, Meschishen IF. Vplyv spyrtovoi nastoyanky ehinacei purpurovoi na stan antyoksydantnoi systemy pechinky pry eksperymentalnomu erozyvno-vyrazkovomu urazhenni gastroduodenalnoi zony [Effect of alcohol tinctures of Echinacea purpurea on antioxidant status of liver in experimental erosive and ulcerative lesions of the gastroduodenal area]. *Farmakologichnyy visnyk [Messenger of pharmacology]*. 1998;5:34-37.
- Yakovleva IY, Voytenko GM, Baraboy VA. Vplyv preparativ ehinacei purpurovoi na perekysne oksylennyya lipidiv i stan glutationovoi systemy [Effect of Echinacea purpurea on lipid peroxidation and the status of glutathione system]. *Fitoterapiya v Ukraini [Herbal medicine in Ukraine]*. 1999;3-4:28-30.

## Macro- and microscopic structural changes of the stomach by the action of gravity overload and protection from it in the experiment

\*G. R. Adjisaliev<sup>1</sup>, A. P. Rostovschikov<sup>2</sup>, A. Ya. Bekirov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Topographic Anatomy and Operative Surgery  
S. I. Georgievsky Crimea State Medical University, Simferopol, Ukraine

<sup>2</sup>Department of Anesthesiology and Intensive Therapy, Territorial Medical Association of Simferopol District, Ukraine

\*Corresponding author: guliver75@yandex.ru. Manuscript received February 28, 2014; accepted April 05, 2014

### Abstract

**Background:** We studied changes in the stomachs of adult rats under long-term gravitational overload and under protection from it.

**Material and methods:** The research was performed on 24 adult Wistar rats. The first group was the control one. The second one was exposed to gravitational overloads. The third group consisted of the animals under physical protection. The fourth group included animals which were under combined protection. Organometric and morphometric analysis included research of main structural units of stomach.

**Results:** The second group had swollen loops of intestine. Serosa was dim. Vessels were dilated. Surface epithelium desquamated focally. The thickness of the gastric mucosa increased. The depth of the gastric pits was lesser. Chief cells were increased in their number. Many parietal cells were deformed, had vacuolated cytoplasm and hyperchromatic nuclei. Their number was at the reference value. The number of endocrine cells decreased. The third group had evenly inflated loops of intestine. Serosa was shiny. Mesenteric vessels somewhat expanded. The depth of the gastric pits was lesser. Chief cells had different shapes, seals and basophilic cytoplasm. The number of main and endocrine cells increased. All cells' parameters decreased. Thus studied stomach's parameters in fourth group changed a little and slightly. In this follow-up of the structure of stomach's fundic glands have been saved. The number of chief cells increased. The number of parietal cells changed insignificantly.

**Conclusions:** Long-term gravitational overloads cause considerable changes in the macroscopic picture, and organo-cytometric parameters in stomach of adult rats. The usage of the methods of protection negates the macro- and microscopic structural changes of the stomach caused by gravitational overloads. Changes in the studied parameters were less pronounced in case of the combined method.

**Key words:** morphometry, stomach, hypergravity, immersion method, Glutargin, microscopy.

## Макро- и микроскопические структурные изменения желудка при действии гравитационных перегрузок и защите от них в эксперименте

### Введение

Ускорение является первым физическим фактором, с которого начинается любой авиа- или космический полет [1, 2]. В информационных источниках имеется достаточное количество работ о влиянии гипергравитации на органы желудочно-кишечного тракта [3] однако, большинство из них посвящены физиологическим изменениям в указанных органах. В доступной литературе мы не встретили комплексных исследований морфометрических показателей желудка экспериментальных животных при действии гравитационных перегрузок и при защите от них, кроме тех, которые были проведены нами [4].

**Цель:** оценить возможные изменения макроскопической картины, органо- и цитометрических показателей желудка половозрелых крыс в результате воздействия значительного по величине, продолжительности и скорости нарастания-спада гравитационных перегрузок, а также при защите от них.

### Материал и методы

Исследование проведено на 24 половозрелых крысах линии Вистар, которые были разделены на 4 группы (по 6 в каждой). В первую группу (контрольную) вошли животные, которые находились в стандартных условиях вивария [5]. Во вторую группу мы включили животных, подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок, которые создавали при помощи экспериментальной

центрифуги ЦЕ-2/500 с радиусом 0,5 м и рабочим диапазоном от 1 до 50 g. Направление действия гипергравитации – поперечное (бок в бок). Величина перегрузки составляла 9g, градиент нарастания – 1,4-1,6 g/c, спада – 0,6-0,8 g/c [6]. Время экспозиции составляло 10 минут. Перегрузки моделировали в виде трех временных промежутков длительностью 3 минуты каждый, с интервалом между ними в 30 сек. Эксперимент проводился ежедневно в одно и то же время в течение 30 дней.

В третью группу вошли животные, подвергавшиеся воздействию идентичных перегрузок, но находились в условиях предлагаемой нами физической защиты. За прототип физической защиты взят, так называемый, иммерсионный способ физической защиты биологических объектов при воздействии гравитационных перегрузок, который заключается в погружении животных в жидкую среду [7].

Четвертую группу составили животные, подвергавшиеся воздействию идентичных перегрузок и находящиеся в условиях физической защиты в сочетании с фармакологической коррекцией. Последнюю осуществляли препаратом «Глутаргин» отечественного производства (фармацевтическая компания «Здоровье», г. Харьков) в дозе 100 мг/кг парентерально, 1 раз в сутки в течение всего эксперимента. По химическому составу данный препарат является солью L-аргинина и глутаминовой кислоты, основным действием которого является улучшение

энергетического обмена клеток, оказывает антигипоксическое, антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие [8].

Эксперимент на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [9]. По истечении срока эксперимента (30 дней) животных умертвляли методом декапитации под эфирным наркозом. После вскрытия грудной и брюшной полостей осматривали органы желудочно-кишечного тракта снаружи. При этом, обращали внимание на цвет, степень вздутия желудка и петель кишечника, наличие субсерозных кровоизлияний.

Программа органометрии включала измерения длины желудка малой (Lm) и большой кривизной (Lб), расстояния между большой и малой кривизной (Lмб) на уровне впадения пищевода. Материал из фундальной части желудка фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Гистологические срезы выполняли предложенным нами способом [10]. Для проведения морфометрических исследований срезы окрашивали гематоксилином и эозином, или резорцин-фуксином с прокрашиванием ядер фуксинсернистой кислотой. Выявление аргирофильных эндокринных клеток проводили методом импрегнации серебром с метенамином серебра (по Гомори-Бартнеру).

Морфометрический анализ включал: измерения толщины слизистой оболочки желудка (СОЖ) и глубины желудочных ямок (ЖЯ), подсчет количества главных клеток (ГК) и париетальных (ПК) клеток на единицу фундальных желез (ФЖ) СОЖ, определение количества аргирофильных эндокринных клеток (АЭК) на единицу плоскости, равную  $7,35 \times 10^{-8} \text{ м}^2$  в слизистой оболочке фундального отдела желудка, измерения площади сечения (S) и диаметра (D) главных и париетальных клеток, измерения площади (Sn) и диаметра (Dn) ядер ГК, ПК и АЭК. Морфометрический анализ микроструктур гистологических препаратов проводился в 6 полях зрения тестовой площади на аппаратно-программном комплексе, состоящем из микроскопа «Olympus»-CX31 с объективами Plan 10x/0,25, Plan 40x/0,65 и Plan 100x/1,25 Oil, цифровой видеокамеры «Olympus» С 5050 ZOOM и компьютера Celeron (R) с CPU 2,40 ГГц.

Вычисляли среднюю арифметическую X (или p при альтернативной изменчивости), стандартную ошибку средней арифметической Sx и критерия достоверности t для оценки достоверности различий между средними арифметическими (уровень достоверности  $p < 0,05$ ).

### Результаты и их обсуждение

При макроскопическом исследовании органов ЖКТ половозрелых животных, подвергавшихся действию гипергравитации 30 дней, наблюдалась равномерная раздутость петель тонкой и толстой кишок. Серозная оболочка была тусклой, сосуды желудка и брыжейки – расширены. При этом показатели желудка менялись следующим об-

разом: Lm увеличилась на 13,06% ( $p < 0,05$ ), Lв – на 6,29% ( $p > 0,05$ ), а Lмв уменьшилась на 2,39% ( $p > 0,05$ ) (рис. 1).

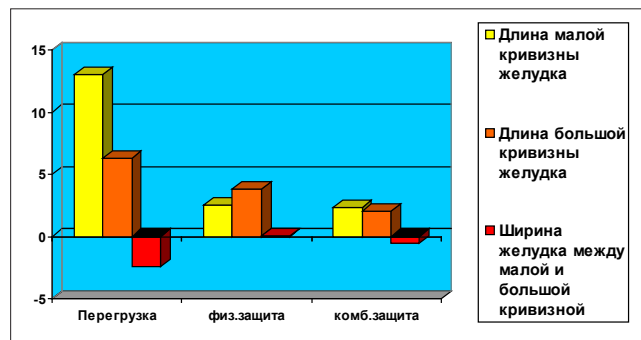


Рис. 1. Органометрические показатели желудка половозрелых крыс различных экспериментальных групп в сравнении с контролем (в %).

Поверхностный эпителий был частично десквамирован. Толщина СОЖ увеличилась до  $520,05 \pm 8,02 \text{ мкм}$  по сравнению с  $432,27 \pm 10,90 \text{ мкм}$  в контроле, что в процентном отношении составило 20,52% ( $p < 0,05$ ). Глубина ЖЯ была меньше показателя контрольной группы животных на 11,89%. В СОЖ выявлялись железы с изменениями структуры, как ГК, так и ПК, при этом имела место деформация ГК. При идентификации главных glandулоцитов отмечено увеличение их количества на 5,8% ( $p > 0,05$ ) до  $33,52 \pm 1,61$  на единицу ФЖ ( $p > 0,05$ ) (рис. 2), S их на 9,86% ( $p > 0,05$ ) и D клеток – на 4,79% ( $p > 0,05$ ), Sn – на 4,42% ( $p > 0,05$ ), Dn – на 2,35% ( $p > 0,05$ ) по сравнению с контролем. Многие ПК были деформированы, имели вакуолизированную цитоплазму и гиперхромные ядра. Количество их на единицу ФЖ была на уровне контрольного значения.

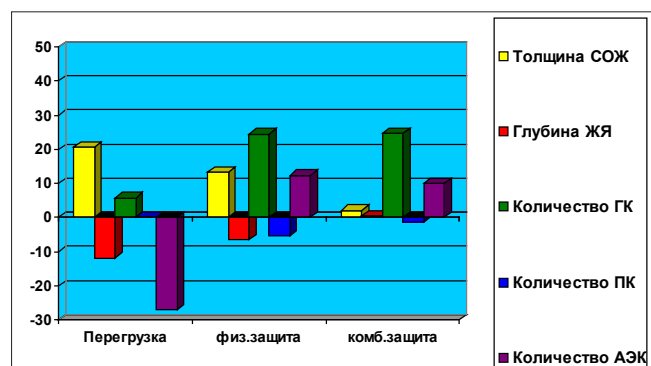


Рис. 2. Показатели СОЖ половозрелых крыс различных экспериментальных групп в сравнении с контролем (в %).

Морфометрия ПК показала увеличение S клеток на 15,88% до  $164,63 \pm 4,83 \text{ мкм}^2$  ( $p < 0,05$ ), D клеток – на 7,62% до  $14,48 \pm 0,21 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ), Sn – на 69,27% до  $36,56 \pm 2,37 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ), Dn – на 29,96% до  $6,81 \pm 0,22 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ). Количество АЭК на тестовую площадь равнялась  $6,76 \pm 0,29$ , что на 27,08% ( $p < 0,05$ ) меньше, чем в контрольной группе. При этом все их показатели уменьшились по сравнению с контролем: S и D этих клеток на 20,61% ( $p < 0,05$ ) и 10,75% ( $p < 0,05$ ), составляя

24,33 ± 1,15 мкм<sup>2</sup> и 5,56 ± 0,13 мкм соответственно, а Sn и Dn – на 20,63% (p < 0,05) и 11,17% (p < 0,05), составляя 10,44 ± 0,96 мкм<sup>2</sup> и 3,63 ± 0,16 мкм соответственно (табл. 1).

При исследовании *ad oculus* органов ЖКТ половозрелых животных, которых подвергали воздействию гипергравитации в условиях физической защиты 30 дней, наблюдалась равномерная раздутость петель тонкой и толстой кишок. Серозная оболочка была блестящей, сосуды желудка и брыжейки кишки несколько расширены. При этом показатели желудка увеличились незначительно: Lm – на 0,60% (p > 0,05), Lv – на 1,27% (p > 0,05), Lmv – на 7,93% (p > 0,05) (рис. 1).

В этой группе животных структура ФЖ СОЖ была сохранена. Толщина СОЖ увеличилась до 489,39 ± 23,58 мкм по сравнению с 432,27 ± 10,90 мкм в контроле, что в процентном отношении составило 13,21% (p < 0,05) (рис. 2). Глубина ЖЯ была меньше показателя контрольной группы животных на 6,45% (p > 0,05). ГК имели различную форму, уплотненную и базофильную цитоплазму. Ядра их выглядели гиперхромными. Количество ГК составляло 39,44 ± 1,65 на единицу ФЖ, что превышало контрольные показатели на 24,49% (p < 0,05) (рис. 2). S их увеличилась на 19,39% (p < 0,05) и D клеток – на 9,18% (p < 0,05), Sn – на 2,93% (p > 0,05), Dn – на 1,71% (p > 0,05) по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1

**Кариоцитометрические показатели клеток СОЖ половозрелых крыс различных экспериментальных групп в сравнении с контролем (в %)**

Группа / Показатель	Перегрузка	Физическая защита	Комбинированная защита
Sn ГК	4,42	2,93	6,47
S ГК	9,86	19,39	36,77
Dn ГК	2,35	1,71	3,5
D ГК	4,79	9,18	16,78
Sn ПК	69,27	-13,26	-14,13
S ПК	15,88	9,59	6,67
Dn ПК	29,96	-6,9	-7,7
D ПК	7,62	4,62	3,26
Sn АЭК	-20,63	-20,73	-10,77
S АЭК	-20,61	-8,82	-7,74
Dn АЭК	-11,17	-11,25	-5,82
D АЭК	-10,75	-4,44	-3,91

Количество ПК составляло 22,37 ± 0,98 на ФЖ (рис. 2). S и D были равны 155,7 ± 6,31 мкм<sup>2</sup> и 14,07 ± 0,28 мкм соответственно, что было незначительно (p > 0,05) больше по сравнению с контрольными значениями. Sn и Dn составляли 18,74 ± 0,99 мкм<sup>2</sup> и 4,88 ± 0,13 мкм. Количество АЭК на тестовую площадь равнялось 10,42 ± 0,35, что на 12,42% (p > 0,05) больше, чем в контрольной группе (рис. 2). При этом все клеточные показатели уменьшились по сравнению с контролем: S и D этих клеток на 8,81%

(p < 0,05) и 4,44% (p < 0,05), составляя 27,94 ± 1,82 мкм<sup>2</sup> и 5,95 ± 0,19 мкм соответственно, а Sn и Dn – на 20,73% и 11,25%, составляя 10,43 ± 0,93 мкм<sup>2</sup> и 3,63 ± 0,16 мкм (табл. 1).

При исследовании *ad oculus* органов ЖКТ половозрелых животных, которых подвергали воздействию гипергравитации в условиях комбинированной защиты в течение 30 дней, макроскопическая картина мало отличалась от предыдущей группы. При этом изучаемые показатели желудка изменились незначительно и достоверно по сравнению с контрольными показателями. На этом сроке наблюдения структура ФЖ СОЖ была сохранена. Имело место сглаживание ЖЯ. Толщина СОЖ и глубина ЖЯ изменились недостоверно по сравнению с контрольными показателями (рис. 1).

Нижняя половина тела и дна желез состояла из ГК, среди которых довольно часто встречались двухядерные клетки. Среди ГК в небольшом количестве наблюдались и ПК, которые были расположены поодиночке или группами. Верхняя половина желез состояла из ПК. Они были меньше по размерам, чем ПК в области дна желез. Количество ГК равнялась 39,52 ± 1,85 на единицу ФЖ, что превышало контрольные показатели на 24,73% (p < 0,05) (рис. 2). S их увеличилась на 36,77% (p < 0,05) и D клеток на 16,78% (p < 0,05), Sn на 6,47% (p > 0,05), Dn – 3,50% (p > 0,05) по сравнению с контролем. Количество ПК изменилось недостоверно по сравнению с контролем, и составила 23,35 ± 1,08 на железу. Все исследуемые показатели ПК изменились незначительно и недостоверно (p > 0,05) по сравнению с контрольными значениями. Количество АЭК на тестовую площадь равнялась 10,19 ± 0,37, что на 9,94% (p > 0,05) больше, чем в контрольной группе. При этом все клеточные показатели уменьшились незначительно и недостоверно (p > 0,05) по сравнению с контрольными значениями (табл. 1).

### Выводы

1. Длительные гравитационные перегрузки вызывают выраженные изменения макроскопической картины, органо- и цитометрических показателей желудка половозрелых крыс.
2. Используемые в эксперименте способы защиты нивелируют макро- и микроскопические структурные изменения желудка, вызываемые гравитационными перегрузками.
3. Изменения исследуемых показателей, менее выражены при использовании комбинированного способа по сравнению с физической защитой.

### References

1. Vasilev PV, Kotovskaya AR. Dlitelnye lineynye i radialnye uskoreniya [Long-term line and radial acceleration]. *Osnovy kosmicheskoy biologii i meditsiny [Fundamentals of Space Biology and Medicine]*. 1975;1:177-231.
2. Khomenko MN, Vartbaronov RA, Buhtiyarov IV. Meditsinskoe obespechenie i psikhofiziologicheskaya podgotovka lyotchikov k polyotam na vysokomanevrennykh samolyotakh [Medical support and psychophysiological training of pilots to fly on highly maneuverable aircrafts].

- Voenno-meditsinskiy zhurnal [Military Medical Journal]*. 2000;10:56-61.
3. Smirnov KV, Ugolev AM. Kosmicheskaya gastroenterologiya. Trofologicheskie ocherki [The space gastroenterology. Trophological essays]. 1981;277.
  4. Pikalyuk VS, Adjisaliyev GR. Morfometricheskie pokazateli zheludka polovozrelykh krysv pri vozdeystvii gravitatsionnykh peregruzok i pri zashhite ot nikh [Morphometric parameters adult rat's stomach under expose of gravitational overloads and protection from them]. *Morfologiya [Morphology]*. 2008;2(1):22-28.
  5. Kozhemyakin YuM, Khromov OS, Filonenko MA, et al. Naukovo-praktychny rekomendatsii z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical recommendations for keeping of laboratory animals and working with them]. 2002;155.
  6. Ponomarenko VA. Mediko-psikhologicheskie problemy deyatelnosti lyotchika v vysokomanevrennom polyote [Medical and psychological problems of the pilot activities in highly maneuverable flight]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine]*. 2001;35(2):22-26.
  7. Adjisaliyev GR. Statisticheskiy analiz vliyaniya gravitatsionnykh peregruzok i metodov ikh korrektsii na nekotorye pokazateli zheludka polovozrelykh krysv v eksperimente [Statistic analysis of the gravitational overloads' influence and methods of their correction on some indicators of the adult rats' stomach in the experiment.]. *Visnik morfologii [Reports of morphology]*. 2010;16(2):247-250.
  8. Babak OYa. Glutargin – farmakologicheskoe deystvie i klinicheskoe primenenie [Glutargin – pharmacological effects and clinical application]. 2005;455.
  9. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. 1986;52.
  10. Dyachenko OP, Adjisaliyev GR, Chalbash DA. Sposib fiksatsii gistologichnykh blokiv dlya vygotovlennya bahatoploschynnykh zriziv mozochka [The method of histological blocks fixation for making of multiplanar cerebellum sections]. *Tavrycheskiy medyko-biologicheskii vestnik [Taurida medicobiological messenger]*. 2009;12(4-48):235-237.

## The investigation of the influence of Propes on phenotypic and functional characteristics of human and animal immunocompetent cells

V. V. Zakharenko

Department of Oncopharmacology, Institute of Pharmacology and Toxicology  
National Academy of Medical Sciences, Kiev, Ukraine

Corresponding author: mono2004@mail.ru. Manuscript received March 06, 2014, accepted April 05, 2014

### Abstract

**Background:** The aim of the study is the investigation of the factors of innate immunity and formation of specific immune reactions in rats (antibody forming and formation of delayed hyperresponsivene reactions) after Propes (an extract of a bovine fetus liver) usage.

**Material and methods:** In the study we used CBA mice and white rats. Propes was used in dose 90 mg/kg subcutaneously for 10 days. On the 5<sup>th</sup> day after immunization by sheep erythrocytes in spleen of animals were evaluated antibody-forming cells using Jerne-Nordin technic, was haemagglutinin content, studied using simple haemagglutination technic in serum. Hyperresponsivene reactions were carried out using E. V. Gulling and M. B. Sambur method.

**Results:** It was found out that Propes doesn't exert an activity of factors innate immunity, doesn't decrease natural cell-mediated cytotoxicity against metabolically low-level target cells. Propes exerts immunomodulating activity towards regulatory and effector cells of immune system, increases T-killers/ helpers in mouse spleen, increases activity of NK-cells in mouse spleen and human blood. The drug suppresses primary humoral immune response on xenograft erythrocytes and immune hyperresponsiveness reactions. It has the influence on high proliferating systems and has immunomodulating properties, which depends on the time of administration and dosage regimen.

**Conclusions:** Immunomodulatory properties of Propes have ability to change the level of antigen differentiation of lymphoid organs and blood cells of experimental animals and humans, especially towards proliferative processes, regulates humoral and cell immune response. It doesn't exert the negative influence on cellular factors of innate immune response.

**Key words:** Propes, immune system, immunocompetent cells, phenotypic and functional characteristics.

## Исследование влияния Пропеса на фенотипические и функциональные характеристики иммунокомпетентных клеток животных и человека

### Введение

Учеными сформулировано представление о сравнительно новом классе информативных молекул – цитомединов, которые относятся к щелочным полипептидам, имеют молекулярную массу от 1000 до 10000 Д, обладают способностью индуцировать процессы специфической дифференцировки клеток. Применение цитомединов способствует восстановлению и сохранению регуляторных механизмов синтеза необходимых белковых

субстратов, что приводит к нормализации гомеостаза и повышению интенсивности защитных функций организма [1, 2].

Известно, что вещества природного происхождения оказывают цитостатический эффект за счет наличия в их составе малых активных молекул или непосредственно, влияя на иммунную систему, процессы воспаления, другие общие реакции организма [3-6].

Пропес – оригинальный препарат животного про-



исхождения (экстракт из эмбриональной печени крупного рогатого скота). В основу способа его получения положен строго детерминированный протеолиз белковых составляющих эмбриональных тканей. Пропес не является традиционным цитостатиком. Препарат содержит низкомолекулярные пептиды, активно подавляет процессы злокачественной пролиферации, не угнетая нормальные пролиферативные процессы. Пропес применяют в качестве препарата сопровождения при лечении злокачественных новообразований [7-11]. В представленной работе уделено внимание фенотипическим и функциональным процессам иммунной системы животных и человека под влиянием Пропеса.

### Материал и методы

В экспериментах использованы мыши самцы линии СВА и белые нелинейные крысы, которые содержались на стандартном рационе вивария в условиях свободного доступа к воде.

Пропес вводили животным подкожно в дозе 90 мг/кг, ежедневно в течение 10 суток.

Забор крови у мышей СВА осуществляли из ретро-орбитального пространства. Клеточную взвесь из-под надрезанной капсулы селезенки выдавливали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Для прямой иммунофлуоресценции использовали моноклональные антитела фирмы Becton Dickinson (США).

В экспериментах *in vitro* с культурой клеток человека использовали тест-панели Simultest, содержащие два-три вида моноклональных антител, меченных двумя различными флуорохромами со свечением в зеленой (FITC) и красной (PE) частях видимого света: двухцветное зондирование лимфоидных клеток осуществляли, обрабатывая пробы лимфоцитов двумя видами антител Leu 19 (CD56) – NK-клетки + Anti-Inter-leukin-2 Receptor (CD25) – экспрессия рецепторов к интерлейкину-2 на активированных клетках, а также комбинацию CD8 (Т-киллеры/супрессоры) anti-Leu23 (CD69) – антиген ранней активации Т-клеток, В-клеток и NK-клеток. Используемые тест-системы являются высокочувствительным инструментом для анализа механизмов действия иммуномодуляторов и их активности.

Определение числа клеток, экспрессирующих те или иные дифференцированные антигены, осуществляли на лазерных проточных цитофлуориметрах FACStar plus или FACScan (Becton Dickinson, США). Результаты обрабатывали в программах FACScan или Consort30, позволяющих выявить распределение клеток по гистограммам или форме dot plot.

Линию опухолевых клеток УАС-1 (H-2<sup>a</sup>), чувствительных к NK-клеткам мышей, поддерживали в среде RPMI-1640 с 10% ЭТС при 37°C в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (LKB, Швеция).

Клетки-мишени УАС-1 (H-2<sup>a</sup>) метили в среде RPMI-1640 (Flow Labs), содержащей 200μCiNa<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub> в течение 1 ч при 37 °C, после чего трижды отмывали в среде

RPMI-1640 с 10% эмбриональной телячьей сывороткой для удаления свободной радиоактивности.

Антителообразующие клетки (АОК) определяли в селезенке мышей СВА на 5 сутки после иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) методом локального гемолиза в геле по Jerne-Nordin [12, 13]. Содержание гемагглютининов в сыворотке крови исследовали в реакции простой гемагглютинации [14]. Реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у мышей линии СВА воспроизводили по методу Э. В. Гюллинга и М. Б. Самбур [15].

Активность ЕЦК крови была исследована у животных в отношении метаболически малоактивных клеток-мишеней, эритроцитов цыплят (ЭЦ) согласно рекомендациям О. Ф. Мельникова и Т. А. Заяц [16], используя соотношение эффектор/мишень 5:1. Степень разрушения ЭЦ определяли спектрофотометрически на ридере Stat FAX 2100 (США).

Лейкоциты человека выделяли из свежеполученной гепаринизированной крови доноров в градиенте плотности фиколл-уротраста (Pharmacia, Швеция). Клетки трижды отмывали холодным фосфатно-солевым буфером с 5% сыворотки крови человека АВ (IV) группы крови, после чего доводили до концентрации 5•10<sup>6</sup> кл/мкл в среде RPMI-1640 (Flow Labs, UK) с 10% сывороткой человека.

Результаты обработаны статистически с применением непараметрического критерия U Вилкоксона-Манна-Уитни и метода углового преобразования Фишера (критерия φ) [17].

### Результаты исследований

Двухцветный проточно-цитофлуориметрический анализ показал, что введение мышам линии СВА Пропеса приводило к выраженному увеличению процентного количества Lyt-2-позитивных клеток среди спленоцитов. Пропес несколько увеличивал число Lyt-2<sup>+</sup>-клеток и среди лимфоцитов периферической крови. Отмечалось незначительное, но достоверное снижение Thy-1<sup>+</sup>-клеток, но не Lyt-1<sup>+</sup>-клеток в периферической крови. Колебания в количестве других иммунокомпетентных клеток были недостоверны.

Пропес резко увеличивал долю Т-киллеров/супрессоров среди лимфоцитов селезенки в то время как в периферической крови наблюдалась лишь тенденция к увеличению. Незначительное снижение общей популяции Т-лимфоцитов (Thy-1<sup>+</sup>-клеток) свидетельствует о возможных путях изменения дифференцировки среди иммунокомпетентных клеток, происходящих под влиянием Пропеса с очевидным перераспределением в сторону Т-киллеров/супрессоров (табл. 1, 2).

Трехкратное введение Пропеса приводило к выраженной активации цитолитической активности NK-клеток селезенки мышей против клеток-мишеней УАС-1 в соотношении эффектор/мишень 40:1 и 10:1. Способность Пропеса стимулировать натуральные киллеры продемонстрирована как прямыми функциональными

Таблица 1

Влияние Пропеса на количество популяций и субпопуляций лимфоидных клеток у мышей СВА ( $M \pm m$ )

Популяции и субпопуляции лимфоидных клеток	Группы экспериментов		Изменения по отношению к контрольной группе, %
	Контроль	Опыт	
Thy-1-B1	17,250 ± 0,231	15,967 ± 0,433	16,0
Thy-1-Spl	17,563 ± 0,236	9,183 ± 0,953*	11,2
Lyt-1-B1	16,300 ± 0,433	16,233 ± 0,344	16,4
Lyt-1-Spl	8,067 ± 0,291	11,233 ± 1,045*	13,5
Lyt-2-B1	6,800 ± 0,350	8,417 ± 0,635	7,7
Lyt-2-Spl	3,600 ± 0,361	6,400 ± 0,799*	3,9
L3T4-B1	10,363 ± 0,303	11,717 ± 0,457	12,7
L3T4-Spl	7,350 ± 0,311	7,517 ± 0,291	8,1

Примечание: Результаты выражены в процентах позитивных клеток; \* - достоверно по отношению к контрольной группе животных.

тестами, так и опосредовано демонстрацией экспрессии активационных антигенов. Как НК-клетки животных, так и НК-клетки человека активировались Пропесом.

Установлено, что введение Пропеса существенно не влияло на массу селезенки, однако активность антителообразования достоверно снижалась (табл. 3). При расчете на селезенку количество АОК в опытной группе было в 2 раза ниже, чем в контроле.

Таблица 2

Влияние Пропеса на цитотоксическую активность НК-клеток мышей (спленоциты) СВА ( $M \pm m$ )

Группа животных	Активность НК-клеток в соотношении эффектор/мишень (ИЦ, %)	
	40:1	10:1
Контроль	28,3 ± 3,0	16,2 ± 1,2
Пропес	36,9 ± 2,9	25,6 ± 1,8*

Примечание: Результаты выражены процентом убитых клеток-мишеней УАС-1; \* - достоверно по отношению к контролю.

Таблица 3

Влияние предварительного введения пропеса на антителообразование в селезенке при первичной иммунизации ЭБ ( $n = 7$ )

Статистические показатели	Масса селезенки, мг		АОК на селезенку	
	Контроль	Пропес	Контроль	Пропес
$M \pm m$	147,8 ± 4,9	148,3 ± 10,2	274,1 ± 37,1	142,6 ± 37,5*
Миним.-макс.	125-170	107-180	170-435	71-245

Примечание: \* - достоверно по отношению к контролю.

Содержание антител к ЭБ в сыворотке крови также имело тенденцию к снижению в опытной группе ( $Lg_2$  титра в опыте 5,7, в контроле – 6,85) (рис. 1).

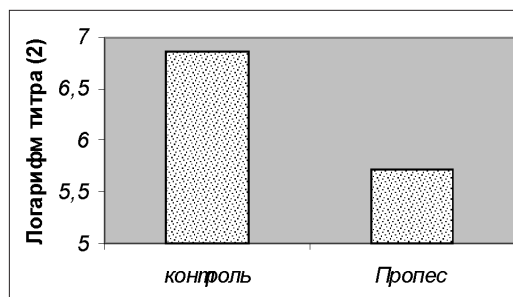


Рис. 1. Содержание гемагглютининов в сыворотке крови животных опытной и контрольной групп.

Двукратное введение антигена ТК (тимоциты крысы) в левую лапу мышей контрольной группы приводило к формированию у них реакции гиперчувствительности замедленного типа, отмечалась достоверная разница в массе регионарных лимфоузлов опытной и контрольной конечностей животных. Введение мышам Пропеса приводило к угнетению проявлений ГЗТ, что подтверждалось снижением различий в массе подколенных лимфоузлов в среднем по группе, не достигающим статистической значимости (табл. 4).

Индивидуальный анализ полученных результатов по группам животных показал, что, если у мышей контрольной группы реакция ГЗТ не была выражена в 10% случаев (при равной массе лимфоузлов левой и правой конечностей у 1 животного из 10), то у животных опытной группы супрессия проявлений ГЗТ была выражена у 5 животных (50% случаев), что достоверно чаще, чем в группе контроля ( $p < 0,01$ ).

Было установлено, что при 2-х недельном предварительном введении препарата активность ЕЦК крови в опытной и контрольной группах достоверно не изменялась (опыт – 29,5%, контроль – 30,3%). Данные цитологического изучения основных клеток крови, участвующих в формировании врожденного иммунитета, свидетельствуют о том, что введение Пропеса не оказывало существенного влияния на количество БГЛ,

Таблица 4

## Влияние Пропеса на выраженность реакции ГЗТ у мышей (n = 10)

Группы животных	Масса подколенных лимфоузлов, мг				Разница в массе по отношению к контролю, %
	Левый (опытный)		Правый (контрольный)		
	Среднее значение	Пределы колебаний	Среднее значение	Пределы колебаний	
Контроль	4,2 <sup>*</sup>	1,0-6,0	3,0	1,0-4,0	40,0
Опыт (Пропес)	3,9	1,0-6,0	3,1	1,0-5,0	25,8

Примечание: <sup>\*</sup> –  $P_u < 0,05$  по отношению к массе контрольных лимфоузлов.

моноцитов и нейтрофильных лейкоцитов в крови.

В опытах *in vitro* при культивировании лейкоцитов человека с препаратом Пропес в течение 24 часов в среде RPMI-1640 с 10% сывороткой человека было установлено, что Пропес активно влияет на экспрессию маркеров дифференцировки и активацию иммунокомпетентных клеток.

Пропес приводил к выраженному снижению числа CD3<sup>+</sup>/8<sup>+</sup> клеток (часть Т-лимфоцитов без супрессоров/киллеров), несколько увеличивал число Т-лимфоцитов киллеров/супрессоров (CD3<sup>+</sup>/8<sup>+</sup>-клеток) и резко повышал число CD3<sup>+</sup>/8<sup>+</sup>-клеток, относящихся к клеткам с различной функцией, включая не Т-киллерную.

Двухцветный цитофлуориметрический анализ позволил установить, что Пропес приводил к увеличению числа Т-киллеров/супрессоров за счет роста числа активированных CD8<sup>+</sup>/Leu23<sup>+</sup>-клеток, экспрессирующих антиген клеточной активации Leu23. Однако, доля лим-

фоцитов, не относящихся к субпопуляции Т-киллеров/супрессоров (CD8<sup>+</sup>/Leu23<sup>+</sup>) человека, также выразенно активировалась Пропесом (табл. 5).

Другой маркер клеточной активации HLA-DR под воздействием Пропеса достоверно возрастал как в популяции Т-клеток, так и не Т-клеток (рост числа CD3<sup>+</sup>/DR<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>/DR<sup>-</sup>-клеток). Количество неактивированных Т-клеток (CD3<sup>+</sup>/DR<sup>-</sup>) не претерпело существенных изменений.

Способность Пропеса оказывать поликлональную активацию подтвердилась в условиях *in vitro* с применением моноклональной панели CD3/CD16+CD56. Пропес увеличивал долю как Т-лимфоцитов, не обладающих НК-активностью (CD3<sup>+</sup>/16+56<sup>-</sup>), так и не Т-лимфоцитов, обладающих НК-активностью (CD3<sup>+</sup>/16+56<sup>+</sup>), в которую входит лишь минорная часть НК-клеток. Субпопуляция Leu19<sup>+</sup>-клеток, в которую входят активированные и неактивированные НК-клетки, также подвергалась изме-

Таблица 5

Влияние Пропеса на экспрессию антигенов дифференцировки и активации на поверхности лимфоцитов человека в условиях *in vitro*

№ п/п	Экспрессия антигенов (кластеры CD)	Группы экспериментов		Изменения по отношению к контролю, %
		Контроль	Опыт	
1	CD3 <sup>+</sup> /8 <sup>-</sup>	43,20 ± 1,72	15,47 ± 5,74 <sup>*</sup>	-64,2
2	CD3 <sup>+</sup> /8 <sup>+</sup>	21,54 ± 0,30	24,31 ± 0,74	+12,8
3	CD3 <sup>+</sup> /8 <sup>+</sup>	4,40 ± 0,84	13,85 ± 2,20 <sup>*</sup>	+214,8
4	CD8 <sup>+</sup> /Leu 23 <sup>-</sup>	21,68 ± 0,38	17,35 ± 1,73	-20,0
5	CD8 <sup>+</sup> /Leu 23 <sup>+</sup>	3,67 ± 0,44	16,22 ± 1,29 <sup>*</sup>	+342,2
6	CD8 <sup>+</sup> /Leu 23 <sup>+</sup>	12,42 ± 0,70	27,46 ± 4,74 <sup>*</sup>	+121,1
7	CD3 <sup>+</sup> /16+56 <sup>-</sup>	16,32 ± 0,31	32,34 ± 3,23 <sup>*</sup>	+98,2
8	CD3 <sup>+</sup> /16+56 <sup>+</sup>	12,19 ± 1,16	20,93 ± 5,64	+71,7
9	CD3 <sup>+</sup> /16+56 <sup>+</sup>	13,03 ± 0,91	20,00 ± 2,29 <sup>*</sup>	+53,5
10	Leu 19 <sup>+</sup> /IL-2R <sup>-</sup>	9,71 ± 1,01	15,16 ± 1,26 <sup>*</sup>	+56,1
11	Leu 19 <sup>+</sup> /IL-2R <sup>+</sup>	4,22 ± 0,45	24,29 ± 1,40 <sup>*</sup>	+475,6
12	Leu 19 <sup>+</sup> /IL-2R <sup>+</sup>	10,88 ± 2,21	20,84 ± 2,46 <sup>*</sup>	+91,6
13	CD3 <sup>+</sup> /DR <sup>-</sup>	29,34 ± 0,99	33,22 ± 2,08	+13,2
14	CD3 <sup>+</sup> /DR <sup>+</sup>	6,83 ± 0,20	10,68 ± 0,69 <sup>*</sup>	+56,3
15	CD3 <sup>+</sup> /DR <sup>+</sup>	8,30 ± 0,50	17,57 ± 1,68 <sup>*</sup>	+111,6

Примечание: Результаты выражены в процентах позитивных клеток; <sup>\*</sup> – достоверно по отношению к контрольной группе животных.

нениям, происходящим под влиянием Пропеса *in vitro*. Доля Leu19 (CD56)-клеток, экспрессирующих рецепторы к интерлейкину-2 (IL-2R), существенно возростала под влиянием Пропеса, что указывает на то, что последний является препаратом с классическим иммуномодулирующим эффектом, запускающим каскад реакций с участием интерлейкинов.

### Обсуждение

По мнению авторов-разработчиков препарата (Найштетик В. Я. и др.), процессы эпиморфной регенерации имеют общую основу с возникновением низкодифференцированных опухолей. При эпиморфной регенерации пролиферативные процессы после достижения определенной массы клеток переходят в процесс их дифференцировки. Поиск препаратов, регулирующих эпиморфную регенерацию, в том числе при опухолевом росте, авторы представляют в качестве нового направления исследований. При этом Пропесу отводят роль морфогена-регулятора процессов пролиферации.

Иммунная система принадлежит к системам с активной эпиморфной регенерацией. Нами была продолжена работа в этом направлении.

Эксперименты с использованием широкой панели моноклональных антител и двойной метки, а также определение функциональной киллерной активности клеток позволили судить о возможных механизмах противоопухолевой активности Пропеса. А именно, противоопухолевая активность может опосредоваться активацией как тимус зависимых Т-лимфоцитов-киллеров, так и активацией натуральных киллерных клеток, которые, как известно, обладают неспецифическим широким спектром действия на различные опухолевые клетки, и их цитолитический потенциал не зависит от тимуса. Т-лимфоциты киллеры/супрессоры экспрессировали такие очевидные маркеры активации как DR+ и Leu23+ -антигены, а НК-клетки экспрессировали рецепторы к интерлейкину-2 (IL-2R).

В экспериментах на мышах было установлено, что Пропес оказывает влияние на такие регуляторные клетки как Т-лимфоциты/хелперы. Именно Т-хелперы усиливают иммунный ответ на различные антигены, включая опухолевые клетки, грибы и вирусы. Такая синергичная активация эффекторных и регуляторных иммунокомпетентных клеток вносит вклад в выраженную противоопухолевую активность Пропеса. Возможно, входящие в состав Пропеса регуляторные пептиды оказывают противоопухолевое действие не только опосредованно через иммунную систему, но и непосредственно влияют на клеточную дифференцировку.

Установлено, что Пропес не влияет на активность факторов врожденного иммунитета – количество БГЛ, нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови, не снижает уровня естественной клеточной цитотоксичности против метаболически малоактивных клеток-мишеней. Вместе с тем, препарат способен угнетать первичный гу-

моральный иммунный ответ на ксеногенные эритроциты и формирование ГЗТ, что свидетельствует о его влиянии на быстро пролиферирующие системы и позволяет говорить об иммуномодулирующей способности Пропеса, вектор которой может зависеть от времени введения препарата и его дозировки. Если говорить о торможении опухолевого роста, то согласно современным взглядам ингибирование антителогенеза при наличии опухоли является позитивным моментом [18].

Иммуномодулирующие свойства Пропеса определяются его способностью изменять уровень экспрессии антигенов дифференцировки на клетках лимфоидных органов и крови экспериментальных животных и человека, особенно при пролиферативных процессах, регуляцией уровня формирования гуморального и клеточного иммунного ответа, отсутствием негативного влияния на клеточные факторы врожденного иммунитета.

### Выводы

1. Пропес обладает иммуномодулирующей активностью по отношению к регуляторным и эффекторным клеткам иммунной системы, приводит к увеличению доли Т-киллеров/хелперов в селезенке мышей, активности НК-клеток в селезенке мышей и крови человека.

### References

1. Kuznik BI, Khavinson VKh, Morozov VG. Peptidnye bioregulatory. Primenenye v travmatologii, khirurgii, stomatologii i onkologii. M.: Vuzovskaya kniga, 2004;400.
2. Esaulova IN, Ashmarin IP, Koroleva SV. Regulyatornye peptidy iz vnutrennikh organov zhivotnykh posle ostroy krovopoteri. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. M.: Akademiya estestvoznaniya, 2012;12:16-18.
3. Kozlov DV, Rodionov SYu. Predvaritelnye dannye o primeneniі embriionalnykh tkaney v kachestve stimulyatorov regeneratsii protivopukholevykh sredstv. Novokuznetsk: Meditsinskaya praktika, 1990;255-257.
4. Bendyug GD, Smikodub OI, Grinevich YuYa. Vplyv transplantatsii klitny embrionalnoy pechinky na deyakі pokaznyky, scho kharakteryzuyut stan imunnoi sistemy onkologichnykh khvorykh v dynamizi protypukhlynogo likuvannya. *Gematologiya i perelyvannye krovi*. 1998;29:214-220.
5. Radzievska LV, Smikodub OI, Snigir NV. Immunoterapiya zloyakisnykh pukhlyn gemopoetychnymy klitnyamy embrionalnoi pechinky ludyny. Immunoterapiya pri likuvanni zloyakisnykh novoutvoren. Mat. Nauk. prakt. konf. Kiyv, 1998;104-110.
6. Lisnyaniy MI, Belska LM, Semenova VM. Doslidzhennya vplyvu peptydiv embrionalnoi nervovoi tkanyny schuriv na klitny vnutrishnyomozkovykh pukhlyn ta funktsionalnu aktyvnist mononukleariv peryferichnoi krovi. *Probl. Kriobiologii*. 2008;18(4):441-444.
7. Drannik GN, Kurchenko AI, Fesenkova VY. Izuchenie vliyaniya preparatov klassa Erbisol' na produktsiyu tsitokinov mononuklearami perifericheskoy krovi zdorovykh donorov i onkologicheskikh bolnykh. *Visnyk farmakol. farmatsiy*. 2006;7:1215.
8. de Heredia ML, Izquierdo JM, Cuerzva JM. A conserved mechanism forcontrolling the translation of beta-F1-ATPase mRNA between the fetal liver and cancer cells. *J. Biol. Chem*. 2000;275(10):7430-7437.
9. Mamchur VY, Levykh AE. Defenziny – endogenne peptidy s antiinfektsionnymi i protivopukholevymi svoystvami. *Tavrisheskiy medico-biol. vestnik*. 2012;15(2):315-321.
10. Kondo E, Tanaka T, Miyake T. Potent synergy of dual antitumor peptides for grows suppression of human glioblastoma cell lines. *Mol. Cancer Ther*. 2008;7(6):1461-1471.
11. Kindzelskiy LP, Kasyanenko IV, Sikovich SA. Propes – effektivnyy

- preparat soprovozhdeniya tsitostatischeckoy terapii bolnykh zlokachestvennymi novoobrazovaniyami. *Ekspirim.onkol.* 2000;22:94.
12. Jerne N, Nordin A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science.* 1963;140(3565):405.
  13. Immunologicheskie metody / pod red. G. Frimelya; per. s nem. AP Tarasova; M.: Meditsina, 1987;472.
  14. Levenson VT. Sposob statisticheskoj obrabotki rezultatov titrovaniya antitel. *Trudy Moskovskogo NII epidemiologii.* M., 1969;12:72-74.
  15. Gyulling EV, Sambur MB. O vosproizvedenii i otsenke reaktsiy giperchuvstvitelnosti zamedlennogo tipa *in vivo.* *Fiziologicheskiy zhurnal.* 1981;2:237-240.
  16. Melnikov OF, Zayats TA. Sravnenie radioizotopnogo i spektrofotometricheskogo metodov opredeleniya tsitotoksichnosti kletok. *Lab. Diagnostika.* 1999;1:43-45.
  17. Gubler EV. Vychislitelnye metody analiza i raspoznavaniya patologicheskikh protsessov. L.: Meditsina, 1978;296.
  18. Berezhnaya NM, Chekhun VF. Immunologiya zlokachestvennogo rosta. K.: Nauk. Dumka, 2005;791.

## Some improvement opportunities of regenerative processes of rabbit cornea after experimental alkaline burns

\*I. E. Herasymyuk, T. I. Romaniuk

Department of Anatomy, I. Ya. Gorbachevskiy State Medical University of Ternopol, Ukraine

\*Corresponding author: herasymyuk@ukr.net. Manuscript received March 06, 2014; accepted April 03, 2014

### Abstract

**Background:** Nowadays peptide bioregulators, stimulating repair processes, accelerating the substitution of necrotizing tissue with fibrous tissue and facilitating active access of young low-differentiated cellular elements between the corneal plates, represent a promising way of treating damaged cornea including its chemical burns. A well-known fact is that biological tissues exhibit a similar activity not only due to alive cells but also homogenates and extracts from them.

**Material and methods:** The experiments have been performed on 24 rabbits. Each animal has been subject to a corneal burn with alkali (10% NaOH). Time of exposition for alkali was 10 seconds. To a half of the animals corneal burn correction was done with the help of cryophilic pig skin extract. Beginning with the first day of the experiment the extract of cryophilic pig skin was applied into the conjunctiva sac 1 drop after every 2 hours, during three days. Other 12 rabbits didn't benefit from the extract correction.

**Results:** The results obtained proved that using cryophilic pig skin extract allowed to improve significantly regeneration processes in cornea tissues after alkali burn. Epithelialization of a damaged area is fulfilled faster and better. It is demonstrated by the increase in the number of epithelial cells and their earlier differentiation as well as the increase of regulation of connective-tissue fibers leading to a more effective improvement of the optical features of the damaged area.

**Conclusions:** It is assumed that this correction method enables the surface epithelium to regenerate due to division and migration of cornea basement epithelial cells as well as transformation and centre-oriented movement of limbus cambial (stem) cells that has already been mentioned in previous publications.

**Key words:** cornea, burns, alkaline, regeneration.

## О некоторых возможностях улучшения регенеративных процессов роговицы глаза кроликов при её ожогах щёлочью в эксперименте

### Введение

Проблема лечения ожогов глаз, которые являются тяжелым видом повреждений органа зрения, была и продолжает оставаться острой и актуальной. Что касается последствий травм глаза, то они составляют наиболее распространенную причину инвалидизации при глазной патологии [1]. Перспективным в их лечении, на сегодняшний день становится применение пептидных биорегуляторов [2]. А также аллогенных цитокинов, которые стимулируют репаративные процессы в роговице глаза, способствуя активации фибробластов, разрастанию рубцовой ткани, вращанию сосудов в роговицу, ускоряют процесс замещения некротизированной ткани роговицы фиброзной тканью, а также способствуют активному вторжению клеточных элементов между роговичными пластинами [3, 4]. Вместе с тем, общеизвестным уже является тот факт, что биологические ткани проявляют

свою активность не только за счет живых клеток, но и за счет гомогенатов и экстрактов из них. Поэтому за последние годы во многих странах происходит бурное развитие биотехнологий, направленных на получение биологически активных соединений, в частности, создание препаратов на основе фетального сырья, а также ксеноорганов: селезенки, печени, надпочечников и т. д. [5]. Это связано с увеличением интереса к многообразию и возможностям биологически активных веществ, которые можно получить из такого материала.

Одним из направлений в клеточной терапии травм роговицы может быть использование экстрактов криолиофилизованной кожи, содержащих биологически активные вещества [6]. Эти вещества могут проявлять регуляторное влияние, как на эпителиальную, так и на соединительную ткани, они также необходимы для ре-

гуляции процессов заживления и эффективной терапии патологических процессов [7, 8, 9].

**Цель работы.** Установить влияние экстракта криолиофилизованной свиной кожи на регенераторные процессы в роговице кроликов после ее ожогов щелочью.

### Материал и методы

Эксперименты проведены на 24 кроликах, которым наносили ожоги роговицы щелочью – 10% NaOH. Перед процедурой изготавливались диски диаметром 8 мм из хлопчатобумажной ткани, обладающей гигроскопическими свойствами и способностью равномерно распределять влагу по всей поверхности. Тканевые диски пропитывали раствором щелочи и равномерно распределяли по поверхности роговицы без захвата зоны лимба. Экспозиция щелочи на роговицу составляла 10 секунд, в результате чего она приобретала вид матового стекла (рис. 1). После этого через 5 минут конъюнктивальный мешок промывали дистиллированной водой.

У 12 кроликов осуществляли коррекцию ожогов с применением экстракта криолиофилизованной свиной кожи, который в течение первого дня эксперимента вводили по 1 капле в конъюнктивальный мешок через каждые 2 часа, а в течение следующих дней – 3 раза в день. Еще 12 кроликов наблюдали без проведения коррекции.

Криолиофилизованные ксенодермоимплантаты свиные, как временные заменители кожи, используются при лечении ожоговых, скальпированных ран и трофических язв. Приказом Министерства Здравоохранения Украины № 9967/2003 они внесены в Государственный реестр медицинских изделий и разрешены к использованию в лечебных учреждениях Украины.

Экстракты получали путем инкубации фрагментов криолиофилизованной свиной кожи в физиологическом растворе (при pH 7.4) в соотношении 1:10 при температуре 20-23°C течение 60 минут. Материал для морфологического исследования забирали через 14 и 28 дней от начала эксперимента. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Вейгерту и по Ван Гизону.

Все эксперименты проводились с соблюдением “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных”.

### Результаты и их обсуждение

Через 1 час с момента нанесения ожога макроскопически наблюдалось помутнение роговицы в пределах ее контакта с ожоговым агентом. Развивался отек с утолщением всех оболочек глаза. Заметно усиливалась инъекция кровеносных сосудов склеры и особенно конъюнктивы. На гистологических срезах склера и роговица выглядели набухшими и местами разволокненными, их толщина увеличивалась на 9-12%. Причем отек и утолщение роговицы были более характерными не столько для зоны непосредственного ожога, сколько для той ее части, которая была расположена вокруг поражения. Перед-

ний эпителий роговицы десквамировался, собственное вещество в ее передних слоях гомогенизировалось, а в заднем эпителии наблюдались умеренные дистрофические изменения, сопровождавшиеся кариолизисом. Толщина сосудистой оболочки возрастала в два раза за счет выраженного полнокроя, на 1/3 увеличивалась толщина радужки. В ряде мест возникал субретинальный отек с частичным отслоением сетчатки. Для 24-часового срока наблюдения характерным было некоторое восстановление структур глаза. Его макрометрические параметры частично возвращались к исходному уровню. Немного восстанавливалось состояние кровеносного русла, хотя толщина сосудистой оболочки продолжала еще значительно превышать контрольный уровень. Оставалась матовой обожженная часть роговицы. Практически неизменной по сравнению с 1-часовым сроком была ее гистологическая структура.

На 14 сутки экспериментального исследования, макроскопически, у животных без корректирующего влияния, площадь видимого дефекта уменьшалась почти на 30%, однако роговица оставалась мутной и непрозрачной. При гистологическом исследовании на значительной площади центральной части эпителий отсутствовал. Лишь в пограничной зоне эпителиальные клетки незначительно напоздали с периферии роговой оболочки к ее центру. Строма роговицы была отечная, рыхлая, инфильтрированная полиморфно-ядерными лейкоцитами и единичными макрофагами. В верхней трети стромы определялись отдельные фибробласты. Неупорядоченные волокна соединительной ткани разнонаправленно переплетались между собой. Во многих местах проявлялись признаки неангиогенеза в виде различной формы синусоидальных капилляров, заполненных скоплениями эритроцитов (рис. 2).

В отличие от этого у животных, которым применялась коррекция с использованием экстрактов криолиофилизованной свиной кожи, на 14 сутки эксперимента наблюдалась выраженная активация регенераторных процессов. Эпителиальные клетки напоздали с периферии роговой оболочки к ее центру. Эпителий недифференцированный, располагался в 1-2 ряда. При приближении к лимбу, количество рядов увеличивалось, а дифференциация возрастала. Более четкой становилась передняя пограничная пластинка. Упорядоченными выглядели волокна соединительной ткани собственного вещества роговицы (рис. 3, 4).

Дальнейшее наблюдение в 28-дневный срок позволило установить прогрессирование регенераторных процессов в обеих группах животных. Однако следует отметить, что у животных с коррекцией экстрактом криолиофилизованной свиной кожи эти процессы происходили значительно интенсивнее, чем у животных без использования корректирующего воздействия. Таким образом, если у животных без коррекции, пролиферация эпителия была сконцентрирована преимущественно в пограничной зоне роговицы между ее обожженной и не



Рис. 1. Матовое помутнение роговицы после 10-секундного ожога щелочью.

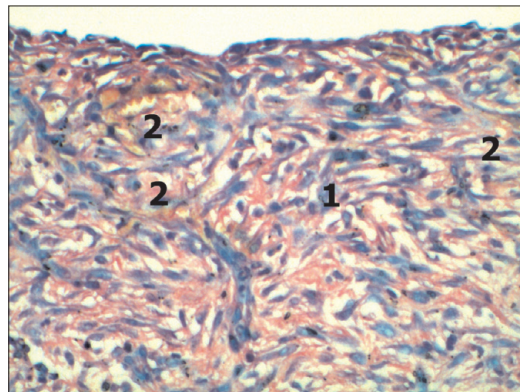


Рис. 2. Гистологический срез роговицы глаза кролика через 14 дней после нанесения ожога щелочью. Окраска по Ван Гизон. x 240.

Примечание: 1 – разнонаправленные и переплетенные между собой волокна соединительной ткани, фибробласты и отдельные макрофаги; 2 – очаги неоваскуляризации.

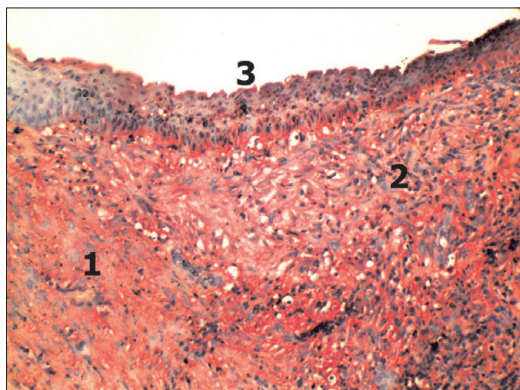


Рис. 3. Гистологический срез роговицы глаза кролика через 14 дней после нанесения ожога щелочью с коррекцией регенераторных процессов экстрактом криолифилизованной кожи свиньи. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.

Примечание: 1 – собственное вещество роговицы с упорядоченным направлением соединительнотканых волокон в необожженной части; 2 – разнонаправленные соединительнотканые волокна обожженной части роговицы; 3 – наполнение эпителия с периферии к центру роговицы.

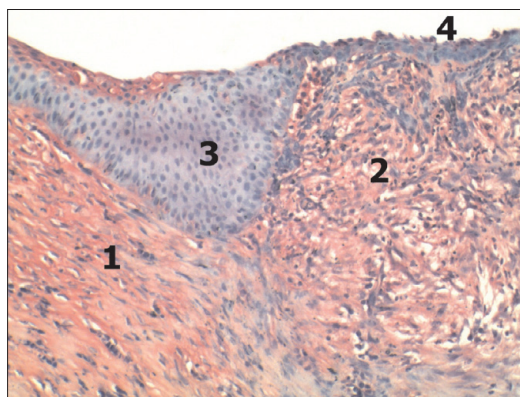


Рис. 5. Гистологический срез роговицы глаза кролика через 28 дней после нанесения ожога щелочью. Окраска по Ван Гизон. x 180.

Примечание: 1 – собственное вещество роговицы в периферической неповрежденной части; 2 – хаотическое переплетение соединительнотканых волокон в обожженной части роговицы; 3 – пролиферация эпителия в пограничной с ожогом зоне; 4 – тонкий слой недифференцированного эпителия в зоне ожогового дефекта.

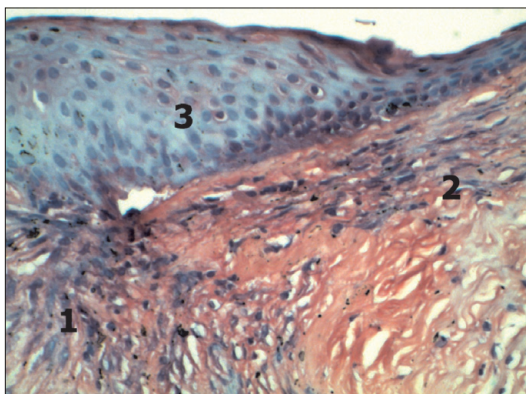


Рис. 4. Гистологический срез роговицы глаза кролика через 14 дней после нанесения ожога щелочью с коррекцией регенераторных процессов экстрактом криолифилизованной кожи свиньи. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.

Примечание: 1 – собственное вещество роговицы с упорядоченным направлением соединительнотканых волокон в необожженной части; 2 – упорядоченность соединительнотканых волокон в обожженной части роговицы; 3 – наполнение эпителия с периферии по направлению к центру роговицы.

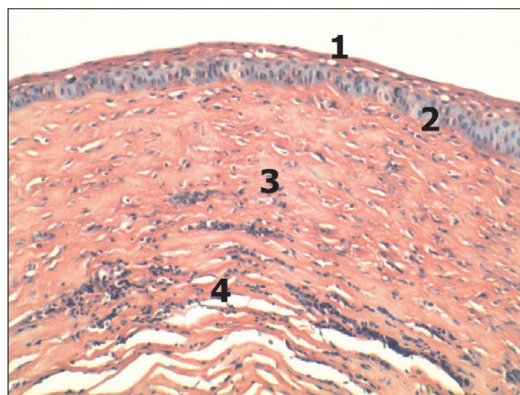


Рис. 6. Гистологический срез роговицы глаза кролика через 28 дней после нанесения ожога щелочью с коррекцией регенераторных процессов экстрактом криолифилизованной кожи свиньи. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.

Примечание: 1 – слой плоского эпителия; 2 – цилиндрический эпителий на передней пограничной пластинке; 3 – собственное вещество роговицы; 4 – очаги полиморфноклеточной инфильтрации и умеренный отек с разволокнением глубоких слоев собственного вещества роговицы.

обожженной частями, а на обожженной части эпителизация имела очаговый характер (рис. 5), то у животных с применением экстракта криолиофилизованной свиной кожи эпителизации подлежала уже практически вся площадь ожога (рис. 6). Причем, у некорригированных животных эпителий в зоне поражения был преимущественно недифференцированным, с многочисленными зонами отслоения и располагался не более чем в 1-2 ряда, будучи мало упорядоченным. В то время как у животных с коррекцией он был уже многослойным, ближе к периферии, эпителиальный слой становился более упорядоченным, клетки приобретали цилиндрическую форму, а ядра становились более плоскими. Отек и инфильтрация стромы роговицы на данный период наблюдения у корректируемых животных значительно уменьшались, упорядочивалось направление расположения ее волокон. В верхних слоях сосредотачивалось лишь незначительное количество полиморфно-ядерных лейкоцитов. В результате этого, прозрачность роговицы возрастала, оставаясь, однако, еще умеренно завуалированной. В то же время, на микропрепаратах роговицы животных без коррекции строма была еще утолщенной, ее волокна хаотично переплетались, сохранялись скопления полиморфноядерных лейкоцитов. Степень помутнения при этом снижался незначительно, напоминая бельмо.

В результате проведенного исследования установили, что использование экстракта криолиофилизованной свиной кожи позволяет в значительной степени улучшить регенераторные процессы в тканях роговицы после ее ожогов щелочами. Очевидно, что при применении данного метода коррекция восстановления поверхностного эпителия происходит за счет деления и миграции базальных эпителиоцитов роговой оболочки, а также трансформации и центробежного движения камбиальных (стволовых) клеток лимба, что также подчеркивается и в других исследованиях, проведенных в этом направлении [10].

### Выводы

Интраконтрактивальное применение экстракта криолиофилизованной свиной кожи позволяет значительно улучшить и ускорить регенераторные процессы в

тканях роговицы после ее ожогов щелочами, что может быть эффективным и при использовании в клинической офтальмологической практике.

### References

1. Yakymenko SA, Buznik AI, Kostenko PA, et al. Lechenie bakterialnykh infektsiy 0,5% rastvorom levofloksatsina pri ozhogakh glaz i ikh posledstviyakh (sravnenie *in vitro* i *in vivo*) [Treatment of bacterial infections after eye burns and their consequences with 0.5% solution of levofloxacin (comparing *in vitro* and *in vivo*)]. *Oftalmol. zhurn. [Ophthalmol. journal]*. 2008;6:27-31.
2. Lee YC, Wang IJ, Hu FR, et al. Immunohistochemical study of subepithelial haze after phototherapeutic iridectomy. *J. Refract. Surg.* 2001;17(3):334-341.
3. Brodovsky Stephen C, McCarty Catherine A, Snibson Grant, et al. Management of alkali burns: An 11-year retrospective review. *Ophthalmology*. 2000;107(10):1829-1835.
4. Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv. Ophthalmol.* 1997;41(4):275-312.
5. Sandomirsky BP, Galchenko SYe, Galchenko KS, et al. Antioxidative properties of lactoferrin from bovine colostrum before and after its lyophilization. *Cryo Letters*. 2003;24(5):275-280.
6. Shkodovskaya NYu, Galchenko SE, Mamontova AV, et al., Vliyanie ekstrakta kozhi novorozhdennykh porosyat na zazhivlenie ozhogovykh ran [Effect of the extract of the skin of newborn piglets on the healing of burn wounds]. *Probl. kriobiologii [Probl. of cryobiology]*. 2004;4:46-50.
7. Galchenko SE, Dyubko TS, Patsenker LD, et al. Spektrofluorimetricheskoe issledovanie ekstraktov kriokonservirovannykh fragmentov organov sviney. I. Sobstvennaya fluorestsentsiya [Spectrofluorimetric study of cryophilic pig organs extracts. I. Proper fluorescence]. *Eksperyment. i klinich. medytyna [Experiment. and clinical. medicine]*. 2006;1:48-52.
8. Galchenko SE, Dyubko TS, Sandomirskiy BP, et al. Spektrofluorimetricheskoe issledovanie ekstraktov kriokonservirovannykh fragmentov organov sviney. II. Analiz s pomoshchyu fluorestsennogo zonda K-35 [Spectrofluorimetric study of cryophilic pig organs extracts. II. Analysis using the fluorescent probe K-35]. *Eksperyment. i klinich. medytyna [Experiment. and clinical. medicine]*. 2006;3:57-61.
9. Yermakova N, Shinder A, Synchykova O, et al. Effect of extracts of animal origin on regeneration of skin and oral mucous. *Ukr. biokhim. zhurnal (spetsialnyi vipusk) [Eng. Biochem. Journal (Special Edition)]*. 2009;81(4):276.
10. Suhinin MV, Gololobov VG, Gayvoronskiy IV. Istochniki i skorost regeneratsii perednego epiteliya rogovitsy pri razlichnykh travmaticheskikh povrezhdeniyakh sosudistogo rusla perilimbalnoy zony glaza [Sources and regeneration rate of the surface epithelium of cornea in various traumatic injuries of the vascular stream of the eye]. *Materialy konf. uchenykh-morfologov Sankt-Petersburga "Sovremennyye problemy morfologii" [Proceedings of conference with scientists and pathologists of St. Petersburg "Modern problems of morphology"]*. SPb.: Elbi-SPb, 2009;132-134.



# The method of enucleation of eyeball concerning an uveal melanoma using the high-frequency electric welding of soft tissues

E. S. Pukhlik

Department of Microsurgical Treatment of Oncologic Diseases of Eye  
V. P. Filatov State Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy, Odessa, Ukraine

Corresponding author: alyona28@bigmir.net. Manuscript received March 03, 2014; accepted April 04, 2014

## Abstract

**Background:** The work is relevant due to the need to reduce the number of complications after enucleation of the eyeball. The work determines clinical and morphological features of changes in the optic nerve and conjunctiva tissues after using electric current of high frequency at enucleation of the eyeball.

**Material and methods:** 59 patients with uveal melanoma previously subjected to enucleation with high frequency electric welding have been investigated. The control group consisted of 20 patients with uveal melanoma, who had been subjected to enucleation by usual methods.

**Results:** The obtained results have shown that the use of high frequency welding for eye enucleation allows to avoid bleeding when muscles and neurovascular fascicle are crossed, to reach necessary fixation of muscles to Tenon's capsule and stable connection of conjunctive margins to each other without the use of any suture material. The use of this method reduces duration of surgery (on average by 6.6 minutes), saves the patients from removal of stitches, can reduce the time a patient stays in hospital by 2 days (i. e. 28.5%) and therefore gives economic benefits.

**Conclusions:** The clinical and histological studies showed the benefit of the enucleation technique using high-frequency electric welding compared with the conventional method. The established character of the postoperative period course shows that this method can be the method of choice if it is necessary to remove the eyeball.

**Key words:** uveal melanoma, enucleation, high-frequency electric welding.

## Способ энуклеации глазного яблока по поводу увеальной меланомы с использованием высокочастотной электросварки мягких тканей

### Введение

Тенденция к росту заболеваемости, поражению лиц молодого трудоспособного возраста, возможность диссеминации процесса определяют медицинскую и социальную значимость данной проблемы и диктуют необходимость разработки методов лечения меланомы хориоидеи. Распространенность увеальной меланомы в Украине оценивается в 8-10 случаев на 1 млн. населения и имеет устойчивую тенденцию к росту [3]. Среди первичных внутриглазных опухолей наиболее часто встречается меланома сосудистой оболочки, составляя до 80% от общего их числа. Увеальная меланома характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом, как в отношении зрительных функций, так и жизни больного, в связи с высоким риском метастазирования [3, 4, 5, 6, 11].

В настоящее время частота энуклеации при увеальной меланоме остается достаточно высокой. По данным проведенного анализа архивного материала Института глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова, Одесса, Украины, частота энуклеаций при увеальной меланоме с 2006 по 2010 года составляет 56%, что согласуется с данными Collaborative Ocular Melanoma Study – 59% [10].

Решающим моментом в технологии удаления глаза является уменьшение кровотечения при пересечении сосудисто-нервного пучка, уменьшение воспалительной реакции тканей на шовный материал, предупреждение диастаза краев раны.

Важной проблемой в офтальмохирургии является соединение (сопоставление) краев раны мягких тканей.

В настоящее время существующие способы соединения тканей (шовный материал, стаплеры) имеют ряд недостатков, такие как: сложность выполнения манипуляции, относительная длительность процедуры, присутствие в тканях инородного тела, что может стать причиной шовной гранулемы [9], антигенная нагрузка на организм, что может выражаться в локальных воспалительных процессах в мягких тканях, а, следовательно, удлинять период реабилитации больного. Одним из перспективных направлений являются сварочные методики соединения биологических тканей, которые позволяют быстро, бескровно, асептично, герметично сформировать соединение мягких тканей. До настоящего времени существовало два вида сварки мягких тканей – лазерная и ультразвуковая, которые также имеют множество недостатков [1, 7, 8].

В Институте глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова на базе отделения микрохирургического лечения онкологических заболеваний глаза совместно с Институтом Электросварки им. Е. О. Патона Украины, были разработаны оригинальные инструменты для энуклеации глазного яблока, а также способ энуклеации глазного яблока с применением электросварки мягких тканей с использованием источника ЕК-300М1 (патент Украины № 46981), позволяющие достичь рассечения, гемостаза и соединения мягких тканей.

**Цель.** Разработать способ энуклеации глазного яблока по поводу увеальной меланомы с применением высокочастотной электросварки биологических тканей.

### Материал и методы

Исследования проведены у 79 больных увеальной меланомой, из них у 59 пациентов (24 мужчин и 35 женщин) в возрасте  $63,0 \pm 10,5$  лет с увеальными меланомами, с проминенцией опухоли  $7,2 \pm 3,1$  мм, протяженностью основания  $14,0 \pm 4,2$  мм, которым была проведена энуклеация с использованием высокочастотной электросварки. Контрольную группу составили 20 пациентов с увеальной меланомой (6 мужчин и 14 женщин) в возрасте  $61,5 \pm 8,6$  лет, с проминенцией опухоли  $6,9 \pm 3,7$  мм, протяженностью основания  $12,9 \pm 4,2$  мм, которым была проведена энуклеация по обычной методике. Между группами не выявлено статистически значимых различий в распределении опухолей по локализации, пигментации, гистотипу и характеру инвазии. Следует отметить, что большинство пациентов были первичными: 44 (74,6%) в исследуемой и 16 (80,0%) в контрольной группе, и размеры опухолевых очагов не позволяли проводить органосохранное лечение и являлись прямыми показаниями к удалению глаза. Остальные 15 пациентов (25,4%) в исследуемой и 4 пациента (20,0%) в контрольной группе ранее получали органосохранное лечение в виде ксеноновой фотокоагуляции, транспупиллярной термотерапии и брахитерапии, которое оказалось неэффективным, и энуклеация была произведена по поводу продолженного роста опухоли. Во всех случаях на момент обследования в исследуемой и контрольной группах не было роста опухоли в тканях орбиты и отсутствовали отдаленные метастазы.

Всем больным, в исследуемой и контрольной группах, проводились общепринятые диагностические исследования, включающие: сбор анамнеза, первичный осмотр, биомикроскопию, визометрию, офтальмоскопию, определение полей зрения, ультразвуковое сканирование с определением степени проминенции и протяженности основания опухолевого очага, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, рентгенографию легких. Проведена сравнительная оценка продолжительности оперативных вмешательств по обычной и разработанной методикам, а так же срока пребывания больных в стационаре.

У всех больных были изучены непосредственные результаты (наличие интраоперационных и послеоперационных осложнений в виде кровотечений и гематом в тканях орбиты, диастаза краев операционной раны), в сроки на 3 и 5 день после операции и отдаленные результаты (наличие диастаза краев операционной раны, деформации конъюнктивальной полости, продолженного роста опухоли в тканях орбиты) через 3 месяца, через 1, 2 и 3 года после энуклеации. Больные были прооперированы в 2009-2012 годах в отделении микрохирургического лечения онкологических заболеваний глаза.

Источником энергии является воздействующий на ткань переменный электрический ток высокой частоты. Суть метода заключается в том, что в режиме рассеяния мягких тканей с помощью сварочного прибора, путем наложения биполярного пинцета, отсекаются

наружные прямые мышцы в области прикрепления к глазу с последующей фиксацией их к субконъюнктиве, затем пересекается сосудисто-нервный пучок путем наложения электросварочного биполярного зажима. Производится удаление глазного яблока, соединение краев конъюнктивы производится с помощью электросварки в режиме соединения мягких тканей путем наложения биполярного пинцета.

Результаты исследований по мере их поступления, начиная от первого обращения больного в клинику института, накапливались в базе исходных данных для статистического анализа. Анализ данных показал, что сравниваемые группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту и причинам, приведшим к энуклеации, что позволяет провести сравнение результатов применения высокочастотной электросварки при энуклеации с общепринятой методикой. Статистическая обработка производилась в программе Statistica 6.0.

### Результаты и их обсуждение

При производстве энуклеации отмечались следующие особенности: при пересечении прямых мышц и сосудисто-нервного пучка при помощи высокочастотной электросварки отсутствовало кровотечение в интра- и послеоперационном периоде. При фиксации мышц к теноновой капсуле и соединении краев конъюнктивы достигается стойкое прочное соединение тканей. Во всех случаях послеоперационный период протекал гладко. Не отмечалось выраженного отека тканей век, орбиты и конъюнктивы. На 5-6-й день после операции производилось первичное протезирование конъюнктивальной полости, что позволило выписать больных из стационара раньше, чем при применении обычной методике и тем самым снизить срок пребывания больных в стационаре, в среднем 2 дня (28,5%).

При оценке продолжительности оперативного вмешательства определено, что применение высокочастотной электросварки позволяет сократить время операции на 6,6 минут по сравнению с общепринятой методикой ( $18,4 \pm 3,1$  в исследуемой и  $25,0 \pm 2,0$  минут в контрольной группе, статистика Манна-Уитни  $Z = 6,09$ ;  $p < 0,00001$ ).

Анализ непосредственных результатов хирургического вмешательства показал, что в основной группе отсутствовали такие осложнения, как интраоперационные кровотечения, диастаз краев раны. Во всех случаях послеоперационный период протекал гладко. В контрольной группе у 3-х больных из 20 было отмечено кровотечение после пересечения сосудисто-нервного пучка, которое удалось остановить только диатермокоагулятором, у 2-х больных отмечался диастаз краев послеоперационной раны на 3-4 сутки после операции. Развитие послеоперационных гематом в основной и в контрольной группе не наблюдалось.

Установлено принципиальное отличие воздействия на живую ткань процесса сварки по сравнению с широко применяемым процессом коагуляции. Процесс коагуля-

ции вызывает ожог и некроз ткани в месте воздействия нагрева, в то время как при применении сварочной технологии отсутствуют ожоги и достигается значительно меньшая травматизация тканей, что подтверждается отсутствием в процессе сварки выделения дыма и неприятного запаха, а также морфологическими исследованиями [2]. Изменения в тканях, подвергшихся воздействию высокочастотной электросварки, соответствуют площади аппликации электродов инструментария и не распространяются на окружающие структуры и ткани. В области воздействия, наряду с гомогенизированной тканью присутствует обилие тканевых компонентов, в том числе и клеток, структурно не поврежденных, что создает очевидные предпосылки для дальнейших репаративных процессов. Происходит быстрое и легкое заживление ткани прооперированного органа, восстановление его морфологической структуры и функций.

Наши данные совпадают с мнением ряда авторов [9], которые считают, что основным фактором надежного соединения тканей и гемостаза, обусловленного применением высокочастотного электротермического генератора, является формирование тромбов и тканевых эмболов в просвете сосудов, тканевой анизотропии в стенках самих сосудов, приводящей к «гофрированию» и сморщиванию их просвета и формированию специфической аутобелковой тканевой пломбы (аутобиоклея), фиксирующей ткань в положении, обусловленном механическим воздействием браш инструмента.

### Выводы

1. Применение разработанного способа энуклеации уменьшает время оперативного вмешательства (в среднем на 6,6 минут), избавляет больного от процедуры снятия швов, сокращает время пребывания больного в стационаре на 2 дня (т.е., на 28,5%), что дает существенный экономический эффект.

2. Применение высокочастотной электросварки при производстве энуклеации глаза позволяет избежать кровотечения при пересечении мышц и сосудисто-нервного пучка, добиться прочной фиксации мышц к теноновой капсуле и стойкого соединения краев конъюнктивы между собой без применения шовного материала.

3. Разработанный способ энуклеации глазного яблока может быть методом выбора при необходимости удаления глазного яблока.

### References

1. Abuzov RA, Savchuk AV, Shingirey NV. Dosvid zastosuvannya elektrozvartivatelnih tehnologiy pruzakrutiti glotko-stravohidnogo spivustya u larugektovanih hvoruh [Experience of using electric welding technology in closing pharyngeoesophageal fistula in patients after laryngectomy]. *Zh. vushnih, nosovuh ta gorlovuh hvorob [Journal of Ear, Nose and Throat Diseases]*. 2007;3:10-15.
2. Abizov RA, Belousova AO, Bozhko NV. Eksperimentalne doslidzhennya morfologicheskikh zmin u tkaninah shuriv pruzakrutivanniy elektrozvartivatelnyy aparata EC - 300 M1 [Experimental studies of changes in tissue morphology of rats using electric welding apparatus EC - 300 M1]. *Zh. vushnih, nosovuh ta gorlovuh hvorob [Journal of Ear, Nose and Throat Diseases]*. 2008;5:43-50.
3. Anina EI, Levtyuh VI. Oftalmologichna dopomoga naselenniu Ukrainu [Eye care to the population of Ukraine]. *Hirurgichne ta medikamentozne vidnovlennia zoru. XII oftalmologichnyy simpozium. Tezisu. Chernovtsi. [Surgical and rehabilitation of drug. XII ophthalmological Symposium. Abstracts]*. Chernivtsi, 2001;8.
4. Boyko EV, Shishkin MM, Ian AV. Transskleralnaya termoterapiya v lechenii melanomy sosudistoy obolochki [Transskleral thermotherapy treatment of vascular melanoma shell]. *Opuholepodobnye zabolovaniya organa zrenia. [Tumor-similar the disease organ of vision]*. Moskva, 2007.
5. Brovkina AF. Sovremennyye aspekty lechenia melanoma horioida: problema, diskussionnye voprosy [Modern aspects of choroidal melanoma treatment: problems, questions of discussion]. *Vestn. Oftalmologiy [Bulletin of ophthalmology]*. 2006;1:13-15.
6. Brovkina AF. Sovremennyye aspekty lechenia uvealnukh melanom [Modern aspects of treatment of uveal melanomas]. *Vestn. oftalmol. [Bulletin of ophthalmology]*. 1998;3:3-5.
7. Glotov AA, Giller DB, Giller GV, et al. Morfoloicheskaya otsenka naibolee chasto ispolzuyushchikh metodov plevrodeza [Morphological assessment of the most commonly used methods of pleurodesis]. *Izvestia Cheliabinskogo nauchnogo tsentra [Proceedings of the Chelyabinsk Scientific Center]*. 2005;4(30).
8. Nikolaev GA. Straniku istorii. Razvitie svarki (doklad na soveshchanii Akademii Nauk [Pages of History. Development of welding (report at a meeting of Akademia Sciences)]. 1976.
9. Fourmanov YA, Lyashenko AA. Soedinenie biologicheskikh tkaney s pomoshchiu svarki [Connect biological tissues using Electric welding]. *Klinich. Hirurgiya [Clinical surgery]*. 2000;1:59-61.
10. Collaborative Ocular Melanoma Study randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma: V. Twelve-year mortality rates and prognostic factors: Collaborative Ocular Melanoma Study report No. 28. *COMS. Arch Ophthalmol.* 2006;124(12):1684-93.
11. Shields CL, Naseripour M, Cater J, et al. Plaque radiotherapy for large posterior uveal melanomas (> or = 8-mm thick) in 354 consecutive patients. *Ophthalmology.* 2002;109:1838-49.

## Method of ultrasonic scanning of maxillary and frontal sinuses

S. M. Pukhlik, \*M. S. Buchatsky

Department of Otorhinolaryngology, National Medical University of Odessa, Ukraine

\*Corresponding author: max\_buchatsky@mail.ru. Manuscript received March 03, 2014; accepted April 04, 2014

### Abstract

**Background:** Ultrasonography can be used as an alternative to radiographic survey in diagnosis of sinusitis.

**Material and methods:** The study involved 150 patients with acute and chronic inflammation of maxillary and frontal sinuses, in all patients ultrasound and x-ray examinations have been performed, followed by puncture of the maxillary sinuses. The ultrasound examination was performed by two probes: linear and micro-convex. For each diagnostic technique the sensitivity, specificity and accuracy were calculated. As the gold standard diagnostic puncture of the maxillary sinus (in most cases), computed tomography and intraoperative findings were adopted. For pairwise comparison of the characteristics of different methods the z-test was used. It was considered statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Results:** X-ray examination turned out to produce erroneous results in a high percentage of cases while detecting fluid in sinuses, if fluid level fails to be discovered on radiograms. High accuracy of ultrasound examination in detecting fluid and its nature (pus, serous exudate) is identified for scanning with both linear and micro-convex transducers. But sensitivity of the micro-convex transducer is higher (96.9%) than that of linear one (83.0%) in detecting fluid. In diagnosis of edema, a higher percentage of errors (false-positive results) were revealed in case of the micro-convex transducer (39.3%), and a lower rate – for linear transducer (3.6%). Accuracy in detecting mucosal thickening for X-ray was 66.7%, B-linear – 87.2%, B-micro-convex – 84.3%. Accuracy in detecting fluid for X-ray was 65.8%, B-linear – 86.1%, B-micro-convex – 96.6%.

**Conclusions:** 1. Results showed that ultrasound diagnosis of inflammatory disease of the maxillary and frontal sinuses can be used as a screening method for diagnosis on a par with radiographic survey. 2. There is a significant difference between the study methods in accuracy of edema and fluid detection in favor of ultrasound diagnosis. 3. To improve the quality of ultrasound technique, combined survey with two probes (linear and micro-convex) should be used. Linear probe is appropriate for detecting mucosal thickening, and micro-convex one – for fluid detection.

**Key words:** sinusitis, ultrasound, screening method.

## Методика ультразвукового сканирования верхнечелюстной и лобной пазух

### Введение

Впервые возможность исследовать околоносовые пазухи (ОНП) ультразвуком (УЗ) отметил W. Keidel в 1947 году. Клинические исследования были начаты в 70-х годах в США, Германии, Финляндии и продолжаются по настоящее время [11, 14]. Эти исследования касались одномерной и двухмерной методик сканирования верхнечелюстной и лобной пазух.

Преимущества УЗ диагностики: безвредна для здоровья пациента, следовательно, может применяться в период беременности (дифференциальная диагностика ОРВИ, гормонального насморка и острого бактериального риносинусита – ОБРС), в детском возрасте, может быть применена неоднократно у одного больного с целью динамического контроля течения заболевания [5, 18, 22, 24, 26]; быстрота выполнения исследования, экономическая целесообразность, может быть выполнена не только врачами ультразвуковой диагностики, а и отоларингологами и, что немаловажно, семейными врачами, не требует УЗ аппаратуры экспертного класса – удовлетворительное качество визуализации обеспечивается даже при использовании портативных УЗ сканнеров, а следовательно возможность проводить исследование на дому, у постели больного (выявление латентных форм синуситов у соматически тяжелых больных).

Гной, кровь, жидкость содержащая детрит лучше визуализируются при ультразвуковом исследовании благодаря наличию слабого внутреннего эхо сигнала.

Следует отметить высокую диагностическую информативность УЗ в диагностике мицетом верхнечелюстных пазух, что особенно актуально, так как в последние годы от-

мечается рост грибковых синуситов в связи с нерациональным использованием антибиотиков, наличием в пазухе пломбировочного материала содержащего соли металла и самого грибка, в процессе жизнедеятельности выделяющего соли кальция, что обуславливает хорошую визуализацию при ультразвуковом исследовании (УЗИ) [31].

В настоящее время рутинным методом диагностики патологии ОНП остается обзорная рентгенография [27]. Этот метод хорошо изучен и стандартизирован. Иная ситуация сложилась с ультразвуковой диагностикой синуситов. Это связано с продолжающимся техническим совершенствованием метода. На смену устаревшей методике одномерного сканирования многими авторами предлагается использовать методику двухмерного сканирования, и, если в случае с одномерным сканированием, были согласованы методика исследования и трактовка полученных результатов, то единого мнения о трактовке многообразия ультразвуковой картины и техники сканирования в настоящее время нет [18, 22, 24, 26, 36].

**Цель работы:** оптимизировать и стандартизировать методику ультразвукового сканирования придаточных пазух носа как альтернативу обзорной рентгенографии.

### Материал и методы

Нами было проведено обследование 150 больных с острыми или обострениями хронических верхнечелюстных синуситов, проходивших лечение на базе ЛОР-отделения ГКБ №11 г. Одессы. Выбор верхнечелюстных пазух для исследования обусловлен золотым стандартом диагностики – диагностической пункцией, которая позволяет оценить содержимое пазухи, её объем. Возраст

пациентов составил 13-75 лет. Среди них 63 мужчины и 87 женщин. Обследование детей проводилось с согласия родителей.

**Критерии включения** пациентов в исследование на догоспитальном этапе: жалобы на головную боль, затруднение носового дыхания, выделения из носа, лихорадка, постназальный затек, длительность заболевания более 7-10 дней, данные эндоскопии полости носа.

**Критерии исключения:** возраст до 5 лет, аномалии строения околоносовых пазух, отказ от проведения диагностической пункции.

Всем больным выполнялось ультразвуковое и рентгенологическое исследование, пункции верхнечелюстных пазух. Все исследования производились в течение одного дня.

Обзорная рентгенография придаточных пазух носа производилась в носо-подбородочной проекции. Учитывались четыре основных изменения на рентгенограмме: уровень жидкости, затемнение, тень кисты, инородное тело. Уровень и тотальное гомогенное затемнение пазухи с пузырьком воздуха трактовалось как жидкость в пазухе [11, 20].

В настоящее время существует три наиболее используемых типа ультразвуковых датчиков: линейные, конвексные, секторные фазированные датчики. При выборе датчика для исследования околоносовых пазух к нему предъявлялись следующие требования: учитывая небольшую площадь прилегания (область fossa canina при сканировании гайморовой пазухи) сканирующая поверхность датчика должна быть небольшой, высокая частота сканирования (7-14 МГц) для обеспечения качественного изображения. Так как известно, что чем выше частота сканирования, тем более четким будет полученное изображение, однако глубина проникновения сигнала уменьшится, были выбраны два типа датчиков: линейный мультимодальный с минимальной шириной (40 мм) и микроконвексный мультимодальный датчик с кривизной 20 мм (педиатрический).

Ультразвуковое сканирование осуществлялось по следующей схеме: при использовании линейного датчика он устанавливался в проекции fossa canina, сканирование начиналось от области альвеолярного отростка вверх в коронарной плоскости, частота сканирования от 6,5 до 9 МГц. Сканирование в сагиттальной плоскости не осуществлялось, из-за костных массивов альвеолярного отростка и скуловой кости, которые затрудняют прилегание датчика к поверхности передней стенки верхнечелюстной пазухи. При исследовании с помощью микроконвексного датчика сканирование осуществлялось также из проекции fossa canina, частота сканирования 4-9 МГц, малый размер датчика позволяет осуществлять сканирование в двух плоскостях. Ультразвуковое исследование проводилось на аппарате VIVID 7.

Эхографическая картина, выявляемая при сканировании верхнечелюстных пазух была нами разделена на следующие симптомокомплексы:

1. Нормальная эхограмма. В норме околоносовые

пазухи воздушны. Воздух отражает УЗ сигнал полностью и структуры расположенные за ней не визуализируются. Таким образом, при сканировании нормальной пазухи можно выявить следующие структуры: мягкие ткани лица, переднюю стенку пазухи и слой слизистой за ней, в норме толщина её не должна превышать 5 мм. Такая УЗ картина выявляется как на линейном, так и на микроконвексном датчике.

2. Утолщение слизистой. Эхосимптомокомплекс характеризующийся утолщением слизистой передней стенки пазухи более 5 мм. Утолщение слизистой, может, выявляется при различных видах патологии ОНП, таких как отек, гиперплазия, полипозное изменение. УЗ картина утолщения слизистой при сканировании линейным датчиком (рис. 1) и микроконвексным датчиком (рис. 2).



Рис. 1. УЗИ линейным датчиком. На рисунке видны мягкие ткани щеки, затем передняя стенка гайморовой пазухи, далее слой утолщенной слизистой (более 5 мм). Жидкостный компонент не определяется.

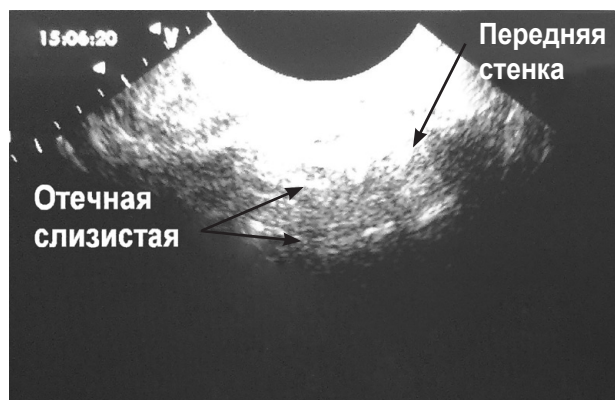


Рис. 2. УЗИ микроконвексным датчиком. Видна костная стенка гайморовой пазухи (гиперэхогенная структура), слой утолщенной слизистой.

3. Наличие жидкости в пазухе. УЗ картина характеризуется появлением добавочных эхоструктур, таких как, слой свободной жидкости в пазухе, задней стенки пазухи (рис. 3). Появление этих структур обусловлено тем что жидкость в отличие от воздуха проводит УЗ сигнал. Следует отметить что плотность жидкости может отличаться



Рис. 3. Рентгенограмма придаточных пазух носа этого пациента. Видно утолщение слизистой в области дна верхнечелюстной пазухи.



Рис. 5. УЗИ микроконвексным датчиком. На рисунке видна характерная треугольная тень, указывающая на наличие в пазухе жидкости.



Рис. 4. УЗИ линейным датчиком. На рисунке видно что в дополнение к экоструктурам визуализируемым при утолщении слизистой добавляется анэхогенный слой (жидкость) и сигнал отраженный от задней стенки гайморовой пазухи.



Рис. 6. Рентгенограмма придаточных пазух этого пациента. Справа и слева определяются уровни жидкости.



Рис. 7. УЗИ линейным датчиком. На рисунке видна зубчатая тень от пломбирочного материала в полости пазухи, наличие в пазухе свободной жидкости.

при различных стадиях развития воспаления. Серозный экссудат будет выглядеть анэхогенно, в дальнейшем он приобретает неоднородный характер, становится гипоэхогенным. Застарелый гнойный процесс, когда плотность гноя (сливкообразный гной) приближается или становится одинаковой к плотности мягких тканей. УЗ картина жидкости при сканировании линейным датчиком представлена на рис. 4, микроконвексным на рис. 5. На рентгенограмме выявлен классический уровень жидкости (рис. 6).

4. Инородное тело в просвете верхнечелюстной пазухи. Определяется гиперэхогенное образование дающее



Рис. 8. УЗИ микроконвексным датчиком. На рисунке видна треугольная тень характерная для экссудативного процесса и зубчатая тень инородного тела в передних отделах пазухи.



Рис. 9. КТ скан этого пациента во фронтальной плоскости. Правая верхнечелюстная пазуха содержит жидкость, определяются инородные тела в области дна пазухи.

зубчатую тень (рис. 7, 8). Рентгенографическая тень костной плотности в просвете пазухи (рис. 9).

5. Киста верхнечелюстной пазухи может быть выявлена при УЗ исследовании если прилегает к передней

стенке, или при наличии проводящих структур в полости пазухи. Визуализируются стенки кисты с наличием внутри жидкостного компонента.

Пункция верхнечелюстной пазухи осуществлялась под местной аппликационной анестезией 10% раствором лидокаина через нижний носовой ход.

Для каждого из методов диагностики были рассчитаны показатели чувствительности, точности и специфичности.

Чувствительность метода – это отношение положительных результатов теста к общему числу заболевших согласно золотому стандарту.

Специфичность метода – это отношение отрицательных результатов теста к общему числу лиц без заболевания согласно золотому стандарту.

Точность метода – пропорция правильных результатов среди всех обследованных.

В качестве золотого стандарта была принята диагностическая пункция верхнечелюстной пазухи (в большинстве случаев), компьютерная томография и интраоперационные находки.

#### Результаты и их обсуждение

Проведенное исследование показало, что наиболее часто выявляемым патологическим признаком являлось наличие жидкости в полости пазухи: GS 65,3%, Blin 56,3%, Bcvx 63,6%, Rg 36,6%. Утолщение слизистой было выявлено в 8% случаев, используя золотой стандарт, Rg 33,3%, Blin 21%, Bcvx 17,6% (таб. 1). Количество наблюдений пациентов с инородными телами и кистами было недостаточно для проведения статистического анализа. При анализе полученных данных обращает на себя внимание большой процент ошибок рентгенологического исследования при выявлении жидкости в пазухе, если на снимке не удастся выявить уровень жидкости. Высокая точность ультразвукового исследования в выявлении жидкости и её характера (гной, серозный экссудат) была выявлена при сканировании и линейным и микроконвексным датчиком. Однако чувствительность в выявлении жидкости микроконвексного датчика выше – 96,9%, чем линейного 83,0% (различия статистически значимы) (таб. 5). В то же время выявлен большой процент ошибок (ложноположительных результатов) исследованием при помощи микроконвексного датчика в диагностики отека – 39,3%, в то время как при исследовании линейным датчиком – 3,6% (таб. 3). Учитывая преимущества и недостатки, указанные выше, рекомендуется проведение

Таблица 1

Частоты распределения пациентов по патологии

Метод исследования	Утолщение слизистой	Жидкость	Иностранное тело	Киста	Норма
Золотой стандарт	24	196	4	6	70
R-ППН	100	110	4	9	77
УЗИ-линейный	63	169	4	3	61
УЗИ-микроконвексный	53	191	4	3	49

сканирования с использованием двух датчиков. Начинать сканирование следует с микроконвексного датчика для исключения гнойного экссудативного процесса, исследование линейным датчиком следует выполнять для диагностики продуктивных форм синуситов.

Показатели чувствительности и специфичности ультразвукового исследования придаточных пазух носа сравнивались с результатами пункции верхнечелюстной пазухи или обзорной рентгенографии придаточных пазух при этом полученные результаты были следующими: Revonta M. (1980) чувствительность 0,92%, специфичность 0,81%; Kuusela T. (1982) чувствительность 0,71%, специфичность 0,64%; van Buchem (1995) чувствительность 0,54%, специфичность 0,94%; Naaraniemi J. (2001) чувствительность 0,77%, специфичность 0,49%. Исследования изучавшие диагностическую ценность двухмерного сканирования Бырихина В. В., Шиленкова В. В. (2007): чувствительность метода 86,2%, специфичность 78,2%; Fufezan O. (2010) чувствительность 94,9%, специфичность 98,4%. В этих исследованиях особо подчеркивалось преимущество ультразвука в диагностике экссудативных форм синуситов [5, 11, 14, 24, 26, 25].

Для попарного сравнения характеристик различных методов использовали z-критерий [28]. В таблицах выполнены все попарные сравнения по отдельности (табл. 3, 5).

**Таблица 2**  
**Уровни значимости (P) z-критерия (вспомогательные таблицы попарных сравнений для табл. 2)**

Характеристика	Метод	Rg	Blin
Чувствительность	Blin	< 0,0001	-
	Bcvx	0,55	< 0,0001
Специфичность	Blin	< 0,0001	-
	Bcvx	< 0,0001	0,86
Точность	Blin	< 0,0001	-
	Bcvx	< 0,0001	0,31

Как видно из таблицы 2: чувствительность рентгенографического и УЗИ с микроконвексным датчиком близки и статистически не различимы; специфичность и точность рентгенографического исследования невысоки и статистически значимо отличаются от обоих методик ультразвукового исследования.

**Таблица 3**  
**Сравнение показателей точности, чувствительности и специфичности (%) при выявлении утолщения слизистой\***

Характеристика метода	Метод исследования		
	Rg	Blin	Bcvx
Чувствительность	58,3 a	96,4 b	60,7 a
Специфичность	67,4 a	86,3 b	86,8 b
Точность	66,7 a	87,2 b	84,3 b

**Примечание:** \* – разные литеры означают статистическую значимость различия значений в сравниваемых ячейках одной строки по z-критерию при уровне значимости  $p < 0.05$ .

**Таблица 4**

**Уровни значимости (P) z-критерия (вспомогательные таблицы попарных сравнений для табл. 3)**

Характеристика	Метод	Rg	Blin
Чувствительность	Blin	< 0,0001	-
	Bcvx	< 0,0001	< 0,0001
Специфичность	Blin	0,75	-
	Bcvx	0,13	0,068
Точность	Blin	< 0,0001	-
	Bcvx	< 0,0001	< 0,0001

Все три сравниваемых метода статистически значимо различны по чувствительности и точности, но по специфичности не различаются (табл. 3, 4).

**Таблица 5**

**Сравнение показателей точности, чувствительности и специфичности (%) при выявлении жидкости\***

	Rg	Blin	Bcvx
Чувствительность	52,6 a	83,0 b	96,9 c
Специфичность	92,7 a	92,0 a	95,6 a
Точность	65,8 a	86,1 b	96,6 c

**Примечание:** \* – разные литеры означают статистическую значимость различия значений в сравниваемых ячейках одной строки по z-критерию при уровне значимости  $p < 0.05$ .

### Выводы

1. Ультразвуковая диагностика воспалительной патологии верхнечелюстной и лобных пазух может быть применена в качестве скринингового метода диагностики наравне с обзорной рентгенографией.

2. Анализ полученных данных показал достоверное различие между исследуемыми методами в точности выявления отека и жидкости в пользу ультразвуковой диагностики.

3. Для повышения качества методики ультразвукового исследования может быть использовано комбинированное исследование с помощью двух датчиков: линейного и микроконвексного.

### References

- Balk IM, Zucker DR, Engels EA, et al. Strategies for diagnosing and treating suspected acute bacterial sinusitis. *J Gen Intern Med.* 2001;16:701-11.
- Berg O, Carenfelt C, Kronvall G. Bacteriology of maxillary sinusitis in relation to character of inflammation and prior treatment. *Scand J Infect Dis.* 1988;20:511-6.
- Bhattacharyya N. Chronic rhinosinusitis: is the nose really involved? *Am J Rhinol.* 2001;15:169-73.
- Cormack AM. Early two-dimensional reconstruction and recent topics stemming from it. Nobel Lectures in Physiology or Medicine 1971-1980. World Scientific Publishing Co., 1992;551-563.
- Fufesan O. The role of ultrasonography in the evaluation of maxillary sinusitis in pediatrics. *Medical Ultrasonography.* 2010;12(1):4-11.
- Global Family Doctors. Интернет-ресурс: <http://www.globalfamilydoctor.com>
- Gwaltney JM Jr. Acute community-acquired sinusitis. *Clin Infect Dis.* 1996;23:1209-23.
- Gwaltney JMJr, Scheld WM, Sande MA, et al. The microbial etiology and



- antimicrobial therapy of adults with acute community-acquired sinusitis: a fifteen-year experience at the University of Virginia and review of other selected studies. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;90:457-61.
9. Hickner JM, Bartlett JG, Besser RE, et al. Principles of appropriate antibiotic use for acute rhinosinusitis in adults: background. *Ann Intern Med.* 2001;134:498-505.
  10. Hounsfield GN. Computed Medical Imaging. Nobel Lectures in Physiology or Medicine 1971–1980. World Scientific Publishing Co., 1992;568-586.
  11. Laine K, Maatta T, Varonen H, et al. Diagnosing acute maxillary sinusitis in primary care: a comparison of ultrasound, clinical examination and radiography. *Rhinology.* 1998;36:2-6.
  12. Lau J, Zucker D, Engels EA, et al. Diagnosis and Treatment of Acute Bacterial Rhinosinusitis. Evidence Report. Technology Assessment No. 9 (Contract 290-08-0019 to the New England Medical Center).
  13. Lethbridge-Cejku M, Rose D, Vickerie J. Summary health statistics for U.S. Adults: National Health Interview Survey, 2004. National Center for Health Statistics. *Vital Health Stat.* 2006;10(228):19-22.
  14. Mann W. Echography of the paranasal sinuses. *Arch Otorhinolaryngol.* 1975;211:145-147.
  15. Mansfield P. Snap-shot MRI. Les Prix Nobel. The Nobel Prizes 2003. Nobel Foundation, 2004;266-283.
  16. Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA, et al. Rhinosinusitis: establishing definitions for clinical research and patient care. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;131(Suppl):S1-S62.
  17. Rosenfeld Richard M. Clinical practice guideline on adult sinusitis. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery.* 2007;137:365-377.
  18. Risavi R, Klapan I, Barcan T, et al. Effectiveness of ultrasonography in diagnosis of maxillary sinus disease: a prospective comparison with radiographic and sinusoscopic examinations. *Croat Med J.* 1998;39:45-8.
  19. Roberts DN, Hampal S, East CA, et al. The diagnosis of inflammatory sinus disease. *J Laryngol Otol.* 1995;109:27-30.
  20. Rockville MD: Agency for Health Care Policy and Research. 1999.
  21. Rosenfeld RM, Andes D, Bhattacharyya N, et al. Clinical practice guideline: Adult sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;137(25 Suppl):S1-S31.
  22. Shapiro GG, Furukawa CT, Pierson WE, et al. Blinded comparison of maxillary sinus radiography and ultrasound for diagnosis of sinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1986;77:59-64.
  23. Snow V, Mottur-Pilson C, Hickner JM. Principles of appropriate antibiotic use for acute sinusitis in adults. *Ann Intern Med.* 2001;134:495-7.
  24. Haapaniemi J, Laurikainen E. Ultrasound and antral lavage in the examination of maxillary sinuses. *Rhinology.* 2001;39:39-42.
  25. Unsworth L, Walley T. Trends in primary care antibiotic prescribing in England 1994-1998. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2001;10:309-14.
  26. Varonen H, Makela M, Suvalainen S, et al. Comparison of ultrasound, radiography, and clinical examination in the diagnosis of acute maxillary sinusitis: a systematic review. *O Clin Epidemiol.* 2000;53:940-8.
  27. Waters CA, Waldron CW. Roentgenology of accessory nasal sinuses describing a modification of the occipitofrontal position. *Am J Roentgenol.* 1915;2:633-9.
  28. Chubenko AV, Babich PN, Lapach S.N, et al. Primenenie sovremennykh metodov matematicheskoy statistiki pri provedenii klinicheskikh issledovaniy i ikh analize. Sravnenie dvukh proporsiy [The use of mathematics statistic modern methods in clinical research and their analysis. Comparison of two proportions]. *Apteka.* 2003;405(34). <http://www.apteka.ua/article/14437>.
  29. Shvecov VI, Dyakova GV. Novye vozmozhnosti luchevoy diagnostiki v travmatologii i ortopedii [New oportunities of radial diagnosis in traumatology and orthopedics]. *Geniy Ortopedii.* 2008;4.
  30. Zakon Ukrainy №3612 ot 7 yulya 2011 goda «O poryadke reformirovaniya sistemy zdavookhraneniya v Vinnitskoy, Dnepropetrovskoy, Donetskoy oblastiakh i gorode Kiev» [The law of Ukraine No 3612 of July 07, 2011 “The order of reformation the system of Health Care in regions of Vinnitsa, Dnepropetrovsk, Donetsk and in Kiev”].
  31. Klimov ZT, Karpenko SV. Mitsetoma verkhnecheliyustnykh pazukh [Mitsetoma of the maxillary sinus]. *ЖУГГБ [J. of Ear, Throat and Nose diseases].* 2000;6:61-62.
  32. Klinicheskaya rentgenoradiologiya [Clinical roentgenradiology]. Ruk. v 5 t. / pod red. GA Zedgenidze. M.: Meditsina, 1985;366.
  33. Otorinolaringologiya. Rukovodstvo dlya vrachey [Otorinolaryngology. Guide for phisitions]. VT Palchun, AI Kryukov. M.: Meditsina, 2001;616.
  34. Zabolotnij DI, Mitin JuV, Dragomiretskiy VD. Otorinolaringologiya [Otorinolaryngology]. K.: Zdorovya, 1999;368.
  35. Rukovodstvo po otorinolaringologii [Guide of Otorinolaryngology]. / pod red. IB. Soldatova, 2-e izd., pererab. i dop. M.: Meditsina, 1997;608.
  36. Shilenkova VV, Kozlov VS, Karpov VA. Dvukhmernaya ultrazvukovaya diagnostika zabolevaniy oko-lonosovykh pazukh u detey [Twodimension ultrasonographic diagnosis of maxillary diseasis in children]. *Rossiyskaya rinologiya.* 2003;1:29-32.

## Protective action of metabolic correctors in treatment of school-age children with uncontrollable bronchial asthma

E. V. Herasymova

Department of Pediatrics No 1, N. I. Pirogov National Medical University of Vinnitsa, Ukraine

Corresponding author: drgerasimova79@gmail.com. Manuscript received March 21, 2014; accepted April 05, 2014

### Abstract

**Background:** Studies of the cardiovascular system are not included in the examination protocol in children with asthma, that's why cardiac pathology in these patients is not diagnosed on time. Late diagnosis of complications from cardiovascular system in children with bronchial asthma, inadequate assessment of their prognosis and absence of cardiotropic therapy causes the high incidence.

**Material and methods:** We examined 189 children with persistent asthma aged 6 to 17 and 30 apparently healthy children who were in the control group. In order to evaluate the effectiveness of the protective action of metabolic correctors in conjunction with combined drugs of basic therapy, we assessed the presence of complaints from cardiovascular system, changes of electrocardiography data, blood electrolyte levels and markers of myocardial damage.

**Results:** Against the background of the complex therapy in combination with symbicort and ritmocor within 3 months was significantly less compared to other treatment groups, met the clinical symptoms such as palpitations, a feeling of 'intermittence of the heart', weakness, decrease of the frequency of sinus tachycardia, supraventricular arrhythmia, prolongation of the QT interval. These modifications were associated with increased levels of potassium in the blood serum and erythrocytes. Differentiated treatment with symbicort, in conjunction with thiotriazoline, reduced sinus bradycardia and level of myocardial damage markers.

**Conclusions:** Based on metabolic state modifications, myocardial correctors (ritmocor and thiotriazoline) in conjunction with base treatment have proved their cardioprotective capacities in school-age children with uncontrollable bronchial asthma.

**Key words:** bronchial asthma, cardiovascular system, metabolic correctors.

## Протекторное действие метаболитических корректоров при лечении детей школьного возраста с неконтролируемой бронхиальной астмой

### Введение

Бронхиальная астма (БА) является проблемой мирового значения и находится в центре внимания клиницистов разных специальностей. Её актуальность обусловлена значительным ростом заболеваемости, смещением её начала на более ранний возраст, часто неконтролируемым течением и развитием инвалидности уже в детском возрасте [3, 6, 8]. В связи с изменениями гемодинамики и риском развития возможных осложнений, таких как нарушение ритма и проводимости, легочной гипертензии, важна оценка состояния сердечно-сосудистой системы (ССС) при бронхиальной астме [4, 7]. Поэтому лекарственные препараты, применяемые для лечения больных с бронхиальной астмой, должны иметь высокую кардиобезопасность [5, 8].

**Цель исследования:** определить уровень эффективности кардиопротекторного действия метаболитических корректоров – ритмокор и тиотриазолина в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии у детей школьного возраста с неконтролируемым течением бронхиальной астмы.

### Материал и методы

Для достижения цели проведено комплексное обследование 189 детей больных персистирующей БА в возрасте от 6 до 17 лет, которые находились на стационарном лечении в отделении торакальной хирургии и состояли на диспансерном учёте в поликлинике Винницкой областной детской клинической больницы, в течение с 2007 по 2013 год и 30 условно здоровых детей, которые составили контрольную группу. Диагноз больным выставляли согласно критериям, приведенным в «Протоколе диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей», утвержденном приказом МЗО Украины № 767 от 27.12.2005 года и на основании разработанной классификации БА у детей утвержденной на XII съезде педиатров Украины (2010, Киев) [1,2].

С помощью тест-контроля БА (АСТ-теста), нами были сформированы группы в зависимости от уровня контроля БА. Первую (основную) группу составили 124 ребёнка (65,6%) с неконтролируемым течением болезни (НК БА), а группу сравнения – 30 пациентов (15,9%) с частично контролируемой (ЧК БА) и 35 пациентов (18,5%) – контролируемой БА (К БА).

Всем детям с персистирующей БА и неконтролируемым течением заболевания, которые находились на лечении, после снятия острого приступа удушья  $\beta_2$ -агонистами короткого действия, назначали базисную терапию в комбинации с метилксантином, в соответствии со степенью тяжести заболевания и уровня контроля согласно критериям, которые представлены в «Протоколе диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей», утвержденном приказом МОЗ Украины № 767

от 27.12.2005 года и критериях GINA (просмотр 2007 г.).

Все дети с НК БА, в зависимости от вида терапевтического лечения, были разделены на четыре терапевтические группы: Ia группа детей получала комплексное лечение: дозированный аэрозольный ингалятор симбикорт турбохалер и аэрофиллин; Ib группа – получала только симбикорт турбохалер; IIa группа – дозированный аэрозольный ингалятор серетид эвохалер» и аэрофиллин; IIb группа – серетид эвохалер. Данные схемы лечения дети получали в течение 7 суток. В связи с выявленными при поступлении изменениями со стороны ССС, внутрикардиальной и церебральной гемодинамики и сохранением изменений на фоне назначенных схем лечения, в дальнейшем, все дети с НК БА были переведены на базисную терапию в комбинации с кардиометаболическими препаратами: Ia группа получала комплексное лечение: дозированный аэрозольный ингалятор симбикорт турбохалер и ритмокор; Ib группа – симбикорт турбохалер и тиотриазолин; IIa группа – серетид эвохалер и ритмокор и IIb – серетид эвохалер и тиотриазолин, в течение 3 месяцев.

Для оценки эффективности протекторного действия метаболитических корректоров – в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии оценивали наличие жалоб со стороны ССС, изменения данных электрокардиографии, уровня электролитов крови ( $K^+$  в сыворотке крови и эритроцитах) и маркеров повреждения миокарда (общей креатинфосфокиназы (КФК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), изоферментов КФК-МВ и ЛДГ1).

### Результаты и их обсуждение

После проведения сравнения клинических симптомов в четырех терапевтических группах между собой через 3 месяца комплексного лечения, установили, что такие симптомы, как сердцебиение, ощущение «перебоя в работе сердца», слабость, были достоверно меньше в Ia терапевтической группе, в которой дети принимали симбикорт+ритмокор ( $p < 0,05$ ), в то же время достоверной разницы между этой группой и контрольной установлено не было ( $p > 0,05$ ), что говорит о большей клинической эффективности данной схемы лечения у детей с НК БА и сопутствующими изменениями со стороны ССС. В тоже время, головная боль достоверно реже встречалась в Ib группе (симбикорт+тиотриазолин) по сравнению с другими схемами лечения ( $p < 0,05$ ), а также данный симптом не имел достоверной разницы с контрольной группой ( $p > 0,05$ ). Необходимо отметить, что несмотря на тенденцию улучшения клинических симптомов в группах детей, принимавших серетид+ритмокор и серетид+тиотриазолин, симптомы со стороны ССС в данных группах достоверно чаще встречались, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Оценка динамики данных ЭКГ у детей с НК БА на фоне комплексного лечения является важной характеристикой состояния ССС. Проведя детальный анализ биоэлектрической активности сердца в четырех терапевтических группах через 3 месяца комплексного лечения, установили, что синусовая тахикардия определялась у 6,4% детей Ia терапевтической группы и у 13,3% детей Ib группы. Также было установлено, что дети с НК БА в Ia группе достоверно имели меньшую частоту синусовой тахикардии через 3 месяца лечения, по сравнению с частотой при поступлении 32,2% ( $p < 0,01$ ) и на 7 сутки лечения 12,9% ( $p < 0,05$ ), в то время как в Ib группе также была установлена достоверная разница по сравнению с количеством синусовой тахикардии при поступлении ( $p < 0,01$ ) и на 7 сутки лечения ( $p < 0,05$ ). Во IIa и IIб терапевтических группах через 3 месяца лечения синусовая тахикардия встречалась с частотой 13,3 и 15,1%, соответственно была достоверно ниже по сравнению с её уровнем при поступлении 30,0% и 30,3% ( $p < 0,01$ ) и на 7 сутки лечения 23,3% и 24,2% ( $p < 0,05$ ).

У детей Ia группы синусовая брадикардия была установлена в 12,9%, но её частота достоверно не отличалась от частоты при поступлении – 16,1% и на 7 сутки лечения – 19,3% ( $p > 0,05$ ). В то время, как в Ib группе (симбикорт+тиотриазолин), частота синусовой брадикардии составила 6,6% и была достоверно ниже по сравнению с количеством при поступлении – 20,0% ( $p < 0,01$ ) и на 7 сутки лечения – 16,6% ( $p < 0,01$ ). Во IIa и IIб терапевтических группах через 3 месяца лечения, с использованием комплексной терапии наблюдалась такая же тенденция, частота синусовой брадикардии у детей Ia группы составила 12,9% и достоверно не отличалась от ее частоты при поступлении – 20,0% и на 7 сутки лечения – 16,6% ( $p > 0,05$ ), в то же время во IIб группе (серетид+ритмокор) частота синусовой брадикардии составила 12,2% и была достоверно ниже по сравнению с количеством при поступлении – 18,1% ( $p < 0,05$ ) и на 7 сутки лечения – 18,1% ( $p < 0,05$ ).

Количество наджелудочковых экстрасистол у детей Ia и Ib терапевтических группах составила 3,2% и 12,9% и через 3 месяца лечения была достоверно меньше по сравнению с их количеством при госпитализации 32,2% ( $p < 0,01$ ) и 26,6% ( $p < 0,05$ ), а соответственно и с их частотой на 7 сутки лечения 12,9% и 20,0% ( $p < 0,05$ ). Такая же тенденция наблюдалась и во IIa и IIб терапевтических группах, где количество наджелудочковых экстрасистол составило 10,0% и 12,9% и было достоверно ниже по сравнению с его количеством при поступлении – 30,0% и 27,2% ( $p < 0,01$ ) и на 7 сутки лечения – 20,3% и 21,2% ( $p < 0,05$ ), соответственно.

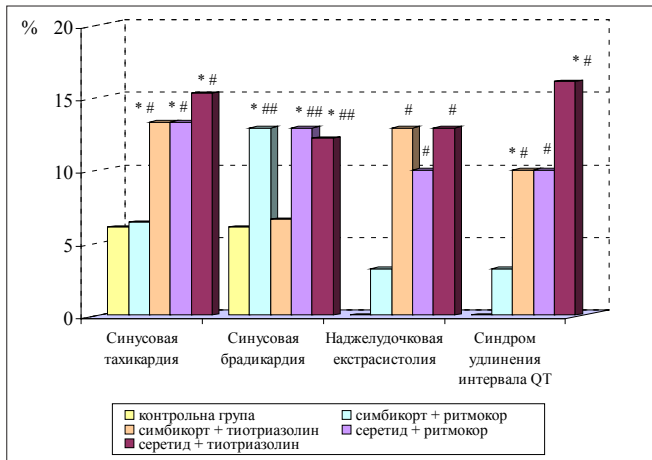
Чрезвычайно важно было проследить за динамикой синдрома удлинения QT, подробно проанализировав частоту синдрома удлинения QT на фоне 3 месяцев лечения метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии, мы установили, что в Ia и Ib терапевтических группах частота данного синдрома составила 3,2% и 10,1% и была

достоверно ниже по сравнению с его количеством при поступлении 29,0% ( $p < 0,01$ ) и 26,6% ( $p < 0,05$ ) и на 7 сутки лечения – 22,5% ( $p < 0,01$ ) и 23,3% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Вместе с тем такая же тенденция наблюдалась во IIa и IIб терапевтических группах, где количество синдрома удлинения QT составила 10,0% и 16,1% и была достоверно ниже по сравнению с его количеством при поступлении – 30,0% и 24,2% ( $p < 0,05$ ) и на 7 сутки лечения – 23,3% и 24,2% ( $p < 0,05$ ), соответственно.

При сравнении четырех терапевтических групп между собой через 3 месяца лечения, установили (рис. 1), что синусовая тахикардия, наджелудочковая экстрасистолия, синдром удлинения QT встречались достоверно меньше в Ia терапевтической группе – 6,4% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с детьми, которые принимали симбикорт+тиотриазолин (13,3%), серетид+ритмокор (13,3%), серетид+тиотриазолин (15,1%), в то время, как у детей Ib терапевтической группы (симбикорт+тиотриазолин), достоверно реже встречалась синусовая брадикардия – 6,6% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с детьми, принимавших симбикорт+ритмокор (12,9%), серетид+ритмокор (12,9%), серетид+тиотриазолин (12,2%), что подтверждает клиническую эффективность данных схем лечения у детей с неконтролируемым течением БА и нарушением биоэлектрической активности сердца. Количество монотопных желудочковых экстрасистол достоверно увеличилась на фоне обострения НК БА в группе детей, принимавших серетид+аэрофиллин до 33,3% по сравнению с 13,3% при поступлении ( $p < 0,05$ ), и имели тенденцию к снижению на фоне лечения серетидом+ритмокор и составили через 3 месяца терапии – 6,6%.

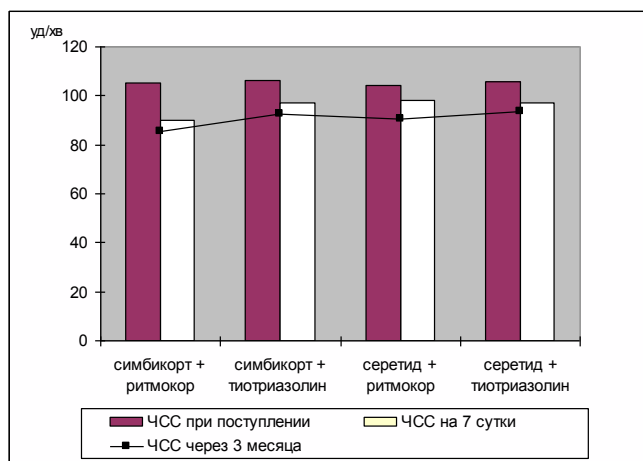
Согласно данным ЭКГ у детей с НК БА, в зависимости от назначенных схем лечения, было установлено, что частота сердечных сокращений (ЧСС) у детей, принимавших симбикорт+ритмокор, составила  $86,2 \pm 1,8$  уд/мин. и у детей, принимавших симбикорт+тиотриазолин –  $93,3 \pm 2,6$  уд/мин., что было достоверно ниже по сравнению с уровнем ЧСС при поступлении –  $105,1 \pm 1,2$  уд/мин. и  $104,2 \pm 1,7$  уд/мин. ( $p < 0,01$ ) и на 7 сутки лечения  $90,1 \pm 1,9$  уд/мин. и  $97,2 \pm 2,8$  уд/мин. ( $p < 0,05$ ) соответственно. При назначении лечения серетидом+ритмокором уровень ЧСС у детей через 3 месяца составил  $90,3 \pm 2,4$  уд/мин. и у детей, которые получали серетид+тиотриазолин –  $93,5 \pm 2,7$  уд/мин., что также было достоверно ниже по сравнению с уровнем ЧСС при поступлении –  $105,3 \pm 1,2$  уд/мин. и  $105,2 \pm 1,8$  уд/мин., ( $p < 0,05$ ) и на 7 сутки лечения  $98,2 \pm 2,9$  уд/мин. и  $93,7 \pm 2,6$  уд/мин. ( $p < 0,05$ ) соответственно.

При сравнении уровня ЧСС у детей с НК БА в четырех терапевтических группах между собой, выявлено (рис.2), что в группе, где дети принимали симбикорт+ритмокор, ЧСС составила  $86,2 \pm 1,8$  уд/мин. и была достоверно меньше по сравнению с другими терапевтическими группами ( $p < 0,05$ ), а ЧСС в терапевтических группах, где дети принимали симбикорт+тиотриазолин, серетид+ритмокор и серетид+тиотриазолин через 3 месяца лечения сохранялась достоверно выше по сравнению с детьми кон-



**Рис. 1. Изменения на ЭКГ у детей с НК БА в терапевтических группах через 3 месяца лечения метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии.**

**Примечание:**\* – статистически достоверная разница (p < 0,01) по сравнению с контрольной группой; # – статистически достоверная разница (p < 0,05) по сравнению с группой детей, которые принимали симбикорт+ритмокор, ## – статистически достоверная разница (p < 0,05) по сравнению с группой детей, которые принимали симбикорт+тиотриазолин.



**Рис. 2. Изменения ЧСС у детей с НК БА в терапевтических группах через 3 месяца лечения метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии.**

трольной группы, в то время, как у детей, принимавших симбикорт+ритмокор ЧСС не отличалась от уровня в группе контроля (p > 0,05).

Важной характеристикой, которая влияет на функциональное состояние ССС, является определение уровня K<sup>+</sup> в сыворотке крови и эритроцитах у детей с НК БА. Через 3 месяца лечения метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии выявлено (табл. 1), что у детей Ia терапевтической группы, средний уровень K<sup>+</sup> в сыворотке крови составил 4,3 (3,6-4,8) ммоль/л и был достоверно выше уровня при поступлении – 3,3 [3,2-4,2] ммоль/л (p < 0,01) и уровня на 7 сутки лечения – 3,6 (3,2-4,7) ммоль/л

(p < 0,05). В то время, как в Ib группе средний уровень K<sup>+</sup> в сыворотке крови составил 3,8 (3,6-4,8) ммоль/л и был достоверно выше по сравнению с его уровнем при поступлении – 3,2 (3,1-4,2) ммоль/л (p < 0,01) и не отличался от уровня на 7 сутки лечения 3,7 (3,1-4,6) ммоль/л (p > 0,05). У детей IIa и IIб групп средний уровень K<sup>+</sup> в сыворотке крови через 3 месяца лечения составил 3,9 (3,6-4,8) ммоль/л и 3,8 (3,4-4,6) ммоль/л, при этом во IIa группе он был достоверно выше по сравнению с его уровнем при поступлении – 3,3 (3,0-3,9) ммоль/л (p < 0,01) и уровнем на 7 сутки лечения – 3,6 (3,0-4,7) ммоль/л (p < 0,05). В то время, как IIб группе уровень K<sup>+</sup> в сыворотке крови через 3 месяца лечения был достоверно выше по сравнению с его уровнем при поступлении – 3,4 (3,0-4,0) ммоль/л (p < 0,01), но не отличался от уровня на 7 сутки лечения – 3,7 (3,0-4,6) ммоль/л (p > 0,05).

Вместе с тем, средний уровень K<sup>+</sup> в эритроцитах, у детей Ia и Ib терапевтических групп через 3 месяца лечения составил 83,0 (76,0-92,0) ммоль/л и 80,0 (63,0-90,0) ммоль/л и достоверно отличался от его уровня при поступлении – 76,0 (60,0-80,0) ммоль/л и 77,0 (62,0-82,0) ммоль/л (p < 0,05). Похожая тенденция наблюдалась и у детей IIa и IIб терапевтических групп, в которых уровень K<sup>+</sup> в эритроцитах через 3 месяца лечения составил 79,0 (75,0-92,0) ммоль/л и 78,0 (62,0-91,0) ммоль/л и, также, достоверно отличался от его уровня при поступлении – 76,0 (61,0-81,0) ммоль/л и 75,0 (60,0-80,0) ммоль/л (p > 0,05), но при этом не было установлено достоверной разницы по сравнению с его уровнем на 7 сутки лечения 79,0 (61,0-89,0) ммоль/л и 77,0 (60,0-88,0) ммоль/л (p > 0,05).

Необходимо отметить тот факт, что при сравнении среднего уровня K<sup>+</sup> в сыворотке крови в четырех терапевтических группах через 3 месяца лечения, метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии установлено, что средний уровень K<sup>+</sup> в сыворотке крови у детей Ia группы (симбикорт+ритмокор) через 3 месяца лечения, был достоверно выше по сравнению с уровнем в других терапевтических группах (p < 0,05), в то же время его уровень не отличался от уровня K<sup>+</sup> в сыворотке крови у детей контрольной группы (p > 0,05). Одновременно, несмотря на тенденцию к повышению уровня K<sup>+</sup> в сыворотке крови у детей с НК БА в Ib, IIa, IIб терапевтических группах, его уровень был достоверно меньше, по сравнению с контрольной группой (p < 0,05).

Такая же тенденция наблюдалась и при сравнении среднего уровня K<sup>+</sup> в эритроцитах в четырех терапевтических группах через 3 месяца лечения. Метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии при этом было установлено, что средний уровень K<sup>+</sup> в эритроцитах у детей Ia группы, которые принимали симбикорт+ритмокор через 3 месяца лечения, был достоверно выше по сравнению с уровнем в других терапевтических группах (p < 0,05), в то же время его уровень не отличался от уровня у детей контрольной группы (p > 0,05). Несмотря на тенденцию к повышению уровня K<sup>+</sup> в эритроцитах у детей с НК БА в Ib, IIa, IIб

Таблица 1

## Динамика уровня калия в сыворотке крови и эритроцитах через 3 месяца лечения метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии

Терапевтические группы	n	Уровень калия в сыворотке крови, ммоль/л			Уровень калия в эритроцитах, ммоль/л		
		При поступлении	7 сутки	Через 3 месяца	При поступлении	7 сутки	Через 3 месяца
		Me (C25-C75)	Me (C25-C75)	Me (C25-C75)	Me (C25-C75)	Me (C25-C75)	Me (C25-C75)
Ia (симбикорт+ритмокор)	31	3,3 (3,2-4,2)	3,6 (3,2-4,7) $p_1 < 0,05$	4,3 (3,6-4,8) $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	76,0 (60,0-80,0)	78,0 (60,0-89,0)	83,0 (76,0-92,0) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Iб (симбикорт+тиотриазолин)	30	3,2 (3,1-4,2)	3,7 (3,1-4,6) $p_1 < 0,05$	3,8 (3,4-4,7) $p_1 < 0,01$	77,0 (62,0-82,0)	79,0 (62,0-86,2)	80,0 (63,0-90,0) $p_1 < 0,05$
IIa (серетид+ритмокор)	30	3,3 (3,0-3,9)	3,6 (3,0-4,7) $p_1 < 0,05$	3,9 (3,6-4,8) $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	76,0 (61,0-81,0)	78,0 (61,0-89,0)	79,0 (75,0-92,0) $p_1 < 0,05$
IIб (серетид+тиотриазолин)	33	3,4 (3,0-4,0)	3,7 (3,0-4,6) $p_1 < 0,05$	3,8 (3,4-4,6) $p_1 < 0,01$	75,0 (60,0-80,0)	77,0 (60,0-88,0)	78,0 (62,0-91,0) $p_1 < 0,05$

**Примечание:** 1.  $p_1$  – достоверность разницы уровня  $K^+$  в сыворотке крови и эритроцитах через 3 мес. лечения по сравнению с уровнем при поступлении;

2.  $p_2$  – достоверность разницы уровня  $K^+$  в сыворотке крови и эритроцитах через 3 мес. лечения по сравнению с уровнем на 7 сутки.

терапевтических группах его уровень был достоверно меньше, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Не менее важной была оценка динамики уровня маркеров повреждения миокарда у детей с НК БА через 3 месяца лечения метаболическими корректорами в сочетании с комбинированными препаратами базисной терапии: у детей с НК БА Ia терапевтической группы, принимавших симбикорт+ритмокор и Ib, принимавших симбикорт+тиотриазолин, уровень общей КФК через 3 месяца лечения составил 168,5 (140,1-176,3) Ед/л и 155,4 (138,1-170,1) Ед/л и был достоверно меньше по сравнению с его уровнем при поступлении-295,4 (291,1-299,2) Ед/л и 296,0 (290,1-301,2) Ед/л ( $p < 0,001$ ), а соответственно и на 7 сутки лечения – 220,1 (102,1-289,3) Ед/л и 229,2 (101,1-286,2) Ед/л ( $p < 0,05$ ). Похожая тенденция наблюдалась у детей с НК БА IIa терапевтической группы, принимавших серетид+ритмокор и IIб группы (серетид+тиотриазолин): уровень общей КФК составил 170,2 (140,2-175,3) Ед/л и 167,3 (139,1-171,2) Ед/л и был достоверно меньше по сравнению с его уровнем при поступлении – 294,1 (291,1-301,2) Ед/л ( $p < 0,01$ ) и 295,1 (292,1-300,2) Ед/л ( $p < 0,001$ ), а соответственно и на 7 сутки лечения 230,1 (102,3-285,3) Ед/л и 231,2 (102,4-289,3) Ед/л. Исследовав динамику уровня изофермента КФК-МВ фракции, нами было установлено, что у детей с НК БА Ia терапевтической группы он составил 31,7 (20,0-36,4) Ед/л и Ib группы – 19,

8 (19,0-26,4) Ед/л и достоверно был ниже по сравнению с его уровнем при поступлении – 61,2 (51,1-69,5) Ед/л и 62,7 (50,1-69,2) Ед/л ( $p < 0,001$ ), а соответственно и на 7 сутки лечения уровень КФК-МВ фракции у детей с НК БА IIa и IIб группы на 7 сутки лечения 42,2 (41,1-56,1) Ед/л и 45,1 (40,2-57,2) ( $p < 0,05$ ). Уровень изофермента КФК-МВ фракции у детей с НК БА IIa и IIб групп через 3 месяца лечения составил 32,6 (23,2-37,6) Ед/л и 30,2 (21,2-36,6) Ед/л и также был достоверно ниже по сравнению с его уровнем при поступлении – 62,7 (50,1-69,3) Ед/л ( $p < 0,001$ ) и 61,2 (51,2-69,2) Ед/л ( $p < 0,05$ ), соответственно и на 7 сутки – 48,7 (41,3-56,3) Ед/л и 49,2 (40,4-58,1) Ед/л ( $p < 0,05$ ).

При сравнении уровня общей КФК в четырех терапевтических группах между собой через 3 месяца комплексного лечения, установили, что в Ib терапевтической группе, в которой дети с НК БА получали симбикорт+тиотриазолин, уровень общей КФК был достоверно ниже по сравнению с другими схемами лечения ( $p < 0,05$ ), в то же время уровень общей КФК в данной группе не отличался от уровня в контрольной группе ( $p > 0,05$ ). Кроме того, в Ia, IIa и IIб группах наблюдалась тенденция к снижению общей КФК, но её уровень был достоверно выше по сравнению с уровнем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). В Ib терапевтической группе, в которой дети с НК БА получали симбикорт+тиотриазолин, уро-

вень изофермента КФК-МВ фракции его был достоверно ниже по сравнению с другими схемами лечения ( $p < 0,05$ ) и одновременно не отличался от уровня в контрольной группе ( $p > 0,05$ ). Одновременно в Ia, IIa и IIб группах наблюдалась тенденция к снижению уровня изофермента КФК-МВ фракции, но его уровень был достоверно выше по сравнению с уровнем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

Уровень общей ЛДГ у детей с НК БА Ia терапевтической группы составил 269,2 (242,1-302,2) Ед/л и 260,4 (239,1-293,1) Ед/л и был достоверно меньше по сравнению с его уровнем при поступлении 510,2 (360,2-546,3) Ед/л ( $p < 0,05$ ) и 520,0 (370,1-541,3) Ед/л ( $p < 0,01$ ), а соответственно и на 7 сутки лечения 415,2 (290,1-446,2) Ед/л и 425,1 (286,2-448,1) Ед/л ( $p < 0,05$ ), а уровень общей ЛДГ у детей с НК БА IIa терапевтической группы, принимавших серетид+ритмокор составил 270,1 (243,2-306,3) Ед/л и II б группы (серетид+тиотриазолин) составил 268,2 (238,1-296,2) Ед/л и был достоверно меньше по сравнению с его уровнем при поступлении – 526,1 (380,1-541,5) Ед/л и 528,1 (376,1-543,2) Ед/л ( $p < 0,001$ ), а соответственно 428,2 (291,2-447,2) Ед/л и 429,3 (290,3-450,2) Ед/л ( $p < 0,05$ ).

Такая же тенденция наблюдалась во всех четырех терапевтических группах с уровнем изофермента ЛДГ1, который у детей с НК БА, получали симбикорт+ритмокор и получавших симбикорт+тиотриазолин, составил 29,0% (19,0-26,4) и 18,4% (19,0-23,4) и был достоверно меньше по сравнению с его уровнем при поступлении 40,1% (32,0-49,0) и 41,3% (35,0-48,0) ( $p < 0,01$ ), соответственно и на 7 сутки лечения 29,2% (26,5-36,1) и 36,1% (25,6-36,5) ( $p < 0,05$ ) соответственно. Вместе с тем уровень изофермента ЛДГ1 через 3 месяца лечения серетидом+ритмокор и серетидом+тиотриазолином у детей с НК БА составил 30,6% [19,2-26,6] и 28,7% (19,2-24,6), что также было достоверно меньше по сравнению с его уровнем при поступлении – 42,5% (34,2-49,0) и 40,6% (35,2-49,4) ( $p < 0,01$ ), а соответственно и на 7 сутки лечения 38,5% (27,3-37,3) и 37,7% (26,7-38,1) ( $p < 0,05$ ). При сравнении уровня общей ЛДГ в четырех терапевтических группах между собой через 3 месяца комплексного лечения, установили, что в IIб терапевтической группе, в которой дети с НК БА получали симбикорт+тиотриазолин, уровень общей ЛДГ был достоверно ниже по сравнению с другими схемами лечения ( $p < 0,05$ ).

При сравнении уровня изофермента ЛДГ1 в четырех терапевтических группах между собой через 3 месяца комплексного лечения, установили, что в IIб терапевтической группе уровень его был достоверно ниже по срав-

нению с другими схемами лечения ( $p < 0,05$ ) и при этом не отличался от уровня в контрольной группе ( $p > 0,05$ ).

Одновременно в Ia, IIa и IIб группах наблюдалась тенденция к снижению уровня изофермента ЛДГ1, но его уровень был достоверно выше по сравнению с уровнем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

### Выводы

1. На фоне применения комплексной терапии симбикортом в сочетании с ритмокором в течение 3 месяцев достоверно меньше, по сравнению с другими терапевтическими группами, встречались такие клинические симптомы, как сердцебиение, ощущение «перебоя в работе сердца», слабость, снизилась частота синусовой тахикардии, наджелудочковых экстрасистол, удлинение интервала QT. Это ассоциировалось с повышением уровня калия в сыворотке крови и эритроцитах.

2. Дифференцированное лечение симбикортом в сочетании с тиотриазолином приводит к уменьшению синусовой брадикардии, уровня маркеров повреждения миокарда общей КФК, изофермента КФК-МВ фракции, общей ЛДГ и изофермента ЛДГ-1, что указывает на клиническую эффективность данной схемы лечения у детей с неконтролируемым течением бронхиальной астмы и изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы.

### References

1. Diagnostika, klinika, klasifikatsiya i lechenie bronkhialnoy astmy (metodicheskiy rekomendatsii) [Diagnostika, clinical, classification and the treatment of bronchial asthma (methodological recommendations)]. Astma i alergiyu: nauchno-prakticheskiy zhurnal. [Asthma that allergy: 2006; 3(4):9-24.
2. Klasifikatsiya bronkhialnoy astmy u detey [The classification of bronchial asthma in children]. Pediatria akusherstvo i ginekologiya. [Pediatriya, akusherstvo and ginekologiya]. 2011;73(1):60-62.
3. Okhtnikova EN. Osobnosti techeniy i lecheniy bronkhialnoy astmy u detey ranego vozrasta [Features of current and treatment of a bronchial asthma at children of early age]. Sovremennaya pediatria [Modern pediatrics]. 2009;2:32-39.
4. Nee WM. Cardiovascular injury and repair in chronic obstructive pulmonary disease. Proc. Am. Thorac. Soc. 2008;5(1):824-833.
5. Salpeter SR. Cardiovascular safety of beta 2-adrenoceptor agonist use in patients with obstructive airway disease: a systematic review. Drugs Aging. 2004;21(6):405-414.
6. Subbarao P. Asthma: epidemiology, etiology and risk factors. Can. Med. Assoc. J. 2010; 27(3):181-190.
7. Stallberg B. A real-life cost-effectiveness evaluation of budesonide/formoterol maintenance and reliever therapy in asthma. Respir. Med. 2008;102(12):1360-1370.
8. Tesse R. Genetic variations in toll-like receptor pathway genes influence asthma and atopy. R. Allergy. 2011; 66 (5):307-316.



## Ipigrix (ipidacrin) in the complex treatment of patients with idiopathic axonal polyneuropathy

\*V. Lisnic<sup>1</sup>, L. Munteanu<sup>2</sup>, V. Nemtan<sup>1</sup>, O. Mistic<sup>2</sup>, M. Sangheli<sup>1</sup>, L. Chetrari<sup>2</sup>, S. Plesca<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, <sup>2</sup>Institute of Neurology and Neurosurgery Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: vitalie.lisnic@usmf.md. Manuscript received December 22, 2014; accepted April 05, 2014

### Abstract

**Background:** Peripheral neuropathy is a frequent nosologic unit, its prevalence being estimated as 2-8% of the population. Polyneuropathy treatment is especially difficult in the axonal forms cases. To study the effectiveness of the medicines acting on the pathogenetic evolution of the polyneuropathy is very important. The objectives of the study have been to assess the efficiency of ipigrix (ipidacrin) with regard to the clinical state of the patients with idiopathic axonal polyneuropathy (IAP) and to determine its influence on electromyographic indices.

**Material and methods:** 2 groups of 30 patients with IAP have been examined in an open controlled trial. In the complex treatment of the patients of group A ipigrix (ipidacrin) has been added – 15 mg (1.5% solution – 1.0 ml) intramuscularly for 20 days. The patients of group B have received a standard treatment.

**Results:** After the course of the treatment in the both studied groups the improvement has been recorded both in clinic and electromyographic indices. But the statistically significant changes have been observed only in group A – in the patients who have additionally received ipidacrin. These changes have been related to the significant increase of the nerve conduction velocity in motor and sensory fibers of peripheral nerves.

**Conclusions:** ipigrix (ipidacrin) positively influences and improves the clinical outcomes and electromyographic indices in the patients with IAP. It can be successfully used in the complex treatment of axonal polyneuropathies of other determined etiologies (diabetic, alcoholic, uremic, etc.).

**Key words:** polyneuropathy, axonopathy, electromyography, ipigrix (ipidacrin).

## Ipigrix (ipidacrin) în tratamentul complex al pacienților cu polineuropatii axonale idiopatică

### Introducere

Neuropatia periferică este o entitate nosologică frecvent întâlnită în activitatea cotidiană a neurologului. Se consideră că circa 2-8% din populația de pe glob suferă de neuropatii [1]. Este cunoscut faptul că diabetul zaharat este cea mai frecventă cauză a neuropatiei periferice în țările occidentale [2]. În același timp, etiologia polineuropatiei rămâne incertă în circa 30% cazuri, constatându-se deseori diagnosticul de polineuropatie axonală idiopatică (PAI).

Tratamentul polineuropatiei este anevoios mai ales în cazurile de polineuropatie axonală. Deseori, el este adresat tratamentului sindromului algic și, practic, nu este relatat la mecanismele patogenetice de derulare a polineuropatiei. În acest context, promițătoare pare a fi utilizarea preparatului Ipigrix (Ipidacrin) în tratamentul polineuropatiilor axonale. În literatura de specialitate nu există date despre utilizarea preparatului Ipidacrin în tratamentul complex al polineuropatiilor axonale idiopatică.

Obiectivele studiului au constat în: aprecierea eficienței administrării preparatului Ipigrix la starea clinică a pacienților cu PAI; determinarea influenței preparatului Ipigrix asupra conductibilității în fibrele motorii și senzoriale ale nervilor periferici în cadrul PAI; stabilirea posibilelor efecte adverse în cadrul administrării suplimentare a preparatului Ipigrix în tratamentul complex al pacienților cu PAI.

### Material și metode

În cadrul unui trial deschis controlat au fost examinate 2 loturi a câte 30 de pacienți cu PAI. La pacienții din lotul A, în tratamentul complex s-a adăugat Ipigrix (Ipidacrin) 15

mg (soluție de 1,5% – 1,0 ml) intramuscular, timp de 20 de zile. Grupul B de pacienți a administrat tratament standard (complex de vitamine grupul B (B1, B6, B12), pentoxifilină etc.). Criteriile de includere în studiu au fost următoarele: pacienți cu polineuropatie axonală confirmată în baza cercetării electrofiziologice, vârsta 18-80 de ani, acordul informat al pacientului. Au fost excluși din studiu pacienții cu polineuropatie axonală datorată altor cauze: diabet zaharat, hiper- și hipotireoidism, uremie, patologie a ficatului (hepatite cronice, ciroză); pacienții cu maladii ale organelor interne (pancreatite cronice, glomerulo- și pielonefrite cronice, colagenoze etc.) în stadiul de decompensare; modificări semnificative ale traseului ECG (tulburări de ritm cardiac, modificări relatate la boala ischemică cardiacă); sarcină sau alăptarea copilului; pacienții necooperanți.

A fost obținut acordul informat de la pacienți, a fost colectat istoricul maladiei, efectuat examenul clinic și neurologic, realizat examenul electromiografic, apreciat scorul neuropatic. Examenul de laborator a inclus analiza generală a sângelui, glicemia, transaminazele sanguine, urea etc. Examinările menționate au fost repetate peste 3 săptămâni.

Eficiența tratamentului a fost apreciată conform evoluției cantitative a stării subiective și obiective a pacientului în baza examenului scorului neuropatic; modificării datelor examenului electroneuromiografic; aprecierii modificărilor indicilor biochimici; considerării efectelor adverse.

### Rezultate obținute

În tabelul 1 sunt prezentate datele generale despre pacienții examinați. Vârsta medie a pacienților din lotul A a fost de 54,8 ± 2,35 ani, iar în lotul B – de 57,1 ± 2,21 (p > 0,05). Maladia

a debutat la  $51,9 \pm 1,44$  ani la pacienții din lotul A și  $52,3 \pm 1,85$  ani în lotul B ( $p > 0,05$ ). S-a înregistrat o evoluție lentă, progresivă a manifestărilor clinice. Simptomele și semnele de polineuropatie s-au conturat pe parcursul lunilor. Pacienții din ambele loturi studiate au fost incluși la 4-5 ani (în mediu 54-46 de luni) de la apariția primelor manifestări ale maladii.

Tabelul 1

## Date generale despre pacienții incluși în studiu

Indici consemnați	Lotul A, Nr = 30 (14 femei, 16 bărbați) $M_1 \pm ES_1$	Lotul B, Nr = 30 (13 femei, 17 bărbați) $M_2 \pm ES_2$	P
Vârsta, ani	$54,8 \pm 2,35$	$57,1 \pm 2,21$	$> 0,05$
Vârsta medie la debut, ani	$51,9 \pm 1,44$	$52,3 \pm 1,85$	$> 0,05$
Vechimea maladii, luni	$54,8 \pm 7,70$	$56,0 \pm 9,12$	$> 0,05$

După 20 de zile de tratament, au fost înregistrate rezultate pozitive la ambele loturi studiate (tab. 2-4). Rezultatele modificării stării subiective și examenului neurologic sunt generalizate în tabelul 2, care reflectă scorul neuropatic al pacienților, obținut prin calcularea indicilor subiectivi ai

pacienților (simptome senzorii, motorii și vegetative) și rezultatelor examenului obiectiv (aprecierii simțurilor: tactil, de vibrație, forței musculare, reflexelor osteotendinoase). În baza aprecierii cantitative a fiecărui indice de la 1 (manifestări minore) la 4 (manifestări exprimate), a fost calculat scorul total neuropatic (STN). Ambele tratamente au contribuit la ameliorarea stării subiective, gradului expresiei obiective a manifestărilor neurologice, însă STN nu a suferit modificări statistice semnificative la niciun grup de pacienți.

Rezultatele examenului electromiografic sunt prezentate în tabelele 3 (examenul de stimulodectie în fibrele motorii ale nervilor median și peronier) și 4 (examenul de stimulodectie în fibrele motorii ale nervilor median și sural).

După tratamentul administrat atât standard cât și cu Ipidacrin, s-au constatat modificări, care reflectă o ameliorare a conductibilității atât în fibrele motorii, cât și senzoriale ale nervilor periferici. Ele constau în reducerea latenței distale, majorarea vitezei de propagare a impulsului, creșterea amplitudinii răspunsurilor motorii și senzoriale, diminuarea latenței răspunsurilor tardive. Însă modificări statistice semnificative au fost consemnate doar pentru lotul A – pacienții care au administrat suplimentar Ipidacrin. După cura de tratament, la acești pacienți s-a constatat majorarea vitezei medii de

Tabelul 2

## Evoluția scorului total neuropatic la pacienții examinați

Nr. d/o	Indice	Lotul A (valori inițiale), Nr = 30	Lotul A (tratament standard + Ipidacrin), Nr = 30	Lotul B (valori inițiale), Nr = 30	Lotul B (tratament standard), Nr = 30
1.	Simptome senzorii	$2,1 \pm 0,14$	$1,9 \pm 0,14$	$2,2 \pm 0,14$	$2,1 \pm 0,14$
2.	Simptome motorii	$1,4 \pm 0,11$	$1,2 \pm 0,11$	$1,4 \pm 0,12$	$1,3 \pm 0,11$
3.	Simptome vegetative	$1,62 \pm 0,22$	$1,54 \pm 0,21$	$1,58 \pm 0,18$	$1,53 \pm 0,21$
4.	Simț tactil	$1,82 \pm 0,13$	$1,76 \pm 0,15$	$1,86 \pm 0,16$	$1,81 \pm 0,17$
5.	Simț de vibrație	$2,1 \pm 0,16$	$2 \pm 0,18$	$2,1 \pm 0,18$	$2 \pm 0,19$
6.	Forță musculară	$1,12 \pm 0,12$	$1,1 \pm 0,12$	$1,14 \pm 0,12$	$1,16 \pm 0,12$
7.	Reflexe osteotendinoase	$1,4 \pm 0,13$	$1,4 \pm 0,13$	$1,4 \pm 0,13$	$1,4 \pm 0,13$
11.	Scor total neuropatic	$12,27 \pm 1,35$	$11,37 \pm 1,27$	$12,35 \pm 1,47$	$11,94 \pm 1,18$

Tabelul 3

## Rezultatele examenului de stimulodectie în fibrele motorii la pacienții cu polineuropatie axonală idiopatică

Parametrul studiat	Lotul A (tratament standard + Ipidacrin), Nr = 30				Lotul B (tratament standard), Nr = 30			
	n. median		n. peronier		n. median		n. peronier	
	Până la tratament	După tra- tament	Până la tratament	După tra- tament	Până la tratament	După tra- tament	Până la tratament	După tratament
Latență distală, ms	$3,4 \pm 0,9$	$3,3 \pm 0,8$	$5,4 \pm 1,2$	$5,0 \pm 0,8$	$3,5 \pm 1,2$	$3,4 \pm 1,1$	$5,3 \pm 1,1$	$5,1 \pm 0,9$
Amplitudinea potențialului de acțiune muscular complex, mV	$5,6 \pm 0,9$	$6,1 \pm 0,8$	$3,1 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,2$	$5,7 \pm 0,9$	$6,8 \pm 0,7$	$3,2 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,2$
Viteza de conducere motorie, m/s	$51,1 \pm 4,3$	$56,3 \pm 3,2$	$40,2 \pm 2,4$	$47,1 \pm 2,3^*$ $t = 2,08$ $p < 0,05$	$50,9 \pm 4,4$	$53,3 \pm 2,9$	$40,9 \pm 2,2$	$43,5 \pm 2,2$
Unda – F, m/s	$28,9 \pm 2,4$	$26,5 \pm 2,5$	$52,1 \pm 4,4$	$50,6 \pm 3,9$	$28,1 \pm 2,5$	$27,4 \pm 2,6$	$52,8 \pm 4,2$	$51,3 \pm 3,8$

Notă: \* – modificări statistice semnificative.



Tabelul 4

## Rezultatele examenului de stimulodectecție în fibrele senzoriale cu polineuropatie axonală idiopatică

Parametrul studiat	Lotul A (tratament standard + Ipidacrin), Nr = 30				Lotul B (tratament standard), Nr = 30			
	n. median		n. sural		n. median		n. sural	
	Până la tratament	După trata- ment	Până la tratament	După trata- ment	Până la tratament	După trata- ment	Până la tratament	După trata- ment
Latență senzorială, ms	2,7 ± 0,5	2,4 ± 0,4	5,4 ± 0,7	4,9 ± 0,6	2,7 ± 0,5	2,4 ± 0,4	5,4 ± 0,7	4,9 ± 0,6
Amplitudinea potențialului senzi- tiv, mV	23,4 ± 2,1	26,1 ± 2,6	2,1 ± 0,4	2,4 ± 0,3	22,9 ± 2,4	25,4 ± 2,5	2,3 ± 0,3	2,5 ± 0,4
Viteza de conducere senzorială, m/s	41,4 ± 2,8	52,3 ± 2,4* t = 2,96 p < 0,01	38,1 ± 2,5	46,1 ± 2,4* t = 2,31 p < 0,05	41,7 ± 2,6	47,6 ± 2,7	39,3 ± 2,4	44,2 ± 2,5

Notă: \* – modificări statistic semnificative.

transmitere a impulsului în fibrele n. peronier de la 40,2 ± 2,4 m/s, până la 47,1 ± 2,3 m/s (t = 2,08; p < 0,05). Totodată, s-a determinat creșterea vitezei senzoriale de la 41,4 ± 2,8 m/s până la 52,3 ± 2,4 m/s în fibrele n. median (t = 2,96; p < 0,01) și de la 38,1 ± 2,5 m/s până la 46,1 ± 2,4 m/s în fibrele n. sural (t = 2,31; p < 0,05).

Modificările amplitudinii răspunsurilor senzoriale și motorii s-au dovedit a fi ne semnificative pentru ambele grupuri de pacienți.

Schimbări esențiale în evoluția indicilor biochimici, pe parcursul tratamentului, n-au fost constatate la niciun grup de pacienți. Toți pacienții incluși în studiu au tolerat bine tratamentul administrat. Efecte adverse n-au fost înregistrate.

### Discuții

Studiul efectuat este adresat problemei tratamentului PAI. Tratamentele tradiționale aplicate în tratamentul neuropatiilor axonale sunt direcționate spre influența factorului etiologic. Astfel, studiile multicentrice efectuate au demonstrat că cea mai importantă metodă de influență asupra evoluției polineuropatiei diabetice este controlul riguros al nivelului glicemiei [2, 3]. Pentru tratamentul neuropatiei axonale, induse de consumul excesiv de alcool, este importantă stoparea consumului de alcool și compensarea carenței de tiamină în organism [1]. Evoluția neuropatiilor determinate de patologia glandei tiroide, manifestate atât prin hipo-, cât și prin hipertireoidie, poate fi eficient influențată prin compensarea funcției glandei tiroide [1]. În cazul neuropatiilor idiopatice, în pofida cercetărilor intense realizate în ultimul deceniu, nu se cunoaște factorul etiologic posibil. Se speculează posibilitatea influenței nivelurilor majorate de trigliceride la acești pacienți sau toleranței diminuate la glucoză [4]. În acest context, este actuală evaluarea posibilităților de influență asupra mecanismelor patogenetice de dezvoltare a axonopatiilor. O abordare atractivă în această privință, constă în administrarea preparatelor care facilitează transmisiunea neuromusculară cum ar fi Ipigrix (Ipidacrin). Schemele contemporane de tratament conțin preparate cu acțiune anticolinesterazică. Ipidacrina este o substanță relativ nouă, sintetizată de Centrul Național de Cercetări ale Substanțelor Biologice Active

al Federației Ruse și reprezintă structural o aminopiridină, similară tacrinei [5]. Spre deosebire de alte anticolinesterazice tipice, mecanismul de acțiune al cărora constă în acumularea acetilcolinei în fanta sinaptică și influența ei mai accentuată asupra receptorilor postsinaptici, ipidacrina influențează toate segmentele din componența sistemului nervos central și periferic care contribuie la propagarea impulsurilor. Ipidacrina stimulează direct transmisiunea impulsurilor în structurile sistemului nervos central și la nivel de sinapsă neuromusculară, blocând membrana canalelor de potasiu. Din aceste considerente, preparatul menționat și-a găsit o întrebuințare largă în tratamentul tulburărilor de memorie de diferită origine (6-9), recuperarea funcțiilor motorii după accidente cerebrovasculare [10, 11].

Ipidacrina stimulează fibrele nervoase presinaptice, intensifică eliberarea neuromediatorilor în fanta sinaptică, diminuează distrugerea acetilcolinei, majorează activitatea celulei postsinaptice. Preparatul facilitează contractarea mușchilor netezi nu doar prin intermediul acetilcolinei, dar și al altor mediatori cum ar fi adrenalina, serotonina, histamina, oxitocina.

În studiul efectuat, administrarea adițională a preparatului Ipigrix (Ipidacrin) a contribuit la ameliorarea simptomelor și semnelor clinice ale PAI. Totodată, s-au constatat modificări semnificative ale conductibilității în fibrele motorii și senzoriale ale nervilor periferici. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu rezultatele obținute de Zhivolupov SA. et al. [12, 13], care au demonstrat eficiența administrării ipidacrinei în tratamentul leziunilor traumatiche ale nervilor periferici. Autorii, prin utilizarea potențialelor evocate somestezice și motorii, au demonstrat și mecanismul central de acțiune a preparatului. Facilitarea transmisiunii centrale în cadrul căilor somatosenzoriale și motorii a fost explicată prin acțiunea de remodelare a transmisiunii și neuroplasticitate, datorate formării conexiunilor neuronale adiționale. Shyrokov VA. et al. [14] au demonstrat eficiența Ipidacrinei în tratamentul unui lot de 58 de pacienți cu neuropatie focală. Autorii au propus administrarea preparatului perineural în locul posibilei afectări focale a nervului periferic. Colectivul de cercetători din Chelyabinsk (Federația Rusă), condus de Beliskaia GN. [15],

a demonstrat utilitatea utilizării Ipidacrinei în tratamentul neuropatiilor de tunel al nervului radial.

Deoarece Ipidacrina influențează pozitiv evoluția PAI, probabil, acest preparat ar putea fi utilizat cu succes și în tratamentul complex al neuropatiilor axonale cu etiologie determinată cum ar fi neuropatia diabetică, alcoolică, uremică, în hipotireoidism, în cadrul hepatitelor cronice etc.

### Concluzii

Ipigrix (Ipidacrin) influențează pozitiv evoluția clinică și ameliorează indicii electrofiziologici ai conductibilității în fibrele motorii și senzoriale ale nervilor periferici la pacienții cu polineuropatie axonală idiopatică.

Preparatul este bine tolerat de pacienți. Reacții adverse importante n-au fost înregistrate.

Deoarece preparatul Ipigrix (Ipidacrin) influențează pozitiv evoluția polineuropatiei axonale idiopatice, el ar putea fi utilizat cu succes și în tratamentul complex al altor polineuropatii axonale cu etiologie determinată (diabetică, alcoolică, uremică etc.).

### References

- Mendell JR, Kissel JT, Cornblath DR. Diagnosis and management of peripheral nerve disorders. Oxford: University Press, 2001.
- Smith AG, Singleton JR. Diabetic Neuropathy. *Continuum Lifelong Learning Neurol.* 2012;18(1):60-84.
- Sumner CJ, Sheth S, Griffin JW, et al. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology.* 2003;60:108-111.
- Hughes RA, Umaphathi T, Gray IA, et al. A controlled investigation of the cause of chronic idiopathic axonal polyneuropathy. *Brain.* 2004;127:1723-1730.
- Kojima J, Onodera K, Ozeki M, et al. Ipidacrine (NIK-247): A Review of Multiple Mechanisms as an Antidementia Agent. *CNS Drug Reviews.* 1998;4(3):247.
- Maksimova MIu, Okhtova F, Sineva NA, et al. Neyromidin in the treatment of stage I hypertensive dyscirculatory encephalopathy. *Ter Arkh.* 2013;85(8):87-90.
- Pustokhanova LV, Morozova EM, Selivokhina OI, et al. Neuromidin in the treatment of cognitive impairment in the early rehabilitation period of ischemic stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2013;113(3):47-52.
- Zhivolupov SA, Samartsev IN, Marchenko AA, et al. Neurophysiological monitoring of the efficacy of the complex therapy of vascular and post-traumatic encephalopathy. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2013;113(4):25-9.
- Maksimova MIu, Korobkova DZ, Sineva NA, et al. Neyromidin in ischemic stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2013;113(3):34-8.
- Maksimova MIu, Mikhhalchenko VN, Sineeva NA, et al. Neuromidin in the restoration of motor functions after ischemic stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2013;113(2):25-7.
- Skoromets AA, Melnikova EV, Kairbekova EI, et al. The use of ipidacrinum in chronic brain ischemia. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2013;113(1):50-2.
- Zhivolupov SA, Samartsev IN. Central mechanisms of therapeutic effectiveness of neuromidin in the treatment of peripheral nerve lesions. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2010;110(3):25-30.
- Zhivolupov SA, Shapkova Elu, Samartsev IN, et al. Pathogenesis and new strategy in treatment of neuronal conductivity impairments in compression-ischemic neuropathies: a clinical and experimental study. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2010;110(8):41-50.
- Shirokov VA, Bakhtereva EV, Leiderman EL. Focal neuropathies: new possibilities for pharmacological treatment. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2011;111(6):49-52.
- Beliskaia GN, Popov DV, Gusev VV, et al. The use of ipidacrinum (neuromidin) in mononeuropathies. *Zh Nevrol Psikhiatr im S S Korsakova [Journal of Neurological Psychiatry named after S S Korsakov].* 2012;112(10):31-2.

## The cardiac metabolic treatment: effects of trimetazidine

V. Cobet

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

Corresponding author: valcobe@mail.ru. Manuscript received November 25, accepted February 15, 2014

### Abstract

**Background:** The heart affection at is associated with energy deficiency due to oxygen dearth which alters a lot of cardiac functions, most important of them being ion pump working, myocardial contractility and relaxation. Attempting of energy synthesis improvement is an important tenet of cardiac metabolic therapy leading to clinical and functional benefits. Nowadays trimetazidine (TMZ) is admittedly recognized as a reliable remedy providing energetic gain, thereby, inhibition of mitochondrial long chain 3-ketoacyl Co-enzyme A thiolase involved in free fatty acids oxidation, shifting energy synthesis toward glucose oxidation which needs lesser oxygen consumption by up to 25%.

**Material and methods:** This article is aimed at the revealing of TMZ effects on patients with stable angina pectoris, ischemia-reperfusion syndrome and chronic heart failure inclusively based on evidences of A level (data of randomized trials and meta-analyses). Added to standard anti-ischemic therapy, TMZ (60 or 70 mg/day) has led to a significant increase of time and volume of physical effort, period of ST decline and angina appearing, as well as reducing of angina episodes *per day* and anti-anginal remedies' dosage.

**Results:** The chronic heart failure therapy supplementation by TMZ induced a more conspicuous decrease of NYHA class, preserved ventricular end-systolic and end-diastolic volumes, Tei index value, B-type natriuretic peptide blood level, while ejection fraction raised higher even in patients with diabetes mellitus.

**Conclusions:** It is important to emphasize the TMZ capacity to blunt the oxidative stress activity, nonspecific inflammation response and cell apoptosis during myocardial ischemia-reperfusion, to improve the function of affected and hibernating myocardium, to prevent or attenuate the cardiovascular sequels after coronary revascularization by artery bypass surgery or angioplasty with stent implantation.

**Key words:** heart failure, energy metabolism improvement, trimetazidine.

## Tratamentul cardiac metabolic: efectele trimetazidinei

### Introducere

Patogenia afecțiunilor miocardului, care duc la evoluția insuficienței cardiace (IC), este polivalentă și *per ansamblu* este tratată atât pe palierul perturbărilor funcționale ale miocardului, cât și al deranjamentelor metabolice. Metabolismul energetic reprezintă maneta, care consolidează indispensabilitatea acestora, periclitarea căruia este stabilită cu certitudine în numeroase studii clinice și fundamentale.

Cordul este vizat drept cel mai energopotent organ care, în scopul asigurării proceselor de formare și dezbinare a legăturilor actină-miozină reciclează, potrivit relației lui S. Neubauer (2007), un debit de adenozintrifosfat (ATP) de circa 6 kg/zi [1]. Sub aspectul substratului utilizat în producția compușilor macroergici principali, ATP și creatinfosfat (CrPh), cordul este considerat un „omnivor” metabolic, deoarece angrenează atât carbohidrați (glucoza și lactatul), cât și acizi grași, cetona și chiar aminoacizi [2]. În ontogeneza intrauterină carbohidrații (în special lactatul) furnizează peste 95% din stocul de ATP necesar miocardului, iar după naștere crește rata utilizării acizilor grași liberi (AGL), aceștia din urmă, fiind în cordul adult sursa principală de sinteză a energiei – circa 70% sau mai mult în condiții de suprasolicități. De notat în acest context, că energia de origine glucidică este îndeosebi importantă pentru funcția lusitropă a cordului, dat fiind aportul ei considerabil în reglarea activității pompelor, care controlează homeostazia sodiului și calciului, iar contractilitatea miocardului utilizează predilect energia eliberată în cadrul oxidării acizilor grași. Important de menționat că consumul de oxigen referitor la o unitate cantitativă de ATP este mai mare cu 15-25% în cazul utilizării acizilor grași, comparativ cu sursa glucidică și crește substanțial odată cu majorarea accesului miocardului față de AGL. Cercetările efectuate *in vitro* au stabilit, că elevarea dublă peste nivelul fiziologic al AGL în circuitul coronarian (e.g. 0,8 vs 0,4 mM/L) condiționează creșterea consumului de oxigen al miocardului cu 33% [3]. Evident, că diminuarea aprovizionării cordului cu O<sub>2</sub> iminente reducerii rezervei funcționale coronariene compromite competența energetică a miocardului, precum și funcționalitatea tronsonului contractil al mușchiului cardiac.

În IC, preponderent de genă ischemică, sinteza energetică în miocard este periclitată, declinul acesteia fiind în raport direct cu severitatea afectării reactivității coronariene, funcției de pompă a ventriculului stâng și a simptomelor clinice. Pe de altă parte, la pacienții cu IC este dovedită limitarea captării glucozei de către miocard și prezervarea capacității de captare a AGL, nivelul circulant al cărora elevează datorită activării neuroendocrine, în primul rând, a sistemului simpatico-adrenergic.

Ce fenomene stau la baza alterării sintezei energetice vizavi de interacțiunea patternului metabolic glucidic și cel inerent oxidării AGL și care este interfața ce poate deveni o țintă terapeutică de valoare în afecțiunile cardiace?

În prim plan este vehiculat rolul creșterii nivelului circulant al AGL (recrutați activ din țesutul adipos sub acțiunea norepinefrinei care activează lipoprotein-lipaza) și, respectiv,

a concentrației lor în sarcoplasmă, unde sub acțiunea acetyl-coenzim-A (CoA)-sintetazei sunt convertiți în esteri-CoA cu lanț lung. La cote de circa 75%, aceștia sunt transportați prin intermediul carnitin palmitoil transferazei în aparatul mitocondrial și sunt oxidați, restul (25%) fiind stocați pentru a urma acest proces mai târziu. *Beta*-oxidarea esterilor-CoA cu lanț lung rezultă în formarea a 3 compuși: *acetyl*-CoA, NADH și FADH<sub>2</sub> (forme reduse ale nicotinamid- și flavinadenin-nucleotizilor) sub acțiunea a 4 enzime, activitatea cărora este reglată prin mecanism „feed-back” negativ de către acești compuși. Ulterior *acetyl*-CoA este angrenat în ciclul tricarboxic de formare a NADH, pasajul electronilor în lanțul de transport electronic, determinând în consecință prin utilizarea oxigenului convertirea ADP în ATP și formarea moleculei de O<sub>2</sub> cu număr impar de electroni (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, anionul superoxid, un radical liber potent).

În al doilea rând, carbohidrații (glucoza și lactatul) sunt convertiți în piruvat, care sub acțiunea piruvat-dehidrogenazei generează *acetyl*-CoA, care și în cazul oxidării AGL este angrenat în ciclul tricarboxilic.

Oportun în aceste aranjamente metabolice este faptul, că *acetyl*-CoA și NADH ce se formează în cadrul *beta*-oxidării AGL inhibă activitatea piruvat-dehidrogenazei și, astfel, bruiază sinteza ATP din glucoză, care va necesita un număr mai mic de molecule de oxigen, fenomen de mare importanță în miocardul ischemic. Totodată, se produce acumularea piruvatului și conversia acestuia în lactat, acumularea protonilor și accentuarea acidozei. Creșterea numărului de protoni determină stocarea intracelulară exagerată a sodiului și calciului, corecția cărora realizată prin intermediul pompelor ionice respective necesită, de asemenea, cheltuieli de energie.

Prin urmare, inhibiția oxidării AGL și augmentarea sintezei energetice din carbohidrați grație activării piruvat-dehidrogenazei va contribui la formarea ATP-ului pe fondul unui consum redus de oxigen. Acest principiu a stat la baza concepției tratamentului metabolic al afecțiunilor cardiace, fiind în acest sens desemnate mai multe principii:

- Reducerea nivelului plasmatic de AGL prin inhibiția lipoprotein-lipazei, efect caracteristic derivaților acidului nicotinic. Dar, administrarea remediei acipimox la pacienții cu disfuncție ventriculară ischemică, deși reduce nivelul circulant al AGL, nu se impune printr-o ameliorare notabilă a performanțelor funcționale cardiace.
- Atenuarea capacității cardiace de captare a AGL din sânge, eficacitatea abordării fiind dovedită în 13 tria-luri clinice, care au înrolat *per total* 4992 de pacienți cu afecțiuni ischemice ale miocardului. Efectul benefic al infuziei complexului glucoză-insulină-potasium (insulina reduce nu numai captarea acizilor grași, dar și nivelul lor circulant) s-a manifestat prin reducerea cu circa 22% a ratei mortalității intraspitalicești prin infarct miocardic acut [4]. Micșorarea *beta*-oxidării a acizilor grași prin infuzia preprocedurală a complexului glucoză-insulină-potasium ameliorează evoluția sindromului

de reperfuzie în operațiile pe cord deschis sau în cadrul angioplastiei coronariene, manevre frecvent asociate cu elevarea nivelurilor circulante ale AGL.

- Atenuarea activității beta-adrenergice, eficiența căreia este bazată pe 3 entități: 1) micșorarea sechestrării AGL din țesutul adipos; 2) reducerea captării AGL și potențarea transportului intracelular al glucozei (*e.g.* cardevilolul); 3) diminuarea activității *carnitin-palmitoil-transferazei* 1 și 2 (*e.g.* metoprololul).
- Reducerea transportului lanțului lung al acyl-CoA derivat de acizii grași prin membrana externă a agregatului mitocondrial datorită inhibiției *carnitin palmitoil transferazei* 1, efect inerent perhexilinei și etomoxirei. S-a stabilit că administrarea acestor remedii la pacienții cu IC (NYHA II-III) a condiționat creșterea toleranței la efort fizic, consumului maxim de oxigen și ameliorarea indicilor funcționali ai ventriculului stâng [5].
- Inhibiția fluxului de sodiu (*e.g.* ranolazina). Preparatul este aprobat în SUA în 2006 ca tratament adjuvant al anginei pectorale. Mecanismul de acțiune este tratat controversat, iar eficiența clinică nu are un suport de dovezi suficiente.
- Activarea oxidării glucozei. Dicloracetatul acționează în acest sens, fiind actualmente obiectivul de cercetare al diferitor studii clinice. Rezultatele acumulate, însă, evidențiază fiabilitatea terapeutică a preparatului predilect în situațiile cardiace acute, fapt determinat de proprietățile lui farmacocinetice.
- Inhibiția beta-oxidării AGL prin intermediul inhibiției *3-ketoacyl Co-enzyme A* tiolazei, enzima mitocondrială care reglează convertirea *beta-ketoacyl-CoA* în *acetyl-CoA*, care urmează să fie implicată în ciclul tricarbolic. Prin urmare, sinteza energetică este direcționată pe un palier metabolic mai rentabil în condiții de carență de oxigen: creșterea utilizării glucozei. Efectul dat metabolic este caracteristic trimetazidinei (TMZ), un derivat al piperazinei, conceput ca remediu de ameliorare a funcției cordului ischemizat prin prisma augmentării sintezei energetice pe contul carbohidraților și, totodată, creșterii afinității receptorilor către insulină, reviriment ce se află în relație inteligibilă cu glicoliza [6].

Evaluarea și atestarea eficacității acestor opțiuni ale tratamentului metabolic cardiac au adus cele mai multe și infailibile dovezi clinice (inclusiv dovezi de nivelul A oferite de trialurile randomizate și meta-analize) în favoarea trimetazidinei, remediu aprobat actualmente în peste 80 de țări.

**Scopul** acestei relatări a constat în relevarea efectelor clinice și funcționale ale trimetazidinei la pacienții cu diferite afecțiuni cardiace.

Autorizată inițial în Franța (1978), TMZ este astăzi utilizată în 21 de țări din Comunitatea Europeană în 3 forme farmacologice: pastile (20 mg); soluție (20 mg) pentru infuzie i/v sau pastile (35 mg). Ultima formă, TMZ (35 mg) MR (*Modified Release*) asigură eliberarea întârziată sau prelungită a substanței farmacologic active (*1-[2, 3, 4-trimethoxybenzyl] piperazine dihydrochloride*). În Republica Moldova, predizina

(Gedeon Richter) este în acest sens remediu autorizat și utilizat pe scară largă în tratamentul maladiilor cardiovasculare.

Trimetazidina a demonstrat *in vitro* abilitatea de creștere a ratei de oxidare a glucozei cu 210% în condițiile de reducere a fluxului coronarian, efect care a stimulat atestările clinice respective la pacienții cu IC, în primul rând de origine ischemică, în cadrul cărora TMZ a câștigat sufragiile de remediu antianginal [7].

Important de subliniat, că TNZ nu este vizată sub aspectul de monoterapie privind tratamentul anginei pectorale stabile, miocardului postinfarctic sau al IC, aceasta fiind o abordare metabolică aditivă la formatul farmacologic convențional. Optimizarea aprovizionării energetice a miocardului afectat prin creșterea ratei oxidării glucozei în cadrul fosforilării oxidative este o pârghie fezabilă în atingerea țintelor terapierilor existente: corecția echilibrului aport/consum de O<sub>2</sub>, ameliorarea funcționalității pompelor ionice și contractilității mușchiului cardiac, a remodelării miocardului și spațiului lui interstițial.

Investigațiile clinice serioase dispuse să evalueze beneficiile trimetazidinei s-au desfășurat în cadrul trialurilor randomizate, placebo-controlate, care au înrolat un număr impunător de pacienți preponderent cu afecțiuni ischemice ale miocardului și IC cronică.

#### **Trimetazidina în tratamentul anginei pectorale stabile**

Una din primele relatări consistente în acest sens aparține publicației lui M. Marzilli și W. Klein (2003), prezentând rezultatele meta-analizei a 12 trialuri dublu-orb randomizate, desfășurate în perioada 1996-2001, în care estimările eficacității s-au efectuat în baza a 4 indicii: numărul de atacuri anginoase *per* săptămână, durata apariției subdenivelării segmentului ST cu 1 mm în testul cu efort, durata totală a travaliului și timpul atingerii capacității maxime de exercițiu fizic [8]. În ambele patterne de comparație: TMZ *vs* placebo sau TMZ + tratamentul standard (*i.e.* nitrații, *beta*-adrenoblocantele sau antagoniștii canalelor de calciu) *vs* tratamentul standard cu administrarea (2-4 săptămâni) a agentului metabolic s-a impus prin reducerea semnificativă a numărului de accese anginoase și de atingere a capacității maxime de efort iar, pe de altă parte, prin creșterea timpului apariției depresiei segmentului ST cu 1 mm. Totodată, autorii au adus la apel toleranța bună a remediei în diferite formule farmacologice combinate (*e.g.* TMZ+nitrați; TMZ+*beta*-adrenoblocante).

Evidențele studiilor multicentrice Poloneze, TRIMPOL 1 și TRIMPOL 2, de asemenea au demonstrat în mod convingător eficiența modulării metabolice prin MTZ la pacienții cu angină stabilă [8, 9].

Astfel, în studiul TRIMPOL 1, realizat pe un lot de 700 de pacienți, adăunarea TMZ (4 săptămâni, 20 mg, 3 ori/zi) la tratamentul antianginos standard a determinat: i) majorarea semnificativă a timpului total de efort fizic (486,6 *vs* 443,7 sec, *p* < 0,01); ii) creșterea semnificativă a volumului de efort fizic (10,6 *vs* 9,4 METS, *p* < 0,01); iii) prelungirea timpului de apariție a subdenivelării segmentului ST cu 1 mm (389,9 *vs* 337,8 sec, *p* < 0,01) și a episodului de angină pectorală (450,3 *vs* 251,7 sec, *p* < 0,01). În acest context, merită atenție

și faptul reducerii numărului de accese anginoase de la 3,65 *per zi* până la valoarea medie de 2,94 ( $p < 0,01$ ).

Studiul TRIMPOL 2 dublu-orb, placebo-controlat a evaluat pe un lot de 426 de pacienți cu angină pectorală de efort eficacitatea suplínirii pe o perioadă de 12 săptămâni a tratamentului antiischemic (metaprolol, 50 mg, 2 ori/zi) cu TMZ (20 mg, 3 ori/zi) sau placebo. Analogic rezultatelor trialului TRIMPOL 1, s-a decelat ameliorarea semnificativă a statusului clinic și ergonomic al pacienților care au administrat trimetazidină, tolerabilitatea preparatului fiind calificată ca bună.

Efectul acțiunii de durată (6 luni) a trimetazidinei a fost estimat în alt studiu dublu-orb, placebo-controlat, care a înrolat 223 de pacienți cu angină pectorală de efort, la care TMZ (35 mg, 2 ori/zi) sau placebo s-a aplicat pe fundalul tratamentului cu atenolol (50 mg, 2 ori/zi), datele obținute fiind relatate mai târziu (2003) de către P. Sellier și J. Broustet [10]. Administrarea TMZ a dus la creșterea cu 44 sec ( $p < 0,001$ ) a timpului depresiei segmentului ST cu 1 mm în cadrul testului de efort fizic față de indicele atenolol+placebo. Diferențe semnificative în favoarea formulei combinate cu TMZ au fost identificate și în privința timpului de apariție a accesului anginos ( $p = 0,049$ ) sau de sistare a efortului fizic ( $p = 0,02$ ). Toleranța preparatului pe toată perioada studiată a fost bună.

În 2005, sunt anunțate rezultatele trialului multicentric randomizat, placebo-controlat, TACT (*Trimetazidine in Angina Combination Therapy*) [11]. Pacienții ( $n = 177$ ) cu angină pectorală stabilă, rezistenți la acțiunea beta-adrenoblocanților sau nitraților cu efect de durată, au fost randomizați în 2 loturi: tratament standard+TMZ (12 săptămâni, 20 mg, 3 ori/zi) și tratament standard+placebo. La sfârșitul perioadei de evaluare, s-a stabilit o ameliorare mai concludentă a indicilor față de valoarea lor inițială în grupul cu trimetazidină:

- Creșterea duratei testului cu efort fizic: 89,1 *versus* 23,6 sec ( $p < 0,05$ ).
- Creșterea timpului de apariție a depresiei segmentului ST cu 1 mm în cadrul testului: 90,6 *versus* 16,7 sec ( $p < 0,05$ ).
- Creșterea timpului de apariție a durerii anginoase indusă de efortul fizic: 100,3 *versus* 21,3 sec ( $p < 0,01$ ).
- Reducerea numărului mediu de accese anginoase *per săptămână*: de la  $5,6 \pm 0,6$  până la  $2,7 \pm 0,5$  *versus*  $6,8 \pm 0,7$  până la  $5,1 \pm 0,7$  ( $p < 0,01$ ).

Totodată, consumul nitraților cu acțiune scurtă *per săptămână* a fost practic dublu mai mic la pacienții care au beneficiat de trimetazidină. Tolerabilitatea preparatului a fost bună atât în cazul combinării lui cu beta-adrenoblocante, cât și cu nitrați.

Mult timp se considera că toleranța administrării solitare a TMZ este mai bună decât utilizarea combinată, îndeosebi cu beta-adrenoblocante. Potrivit relatării de sinteză a lui A. Ciapponi (2005) nu sunt suficiente argumente pentru această afirmație [12].

Mai mult, atât tolerabilitatea, cât și eficiența preparatului nu depinde, conform datelor trialului PRIMA, de sexul pacienților [13].

În cea mai consistentă meta-analiză a trialurilor clinice de evaluare comparativă a efectului TMZ la pacienții cu angină

pectorală stabilă au fost estimate rezultatele oferite de 218 studii placebo-controlate, care au cuprins 19 028 de pacienți [14]. Concluzia generală făcută de autorii acestei meta-analize este fără echivoc: suplínirea tratamentului antianginal standard cu trimetazidină ameliorează concludent toleranța pacienților la efort fizic, reduce numărul de accese anginoase *per săptămână* și doza medie de nitrați utilizați pentru jugularea lor, comparativ cu adiționarea placebo.

Mario Marzilli, unul din specialiștii avansați prin experiența de utilizare a trimetazidinei, a calculat și a publicat în relatarea sa (2010) valoarea medie a indicilor de beneficiu inerent asocierii TMZ la tratamentul antianginal standard în baza analizei datelor a 22 de trialuri clinice randomizate, placebo-controlate, efectuate pe un eșantion de 2786 de pacienți cu angină pectorală stabilă, în 12 din care a participat [15]:

- Majorarea duratei efortului fizic cu 23,31 sec;
- Creșterea timpului de apariție a subdenivelării de 1 mm a segmentului ST cu 33,88 sec;
- Micșorarea de 1,44 ori a numărului de episoade anginoase *per săptămână*;
- Reducerea de 1,29 ori a frecvenței utilizării trinitratului gliceril (donator de oxid nitric) *per săptămână*.

Trimetazidina nu reduce frecvența contracțiilor cardiace și tensiunea arterială, fapt care poate constitui o premisă importantă privind atingerea unui efect antiischemic notabil în combinație cu *beta*-adrenoblocantele, față de formula combinată cu nitrații sau antagoniștii canalelor de calciu [16]. În combinație cu *beta*-adrenoblocante TMZ a demonstrat eficiență superioară la pacienții cu ischemie silențioasă. În studiul lui G. Marazzi și colab. (2007), suplínirea pe o perioadă de 6 luni a TMZ la tratamentul antiischemic standard a dus la o reducere mai mare a numărului de episoade de ischemie silențioasă, comparativ cu grupul placebo [17].

Ischemia silențioasă asociază miocardul siderat sau hibernat după infarct miocardic acut și este un predictor al pronosticului nefavorabil. Trimetazidina ameliorează substanțial funcționalitatea miocardului siderat sau hibernat prin limitarea consecințelor energetice negative ale ischemiei, facilitând contractilitatea acestuia pe fundalul optimizării raportului între cantitatea de ATP format și a oxigenului consumat.

Revirimentul energetic asigurat prin TMZ asupra miocardului s-a manifestat în studiul multicentric din Rusia TRIUMPH (906 pacienți cu angină pectorală stabilă care au administrat agentul metabolic (70 mg/zi), adiționat la tratamentul convențional timp de 8 săptămâni) atât prin ameliorarea indicilor impactului ischemic, cât și a calității vieții, evaluată prin *Seattle Angina Questionnaire* [18]. Chestionarul dat, adaptat pentru estimarea calității vieții la pacienții cu angină stabilă de efort, are drept suport 5 entități: limitarea fizică, stabilitatea și frecvența anginei, satisfacția terapiei și percepția maladiei. Pot fi menționate și unele relatări privind eficiența TMZ în tratamentul anginei instabile.

Astfel, X. Chen și M. Ye (2009) au evaluat la această categorie de pacienți efectul TMZ (60 mg/zi), adiționat la tratamentul convențional pe o perioadă de 6 luni [19]. Comparativ cu lotul de referință (pacienții care au administrat numai tratament convențional), TMZ a condiționat

beneficii notabile: i) micșorarea ratei incidenței infarctului miocardic acut (3,3 vs 13,3%;  $p < 0,05$ ); ii) micșorarea cu 50% a numărului de spitalizări determinate de evoluția anginei pectorale ( $p < 0,05$ ); iii) micșorarea ratei aritmiilor cardiace (10 vs 20%;  $p < 0,05$ ) și a cazurilor de exacerbare a IC (8,3 vs 18,3%;  $p < 0,05$ ). În plus, acțiunea trimetazidinei s-a impus printr-o diminuare semnificativ mai pronunțată ( $p < 0,01$ ) a nivelului circulant al endotelinei-1, predictor important al prognosticului insuficienței cardiace.

Trimetazidina s-a dovedit a fi un remediu efectiv în ceea ce privește micșorarea numărului de atacuri anginoase în timpul procedurilor intervenționale asupra cordului, precum și prevenirea sau atenuarea elevării postprocedurale a markerilor leziunilor miocardului [20].

Suplinită la formatul terapeutic standard al pacienților expuși la cateterizare cardiacă sau *by-pass*, trimetazidina reduce semnificativ riscul exacerbării postprocedurale a disfuncției ventriculului stâng [21].

#### **Efectul cardioprotector al trimetazidinei în infarctul miocardic acut și sindromul ischemie-reperfuzie.**

Evoluția și pronosticul infarctului miocardic acut (IMA) este indispensabilă de zona necrozei care, la rândul său, depinde de nivelul critic al stocului energetic al cardiomiocitului. Ischemia miocardului care persistă pe parcursul IMA, cât și ulterior, influențează nemijlocit calitatea restabilirii energetice și funcționale a cordului. Periclitarea respirației mitocondriale este asociată de formarea excesivă a radicalilor liberi de oxigen, iar produsele impactului oxidativ alterează fosforilarea oxidativă. În acest context, tratamentul metabolic îndreptat spre sinteza creatinfosfatului, la un consum redus de oxigen, este o abordare terapeutică inteligibilă.

Într-un studiu randomizat, TMZ a fost administrată (40 mg/kg) cu 20 min înainte de tratamentul trombolitic, precum și după (60 mg/zi), pe toată perioada de staționar a pacientului cu IMA [22]. Evidențele clinice și paraclinice au fost comparate cu datele lotului de referință (pacienții care după recanalizarea prin tromboliză au urmat numai tratament antiischemic standard: remedii antiplachetare și anticoagulante, *beta*-adrenoblocante, nitrați, inhibitori ai enzimei de conversie a angiotensinei I). Trimetazidina a redus semnificativ numărul de accese anginoase și doza medie de nitrați ( $2,0 \pm 0,5$  vs  $10,0 \pm 2,0$  mg/zi;  $p < 0,001$ ). Deși TMZ n-a influențat notabil activitatea serică a creatinkinazei (markerul leziunii miocardice), în primele 6 ore de la debutul IMA, micșorarea semnificativă a acesteia se atestă după 12 ore, reculul devenind maxim pentru perioada cuprinsă între 15-18 ore, deci când are loc demarcarea finală a zonei de necroză. Revascularizarea coronariană declanșează paradoxul de reperfuzie și activarea stresului oxidativ. Elevarea dialdehidei malonice (produsul peroxidării lipidice), după 12 ore din momentul redresării fluxului coronarian, a fost dublu mai mică pe fundalul administrării TMZ, iar restabilirea acesteia până la nivelul bazal s-a produs mult mai rapid (7-8 vs 11-12 zile).

Efectul cardioprotector al trimetazidinei în IMA, estimat prin gradul de atenuare a stresului oxidativ, a fost confirmat și de X. Dong și colab. (2007), care au evidențiat valori semnificativ mai reduse ale concentrației serice a dialdehidei ma-

lonice pe fundalul tratamentului metabolic pentru perioada 8-24 de ore după terapia de reperfuzie [23]. Mai mult ca atât, autorii au stabilit, că odată cu diminuarea ratei de formare a speciilor agresive de oxigen și azot sub acțiunea TMZ (40 mg/zi, 2 săptămâni), are loc un declin cantitativ mai pronunțat al endotelinei-1 în sânge, deprecierea fiind statistic veritabilă timp de 7 zile după reperfuzie. Atât dialdehida malonică, cât și endotelina-1, au valoarea predictivă certă asupra severității injuriilor și disfuncției cardiace.

Rezultatele trialului European dublu-orb, EMIR-FR (*European Myocardial Infarction Project-Free Radicals*) au demonstrat pe un lot de 19725 de pacienți cu IMA, că infuzia venoasă a TMZ (120 mg/48 ore) ameliorează evoluția infarctului la pacienții care n-au beneficiat de tratament trombolitic [24]. Datele obținute au demonstrat că reducerea ratei de formare a radicalilor liberi de oxigen este în consonanță cu nivelul de prezervare a compușilor macroergici. Hipoxia, activarea hemoxigenazei și oxidarea catecolaminelor, acumularea protonilor și acidoza sunt condiții care asociază deficitul energetic și facilitează sinteza speciilor agresive de oxigen. Totodată, la pacienții care au administrat TMZ s-au constatat și niveluri circulante majorate ale componentelor sistemului glutatation-redox (*i.e.* glutatation-reductaza și glutatation-peroxidaza). În concentrația plasmatică mai mare decât 100  $\mu\text{mol/L}$ , trimetazidina sporește considerabil capacitatea sistemelor endogene de captare a anionului superoxid, această proprietate fiind tratată drept un mecanism important al acțiunii antiischemice și antioxidante a preparatului.

Cardioprotecția iminentă administrării *i/venoase* a trimetazidinei a fost dovedită și în alt studiu randomizat, dublu-orb realizat pe un lot de 96 de pacienți cu IMA expuși angioplastiei, în care TMZ a fost administrată preprocedural, *i/v*, 160 mg/48 ore [25]. Comparativ cu rezultatele lotului de referință (angioplastia+placebo), restabilirea segmentului ST în raport cu nivelul de izolinie a fost mai evidentă și rapidă pe fundalul acțiunii trimetazidinei:  $245 \pm 30$  versus  $156 \pm 31$  microV în primele 6 ore ( $p = 0,044$ ).

Fezabilitatea defensivei antioxidante intra- și extracelulare anunță un factor cu aport nemijlocit asupra riscului complicațiilor cardiace după infarct. Sunt importante în acest context datele lui R. Belardinelli (2007), care confirmă eficiența TMZ, adiționată la tratamentul trombolitic la pacienții cu IMA, prin micșorarea cu până la 50% a incidenței fibrilației atriale, anginei pectorale și a ratei mortalității pe o perioadă de supraveghere de 6 luni [26].

Redresarea circuitului coronarian (după angioplastie sau tratament trombolitic) reprezintă un impact asupra miocardului, determinat, în primul rând, de paradoxul de reperfuzie. Activarea stresului oxidativ și creșterea expresiei citokinelor proinflamatoare, accentuarea leziunilor endoteliale și recrutarea celulelor proinflamatoare sanguine, deficitul energetic, surplusul de protoni, ioni de hidrogen și calciu sunt pârgăhiile principale ale acțiunii alterative a reperfuziei asupra miocardului. Toate acestea pot fi, în parte, atenuate de TMZ.

P. DiNapoli (2008) prezintă mai multe dovezi privind efectele cardioprotectoare ale trimetazidinei în cadrul măsurilor antiischemice aplicate asupra miocardului [27]:

- ▶ Administrarea TMZ cu 3 zile înainte de angioplastie previne elevarea nivelurilor circulante ale markerilor inflamației (IL-1, IL-6, TNF-alpha) în primele 48 de ore ale perioadei postprocedurale.
- ▶ Suplinirea TMZ la tratamentul standard al IMA determină o reducere mai concludentă a concentrației serice a proteinei C reactive, comparativ cu tratamentul standard, efect identificat pe o perioadă destul de lungă (până la 18 săptămâni). Nivelul circulant al proteinei C reactive este un predictor de valoare al pronosticului cardiopatiei ischemice și complicațiilor cordului ischemizat.
- ▶ TMZ crește cu circa 40% expresia NOsec pentru perioada reperfuziei miocardului în operațiile pe cord deschis, evaluată prin conținutul ARNm. Sub acest aspect, este inteligibil și efectul TMZ de ameliorare a reactivității vasculare periferice mediate prin endoteliu la pacienții cu IMA suportat. Oxidul nitric se manifestă *per se* drept un factor cu acțiune antiischemică redutabilă, fapt care îi justifică valoarea de factor cardioprotector endogen.
- ▶ TMZ reduce rata apoptozei celulare în sindromul ischemie-reperfuzie, fapt datorat în mare parte reglării efective a homeostaziei electrolitice (în primul rând a concentrației sodiului și calciului) și acido-bazice.
- ▶ TMZ limitează cu 50% sindromul „no-reflow” sau „low-reflow” după revascularizarea coronariană, efect asociat de micșorarea conținutului plasmatic al endotelinei-1, precum și majorează zona vitalității în plan structural, metabolic și funcțional al miocardului (estimată prin indicele de salvare a miocardului) pentru perioada de reperfuzie și postreperfuzie.

Indicele de salvare a miocardului, apreciat prin rezonanța magnetică drept raportul dintre aria de risc și zona de infarct, are o putere predictivă similară indicelui zonei de necroză *per se* a miocardului privind pronosticul complicațiilor cardiovasculare majore și mortalității cardiace la pacienții cu IMA. Estimarea acestui indice se anunță importantă în demarcarea eficacității reperfuziei miocardului în infarct cu elevarea segmentului ST, realizate prin manevre de angioplastie.

Mai multe studii au demonstrat, în acest context, că administrarea orală a TMZ (60 mg/zi) cu 3-5 zile înainte de angioplastie se impune prin majorarea cu până la 37% a indicelui de salvare a miocardului, asociată cu reducerea nivelurilor circulante ale proteinei C reactive și citokinelor proinflamatoare, în primele 48 de ore ale perioadei de revascularizare a miocardului. Procedura de angioplastie cu implantare de stent prin impactul său traumatic asupra arterei coronariene și lezarea mecanică a endoteliului vascular, se consideră un factor potent de declanșare a formării excesive a radicalilor liberi de oxigen și a răspunsului inflamator nespecific exagerat. Sub acest aspect, trimetazidina administrată preprocedural este vizată ca o măsură fiabilă de protecție a miocardului de acțiunea stresului oxidativ, citokinic și deficitului de oxid nitric în perioada incipientă ( $\leq 72$  de ore) ce urmează după angioplastie.

Unul din factorii-cheie, care promovează și determină severitatea leziunilor miocardice în sindromul ischemie-reperfuzie, este gradul de încărcătură a cardiomiocitelor cu calciu,

determinat la rândul său de declinul cantitativ al compușilor macroergici, care afectează funcționalitatea pompei de  $\text{Ca}^{2+}$ , SERCA2a. Este dovedită relația corelativă strânsă între contractura ischemică a miocardului, calitatea restabilirii funcționale a cordului și incidența aritmiilor cardiace reperfuzionale, pe de o parte, și gradul de afectare a homeostaziei calciului și metabolismului energetic, pe de altă parte. Acesta din urmă este estimat și drept un factor determinativ al remodelării miocardului după IMA suportat și al performanțelor funcționale ale ventriculului stâng. A. Kokov și colab. (2005) au constatat, că suplinirea TMZ (70 mg/zi) la tratamentul pacienților cu IMA (bisoprolol+analapril) a determinat, după 6 luni de supraveghere, o ameliorare notabilă a indicilor morfofuncționali ai cordului, evaluați prin rezonanță magnetică nucleară [28]. Potrivit mai multor relatări, incidența aritmiilor cardiace postreperfuzionale poate fi diminuată cu până la 28% prin adăugarea trimetazidinei la formulele tratamentului cardiac standard, iar valoarea presiunii telediastolice a ventriculului stâng micșorată în medie cu 25%. Ameliorarea funcției diastolice pe perioada reperfuziei este un predictor semnificativ al atenuării impactului ischemiei asupra miocardului și reducerii riscului de trecere a miocardului siderat în pattern hibernat, capacitatea contractilă a căruia este mult depreciată. Prevenirea instalării miocardului hibernat, determinată de episoade ischemice repetate și, deci, de perpetuarea deficitului energetic, este o țintă oportună a strategiilor farmacologice antiischemice. Evidențele clinice și experimentale au demonstrat, că trimetazidina poate reduce cu până la 36% incidența dezvoltării miocardului hibernat în condiții de ischemie. Atenuarea diskineziei și hipokineziei miocardului s-a corelat cu micșorarea stocului intracelular de protoni și a fost direct dependentă de activitatea pompei Na/K-ATP-aza. Efluxul adecvat al sodiului din cardiomiocit prin intermediul acesteia limitează fluxul intracelular de calciu realizat prin intermediul pompei Na/Ca-ATP-aza. Micșorarea conținutului de calciu în cardiomiocit este o premisă importantă de prevenire sau atenuare a contracturii ischemice a miocardului, aritmiei cardiace de reperfuzie, apoptozei celulare, precum și de ameliorare a restabilirii funcției miocardului siderat.

Rezultatele trialului clinic GUARDIAN privind eficiența prevenirii evoluției necrozei miocardului la pacienții cu risc de infarct, precum și a repercusiunilor IMA prin administrarea inhibitorului pompei Na/H-ATP-aza (cariporide) au demonstrat dependența eficienței preparatului de gradul micșorării conținutului intracelular de protoni și calciu. Trimetazidina crește potențialul energetic al miocardului și, prin acest mecanism, optimizează funcționalitatea pompelor ionice compromise de ischemie și reperfuzie, homeostazia intracelulară a ionilor de  $\text{H}^+$  și  $\text{Ca}^{2+}$  și atenuază manifestările funcționale iminente.

Gravitatea consecințelor sindromului de reperfuzie este, în mare măsură, determinată și de extinderea zonelor inerente fenomenelor „no-reflow” și „low-reflow”, induse prin spasmul arteriolelor coronariene endocardice la acțiunea norepinefrinei, endotelinei-1 și stresului mecanic miocardic. Afectarea circulației coronariene în aceste zone compromise metabolismul energetic, accentuează evoluția miocardului

hibernat, condiționează declanșarea apoptozei cardiomiocitelor, apariția focarelor de micronecroză și chiar macronecroză (este cunoscut riscul dezvoltării IMA la pacienții după *by-pass* coronarian). Deprecierea numerică a celulelor cardiace este un factor potent de reducere a capacității contractile a miocardului. Potrivit datelor relatate de Y. Ruixing și colab. (2007), trimetazidina micșorează semnificativ indicele apoptotic al miocardului expus condițiilor de ischemie-reperfuție, asociată de micșorarea activității caspazei-3 (enzima intracelulară implicată în proteoliza structurilor ADN), conținutului de dialdehidă malonică și creșterea cantitativă a enzimei anti-oxidante, superoxid-dismutazei [29]. Autorii au sugerat că acțiunea antiapoptotică și antioxidantă a TMZ poate fi un pattern important al efectului pleiotrop al remediuului. Acest punct de vedere a fost ulterior consolidat și de F. Liu și colab. (2012), care au demonstrat prin aplicarea tehnicii TUNEL că trimetazidina diminuează notabil apoptoza celulelor cardiace ale ventriculului drept, mult mai vulnerabile la acțiunea factorilor proapoptotici (în primul rând hipoxia și ischemia) comparativ cu ventriculul stâng [30]. Oportună în acest context a fost corelarea inversă identificată între rata apoptozei și a expresiei micro-ARN-21, nivelul oligopeptidului fiind crescut de TMZ în raport proporțional cu declinul apoptozei. Mai mult ca atât, inhibiția specifică a micro-ARN-21 a atenuat considerabil efectul protector al trimetazidinei. Aceste 2 deconspirări importante (micro-ARN-21 reglează apoptoza, iar TMZ crește expresia acestuia) au întemeiat noi direcții de cercetare și tratament.

Un alt efect pleiotrop al TMZ privind protecția miocardului de acțiunea ischemiei și reperfuției ar fi, conform datelor investigațiilor *in vitro*, capacitatea remediuului de a crește rezistența sarcolemei la stresul de reoxigenare și hiposmotic. Trebuie menționate și concluziile expuse de Zhou și colab. (2012), care definesc efectul benefic al TMZ asupra remodelării miocardului ventriculului drept în rezultatul atenuării apoptozei, stresului oxidativ și inflamației sistemice nespecifice [31]. În concordanță cu aceste revendicări sunt și datele lui G. Martins și colab. (2012), care evidențiază niveluri circulante semnificativ micșorate ale IL-6 (un marker și mediator important al inflamației) *versus* placebo după intervenția de *by-pass* coronarian (48 ore) la pacienții care au administrat preprocedural (12-15 zile) trimetazidină în doză de 60 mg/zi [32].

Eficiența administrării TMZ (70 mg/zi) cu 2 săptămâni înainte de revascularizarea miocardului a fost demonstrată în 2 studii din Rusia, efectuate pe un lot de 520 de pacienți expuși angioplastiei sau *by-pass*-ului coronarian [33]. Trimetazidina a condiționat *vs* placebo o incidență mai redusă a infarctului miocardic intraoperator și o concentrație semnificativ mai joasă a creatinkinazei, în primele 72 de ore după intervenție. Pacienții care au administrat TMZ încă 3 ani după revascularizare au necesitat, la cote mult mai mici (4,7 *vs* 7,5%), spitalizare determinată de sindromul coronarian acut, iar incidența postoperatorie a episoadelor de angină pectorală a fost practic înjumătățită.

Așadar, trimetazidina atenuază sindromul ischemie-reperfuție și ameliorează evoluția IMA, inclusiv după corecțiile

intervenționale, prin acțiune benefică asupra componentelor preconșionării și postconșionării: creșterea potențialului energetic al miocardului, micșorarea impactului oxidativ, răspunsului inflamator nespecific, acumulării intracelulare a protonilor și calciului, inhibiția apoptozei, majorarea expresiei micro-ARN-21.

#### Trimetazidina în tratamentul insuficienței cardiace

Eficiența tratamentului IC este determinată, în fond, de capacitatea de ameliorare a funcției inotrope a miocardului, compromisă prin carență energetică, surplus de calciu, remodelare interstițială. Privind acțiunea benefică a *beta*-adrenoblocantelor asupra miocardului afectat drept rezultat al diminuării nivelurilor circulante ale acizilor grași și optimizării raportului oxigen consumat/ATP sintetizat, s-a prezumat și efectul pozitiv al TMZ la pacienții cu IC în cadrul adăugării acestuia la tratamentul standard. Dovezile de nivel A, obținute în studii randomizate și meta-analize, au confirmat eficiența remediuului metabolic.

D. Gao și colab. publică în 2011 rezultatele meta-analizei a 17 studii clinice randomizate, care au înrolat 955 de pacienți cu IC de origine ischemică sau non-ischemică [34]. Administrarea trimetazidinei s-a impus prin creșterea semnificativă a fracției de ejeție a ventriculului stâng (FEVS), reducerea volumului telesistolic a VS ( $p < 0,01$ ), precum și prin ameliorarea clasei funcționale NYHA a IC și a toleranței la efort fizic ( $p < 0,01$ ). Totodată, TMZ a redus rata spitalizării pacienților, evenimentelor cardiovasculare și a mortalității generale ( $p < 0,001$ ).

Evidențe similare au constatat L. Zhang și colab. (2012), în cadrul altei meta-analize a 16 trialuri clinice randomizate, efectuate pe 884 de pacienți cu IC cronică [35]. Autorii au relatat beneficiul cert al TMZ suplinit la tratamentul standard manifestat prin: i) creșterea FEVS cu 6,4% ( $p < 0,0001$ ) și a timpului efectuării testului de efort fizic cu 63,75 sec ( $p < 0,0001$ ); ii) reducerea diametrelor telesistolic și telediastolic ale VS cu peste 6 mm ( $p < 0,0001$ ) și a concentrației sanguine a peptidului natriuretic B cu 203 pg/ml ( $p = 0,0002$ ); iii) diminuarea (-0,57) clasei funcționale NYHA a IC ( $p = 0,0003$ ), precum și spitalizării pacienților pe motive cardiovasculare.

Estimarea în ambele meta-analize a reducerii mai concludente sub acțiunea trimetazidinei a volumului și diametrului telesistolic al VS indică asupra ameliorării contractilității miocardului, în special, a fazei izovolumetrice, cea mai dependentă de stocul ATP. Aceasta se acordă cu evidențele de micșorare mai pronunțată a valorii indicelui Tei la pacienții care au administrat formula terapeutică combinată (TMZ, 60 mg/zi + tratament standard), în special, când IC evoluează pe fundalul diabetului zaharat [36, 37].

Diminuarea indicelui Tei indică nu numai asupra îmbunătățirii sistolei izovolumetrice a VS, dar și a relaxării izovolumetrice, revirement care se traduce în plan funcțional prin creșterea timpului de ejeție. În acest context, trebuie de remarcat datele lui G. Fragasso și colab. (2006), care demonstrează că ameliorarea notabilă a funcției contractile și diastolice la pacienții cu IC sub acțiunea TMZ (60 mg/zi, 3 luni + tratament standard) *vs* (placebo+ tratament convențional), se asociază



cu majorarea raportului CrPh/ATP în miocard, determinat prin intermediul rezonanței magnetice-P-spectroscopice [38]. Administrarea TMZ pentru o perioadă de 90 de zile a dus la creșterea raportului CrPh/ATP cu peste 75%, comparativ cu lotul de referință (placebo+tratament standard), fenomen însoțit de micșorarea cu circa 10% a valorii indicelui Tei și a volumului telediastolic al VS ( $p = 0,05$ ), precum și majorarea semnificativă a intensității medii a efortului fizic cu 18% ( $8,78 + 2,7$  vs  $7,44 + 1,84$  METs,  $p = 0,03$ ).

Sunt cunoscute mai multe studii care, aplicând metoda dată neinvazivă de evaluare a fezabilității energetice a cordului, au decelat reducerea raportului CrPh/ATP la pacienții cu insuficiență cardiacă drept o consecință a dezechilibrului dintre rata de aprovizionare a miocardului cu oxigen și cerințele metabolice curente. Pe de altă parte, ATP-ul este compartimentat în cardiomiocit, iar creatinfosfatul cedează cantitativ rapid atunci, când respirația mitocondrială este periclitată. Efectul de restabilire a raportului CrPh/ATP în miocardul afectat este inerent și *beta*-adrenoblocantelor, acesta fiind mai rezervat la administrarea inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei I.

Important de menționat, că există și dovezi privind eficiența monoterapiei cu TMZ asupra evoluției indicilor funcționali cardiaci la pacienții cu IC. Astfel, B. Hu și colab. (2011), în cadrul meta-analizei a 11 studii placebo-controlate, care *per total* au înrolat 545 de pacienți cu disfuncție ventriculară stângă pe fundalul anginei pectorale stabile și diabet zaharat, au menționat că administrarea TMZ (20 mg/3 ori zi) pe diferite perioade (de la 2 săptămâni până la 2 ani, mediana – 6 luni) a determinat creșterea fracției de ejeție cu până la 6,88% și micșorarea semnificativă cu până la 11,58 ml a volumului telesistolic [39].

Așadar, datele expuse consolidează entitatea modulării metabolice (*imprimis* de conotație energetică) a miocardului, drept un vector terapeutic oportun al afecțiunilor cardiace [40], iar aparatul mitocondrial se anunță o țintă de influențare cu consecințe benefice asupra inimii [41], eficiența trimetazidinei fiind în acest context convingător desemnată pe un material probatoriu vast.

### Concluzii

Efectele benefice ale trimetazidinei asupra metabolismului energetic compromis al miocardului alterat, determinate de inhibiția enzimei mitocondriale implicate în beta-oxidarea acizilor grași (*3-ketoacyl Co-enzyme A tiolaza*) și augmentarea sintezei energetice glicolitice, care necesită un consum redus de oxigen cu 15-25%, consolidează un element oportun al tratamentului metabolic al afecțiunilor cardiace în baza dovezilor de nivel A (studii randomizate și meta-analize).

Trimetazidina s-a remarcat drept un remediu care potențează semnificativ eficacitatea tratamentului standard al anginei pectorale de efort și insuficienței cardiace, inclusiv la pacienții cu diabet zaharat, cele mai pertinente evidențe fiind: reducerea incidenței durerii anginoase și a dozajului mediu de nitrați, creșterea toleranței la efort fizic, ameliorarea contractilității și relaxării diastolice a ventriculului stâng, precum

și micșorarea ratei spitalizării pe motive cardiovasculare și a mortalității generale.

Trimetazidina diminuează formarea radicalilor liberi de oxigen și intensitatea stresului oxidativ, răspunsul inflamator nespecific, ameliorează evoluția sindromului ischemie-reperfuzie, statusul funcțional al miocardului siderat și hibernat, acționează ca un remediu antiapoptotic și atenuează complicațiile cardiovasculare după manevrele intervenționale de revascularizare coronariană.

### References

1. Neubauer S. The failing heart – an engine out of fuel. *N. Engl. J. Med.* 2007;356:1140-1151.
2. Siddiqi N, Dawson D, Rudd A, et al. Metabolic therapy for heart failure including diastolic heart failure. *Heart Metab.* 2012;57:18-24.
3. Halbir M, Norrelund H, Moller N, et al. Suppression of circulating free fatty acids with acipimox in chronic heart failure patients changes a whole body metabolism but does not affect a cardiac function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2010;299:1220-1225.
4. Timmer JR, van der Horst IC, Ottervanger JP, et al. Glucose-insulin-potassium infusion as adjunctive therapy in myocardial infarction: current evidence and potential mechanisms. *Ital. Heart J.* 2004;5:727-731.
5. Ussher J, Lopashcuk G. Clinical implications of energetic problems in cardiovascular disease. *Heart. Metab.* 2006;32: 9-17.
6. Ashrafian H, Neubauer S. Metabolic modulation in heart failure: high time for a definitive clinical trial. *Heart.* 2011;97:267-270.
7. Ribeiro J. Efficacy of trimetazidine: lessons from meta-analyses. *Heart Metabol.* 2012;55:25-29.
8. Marzilli M, Klein WW. Efficacy and tolerability of trimetazidine in stable angina: a meta-analysis of randomized, double-blind, controlled trials. *Coron. Artery. Dis.* 2003;14:171-179.
9. Szwed H, Pachocki R, Domzal-Bochenska M, et al. Efficacy and tolerance of trimetazidine, a metabolic antianginal, in combination with a hemodynamic antianginal in stable exertion angina. TRIMPOL I, a multicenter study. *Presse Med.* 2000;29(10): 533-538.
10. Sellier P, Broustet J. Assessment of anti-ischemic and antianginal effect through plasma concentration and safety of trimetazidine MR 35 mg in patients with stable angina pectoris: a multicenter, double-blind, placebo-controlled study. *Am. J. Cardiovas. Drug.* 2003;3(5):361-369.
11. Chazov E, Lepakchin V, Zharova E, et al. Trimetazidine in Angina Combination Therapy – the TACT study: trimetazidine versus conventional treatment in patients with stable angina pectoris in a randomized, placebo-controlled, multicenter study. *Am. J. Ther.* 2005;12(1): 35-42.
12. Ciapponi A, Pizarro R, Harrison J. Trimetazidine for stable angina. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2005;4:CD003614. DOI: 10.1002/14651858.CD003614.pub2.
13. Vasiuk Iu, Shalynova S, Shkolnic E, et al. The (PRIMA) Study. Comparison of clinical effect of trimetazidine MR in men and women. *Cardiology.* 2011;51(6):11-5.
14. Danchin N, Marzilli M, Parkhomenko O, et al. Efficacy comparison of trimetazidine with therapeutic alternatives in stable angina pectoris: a network meta-analysis. *Cardiology.* 2011;120: 59-72.
15. Marzilli M. Vastarel MR: from decades of clinical experience in stable angina to new perspectives. *Heart Metab.* 2010;46:43-47.
16. Camitini C, Marazzi G, Rosano G. Efficacy of Vastarel MR on silent and symptomatic myocardial ischemia. *Heart Metab.* 2008;38:27-29.
17. Marazzi G, Wajngarten M, Vitale C, et al. Effect of free fatty acid inhibition on silent and symptomatic myocardial ischemia in diabetic patients with coronary artery disease. *Int. J. Cardiology* 2007;120:79-84.
18. Makolkin V, Osadchik K. Trimetazidine modified release in the treatment of stable angina. *Clin. Drug Invest.* 2004;24(12):731-738.
19. Chen X, Ye M. Treatment of unstable angina with trimetazidine. *J. Geriatric Cardiology* 2009;6(2):34-39.
20. Iskesen I, Kurdal A, Esergard M, et al. Trimetazidine may protect the myocardium during cardiac surgery. *Heart Surg. Forum.* 2009;12(3):175-179.
21. Fabiani J, Ponzio A, Emerit I, et al. Cardioprotective effect of trimeta-

- zidine during coronary artery graft surgery. *J. Cardiovasc. Surg.* 1992;33(4):486-491.
22. Rebrova T, Lasukova T, Afanasev S, et al. Cardioprotective effect of trimetazidine during thrombolytic therapy in patients with acute myocardial infarction. *Exper. Biol. Med.* 2002;134(6):647-649.
  23. Dong X, Hu D, Jia S, et al. Clinical study of trimetazidine for myocardial protection in acute myocardial infarction. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2007;46(8):633-636.
  24. Akkal Z, Olson R. Effect of 48-h intravenous trimetazidine on short- and long-term outcomes of patients with acute myocardial infarction, with and without thrombolytic therapy. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Eur. Heart J.* 2000;21(18):1537-1546.
  25. Steg P, Grollier G, Gallay P, et al. A randomized double-blind trial of intravenous trimetazidine as adjunctive therapy to primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiology* 2001;77(2-3):263-273.
  26. Belardinelli K. Efficacy of metabolic approach in ischemic heart diseases. *Heart and Metabolism.* 2007;34:24-27.
  27. Di Napoli P. Anti-ischemic cardioprotection with trimetazidine. *Heart Metab.* 2008;41:25-29.
  28. Kokov A, Tarasov I, Barbarash L. Trimetazidine effects on postinfarction remodeling of the left ventricle. *Ter. Arkh.* 2005;77(8):10-14.
  29. Ruixing Y, Wenwu L. Trimetazidine inhibits cardiomyocyte apoptosis in a rabbit model of ischemia-reperfusion. *J. Lab. Clin. Med.* 2007;149(3):152-160.
  30. Liu F, Yin L, Zhang L, et al. Trimetazidine improves right ventricular function by increasing miR-21 expression. *Intern. J. Mol. Med.* 2012;30(4):849-855.
  31. Zhou X, Li C, Xu W, et al. Trimetazidine protects against smoking-induced left ventricular remodeling via attenuating oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Plos One.* 2012;7(7): doi:10.1371/journal.pone.0040424.
  32. Martins G, Siqueira F, Santos J, et al. Trimetazidine and inflammatory response in coronary artery bypass grafting. *Arq. Bras. Cardiol.* 2012;99(2):688-696.
  33. Lopatin Y, Dronova E. Beneficial effects of long-term trimetazidine modified release therapy in patients having undergone coronary artery bypass grafting and percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* 2010-2011;31-32: abstr. 58, 569.
  34. Gao D, Ning N, Niu X, et al. Trimetazidine: a meta-analysis of randomised controlled trials in heart failure. *Heart.* 2011;97(4):278-286.
  35. Zhang L, Lu Y, Jiang H, et al. Additional use of trimetazidine in patients with chronic heart failure: a meta-analysis. *J. Am. Coll. Cardiology* 2012;59(10):913-922.
  36. Vitale C, Wajngaten M, Sposato B, et al. Trimetazidine improves left ventricular function and quality of life in elderly patients with coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 2004;25:1814-1821.
  37. Gunes Y, Guntekin U, Tuncer M. Improved left and right ventricular functions with trimetazidine in patients with heart failure: a tissue Doppler study. *Heart Vessels.* 2009;24:277-282.
  38. Fragasso G, Perseghin G, De Cobelli F, et al. Effects of metabolic modulation by trimetazidine on left ventricular function and phosphocreatine/adenosine triphosphate ratio in patients with heart failure. *Eur. Heart J.* 2006;27:942-948.
  39. Hu B, Li W, Xu T, et al. Evaluation of trimetazidine in angina pectoris by echocardiography and radionuclide angiography: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Clin. Cardiol.* 2011;34(6):395-400.
  40. Palaniswamy C, Mellana W, Selvaraji D, et al. Metabolic modulation: a new therapeutic target in treatment of heart failure. *Am. J. Ther.* 2011;18(6):e197-201.
  41. Walters AM, Porter GA Jr, Brookes PS. Mitochondria as a drug target in ischemic heart disease and cardiomyopathy. *Circ. Res.* 2012;111(9):1222-1236.

## Antigenic and genetic characteristic of influenza viruses identified in pre-pandemic, pandemic and post-pandemic periods in the Republic of Moldova

V. Eder

National Center of Public Health, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: creatacrea@yahoo.com. Manuscript received July 17, 2013; accepted February 05, 2014

### Abstract

**Background:** The influenza infection continues to be the main cause of serious infections of the upper respiratory tract, having a negative impact on the public health, health system as well as on the national economy, provoking considerable efforts of control and responsibility.

**Material and methods:** The samples of biological material (naso-pharyngeal exudates, tracheal-bronchial lavage and cadaveric material in the cases of death) have been collected from the patients with a clinical diagnosis of alleged flu, acute respiratory infection and heavy acute viral respiratory infection (pneumonia, bronchopneumonia and acute bronchitis), through the influenza surveillance system and the routine were used. The material collected during a pandemic and post-pandemic periods has been subjected to the laboratory research using molecular biology techniques. We have used the method of isolation of influenza viruses in the cell cultures MDCK and MDCK-SIAT and, accordingly, there have been a hemagglutinating reaction of stems isolated from influenza viruses with the corresponding serums and antigens in accordance with the requirements and recommendations of WHO.

**Results:** The results of antigenic and phylogenetic analysis of influenza viruses circulating in the Republic of Moldova in pre-pandemic (2008-2009), pandemic (2009-2010) and post-pandemic (2010-2011) periods are presented. The findings suggest that the displacement of the circulating seasonal influenza virus A(H1N1) by the A(H1N1)pdm virus occurred in the post-pandemic period.

**Conclusions:** The substitution of D222G in the hemagglutinin gene of influenza virus A(H1N1)pdm, which has been identified by the phylogenetic analysis in the patients with severe acute respiratory infections and/or in dead bodies of the people, who died in the pandemic period, may be the first "virulence marker" of the A(H1N1)pdm virus.

**Key words:** influenza, viral strains, antigenic, phylogenetic analyses.

## Caracteristica antigenică și genotipică a virusurilor gripale identificate în perioadele prepandemică și postpandemică în Republica Moldova

### Introducere

Capacitatea unică a virusurilor gripale la variabilitate pe calea mutațiilor, recombinărilor și reasortărilor genelor, însoțită de modificarea proprietăților biologice ale agentului patogen reprezintă cauza răspândirii necontrolate a infecției gripale cu o viteză extremă de transmisie globală. Evoluția continuă a virusurilor gripale conduce la reapariția anuală a epidemiilor de gripă și, periodic, a pandemiilor de gripă care se înregistrează la un interval de 10-40 de ani [1, 2].

Astfel, infecția gripală, cunoscută încă de pe timpurile lui Hipocrate, și în prezent continuă să fie cauza majoră a infecțiilor tractului respirator, având un impact negativ asupra sănătății populației, sistemului de sănătate, cât și asupra economiei naționale, impunând eforturi considerabile de control și răspuns.

**Actualitatea problemei.** Epidemiile de gripă se declanșează în fiecare an și se înregistrează pretutindeni pe glob ca urmare a variabilității continue ale virusurilor gripale, atât de tip A, cât și de tip B. Acumularea mutațiilor cauzează *drift*-ul antigenic și apariția variantelor noi de virus, fapt care asigură eterogenitatea populației virale și stă la baza formării diverselor linii genetice. Apariția în 2009 a virusului gripal de tip nou A(H1N1)pdm confirmă potențialul variabilității evolutive a virusurilor gripale [2].

Variația antigenică și circulația virusurilor gripale între specii constituie cauza izbucnirilor epidemice, îmbolnăvirile fiind favorizate de răspunsul imun neadecvat, chiar în acele segmente de populație care au fost expuse anterior infecției gripale. Variația antigenică este particularitatea fundamentală a virusurilor gripale A și B, care are loc la nivelul antigenelor de suprafață, hemaglutinina (HA) și neuraminidaza (NA), reprezentând astfel un mecanism evolutiv de adaptare a virusurilor pentru asigurarea supraviețuirii lor ca specie [1, 3].

Monitorizarea variației antigenice (caracteristica antigenică și genetică) prezintă o importanță deosebită pentru formularea vaccinală, dar și pentru o înțelegere mai bună a patternului de transmisie și a evoluției virusurilor gripale.

**Scopul studiului.** Evaluarea caracteristicilor antigenice și genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în perioadele prepandemică (2008-2009), pandemică (2009-2010) și postpandemică (2010-2011), în Republica Moldova.

### Material și metode

Probele cu material biologic (exsudate nazofaringiene, lavaje traheo-bronhice și material cadaveric în cazuri de deces) au fost colectate de la pacienții cu diagnosticul clinic prezumtiv de gripă, infecție respiratorie virală acută și infecție respiratorie acută severă (pneumonie, bronhopneumonie și bronșiolite acute), atât în cadrul sistemului santinelă de supraveghere la gripă, cât și a celui de rutină, conform Ordinului MS nr.824 din 31.10.2011 și transportate cu asigurarea lanțului frig (4-8°C) spre laboratorul Epidemiologia in-

fecțiilor respiratorii virale al Centrului Național de Sănătate Publică.

În perioada prepandemică, depistarea antigenilor virusurilor gripale s-a efectuat prin metoda imunofluorescență (MIF) cu utilizarea imunoglobulinelor fluorescente specifice, produse de Institutul de Cercetări Științifice în domeniul Gripei al Academiei de Științe Medicale din Federația Rusă (Sankt-Petersburg). Montarea reacțiilor și interpretarea rezultatelor s-au efectuat în conformitate cu instrucțiunile producătorului [4].

Materialul recoltat în perioadele pandemică și postpandemică a fost supus investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară. Extragerea ARN virusurilor gripale s-a efectuat cu kiturile *Viral Gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction Kit* (iNtRON Biotechnology, Inc., Korea) și *Пу́бо-копó* (Amplisens, Federația Rusă). *Primer*-ii pentru identificarea tipurilor și subtipurilor virusurilor gripale (*Influenza A, Influenza A/pdm, Influenza A/H1pdm, Influenza A/H1, Influenza A/H3, Influenza A/H5a, Influenza A/H5b, Influenza B și RNaseP*) și enzima *Ambion Ag Path One Step* au fost elaborate și oferite de CDC (Center for Diseases Control, Atlanta, SUA) și recomandate de OMS (Organizația Mondială a Sănătății) pentru laboratoarele de referință din lume [5]. Amplificarea s-a efectuat cu utilizarea echipamentului Rotorgene 6000 Corbett (QIAGEN, Germania) și CFX 96 Real Time System (Bio-Rad, SUA).

Pentru decelarea tulpinilor de virus gripal din materialul patogen, s-a folosit metoda de izolare a virusurilor gripale în culturile celulare MDCK și MDCK-SIAT și, respectiv, s-a efectuat reacția de hemaglutino-inhibare (RHAI) a tulpinilor izolate de virusuri gripale cu seruri și antigene de referință în conformitate cu cerințele și recomandările OMS [6].

Analiza antigenică (RHAI), analiza genotipică (tehnici moleculare de secvențiere) și determinarea sensibilității la antivirale (reacția de inhibare a neuraminidazei) ale virusurilor gripale izolate s-au efectuat în Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare în Microbiologie și Imunologie "Cantacuzino", București și în Institutul de Cercetări în Medicină din Londra, Laboratorul de Referință al OMS, conform metodei descrise [6].

### Rezultate și discuții

Monitorizarea permanentă a virusurilor gripale circulante prin efectuarea cercetărilor, care includ detectarea ARN viral, izolarea și identificarea tulpinilor de virus gripal, determinarea proprietăților antigenice și molecular-genetice este necesară pentru efectuarea analizei variabilității evolutive a virusurilor gripale cu scop de a elabora mijloace eficiente de diagnostic și profilaxie a infecțiilor gripale.

Prin investigații de laborator s-a stabilit că gripa, în perioada prepandemică (2008-2009), a fost etiologic cauzată de virusul gripal A(H3N2). Din totalul de 377 de probe investigate prin metoda imunofluorescență directă, doar în 7 probe

(1,9%) a fost detectat antigenul virusului gripal A(H3N2), iar antigenii virusurilor gripale A(H1N1) și B nu au fost detectați (tab. 1).

Totodată, în perioada nominalizată, în culturi celulare MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) au fost izolate 9 tulpini de virusuri gripale, din care a fost subtipată 1 tulpină – A(H3N2). Aceste 9 tulpini de virusuri gripale, împreună cu 3 probe pozitive la antigenii virusurilor gripale au fost expediate în adresa Institutului de Cercetări în Medicină din Londra pentru reconfirmarea, izolarea, identificarea și caracterizarea tulpinilor de virusuri gripale unde, în culturile celulare linia MDCK au fost recuperate 3 tulpini de virus gripal A/H3, însă cu un titru slab la antiserurile de referință. Acest fapt a fost similar tulpinilor virale de referință cu replicare pe MDCK cum ar fi: A/Trieste/25c/07 și A/Johannesburg/15/08 (tab. 2). Așa rezultate au fost similare pentru alte numeroase tulpini de virus gripal A/H3 din perioada dată [7].

Tulpinile de virus gripal tip B, izolate din 4 probe aparți-

nând la linia B/Victoria au fost antigenic similare cu tulpina virală B/Brisbane/60/08 și, practic, similare cu majoritatea tulpinilor de virusuri gripale de tip B, izolate în perioada pre-pandemică în diferite părți ale lumii (tab. 3).

În baza rezultatelor obținute, atât prin detecția antigenilor virusurilor gripale, cât și prin izolarea, identificarea și caracterizarea antigenică a tulpinilor de virusuri gripale circulante în Republica Moldova, se poate menționa că gripa, în perioada pre-pandemică, a fost etiologic cauzată de virusurile gripale A(H3N2) și B, cu predominarea virusului A(H3N2), tulpinile virale fiind similare cu tulpinile circulante în lume [7].

Detectarea în sezoanele epidemice a variantelor, precum și a subtipurilor noi de virusuri gripale, cu modificări permanente a structurii genetice, demonstrează că virusurile gripale au capacitatea de a evolua pe calea reasortării segmentelor genomice ale diverselor tulpini. La 11 iunie 2009, OMS a declarat începutul primei pandemii moderate de

Tabelul 1

Rezultatele detecției antigenilor de virusuri gripale în probe biologice în perioada pre-pandemică (2008-2009)

Perioada	Probe examinate	Total probe pozitive		Ponderea antigenilor de virusuri gripale detectați prin metoda imunofluorescență directă					
				A(H1N1)		A(H3N2)		B	
		abs	%	abs	%	abs	%	abs	%
08-2009	377	7	1,9	0	0	7	1,9	0	0

Tabelul 2

Analiza antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în perioada pre-pandemică (2008-2009)

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titru de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>								
			Seruri de referință (seruri de diore)								
			A/Wis 67/05 F18/08	A/Trieste 25c/07 F5/07	A/Wis 3/07 F15/07	A/Bris 10/07 F29/08	A/Uru 716/07 F26/08	A/Fin 9/08 F12/08	A/JHB 15/08 F22/08	A/Eng 394/08 F32/08	A/Bris 24/08 F3/09
Virusuri de referință											
A/Wisconsin/67/2005	8/31/2005	SpfCk3E3\3	2560	2560	640	1280	5120	1280	1280	160	2560
A/Trieste/25c/2007	Jan-07	MDCKx\2	<	80	160	160	160	80	80	80	80
A/Wisconsin/3/2007	1/21/2007	Ex\2	5120	2560	2560	5120	5120	2560	2560	640	2560
A/Brisbane/10/2007	2/6/2007	E2\3	1280	2560	640	1280	2560	2560	1280	320	1280
A/Uruguay/716/2007	6/21/2007	spfck1, E3\1	1280	1280	640	2560	5120	1280	1280	160	1280
A/Finland/9/2008	1/7/2008	MDCK2\1	80	160	160	160	160	320	160	80	160
A/Johannesburg/15/2008	25/06/2008	MDCKx\2	80	160	160	160	320	160	160	160	320
A/England/394/2008	9/22/2008	MDCK2\7	80	80	160	160	160	80	160	160	160
A/Brisbane/24/2008	6/23/2008	E5\1	1280	2560	640	640	2560	1280	1280	320	1280
Virusuri testate											
A/Moldova/166/2009	3/4/2009	MDCK2\1	<	<	80	80	80	<	40	80	40
A/Moldova/167/2009	3/4/2009	MDCK2\1	80	80	80	160	160	80	80	80	80
A/Moldova/169/2009	3/4/2009	MDCK2\1	80	80	160	320	160	160	160	160	160

1. < = < 40

Tabelul 3

## Analiza antigenică a virusurilor gripale tip B (linia Victoria) identificate în perioada pre-pandemică (2008-2009)

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>								
			Seruri de referință (seruri de dihoze)								
			B/Shan <sup>2</sup> 7/97	B/Shan 7/97 F12/02	B/Bris 32/02 F2/03	B/HK 45/05 F15/05	B/Mal 2506/04 F28/05	B/Vic 304/06 F16/06	B/Eng 393/08 F31/08	B/Bris 33/08 F1/09	B/Bris 60/08 F2/09
Virusuri de referință											
B/Shandong/7/97		Ex	640	160	80	80	80	80	40	20	80
B/Brisbane/32/2002	7/2/2002	E2\6	640	80	160	80	160	80	40	20	40
B/HK/45/2005	2/7/2005	MDCK2\4	640	160	80	160	320	80	20	20	40
B/Malaysia/2506/2004	12/6/2004	E3\3	320	160	160	80	160	80	40	20	80
B/Victoria/304/2006	6/6/2006	E2\2	320	80	80	80	160	160	40	40	160
B/England/393/2008	29/08/2008	E1\2	160	40	80	<	80	80	160	320	320
B/Brisbane/33/2008	13/07/2008	E3\1	160	80	80	<	80	160	160	320	320
B/Brisbane/60/2008	04/08/2008	E4\1	160	80	80	<	160	160	160	320	320
Virusuri testate											
B/Moldova/168/2009	3/4/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	<	<	<	<	320
B/Moldova/173/2009	3/4/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	10	<	<	<	320
B/Moldova/174/2009	3/4/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	10	<	<	<	320
B/Moldova/175/2009	3/5/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	<	<	<	<	320

1. < = <10; 2. Ser hiperimun de oi

gripă în sec. XXI, care a fost provocată de noul virus gripal A(H1N1)pdm. Analiza genetică a acestui virus pandemic a dezvăluit o nouă combinație a genelor virusurilor gripale umane, porcine și aviare, primind denumirea de "quadruplu reasortant". Această combinație complexă a fragmentelor genomice, indiscutabil a condus la apariția unui nou fenotip, care s-a reflectat în tabloul clinic al infecțiilor compatibile cu gripa prin proprietăți biologice noi, exprimate în caracteristicile de detecție, izolare și identificare ale acestui virus.

Astfel, în perioada pandemică (2009-2010), prin tehnici de biologie moleculară (RT-PCR) în timp real – metodă de bază, recomandată de OMS, pentru detectarea ARN virusului gripal de tip nou A(H1N1) – tulpină, numită ulterior pandemică – A(H1N1)pdm – au fost investigate 6926 de probe, din care în 2660 (38,41%) a fost detectat ARN virusului gripal A(H1N1)pdm și doar în 1 probă s-a detectat ARN virusului gripal tip B (0,01%) (tab. 4).

În conformitate cu convenția de colaborare cu Centrul Regional de Referință pentru Gripă al OMS din Londra – parte componentă a Sistemului European de Supraveghere epidemiologică și virusologică a gripei un număr statistic

reprezentativ de probe pozitive la prezența ARN virusurilor gripale se expediază pentru reconfirmare. În perioada pandemică (2009-2010), în adresa Institutului de Cercetări în Medicină din Londra, Laboratorul de Referință al OMS, au fost expediate 221 de probe pozitive reprezentative atât pentru reconfirmare, izolarea tulpinilor de virusuri gripale, caracterizarea antigenică, studierea lor privind originea tulpinilor de virusuri gripale identificate în Republica Moldova prin tehnici de secvențiere, cât și pentru determinarea sensibilității lor la preparatele antivirale. Din ele a fost posibil de a izola și identifica 33 de tulpini de virus gripal A(H1N1)pdm.

Analiza antigenică a demonstrat că 31 de tulpini de virusuri gripale au prezentat o reactivitate înaltă cu panelurile de seruri standard utilizate (A/NJ<sup>2</sup> 8/76 R15/79; A/NJ 8/76 F34/82; A/Cal 4/09 C4/F14/09; A/Cal7/09 C4/31/09; A/Eng 195/09 NIBSC F18/09; A/Auck 3/09 C4/17/09 și A/Cal 4/09 C4/F14/09; A/Cal 7/09 C4/31/09; A/Eng 195/09 NIBSC F17/09; A/Auck 3/09 C4/17/09; A/Bayern 69/09 C4/33/09; A/Lviv N6/2009 C4/34/09), pe când 2 tulpini de virus gripal

Tabelul 4

## Rezultatele detecției ARN virusurilor gripale în perioada pandemică (2009-2010)

Perioada	Probe examinate	Total probe pozitive		Ponderea subtipurilor de virus gripal identificate prin RT-PCR în timp real					
				A(H1N1)pdm		A(H3N2)		B	
		abs	%	abs	%	abs	%	abs	%
2009-2010	6926	2661	38,42	660	38,41	0	0	1	0,01

au manifestat o reactivitate redusă, dar similară cu reactivitatea virusului de referință A/Lviv/N6/2009, însă, mai mare decât a virusului de referință A/Bayern/69/09 cu reactivitate joasă (tab. 5, 6). Reactivitatea alterată a acestor două virusuri pare a fi asociată cu schimbările la reziduurile 154-156 de HA. Ambele virusuri au câte o modificare în poziția 155, iar virusul A/Lviv/N6/2009 prezintă o schimbare adițională la nivelul 222 D spre G.

Toate tulpinile de virusuri gripale izolate (identificate în Republica Moldova) au fost studiate în ceea ce privește rezistența la inhibitorii neuraminidazei (sialidazei) – oseltamivir și zanamivir. Analiza fenotipică a demonstrat că toate viru-

surile identificate în Republica Moldova au fost sensibile la ambele remedii antivirale (oseltamivir, zanamivir).

Analiza genotipică a fost efectuată la două loturi prin metoda de secvențiere a genelor HA și NA virusurilor gripale A(H1N1)pdm. În primul lot, s-a efectuat secvențierea genelor de HA a 24 izolate de virus gripal și secvențierea genelor de NA a 17 izolate de virusuri gripale A(H1N1)pdm identificate la începutul pandemiei. Din comparația filogenetică a genelor de HA s-a observat că unele tulpini au avut substituția aminoacidului din poziția D222E. Această poziție s-a dovedit a fi similară cu poziția glicinei în unele virusuri identificate în cazuri soldate cu deces, însă nu s-a

Tabelul 5

**Analiza antigenică a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm identificate la începutul pandemiei în anul 2009 în Republica Moldova**

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>					
			Seruri de referință (seruri de dihone)					
			A/NJ <sup>2</sup> 8/76 R15/79	A/NJ 8/76 F34/82	A/Cal 4/09 C4/F14/09	A/Cal 7/09 C4/31/09	A/Eng 195/09 NIBSC F18/09	A/Auck 3/09 C4/17/09
Virusuri de referință								
A/New Jersey/8/76		Ex	>5120	640	160	160	320	320
A/California/4/2009		C1,E2	2560	160	1280	2560	2560	2560
A/California/7/2009		E5	5120	320	2560	2560	2560	5120
A/England/195/2009		MDCK4	2560	160	1280	2560	2560	2560
A/Auckland/3/2009		Ex+2	5120	640	2560	5120	5120	5120
Virusuri testate								
A/Moldova/G-57/2009	7/31/2009	MDCK2	5120	320	2560	5120	5120	5120
A/Moldova/G-63/2009	8/11/2009	MDCK2	5120	320	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-85/2009	8/20/2009	MDCK2	2560	160	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-104/2009	8/29/2009	MDCK2	2560	160	1280	1280	2560	2560
A/Moldova/G-120/2009	9/6/2009	MDCK2	5120	320	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-162/2009	10/28/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	5120
A/Moldova/G-168/2009	10/30/2009	MDCK2	2560	160	1280	1280	2560	2560
A/Moldova/G-170/2009	10/31/2009	MDCK2	5120	320	1280	1280	2560	2560
A/Moldova/G-174/2009	10/30/2009	MDCK2	2560	320	1280	2560	2560	5120
A/Moldova/G-176/2009	10/31/2009	MDCK2	2560	160	1280	1280	1280	2560
A/Moldova/G-181/2009	10/31/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	5120
A/Moldova/G-182/2009	10/31/2009	MDCK2	1280	80	640	1280	1280	1280
A/Moldova/G-185/2009	11/1/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	1280	2560
A/Moldova/G-186/2009	11/1/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	5120
A/Moldova/G-62/2009	8/12/2009	MDCK3	2560	320	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-65/2009	8/12/2009	MDCK3	2560	160	1280	2560	1280	2560
A/Moldova/G-72/2009	8/13/2009	MDCK3	2560	160	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-157/2009	10/26/2009	MDCK3	2560	80	1280	1280	1280	2560
A/Moldova/G-188/2009	11/1/2009	MDCK3	5120	320	2560	2560	5120	5120
A/Moldova/G-140/2009	9/28/2009	MDCK2	1280	<	640	1280	320	640

1. < = <10; 2. Ser hiperimun de iepure

Tabelul 6

**Analiza antigenică a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm identificate pe parcursul și la finele pandemiei (2009-2010)**

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>					
			Seruri de referință (seruri de dihore)					
			A/Cal 4/09 C4/F14/09	A/Cal 7/09 C4/31/09	A/Eng 195/09 NIBSC F18/09	A/Auck 3/09 C4/17/09	A/Bayern 69/09 C4/33/09	A/Lviv N6/2009 C4/34/09
Virusuri de referință								
A/California/4/2009		C1,E2	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/California/7/2009		E6	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/England/195/2009		MDCK5	1280	1280	1280	1280	1280	1280
A/Auckland/3/2009		Ex+3	1280	1280	1280	2560	640	1280
A/Bayern/69/2009		MDCK4/SIAT1	80	160	80	80	320	320
A/Lviv/N6/2009		MDCK4/SIAT1	320	640	320	160	1280	1280
Virusuri testate								
A/Moldova/8/2010	1/2/2010	SIAT3	2560	2560	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/14/2010	10/1/2010	SIAT3	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Moldova/63/2010	1/4/2010	SIAT2	2560	5120	2560	2560	2560	2560
A/Moldova/66/2010	1/3/2010	SIAT3	2560	2560	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/112/2010	1/5/2010	SIAT2	2560	2560	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/226/2010	1/11/2010	SIAT2	1280	1280	1280	2560	640	1280
A/Moldova/379/2010	1/20/2010	SIAT3	1280	640	1280	2560	640	1280
A/Moldova/3958/2009	11/30/2009	SIAT3	640	640	640	1280	320	640
A/Moldova/5278/2009	12/16/2009	SIAT3	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/Moldova/5565/2009	12/24/2009	SIAT3	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/Moldova/5572/2009	12/25/2009	SIAT4	1280	1280	1280	2560	640	1280
A/Moldova/30/2010	1/2/2010	SIAT3	320	640	320	320	640	640
A/Moldova/398/2010	1/21/2010	SIAT4	640	640	640	640	640	640

1. &lt;= 40

găsit niciun argument întru susținerea ideii, că aceasta este asociată cu virulența sporită a virusului A(H1N1)pdm, deși este foarte aproape de substituția D222G. Substituția dată pare a avea un efect neînsemnat asupra antigenicității, fapt care poate fi observat în interpretarea rezultatelor analizei antigenice.

În al doilea lot, s-a efectuat secvențierea genelor de HA și NA a 32 de izolate de virus gripal A(H1N1)pdm identificate la finele pandemiei. În arborii filogenetici atât a genei HA, cât și a genei NA, s-a observat că unele virusuri s-au aranjat în grup, pe când altele au fost dispersate, fapt care poate indica la semnificația epidemiologică a acestor virusuri. Similar lotului anterior, au fost observate virusuri ce prezentau schimbări la nivelul aminoacidului 222 în HA. Două virusuri au prezentat o substituție clară la nivelul D222G (virusurile 3163/2009 și 3245/2009), iar altele două conțineau mixul sau D sau G (virusurile 351/2010 și 5053/2009). Interesant este faptul, că aceste probe au fost colectate de la cazurile de deces. Cu toate acestea, nu toate probele colectate de la cazurile de deces au prezentat substituția G în poziția 222 (4 din 9 au prezentat semne de glicină – 2 prezentând predominant glicină) și niciuna din celelalte probe nu au

prezentat urme semnificative ale glicinei în analiza de secvențiere. Substituția observată la nivelul 277 în HA, în unul din grupurile de virusuri a fost localizată aparte de capătul HA și aparte de site-ul de legare a receptorilor, de asemenea având un efect nesemnificativ.

Semnificația substituției D222G a fost și este discutată de către cercetători [8, 9, 10, 11, 12, 13]. Astfel, substituția D222G în gena HA poate fi primul "marker al virulenței" identificat la virusul A(H1N1)pdm care, însă, a fost detectat în unele țări, în special, în numeroase cazuri cu evoluție severă și fatale. Această substituție s-a dovedit a fi cauza extinderii specificității receptorice spre acidul  $\alpha$ 2-3 sialic (similar celui aviar) expresate de celulele epiteliale ale tractului respirator inferior [11, 12]. Și anume, atașamentul abundent al D222G al virusului A(H1N1)pdm de macrofagii localizați în alveolele pulmonare poate implica mecanisme de sporire a patogenicității acestuia, ceea ce poate conduce, ulterior, la multiplicarea virusului la acest nivel, manifestată prin afectarea funcției celulelor, inclusiv, prin perturbarea procesului de reparare a epitelului după afectarea alveolelor, dereglarea transportului ionic și producerea anormală de substanțe tensioactive [12]. Totodată, este necesar de

menționat, că substituția D222G nu afectează proprietățile antigenice ale virusului A(H1N1)pdm, fapt care a fost stabilit prin reacții de hemaglutinoinhibare (RHAI) cu seruri de referință atât de dihone, cât și de iepure [8, 9, 10, 11]. De asemenea, în analizele antigenică și de secvențiere s-a demonstrat faptul, că virusurile gripale A(H1N1)pdm care posedă substituția D222G sunt antigenic similare cu virusul A/California/7/2009 (H1N1) – virus recomandat de OMS pentru formula vaccinului gripal. Aceste date sugerează că vaccinurile antigripale actuale pot asigura protecție atât contra virusurilor gripale care conțin substituția D222G, cât și contra celor ce nu o conțin, fapt prin care vaccinarea ar putea limita impactul virusurilor cu substituția D222G în viitor [11, 12].

Comparația filogenetică a genelor de NA a virusurilor gripale analizate nu a prezentat substituția la nivelul H275Y, asociată cu rezistența virusurilor la preparatul antiviral oseltamivir, fapt ce poate fi considerat benefic în aspectul sensibilității tulpinilor de virusuri gripale identificate în Republica Moldova ca fiind sensibile la remediul antiviral nominalizat. Totodată, izolate de virus gripal A(H1N1)pdm au prezentat o substituție la nivelul aminoacidului 386 (N s-a schimbat cu K) și această substituție putea urma cu pierderea site-ului de glicozilare în tetramerul de NA, aparte de locusul enzimatic activ. Însă, semnificația acesteia nu este încă cunoscută.

În perioada postpandemică (2010-2011), prin metoda RT-PCR în timp real au fost investigate 1095 de probe, din care în 611 probe (56,4%) a fost detectat ARN al virusurilor gripale: A(H1N1)pdm – în 360 de probe, A(H3N2) – în 88 de probe, virusul gripal B – în 163 de probe, iar în 4 probe s-a detectat ARN al virusurilor gripale B și A(H1N1)pdm. Așadar, gripa în perioada postpandemică a fost cauzată de trei tipuri de virusuri gripale cu predominarea virusului gripal A(H1N1)pdm cu o pondere de 33%, virusului gripal de tip B – 15%, virusului gripal de tip A cu subtipul H3N2 – 8%, iar cea mai mică pondere a fost stabilită în cazul coinfecției cu virusurile gripale de tip A(H1N1)pdm și de tip B doar de 0,4% (tab. 7). O situație similară în perioada postpandemică s-a atestat în majoritatea țărilor din Europa.

În culturi celulare MDCK au fost investigate 127 din 611 probe pozitive la diferite tipuri/subtipuri ale virusurilor gripale prin metoda molecular-biologică RT-PCR. Din ele au fost izolate 5 tulpini de virusuri gripale, care în RHAI au fost identificate ca virusuri gripale A(H1N1) (1 tulpină) și B (4 tulpini).

În adresa Laboratorului de Referință pentru Gripă a OMS din Londra, în perioada postpandemică, au fost expediate 93 de specimene clinice pozitive la prezența ARN virusurilor gripale din care au fost izolate 9 tulpini de virus gripal A(H1N1)pdm, 15 tulpini de virus gripal A(H3N2) și 2 tulpini de virus gripal tip B.

Rezultatele obținute demonstrează că tulpinile izolate de virus gripal A(H1N1)pdm din Republica Moldova totalmente reacționează cu serurile standard (A/Cal 7/09 F05/10, A/Eng 195/09 F06/10, A/Auck 3/09 F17/09, A/Bayern 69/09 C4/33/09, A/Lviv N6/2009 C4/34/09, A/HK 2212/2010 F21/10 Egg, A/C'church 16/2010 F30/10), ceea ce reprezintă o caracteristică fenotipică comparabilă cu tulpinile din alte țări izolate, identificate și caracterizate din perioada nominalizată, deși tulpina virală A/Moldova/448/2011 a prezentat o activitate ușor redusă în RHAI (tab. 8).

Secvențierea genelor HA și NA, efectuată pentru virusurile gripale A(H1N1)pdm izolate, a atestat două virusuri care s-au aranjat diferit în cluster-ele din analiza filogenetică a fiecărei gene. Pentru gena HA un virus s-a găsit în subgrupurile genetice definite de substituția aminoacizilor S185T și D97N, pe când al doilea virus – în subgrupul definit de aminoacizii A134T și S183P. Recent, au fost recunoscute cinci clase genetice emergente (nou formate) ale genei HA de virusuri H1N1: 1) grupul Emisferei Sudice (SH) (modificările-cheie N125D, altele cu V250A etc.); 2) grupul Hong Kong (modificările-cheie S128P, V199A, I295V etc. – K163T și P271S), 3) un grup definit de aminoacizii A134T, S183P – observat în cel puțin șase țări, 4) un grup definit de aminoacizii R205K, I216V, V249L – observat în cel puțin trei țări; 5) S185T – grupul cu cea mai mare expansiune și răspândire geografică, multe cu substituția D97N [14]. În fiecare grup genetic, virusurile sunt considerate antigenic similare.

Analiza antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) (15 tulpini) reprezintă un pattern similar de reactivitate. Important este faptul, că aceste virusuri au fost reactive cu serurile specifice standard față de tulpinile virale A/Wisconsin/15/2009, A/Alabama/5/2010 și A/Perth/10/2010, însă, au avut o reactivitate redusă cu serul specific față de virusul vaccinal A/Perth/16/2009, aceste variații fiind neesențiale (tab. 9). Analiza secvențelor nucleotidice a genelor HA și NA ale virusurilor gripale A(H3N2) a demonstrat similaritatea virusurilor, precum și apartenența genei HA la subgrupul cladei genetice A/Victoria/208/2009. Acest subgrup este definit de aminoacizii cu substituțiile D53N, Y94H, I230V și E280A.

Tabelul 7

## Rezultatele detecției ARN virusurilor gripale în probe biologice în perioada postpandemică (2010-2011)

Perioada	Probe examinate	Total probe pozitive		Ponderea subtipurilor de virus gripal identificate prin RT-PCR în timp real							
				A(H1N1)v		A(H3N2)		B		A(H1N1)v + B	
		abs	%	abs	%	abs	%	abs	%	abs	%
2010-2011	1095	611	56,4	360	33	88	8	163	15	4	0,4



Tabelul 8

## Analiza antigenică a virusurilor gripale A(H1N1)pdm identificate în perioada postpandemică

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>						
			Seruri de referință (seruri de dihoze)						
			A/Cal 7/09 C4/31/09	A/Eng 195/09 NIBSC F18/09	A/Auck 3/09 C4/17/09	A/Bayern 69/09 C4/33/09	A/Lviv N6/2009 C4/34/09	A/HK 2212/2010 F21/10 Egg	A/C'church 16/2010 F30/10
Virusuri de referință									
A/California/7/2009	4/9/2009	E2/E4	5120	2560	5120	1280	2560	2560	2560
A/England/195/2009	4/28/2009	MDCK1/ MDCK2	2560	2560	2560	1280	2560	2560	2560
A/Auckland/3/2009	4/25/2009	Ex/E3	2560	2560	5120	1280	2560	2560	2560
A/Bayern/69/2009	7/1/2009	MDCK4/ MDCK1	320	160	80	640	320	160	160
A/Lviv/N6/2009	10/27/2009	MDCK5	1280	160	160	2560	2560	640	640
A/HK/2212/2010	7/16/2010	E3	5120	5120	5120	2560	5120	5120	5120
A/Christchurch/16/2010	7/12/2010	E2/E1	5120	5120	5120	2560	5120	5120	5120
Virusuri testate									
A/Moldova/124/2011	1/24/2011	MDCK3	2560	2560	2560	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/291/2011	2/2/2011	MDCK3	2560	2560	1280	640	1280	2560	1280
A/Moldova/338/2011	2/3/2011	MDCK3	2560	2560	1280	640	1280	2560	1280
A/Moldova/366/2011	2/7/2011	MDCK3	1280	1280	1280	640	1280	1280	640
A/Moldova/399/2011	2/9/2011	MDCK3	1280	1280	1280	320	1280	1280	640
A/Moldova/414/2011	2/7/2011	MDCK2	1280	1280	1280	320	1280	1280	640
A/Moldova/448/2011	2/7/2011	MDCK2	640	1280	320	640	1280	1280	640
A/Moldova/74/2011	1/19/2011	MDCK2	1280	2560	2560	1280	1280	2560	1280
A/Moldova/114/2011	1/24/2011	MDCK2	1280	1280	1280	640	1280	1280	640

1. &lt; = 40

Tulpinile de referință A/Alabama/5/2010 și A/Perth/10/2010 s-au încadrat în acest subgrup. De menționat, că niciun subgrup genetic menționat nu s-a deosebit antigenic semnificativ de virusul vaccinal A/Perth/16/2009.

Tulpinile de virus gripal B (2 izolate) au prezentat același model general de reactivitate în analiza antigenică: fiecare din ele a prezentat reactivitate redusă cu serul specific față de tulpina vaccinală B/Brisbane/60/2008 cultivate pe ouăle embrionate. Cu toate acestea, tulpinile de virus gripal B au demonstrat o reactivitate înaltă cu serurile specifice față de virusurile străns legate genetic de tulpina vaccinală cultivată în culturi celulare (tab. 10). Posibil aceste devieri nesemnificative pot fi considerate drept urmare a unor diferențe de reproducere a virusului gripal B în culturi celulare și ouă embrionate. Analiza de secvențiere a izolatului B/Moldova/284/2011 pentru genele HA și NA a demonstrat că virusul analizat se referă la clasa genetică B/Brisbane/60/2008 pentru ambele gene. Comparativ cu tulpina vaccinală B/Brisbane/60/2008, tulpina virală B/Moldova/284/2011 se atribuie subgrupului genetic definit de substituțiile aminoacizilor I146V și L58P, fiind stabilit că aceste substituții nu afectează antigenicitatea virusurilor.

Așadar, sezonul epidemic 2010-2011, perioada postpandemică s-a caracterizat prin circulația virusurilor gripale

A(H1N1)pdm, A(H3N2) și B. În comparație cu sezoanele epidemice de până la declanșarea primei pandemii a sec. XXI, în perioada postpandemică s-a observat circulația preponderentă a virusului gripal A(H1N1)pdm care, practic, totalmente l-a substituit pe virusul gripal sezonier A(H1N1), care s-a aflat în circulație de aproape un secol sau și mai mult [13, 14]. Caracteristica genotipică a virusurilor gripale A(H1N1)pdm, identificate atât în Republica Moldova, cât și în alte țări ale lumii a atestat circulația în continuare a virusurilor ce conțineau substituția D222G, care tot mai des se detecta în virusurile identificate în probele colectate de la pacienții cu evoluție severă a bolii [15]. Cu toate acestea, este necesar de menționat că toate tipurile de virusuri gripale, identificate în Republica Moldova, au făcut parte din cladele virusurilor vaccinale, după cum urmează: virusul A(H1N1)pdm – clada virusului A/California/7/2009, virusul A(H3N2) – clada virusului A/Perth/16/2009 și virusul gripal de tip B – clada virusului B/Brisbane/60/2008 – grupare caracteristică majorității virusurilor gripale circulante în țările europene.

Monitorizarea continuă a variabilității mutaționale prin analiza genotipică a tulpinilor circulante de virusuri gripale deține un rol important în selectarea tulpinilor vaccinale cu scop de profilaxie specifică a infecțiilor gripale, dar și pentru alegerea corectă a remediilor antivirale cu scop de tratament.

Tabelul 9

## Analiza antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în perioada postpandemică

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>							
			Seruri de referință (seruri de dihone)							
			A/Wis 67/05 F18/08	A/Bris 10/07 F29/09	A/Perth 16/09 F30/09	A/Wis 15/09 F24/09	A/Vic 208/09 F7/10	A/Vic 210/09 F11/10	A/Ala 5/10 F27/10	A/Perth 10/10 F03/11
Virusuri de referință										
A/Wisconsin/67/2005	2005-08-31	SpfCk3E3/E1	1280	640	<	<	160	<	<	80
A/Brisbane/10/2007	2007-02-06	E2/E4	5120	5120	40	40	320	160	40	160
A/Perth/16/2009	2009-07-04	E3/E3	40	80	1280	640	1280	1280	640	2560
A/Wisconsin/15/2009	2009-07-06	E2/E3	40	<	640	320	40	160	640	320
A/Victoria/208/2009	2009-06-02	E3/E2	160	160	640	640	5120	5120	1280	2560
A/Victoria/210/2009	2009-06-02	E2/E3	160	320	1280	1280	2560	5120	320	2560
A/Alabama/5/2010	2010-07-13	MK1/M2/S3	<	<	80	40	40	40	160	320
A/Perth/10/2010	2010-05-25	E2/E2	<	<	160	40	40	40	160	320
Virusuri testate										
A/Moldova/96/2011	1/21/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	320	640	1280
A/Moldova/145/2011	1/24/2011	SIAT4	40	40	320	160	320	320	320	640
A/Moldova/161/2011	1/25/2011	SIAT4	40	40	320	640	320	320	640	1280
A/Moldova/176/2011	1/26/2011	SIAT2	40	40	320	320	320	320	640	1280
A/Moldova/176/2011	1/26/2011	SIAT3	40	40	320	320	320	320	640	1280
A/Moldova/214/2011	1/28/2011	SIAT2	40	40	320	320	320	320	640	1280
A/Moldova/214/2011	1/28/2011	SIAT3	40	40	320	320	160	160	640	1280
A/Moldova/224/2011	1/28/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	160	640	1280
A/Moldova/225/2011	1/28/2011	SIAT2	40	40	320	320	160	160	640	1280
A/Moldova/225/2011	1/28/2011	SIAT3	40	40	320	320	320	320	640	1280
A/Moldova/252/2011	1/31/2011	SIAT4	80	40	640	640	320	320	1280	1280
A/Moldova/317/2011	2/4/2011	SIAT3	40	80	320	640	320	320	640	1280
A/Moldova/278/2011	2/2/2011	SIAT4	40	80	640	640	320	320	640	1280
A/Moldova/375/2011	2/7/2011	SIAT4	40	80	640	640	320	320	640	1280
A/Moldova/378/2011	2/8/2011	SIAT3	40	80	320	320	320	160	640	1280
A/Moldova/113/2011	1/23/2011	SIAT4	40	40	320	320	160	320	640	1280
A/Moldova/594/2011	2/18/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	160	640	1280
A/Moldova/601/2011	2/18/2011	SIAT3	40	40	320	320	320	320	640	1280

1. &lt; = &lt;40

Tabelul 10

## Analiza antigenică a virusurilor gripale de tip B identificate în perioada postpandemică

Virusuri	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a hemaglutinării <sup>1</sup>						
			Seruri de referință (seruri de dihone)						
			B/Bris <sup>2</sup> 60/08 Sh 524	B/Mal 2506/04 F28/05	B/England 393/08 F31/08	B/Bris 60/08 F25/10	B/Paris 1762/08 F11/09	B/HK 514/09 F13/10	B/Odessa 3886/10 F17/10
Virusuri de referință									
B/Malaysia/2506/2004	2004-12-06	E3/E3	640	640	160	80	<	<	<
B/England/393/2008	2008-08-29	E1/E6	640	160	320	320	40	40	40
B/Brisbane/60/2008	2008-08-04	E4/E4	640	160	160	320	40	20	40
B/Paris/1762/2008	2009-02-09	C2/MDCK4	640	10	<	20	80	160	80
B/Hong Kong/514/2009	2009-10-11	MDCK1/MDCK1	640	<	<	20	80	160	80
B/Odessa/3886/2010	2010-03-19	C2/MDCK3	640	10	<	40	80	320	160
Virusuri testate									
B/Moldova/141/2011	2011-01-25	MDCK2	640	20	<	40	160	320	160
B/Moldova/284/2011	2011-02-02	MDCK3	640	10	<	40	160	160	160

1. &lt; = &lt; 0; 2. Ser hiperimun de oi

Analiza sensibilității fenotipice la antivirale (oseltamivir și zanamivir) a virusurilor gripale A și B, izolate și identificate în Republica Moldova în perioadele nominalizate, cu un nivel suficient de activitate a sialidazei a fost efectuat în testul de inhibare a sialidazei. Tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm, A(H3N2) și B au fost totalmente sensibile la ambii inhibitori. În pofida faptului că inhibitorii neuraminidazei au fost utilizați pe scară largă atât cu scop de profilaxie, cât și de tratament pe parcursul perioadelor nominalizate, rezistența la oseltamivir a fost identificată sporadic, iar virusurile rezistente nu aveau potențial eficient de transmisie în comunitate. Totuși, cercetările au demonstrat că virusul gripal A(H1N1)pdm, având un potențial înalt de transmisie și o virulență mai înaltă comparativ cu virusurile gripale A(H3N2) și B a fost totalmente rezistent la antiviralele din grupul adamantanelor, dar susceptibil la ambii inhibitori ai neuraminidazei – zanamivir și oseltamivir [16].

### Concluzii

1. Infecțiile gripale în perioada prepandemică (2008-2009) au fost etiologic cauzate de virusurile gripale A(H3N2) și B, cu predominarea virusului A(H3N2), tulpinile virale identificate în Republica Moldova fiind similare cu tulpinile circulante în lume.

2. Perioada pandemică (2009-2010) s-a caracterizat prin circulația preponderentă a virusului gripal A(H1N1)pdm, caracteristica filogenetică a căruia a pus în evidență apariția substituției aminoacidului D222G în gena HA, detectată în special în cazuri cu evoluție severă a infecției gripale, cât și în cazuri soldate cu deces.

3. În perioada postpandemică (2010-2011), practic, s-a demonstrat substituția din circulație a virusului gripal sezonier A(H1N1) de către virusul gripal A(H1N1)pdm – tulpină dominantă în sezonul nominalizat.

4. Virusurile gripale izolate și identificate în Republica Moldova fac parte din cladele virusurilor vaccinale: virusul A(H1N1)pdm – clada virusului A/California/7/2009, virusul A(H3N2) – clada virusului A/Perth/16/2009 și virusul gripal de tip B – clada virusului B/Brisbane/60/2008 – grupare caracteristică majorității virusurilor gripale circulante în țările europene.

5. Cercetarea la susceptibilitatea inhibitorilor neuraminidazei a virusurilor gripale circulante în Republica Moldova în perioadele nominalizate a demonstrat sensibilitatea lor la remediile antivirale de ultimă generație – oseltamivir și zanamivir.

6. Analizele antigenică și filogenetică reprezintă instrumente de o importanță majoră în detectarea noilor tulpini reasortante de virusuri gripale atât cu potențial epidemic, cât și pandemic – element indispensabil în realizarea supravegherii epidemiologice cu elemente de control și răspuns.

### References

- Kiselev OI, Marinich IG, Sominina AA. Gripp i drugie respiratornye virusnye infektsii: epidemiologiya, profilaktika, diagnostika i terapiya [Influenza and other viral respiratory infections: epidemiology, prophylaxis, diagnostics and treatment]. Sankt-Petersburg, 2003;245.
- Grudin MP, Komissarov AB, Pisareva MM, et al. Geneticheskoe raznoobrazie i molekulyarnaya evolyutsia virusov grippa A v Rossii v 2006-2012 gg [Genetic diversity and molecular evolution of the influenza A viruses in Russia during 2006-2012]. *Voprosy virusologii [Questions of Virology]*. 2012;6:37-42.
- Kamps BS, Hoffmann Ch, Preiser W. Influenza Report. Flying Publisher, 2006;225.
- Instruktsia po primeneniю immunoglobulinov fluorestsiriuschikh antitel sukhikh dlya bystroy diagnostiki grippa i drugikh ORZ [Instruction of fluorescent antibody dry immunoglobulin using for rapid diagnosis of influenza and other acute respiratory diseases]. Gosudarstvennyi Komitet Sanitarno-Epidemiologicheskogo Nadzora Rossiiskoi Federatsii [State Committee for Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Russian Federation]. Moscow, 1994.
- CDC Real-Time RT-PCR Protocol for detection and characterization of swine influenza (version 2009).
- Influenza Laboratory Course Atlanta, Georgia, USA, May 5-9. 2003;939.
- [http://ecdc.europa.eu/en/publications/technical\\_reports/influenza/Pages/influenza.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/publications/technical_reports/influenza/Pages/influenza.aspx).
- Tse Herman, Kao Richard YT, Wu Wai Lan, et al. Structural basis and sequence co-evolution analysis of the hemagglutinin protein of pandemic influenza A/H1N1 (2009) virus. Original Research. *Experimental Biology and Medicine*. 2011;236:915-925.
- WHO Preliminary review of D222G amino acid substitution in the haemagglutinin of pandemic influenza A(H1N1)2009 viruses. 28 December, 2009. [http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/cp165\\_2009\\_2812\\_review\\_d222g\\_amino\\_acid\\_substitution\\_in\\_ha\\_h1n1\\_viruses.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/cp165_2009_2812_review_d222g_amino_acid_substitution_in_ha_h1n1_viruses.pdf)
- European Center for Disease Prevention and Control. Influenza virus characterization, Summary Europe, January 2011 (Technical Document).
- Chutinimitkul S, Herfst S, Steel J et al. Virulence-Associated Substitution D222G in the Hemagglutinin of 2009 Pandemic Influenza A(H1N1) Virus Affects Receptor Binding. *Journal of Virology*. 2010;11802-11813. (doi:10.1128/JVI.01136-10)
- Mak GC, Au KW, Tai LS, et al. Association of D222G substitution in haemagglutinin of 2009 pandemic influenza A(H1N1) with severe disease. *Euro Surveill*. 2010;15(14):pii19534. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19534>
- Dapat IC, Dapat C, Baranovich T, et al. Genetic Characterization of Human Influenza Viruses in the Pandemic (2009-2010) and Post-Pandemic (2010-2011) Periods in Japan. *PloS ONE*. 2012;7(6):e36455. Doi:10.1371/journal.pone.0036455
- European Center for Disease Prevention and Control. Influenza virus characterization, European Summary, April 2011 (Technical Document).
- Sominina AA, Grudin MP, Eropkin M, et al. Razvitie nadzora za grippom v Rosii v sisteme natsionalnogo tsentra VOZ po grippu [Development of influenza surveillance in Russia in the system of the WHO National Influenza Center]. *Voprosy virusologii [Questions of Virology]*. 2012;6:17-21.
- Ciancio BC, Meerhoff TJ, Kramarz P, et al. Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) viruses detected in Europe during season 2007 – 8 had epidemiologic and clinical characteristics similar to co-circulating susceptible A(H1N1) viruses. Surveillance and outbreak reports. [www.eurosurveillance.org](http://www.eurosurveillance.org)

# The collagenase participation in the collagen biodegradation in the uterus in the process of post-partum involution

R. Pretula

Laboratory of Morphology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy  
Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: ruslanpretula@yahoo.com. Manuscript received May 03, 2013; accepted November 28, 2013

## Abstract

**Background:** The collagenase activity in the uterus in the process of post-partum involution has been studied. Using the biochemical investigation methods it has been determined that in the first three post-partum days the collagenase activity increases essentially and the intensity of collagenolysis becomes maximal. The results suggest that there is a close correlation between the decrease of the collagen level and the increase of the uterine collagenase activity.

**Material and methods:** Experiments were performed on female rats with the weight of 16–200 gr. The total number of the animals included into the experiment was 141. Rats were divided into 9 groups: groups 106 – advanced pregnancy (17–19 days); group 7 – the 10<sup>th</sup> day after the delivery; group 8 – the 15<sup>th</sup> day after the delivery; group 9 – virgin females, control. The uterus was taken for investigation. Female, that gave birth to at least 6 newborns, were taken for the research. The uterus was preserved in the solution of 10% formaldehyde. Histological specimens were colored by hematoxiline and eozine by the procedure of Van Gieson and Mallory.

**Results:** Electronically-histochemically the collagenase activity has been detected in lysosomes of macrophages and fibroblasts in the myometrium of the virgin uterus. In the post-partum period the collagenase is secreted into the intercellular space by smooth muscle cells, macrophages and fibroblasts to participate directly in the extracellular collagen resorption.

**Conclusions:** The intense extracellular catabolism of the collagen in the postpartum period in uterus occurs with the participation of the collagenase of smooth muscle cells, while the intracellular collagen degradation is realized by the collagenase of macrophages and fibroblasts.

**Key words:** collagenase, metalloproteinases, collagen biodegradation, *post-partum* uterus involution.

## Participarea colagenazei la biodegradarea colagenului în uter în procesul involuției *post-partum*

**Actualitatea cercetării.** Biodegradarea matricei extracelulare (ECM) constituie un eveniment normal în remodelarea fiziologică asociată cu morfogeneza și dezvoltarea, precum și în procese cum ar fi angiogeneza, migrarea celulară, invazia tumorală și metastazare, vindecarea rănilor și involuția *post-partum* a uterului [1]. Ea asigură menținerea unui echilibru structural și funcțional dinamic al ECM, precum și al interrelațiilor ECM-celulă, asigurând în cele din urmă homeostazia tisulară. S-a demonstrat că colagenul majorității țesuturilor conjunctive prezintă subiectul unei remodelări și al unui circuit metabolic continuu, fenomen ce are loc atât în condiții fiziologice, cât și în cele patologice [2, 3, 4], iar organismul în normă dispune de toate posibilitățile necesare pentru reglarea cantității și distribuției structurilor conjunctive proprii.

Biodegradarea colagenilor *in vivo* este un proces complex, care se desfășoară în etape succesive, specifice acestui tip de proteine și cu particularități în funcție de tipul de colagen din țesut. O importanță primordială în biodegradarea țesutului conjunctiv este atribuită enzimelor lizozomale. Datorită structurii lor de triplu helix, organizat în fibre compacte puternic cross-linkate, colagenii fibrilari (tip I, II, III și X) sunt extrem de rezistenți la acțiunea majorității proteinazelor lizozomale. Totuși, există metalloproteinaze Zn-dependente capabile să inițieze degradarea acestor colageni, cele mai importante dintre ele fiind colagenazele. Ele scindează în mod unic colagenii interstițiali prin atacul la un singur situs din cadrul structurii helicale native, situat la 3/4 distanță de capătul NH<sub>2</sub> terminal al lanțului 1, rezultând 2 fragmente, ceea ce reprezintă 3/4 și respectiv 1/4 din lungimea fibrei inițiale. Producția de clivare se denaturează spontan la 37°C,

devenind susceptibile la proteinazele nespecifice din țesutul conjunctiv [5].

În prezent, metalloproteinazele matricei (MMPs; numite de asemenea colagenaze sau matrixine) sunt recunoscute ca enzime de importanță majoră în degradarea matricei extracelulare [6, 7, 8], fiind membri ai unei familii mai mari, în componența căreia în prezent sunt incluse cel puțin 26 de enzime [5, 8]. Există numeroase dovezi privind existența a două mecanisme în degradarea colagenilor – celui extracelular – dependent de colagenază și celui intracelular – independent de colagenază [9]. Procesul degradativ major este considerat de unii autori a fi cel extracelular, în care și sunt implicate în principal MMPs [6]. Însă, până în prezent nu este apreciat cu promptitudine care din aceste mecanisme este mai important și care sunt particularitățile interrelațiilor lor în procesul biodegradării matricei.

Examinând starea de ansamblu a acestei probleme, s-a constatat că și aspectele structurale ale proceselor de catabolizare a colagenului, de asemenea, nu au fost cercetate suficient. Afirmația se referă, în primul rând, la rolul diferitor elemente celulare în resorbția colagenului, la proporționarea colagenolizei intra- și extracelulare, la aspectele ultrastructurale ale resorbției colagenului. Rămân incerte sau contrariate și alte aspecte principiale ale acestei probleme.

În condiții fiziologice, unul din cele mai elocvente exemple de degradare rapidă și masivă a țesutului conjunctiv, îl reprezintă involuția *post-partum* a uterului – un proces acompaniat de resorbția intensă a colagenului prezent în uter la sfârșitul sarcinii.

Pe fond de sarcină, uterul crește de câteva ori în volum,

proces definit de hipertrofia, hiperplazia și poliploidia celulelor musculare netede, sporirea de 4-6 ori la șobolan și de 7-8 ori la om a cantității de collagen și majorarea de 3 ori la șobolan și de 4-5 ori la om a cantității de elastină. La 4-6 zile postnatale masa uterului de șobolan și la 8-12 zile a celui uman scade cu 90%, revenind treptat la normal [10].

Degradarea collagenului uterin, care constituie circa 20% din masa totală a uterului gestant, începe imediat după naștere și atinge cote maxime între 24 de ore și 4 zile postnatale [11]. Collagenul care, de obicei, are un nivel foarte redus de metabolizare (turnover), în involuția *post-partum* a uterului are o perioadă de înjumătățire (*half-life*) de numai 24 de ore. Peste 85% din collagenul prezent în structurile uterine spre finele perioadei de gestație se expun lizei în doar 4 zile postnatale, realizându-se unul din cele mai accelerate procese fiziologice de collagenoliză. Proteinele musculare, collagenul și elastina constituie componentele proteice principale, care în involuția postgestațională se expun proceselor de degradare realizată, după cum se presupune, prin intermediul proteolizei intracelulare [12].

Se consideră, că doar collagenazele pot dezintegra collagenul nativ nederivat pe fond de pH neutru [13] în contextul remodelărilor rapide, cum ar fi procesele de involuție postnatală a uterului. S-a determinat activitatea collagenazei chiar în fracțiunea insolubilă de homogenat tisular uterin în momentul involuției organice, prezumând că enzima are legătură cu substratul său – fibrilele collagenice [14]. Apoi s-a demonstrat, că în prima zi după naștere circa 85% din volumul total de collagenază se află în stare latentă, formă care se poate activa funcțional de tripsină sau de proteinaza serinică prezentă în structurile uterine [15]. Activitatea collagenazei se atestă minimă în timpul nașterii, dar se accentuează maximal la 24 de ore postnatale, pentru a reveni la indicii inițiali la 5 zile după naștere [16]. Se crede, că sursa de collagenază uterină sunt macrofagele, numărul cărora crește considerabil după naștere. Ipoteza nu a putut fi confirmată prin argumente plauzibile.

Un studiu relativ recent demonstrează cu probe de ordin enzimologic și imunologic, că celulele musculare netede din uterul postgestațional pot sintetiza collagenază *in vitro* [17]. Într-un alt studiu, efectuat *in vitro* cu ajutorul anticorpilor monoclonali la collagenaza uterină la șobolani, a fost demonstrată prezența enzimei în regiunea perinucleară a celulelor musculare netede, dar numai în miometrul uterului involutiv, lipsind în uterul *pre-partum* sau *negravid*. Rezultatele obținute constată, că celulele musculare netede sunt capabile să producă collagenază *in vitro* și nu contravin ipotezei, că această enzimă joacă un rol principal în degradarea masivă a collagenului, care are loc în involuția *post-partum* a uterului. *Trebuie* de menționat un studiu biochimic și histochimic, în care în citoplasma celulelor musculare netede, a fost descoperită procolagenaza peste 1-3 zile *post-partum*, cu valori maxime în a 3-a zi postnatală și cu o ulterioară diminuare treptată spre a 5-a zi [18].

Mecanismele ce întrețin intensitatea involuției accelerate a uterului după naștere totuși nu sunt pe deplin cunoscute.

Rămâne deschisă o problemă de principiu – care este modalitatea de angajare a enzimelor lizozomice în degradarea collagenului din organism, precum și în activizarea formei latente a collagenazei. Nu s-a elucidat cu siguranță nici valoarea relativă a căilor de degradare intra- și extracelulară a collagenului. Nu se știe care ar fi rolul și gradul de angajare a diferitor elemente celulare din uter, precum și a enzimelor sale lizozomice în resorbția collagenică definită de involuția *post-partum*.

Cercetările în această direcție sunt deosebit de importante pentru soluționarea unor probleme imperative din domeniul maladiilor țesutului conjunctiv: afecțiuni reumatice, osteo- și artropatii, regresia modificărilor inflamatorii cronice și a celor sclerotice, cicatrizarea plăgilor, formarea cheloizilor, aderențelor ș.a.

**Scopul** investigațiilor constă în studierea unor mecanisme de implicare a collagenazei în biodegradarea collagenului în uter în procesul de involuție *post-partum*.

### Material și metode

Experiențele s-au montat pe femele primipare de șobolani albi cu masa corporală de 160-200 g. Numărul total de animale incluse în experiențe a fost de 141 de șobolani. Animalele au fost subdivizate în 9 loturi: sarcină avansată (17-19 zile), 1-a, a 2-a, a 3-a, a 4-a, a 6-a, a 10-a și a 15-a zi după naștere și lotul martor – femele virgine. În calitate de material investigațional se preleva uterul animalelor experimentale. Pentru loturile de investigație erau selectate animalele, care născuse cel puțin 6 puișori. Toate animalele se preluau pe fond de lactație.

Prin metodele histologice s-au examinat prelevatele din uterul a 27 de animale. Materialul se fixa în formalină neutrală de 10%, cu includerea ulterioară în parafină. Secțiunile histologice au fost colorate cu hematoxilina și eozină, după Van Gieson și Mallory.

Pentru determinarea cantitativă a collagenului în uter s-a utilizat procedeul de determinare a hidroxiprolinei (HYP) – aminoacidului specific în exclusivitate moleculei de collagen, bazat pe proprietatea hidroxiprolinei de a se oxida în pirol sub acțiunea cloraminei B, produsele oxidării condensându-se în mediul acid cu p-dimetilaminobenzaldehidă, cu formarea unui compus colorat. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea de hidroxiprolină și se estimează fotometric [19].

Activitatea collagenazei a fost determinată biochimic în omogenat de țesut uterin, metoda având la bază principiul descris de Smith și van Frank [20] cu folosirea în calitate de substrat Z-Pro-Ala-Gly-Pro-4MβNA ("BACHEM") și agentului de azocoplare Fast Blue B (FBB). Activitatea enzimei a fost raportată la mg de proteina în probă, astfel a fost apreciată activitatea specifică a collagenazei.

Materialul a fost supus prelucrării histochimice pentru determinarea activității collagenazei la nivel ultrastructural, în conformitate cu procedura descrisă de Smith și van Frank [20], cu folosirea în calitate de substrat Z-Pro-Ala-Gly-Pro-4MβNA ("BACHEM").

**Rezultate și discuții**

*Modificările histologice ale uterului în procesul involuției sale post-partum.* Sarcina se caracterizează prin modificări esențiale în structura tuturor tunicilor uterului. Endometrul este marcat prin hipertrofia lui în rezultatul proliferării țesutului stromal și a celui glandular, însoțită de o vascularizare marcată și edem. Miometrul suportă modificări structurale pronunțate prin hipertrofia lui datorită creșterii substanțiale a volumului miocitelor netede, dar și a sporirii cantității de țesut conjunctiv prin proliferarea fibroblastelor și creșterea atât a componentului fibros cât și celui amorf al matricei intercelulare.

Procesul de involuție *post-partum* al uterului în aspect histologic se manifestă prin procese de atrofie și distrofie a elementelor musculare, micșorarea volumului și degradarea țesutului conjunctiv. Reducerea stromei organului are loc inițial în urma reducerii substanței amorphe, apoi a degradării elementelor fibrilare. Acest proces poate fi rezultatul atât al diminuării activității sintetice a fibroblastelor, cât și a intensificării resorbției matricei conjunctive. De menționat, că involuția țesutului muscular anticipează regresia matricei conjunctive.

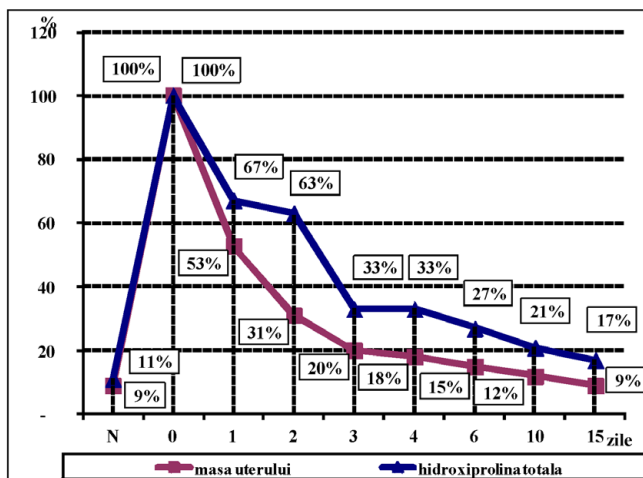
Astfel, preparatele histologice ale uterului animalelor experimentale, sacrificate în primele 15 zile postgestaționale, demonstrează o subțiere marcantă a fasciculelor de collagen și dispariția hipertrofiei celulelor musculare netede, ceea ce pune în evidență derularea în acest interval de timp a unui proces intens de catabolizare a collagenului.

*Modificarea masei uterului și cantității de hidroxiprolină în uter în proces de involuție post-partum.* Investigațiile demonstrează că în timpul sarcinii, masa totală a uterului sporește aproximativ de 11 ori în comparație cu lotul martor, considerat 100% (fig. 1). Reducerea masei uterului poate fi constatată chiar din primele 24 de ore de involuție postnatală,

alcătuiind la acest termen deja 53% din masa uterului prelevat la finele gestației. Ulterior, are loc o diminuare continuă a masei uterului și, spre finele perioadei cercetate, atinge valorile lotului martor alcătuiind 98%.

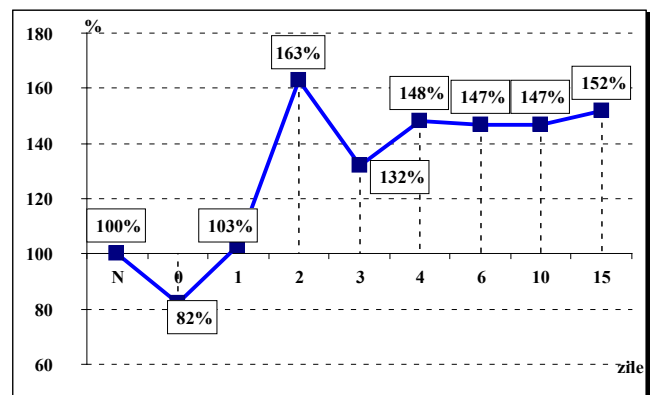
În timpul sarcinii, în uter are loc o sporire de circa 8 ori a cantității totale de hidroxiprolină, comparativ cu uterul virgin (fig. 1). Această creștere remarcabilă demonstrează, că în uterul gravid are loc majorarea considerabilă a cantității de collagen. La etapa de involuție *post-partum*, cantitatea aminoacidului studiat scade subit (cu 30% comparativ cu sarcina) chiar din prima zi postnatală. Trebuie de remarcat faptul, că în perioada de la 2 la 3 zile postnatale conținutul ei scade încă cu 30%. Astfel, aproximativ 67% din collagenul prezent la sfârșitul sarcinii este expus lizei în primele 3 zile postnatale. Începând cu a treia zi după naștere, cantitatea de hidroxiprolină scade mult mai lent, dar totuși la a 15-a zi a perioadei *post-partum*, ea devansează indicii lotului martor doar cu 49% (fig. 1).

Rezultatele experimentale de estimare a hidroxiprolinei au fost exprimate și ca concentrație a hidroxiprolinei la gram de țesut uterin (fig. 2). În perioada de gestație, concentrația de hidroxiprolină la gram de țesut se micșorează, probabil, datorită dezvoltării excesive a țesutului muscular și scăderii ponderii țesutului conjunctiv. La termenii postnatali, concentrația de hidroxiprolină la gram de țesut înregistrează valori, care depășesc parametrii uterului gravid. Acest fapt, însă, nu poate fi explicat prin sporirea cantității de collagen în această perioadă. Probabil, țesutul muscular, prezent într-o cantitate impresionantă în uterul gestant, suferă o degradare mai rapidă decât cel conjunctiv, mai ales la termenii inițiali ai perioadei postgestaționale. Deaceia, odată cu scăderea masei organului, are loc o schimbare a raportului dintre țesutul muscular și collagenul uterin în favoarea ultimului.



**Fig. 1. Modificările masei uterului și conținutului de hidroxiprolină totală în uter în perioada de gestație și la diferiți termeni de involuție *post-partum*.**

**Notă:** axa absciselor: N – lotul martor, 0 – lotul prenatal, 1-15 – termenii de involuție *post-partum* a uterului (zile); axa ordonatelor: masa uterului și conținutul hidroxiprolinei totale (în %).



**Fig. 2. Modificările conținutului de hidroxiprolină într-un gram de țesut uterin umed în perioada de gestație și la diferiți termeni de involuție *post-partum*.**

**Notă:** axa absciselor: N – lotul martor, 0 – lotul prenatal, 1-15 – termenii de involuție *post-partum* a uterului (zile); axa ordonatelor: conținutul hidroxiprolinei (în %).

O analiză comparativă a modificării masei uterului și cantității totale de hidroxiprolină (luând drept 100% valorile lotului prenatal), precum și analiza modificărilor conținutului

de hidroxiprolină într-un gram de țesut uterin pe parcursul perioadei postgestaționale (fig. 2), demonstrează net că la termenii inițiali, țesutul muscular suferă o degradare cu mult mai rapidă decât țesutul conjunctiv, ceea ce denotă încă o dată complexitatea procesului de colagenoliză. Rezultatele obținute sunt foarte demonstrative pentru a arăta că involuția *post-partum* a uterului este un model optim pentru studierea colagenolizei în condiții fiziologice, deoarece este însoțită de procese involutive considerabile, pe parcursul cărora, conform rezultatelor obținute, în primele 15 zile se supune degradării aproximativ 83% de colagen tisular uterin.

Astfel, în procesul de involuție *post-partum* a uterului în primele 3 zile se catabolizează 2/3, iar în decursul a 15 zile – 83% din colagenul prezent în uterul gravid. Se evidențiază două faze de degradare majoră a colagenului: primele 24 de ore postnatale și perioada de 48-72 de ore. În fiecare din aceste perioade, se catabolizează aproximativ a câte 30% din cantitatea de colagen prezentă în uter la sfârșitul sarcinii.

*Dinamica activității colagenazei în uter în proces de involuție post-partum.* Determinarea activității specifice a colagenazei în uterul virgin, în perioada de gestație și *post-partum* a permis elucidarea unor particularități în dinamica modificării activității colagenolitice în uter, în perioada post-gestațională. Astfel, în perioada de gestație enzima investigată a demonstrat o activitate specifică sporită neesențial, comparativ cu valorile lotului martor, dar în primele 24 de ore postgestaționale, activitatea colagenazei sporește semnificativ, ceea ce indică includerea activă a acestei proteinaze în resorbția colagenului (fig. 3).

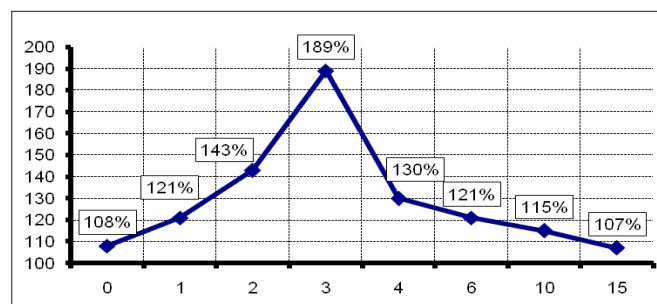


Fig. 3. Modificările activității specifice a colagenazei în uter în perioada de gestație și la diferiți termeni de involuție *post-partum*.

**Notă:** axa absciselor: 0 – lotul prenatal, 1-15 – termenii de involuție *post-partum* a uterului (zile); axa ordonatelor: activitatea specifică a colagenazei (în % comparativ cu lotul martor, considerat 100%).

Activitatea colagenazei continuă să crească vertiginos și în următoarele 2-3 zile după naștere, cea mai spectaculoasă sporire observându-se la a 3-a zi *post-partum*, când indicii enzimozității constituie 189%, comparativ cu lotul martor. Luând în considerație faptul degradării intense a țesutului conjunctiv, specificat pentru această perioadă, putem spune că la etapa dată are loc cea mai intensă resorbție a colagenului în uter.

După 3 zile, activitatea enzimei scade paralel cu masa uterului și conținutul total de hidroxiprolină.

Astfel, determinarea activității specifice a colagenazei în uter a permis constatarea faptului, că intensitatea colagenolizei sporește statistic veridic chiar din prima zi după naștere și devine maximală la ziua a treia când este, practic, de două ori mai mare decât în lotul martor (fig. 3). După cum s-a demonstrat mai sus, anume în primele trei zile postnatale și este degradat circa 70% din colagenul uterin, iar masa uterului scade de circa 5 ori. Incepând cu a patra zi după naștere, activitatea colagenazei în peretele uterin începe să scadă și după 15 zile se apropie de valorile lotului martor.

Rezultatele obținute demonstrează explicit, că există o corelație strânsă între scăderea cantității de colagen uterin și creșterea activității colagenazei. Astfel, putem afirma că degradarea rapidă a colagenului în primele trei zile *post-partum* are loc cu participarea nemijlocită a colagenazei, activitatea căreia sporește esențial anume în această perioadă.

*Cercetarea electron-histochimică a activității colagenazei în uter în proces de involuție post-partum.* În uterul virgin, produsul reacției la colagenază sub aspect de microgranulații se evidențiază în lizozomii unor macrofage și fibroblaste.

Pentru a urmări implicarea colagenazei în procesele de resorbție a colagenului, am cercetat distribuția enzimei în uter la nivel ultrastructural după 3 zile postnatale, când activitatea proteinazei atinge cote maxime (fenomen confirmat de indicii biochimici fixați de noi).

Particularitatea pregnantă, pe care am urmărit-o în timpul examenelor electron-histochimice asupra uterului, în proces de involuție postnatală, este eliberarea (secreția) colagenazei din celulele musculare netede și celulele conjunctive spre spațiul intercelular. Acest fenomen este demonstrat de cumulațiile de produs al reacției în spațiile intercelulare, pe citolemă și fibrilele de colagen din vecinătate. Produsul de reacție se evidențiază în preajma diferitor elemente celulare, dar mult mai des și în cantități mai mari pe lângă celulele musculare netede. În mediul endocelular al miocitelor, activitatea colagenazei este infimă.

La 3 zile postnatale, printre celulele musculare netede se distingeau benzi groase de colagen, în care se identifică o reacție intensă la colagenază. Cantități considerabile de produs al reacției sub formă de granulații solitare sau de conglomerate granulare, mai mult sau mai puțin omogene, se află dispuse pe citolema celulelor musculare netede sau chiar pe fibrilele colagenice, alăturate celulelor musculare netede sau în profunzimea stratului fibrotic.

Macrofagele conțineau produsul de reacție la colagenază în lizozomi și în diferite vacuole. În citoplasma celor mai multe macrofage se disting cantități diferite de vacuole, conținând fibrile fragmentate de colagen. Activitatea colagenazei s-a evidențiat și la nivel extracelular, dovadă fiind dislocarea produsului reacției, mai des în cantități mici, sub formă de granule solitare, pe citolema macrofagelor, precum și pe fibrilele de colagen adiacente.

Fibroblastele conțineau produsul de reacție la colagenază în lizozomi și în diferite vacuole. Ca și în macrofage, în citoplasma multor fibroblaste se observau diferite cantități de vacuole și fagolizozomi, care includ fragmente fagocitate

de fibrile de collagen la diferite etape de degradare. Am detectat și o oarecare activitate extracelulară a enzimei: o mică cantitate de produs al reacției se distingea sub formă de granule solitare pe citolema fibroblastelor și pe fibrilele de collagen adiacente.

Concomitent cu resorbția extracelulară, în uterul involutiv are loc și resorbția intracelulară a collagenului prin activitatea macrofagelor și fibroblastelor. Numărul excesiv de macrofage și fibroblaste prezenți în această perioadă de involuție a uterului, și numărul considerabil de vacuole cu collagen din citoplasma acestora, denotă faptul că atât macrofagele, cât și fibroblastele sunt antrenate în procesul de resorbție intracelulară a collagenului prin fagocitarea fibrilelor de collagen și liza acestora la nivelul fagolizozomilor.

Faptul că rezultatele reacției la prezența collagenazei se atestă în spațiul extracelular sub formă de conglomerate aderente cu fibrilele collagenice denotă, mai mult ca sigur, activitatea collagenolitică pregnantă a enzimei, manifestată și în spațiile extracelulare.

Astfel, creșterea drastică a activității enzimelor lizozomice, în special a collagenazei, determinată de noi în primele 3 zile postgestaționale, este însoțită în aceiași termeni de o activitate extracelulară deosebită a acestei enzime, revelată electron-histochimic. În această perioadă a involuției *post-partum* a uterului, are loc secreția intensă a collagenazei, în principal, din celulele musculare netede, precum și din elementele celulare conjunctive, spre spațiul extracelular – fenomen decelat de noi prin cercetările electron-histochimice. În aceste condiții, precum o atestă și rezultatele explorărilor noastre, masa principală a structurilor conjunctive atât la periferie (în imediata apropiere a celulei), cât și din profunzimea acestor straturi interpușe (adică la o relativă îndepărtare de elementele celulare), se expune acțiunii degradante a collagenazei, dar probabil și a altor proteinaze lizozomale.

Este absolut clar, că secreția de hidrolaze lizozomale deține un rol important în catabolizarea țesuturilor conjunctive, precum și în relațiile celulei cu matricea extracelulară, astfel constituind un mecanism de asigurare a homeostaziei structurale.

Conchidem, că celulele musculare netede secretă spre spațiul extracelular collagenază (și alte proteinaze lizozomale), care solubilizează matricea collagenică. Macrofagele și fibroblastele, pe lângă participarea în resorbția extracelulară alături de celulele musculare netede, captează și degradează intralizozomal fibrilele fragmentate de collagen cu participarea nemijlocită în acest proces a collagenazei și a altor proteinaze lizozomale.

### Concluzii

1. Procesul de involuție *post-partum* a uterului, în aspect histologic, se manifestă prin procese de atrofie și distrofie a elementelor musculare, micșorarea volumului și degradarea țesutului conjunctiv. Reducerea stromei organului are loc inițial în urma reducerii substanței amorfe, apoi decomplexării elementelor fibrilare. Acest proces poate fi rezultatul atât al diminuării activității sintetice a fibroblastelor, cât și a

intensificării resorbției matricei conjunctive. Involuția țesutului muscular anticipează reducerea matricei extracelulare a țesutului conjunctiv. Restabilirea completă a structurii uterului are loc la 2 săptămâni *post-partum*.

2. În procesul de involuție *post-partum* al uterului, în primele 3 zile se catabolizează 2/3, iar în decursul a 15 zile – 83% din collagenul prezent în uterul gravid. Se evidențiază două faze de degradare majoră a collagenului: primele 24 de ore postnatale și perioada de 48-72 de ore. În fiecare din aceste perioade, se catabolizează aproximativ câte 30% din cantitatea de collagen prezentă în uter la sfârșitul sarcinii.

3. În perioada involuției *post-partum*, sporește esențial activitatea collagenazei în uter, intensitatea collagenolizei devenind maximală la a treia zi *post-partum*. Există o corelație strânsă între scăderea cantității de collagen uterin și creșterea activității collagenazei, fapt care demonstrează că degradarea rapidă a collagenului în uter în perioada *post-partum* are loc cu participarea nemijlocită a collagenazei.

4. În perioada post-gestațională, collagenaza este secretată de către celulele musculare netede, macrofage și fibroblaste spre spațiul extracelular pentru a se angaja nemijlocit în resorbția extracelulară a collagenului.

5. Catabolizarea extracelulară intensă a collagenului din uterul în proces de involuție *post-partum* prin intermediul collagenazei, are loc cu concursul major al celulelor musculare netede, pe când liza intracelulară a collagenului este realizată de către macrofage și fibroblaste.

### References

1. Amalinei C, Caruntu ID, Balan RA. Biology of metalloproteinases. *Rom J Morphol Embryol.* 2007;48(4):323-334.
2. Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut.* 2000;46:443-446.
3. Everts V, van der Zee E, Creemers L, et al. Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodeling. *Histochemical Journal.* 1996;28(4):229-245.
4. Fallowfield J, Hayes P. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? *Clin Med.* 2011;11(2):179-83.
5. Cîmpean A, Caloianu M. Metalloproteinaze cu rol în biodegradarea collagenilor [Metalloproteinases role in biodegradation of collagens]. *Progrese în științe biologice [Progress in the field of biological Sciences].* 1996;1(1):96-105.
6. Borkakoti N. Matrix metalloproteinases: variation on a theme. *Progress in Biophysics & Molecular Biology.* 1998;70(1):73-94.
7. Hornebeck W, Lafuma C. Matrix metalloproteinases (MMP). *Comptes Rendus des Sciences de la Societe de Biologie et de Ses Filiales.* 1991;185(3):127-134.
8. Reynolds JJ. Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral Disease.* 1996;2(1):70-76.
9. Shingleton W, Smith RE, Van Frank. Collagenase: a key enzyme in collagen turnover. *Biochemistry & Cell Biology.* 1996;74(6):759-775.
10. Jeffrey JJ. Collagen and collagenase: pregnancy and parturition. *Seminars in Perinatology.* 1991;15(2):118-126.
11. Woessner JF Jr. Regulation of matrilizin in the rat uterus. *Biochemistry & Cell Biology.* 1996;74(6):777-784.
12. Crow J, More L, Howe S. The mast cells of the human uterus. *Apmis.* 1988;96(10):921-926.
13. Krane S. Is collagenase (matrix metalloproteinase -1) necessary for bone and other connective tissue remodeling? *Clinical Orthopedics Related Research.* 1995;313:47-53.
14. Ryan J, Woessner J. Mammalian collagenase: direct demonstration in homogenates of involuting rat uterus. *Biochem. Biophys. Rec. Commun.* 1971;44(1):144-149.



15. Woessner JF. A Latent Form of Collagenase in the Involuting Rat Uterus and Its Activation by a Serine Proteinase. *Biochem. J.* 1977;161(3):535-542.
16. Osmers R, Tschesche H, Szeverenyi, et al. Serum collagenase levels during pregnancy and parturition. *Europ. J. Obstet., Gynecol & Reprod. Biol.* 1994;53(1):55-57.
17. Jeffrey JJ, Ehlich LS, Roswit WT. Serotonin: an induce of collagenase in myometrial smooth muscle cells. *J. Cell Physiol.* 1991;143(3):390-406.
18. Takamoto N, Leppert PC, Yu SY. Cell death and proliferation and its relation to collagen degradation in uterine involution of rats. *Connect. Tissue Res.* 1998;37(3-4):163-175.
19. Sharayev PN. Metod opredeleniya svobodnogo i svyazannogo oksiprolina v syvorotke krovi [The method for determination of free and conjugated hydroxyproline in the blood serum]. *Lab. delo [Laboratory issues]* 1981;5:283-285.
20. Smith RE, van Frank RM. The use of amino acid derivatives of 4-methoxy-B-naphthylamine for the assay and subcellular localization of tissue proteinases. In: *Lysosomes in Biology and Pathology*. New York, 1975;123-249.

## Pulmonary thromboembolism associated with surgical diseases

\*R. Scerbina, Gh. Ghidirim, V. Lescov, M. Cupcea, A. Muravca

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

\*Corresponding author: romeo.scerbina@yahoo.com. Manuscris received June 28, 2013; accepted March 14, 2014

### Abstract

**Background:** The pulmonary thromboembolism (PTE) has demonstrated a serious evolution and a high lethality level and is on the third place as a cause of a sudden death and remains one of the most actual issues in medicine. The actuality of the problem consists not only in the disease severity and lethality, but also in the difficulties in the diagnostics.

**Material and methods:** By the necropsy data, the incidence of PTE is estimated as about 15% of cases. A retrospective study of 33 patients who died from PTE in the period of 2008-2013 is presented. In the studied group the following risk factors have been identified: intravenous catheters, surgery, immobilization in bed, smoking and atrial fibrillation. In the studied group PTE prophylaxis has been performed with heparin, nadroparin and enoxaparin. The authors have been dissatisfied with the research due to PTE fatality.

**Results:** It has been revealed that an important factor in decreasing the lethality is the administration of antiplatelet drug support to all the patients with PTE risk.

**Conclusions:** 1. PTE is a frequent complication with a high lethality even in the case of its prevention. 2. The presence of risk factors, regardless of their number, strongly requires a preventive treatment. 3. The most effective anticoagulant drugs at the moment are those from the group of anticoagulants with a low molecular weight in preventive doses (Fondaparinux, Enoxaparin, Nadroparin). 4. It is necessary to reevaluate the anticoagulant medication support and prescribe it to the people above 40 years old. 5. The problem of PTE remains open for the further research with regard to the evidences of risk factors and the lethality decrease.

**Key words:** pulmonary thromboembolism, prophylaxis, lethality.

## Tromboembolismul pulmonar asociat patologiilor chirurgicale

### Introducere

Diagnosticul și tratamentul tromboembolismului arterelor pulmonare (TEP) rămâne una din cele mai actuale probleme din medicină. Aceasta este legată de o răspândire largă a TEP, care decurge grav și cu o letalitate înaltă. Conform statisticilor anatomice și clinice din SUA, embolia masivă este a treia cauză de moarte subită [14], anual decedând unul din 1000 populație generală [33].

TEP este un diagnostic curent, cu o frecvență de 15-20 de cazuri la 1000 de pacienți, cu 3-5 cazuri letale. În secțiile de chirurgie toracică și abdominală, TEP se întâlnește la fiecare al treilea pacient, constituind principala cauză a letalității postoperatorii (10-27% după intervenții chirurgicale generale și 24% după intervențiile ortopedice). Iar în secțiile de terapie

intensivă, TEP se stabilește în 7-16% cazuri din totalul de pacienți spitalizați [33].

Mulți pacienți decedază în primele ore de la declanșarea bolii, fără a primi un tratament adecvat. Letalitatea printre pacienții netratați constituie 30-40%, iar în cazul unui tratament precoce, ea scade până la 8-10% [33].

Tabelul 1

### Scorul Geneva revizuit

Variabile	Punctaj
<b>Factori predispozanți</b>	
Vârsta > 65 de ani	+1
TVP și EP în antecedente	+3
Intervenție chirurgicală sau fractură în ultima lună	+2
Afecțiune malignă	+2

<b>Simptome</b>	
Durere unilaterală la nivelul membrului inferior	+3
Hemoptizie	+2
<b>Semne clinice</b>	
Frecvența cardiacă	
75-94 bpm	+3
≥ 95 bpm	+5
Durere la palparea venei profunde a membrului inferior sau edem unilateral	+4
<b>Probabilitate clinică</b>	<b>Total</b>
Redusă	0-3
Intermediară	4-10
Înaltă	≥11

Tabelul 2

## Scorul Wells

Variabile	Punctaj
<b>Factori predispozanți</b>	
TVP și EP în antecedente	+1.5
Intervenție chirurgicală recentă sau imobilizare	+1.5
Cancer	+1
<b>Simptome</b>	
Hemoptizie	+1
<b>Semne clinice</b>	
Frecvența cardiacă > 100 bpm	+1.5
Semne clinice de TVP	+3
<b>Raționament clinic</b>	
Diagnostic alternativ mai puțin probabil decât EP	+3
<b>Probabilitate clinică (3 niveluri)</b>	<b>Total</b>
Redusă	0-1
Intermediară	2-6
Înaltă	≥ 7
<b>Probabilitate clinică (2 niveluri)</b>	
EP improbabilă	0-4
EP probabilă	> 4

Actualitatea problemei TEP se rezumă nu doar la gravitatea bolii și letalității înalte, dar și la diagnosticul dificil. După M. Verstraete și J. Vermilen un diagnostic cert de TEP se stabilește doar în 33% cazuri [33]. Conform cercetărilor morfopatologice efectuate de G. Stevanovic (1986) și II. K. Пермьякова (1991), în 50-80% tromboembolismul ramurilor arterei pulmonare rămâne nedagnosticat [33]. Alți autori confirmă incidența generală deosebită a TEP la necropsie, apreciată în aproximativ 15% cazuri. La utilizarea tehnicilor speciale de diagnostic morfopatologic incidența poate ajunge până la 50% [12]. În același timp, în multe cazuri diagnosticul rămâne incert.

La momentul actual, pentru facilitarea evaluării probabilității clinice de TEP, sunt aplicate scorul Geneva și scorul Wells, apreciate în baza factorilor de risc depistați la pacienți (tab. 1, 2) [34].

## Material și metode

În Centrul Național Științifico-Practic de Medicină Urgentă (CNȘPMU) s-a realizat un studiu retrospectiv între anii 2008-2013. În această perioadă, au fost internați 69 222

de pacienți în secțiile chirurgicale (Chirurgie generală, Urologie, Oftalmologie, Neurochirurgie, Chirurgie oro-maxilo-facială), cărora li s-a efectuat 34 212 intervenții chirurgicale. Decedați de TEP – 33 de pacienți (100% cazuri), inclusiv 17 femei (51,5%) și 16 bărbați (48,4%), cu vârsta cuprinsă între 43 și 80 de ani.

## Rezultate și discuții

În lotul de pacienți studiați au fost constatați următorii factori de risc: fibrilație atrială, catetere intravenoase, imobilizare de lungă durată, neoplazii, obezitate, tabagism ș. a. (tab. 3).

Tabelul 3

## Incidența factorilor de risc

Factor de risc	Abs (%)
Catetere intravenoase	33 (100)
Intervenții chirurgicale	22 (66,66)
Imobilizare la pat	13 (39,39)
Tabagism	13 (39,39)
Fibrilație atrială	12 (36,36)
Insuficiență cardiacă cronică	10 (30,30)
Neoplazii	8 (24,24)
Infecții	8 (24,24)
Obezitate	7 (21,21)
Ateroscleroză generalizată	5 (15,15)
Diabet zaharat	4 (12,12)
Infarct miocardic	3 (9,09)
Vene varicoase	2 (6,06)
Accident vascular cerebral	1 (3,03)
Ictus ischemic medular	1 (3,03)
Tromboza aortei la bifurcație	1 (3,03)
Eritremie	1 (3,03)

Factorii de risc depistați mai des în lotul studiat au fost: catetere intravenoase (100%), intervenții chirurgicale (66,6%), imobilizare la pat (39,3%), tabagism (39,3%) și fibrilație atrială (36,3%).

Prezența mai multor factori se asociază unui risc crescut de recurențe trombotice. Riscul TEP crește paralel cu numărul factorilor predispozanți și este mai mare decât suma riscurilor corespunzătoare fiecărui factor (tab. 4).

Tabelul 4

## Incidența asocierilor factorilor de risc (n = 33)

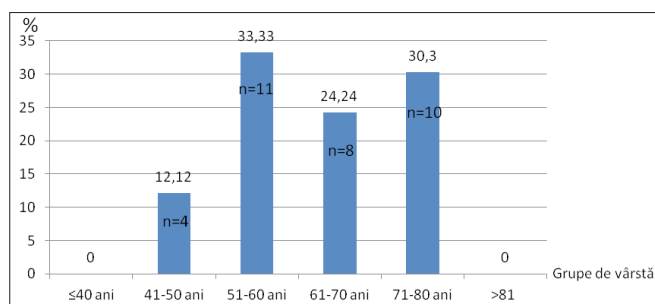
Asocieri factori de risc	Abs (%)
Cancer + Intervenție chirurgicală	4 (12,1)
Fibrilație atrială + Intervenție chirurgicală	3 (9,09)
Cancer + Fibrilație atrială + Intervenție chirurgicală	3 (9,09)
Fibrilație atrială + Intervenție chirurgicală recentă (ultima lună)	2 (6,06)

Obezitate + Intervenție chirurgicală	2 (6,06)
Obezitate + Tromboze în antecedente*	2 (6,06)
Cancer + Obezitate + Intervenție chirurgicală	1 (3,03)
Tromboze în antecedente* + Intervenție chirurgicală	1 (3,03)
Fibrilație atrială + Intervenție chirurgicală + Obezitate	1 (3,03)
Total	19 (57,57)

**Notă:** \*Tromboză în antecedente – AVC, dilatații varicoase, sindrom posttromboflebitic, IMA, tromboză arterială.

Mai frecvent se depistează următoarele asocieri ale factorilor de risc: cancer + intervenție chirurgicală (12,1%), fibrilație atrială + intervenție chirurgicală (9,09%), cancer + fibrilație atrială + intervenție chirurgicală (9,09%).

În studiul efectuat incidența maximă a fost observată la pacienții cu vârsta cuprinsă între 51-60 de ani și 71-80 de ani (fig. 1).



**Fig. 1. Repartizarea pacienților conform grupurilor de vârstă.**

Intervenția chirurgicală este un factor de risc pentru dezvoltarea TEP. Evidențiem impactul volumului și tipului intervenției efectuate în stratificarea riscului pentru tromboză (tab. 5).

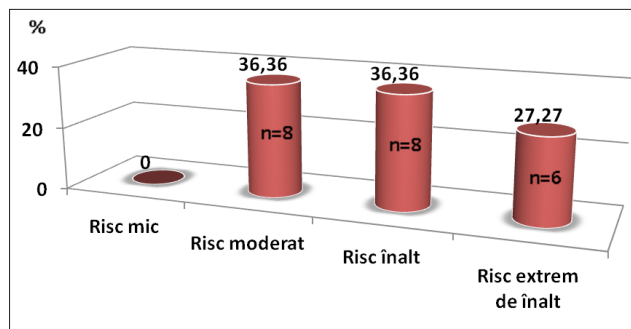
**Tabelul 5**

Tipul operației	Nr. de cazuri (%)
Rezecție gastrică	3 (9,09)
Deschiderea flegmonului	3 (9,09)
Herniotomie (discectomie lombară)	2 (6,06)
Colecistectomie laparoscopică	2(6,06)

Trombembolctomie a vaselor membrelor inferioare	2 (6,06)
Apendicectomie	2 (6,06)
Colecistectomie tradițională	1 (3,03)
Papilosfincterotomie	1 (3,03)
Laparoscopie diagnostică	1 (3,03)
Rezecție de ficat	1 (3,03)
Anastomoză ileo-jejunală	1 (3,03)
Flebotomie	1 (3,03)
Orhiectomie	1 (3,03)
Hemicolectomie	1 (3,03)
Rezolvarea chirurgicală a cataractei	1 (3,03)

Conform rezultatelor obținute, cea mai mare pondere în dezvoltarea TEP o au intervențiile chirurgicale de volum mare în asocieră cu factorii de risc. S-a observat că procesele inflamator-septice au contribuit esențial la dezvoltarea TEP. În diverse studii efectuate, ponderea procedurii operator ca factor de risc în dezvoltarea TEP este diferită, însă cert este faptul că metoda laparoscopică reprezintă un factor de risc suplimentar prin aplicarea pneumoperitoneului compresiv.

Sunt stabilite criteriile internaționale care permit, în diferite situații clinice, aprecierea gradului riscului de dezvoltare a tromboembolismului venos (TEV, în care sursa trombilor reprezintă venele profunde ale membrelor inferioare), acestea permițând aprecierea indicațiilor pentru tratamentul profilactic în situațiile ce presupun dezvoltarea TEV (tab. 6). În baza criteriilor sus numite, am obținut următoarele rezultate (fig. 2).



**Fig. 2. Stratificarea factorilor de risc la pacienții operați.**

**Tabelul 6**

**Stratificarea factorilor de risc în dezvoltarea TEV la pacienții chirurgicali [30]**

Risc mic	Intervenții chirurgicale de volum mic* la bolnavii cu vârsta < 40 de ani, în lipsa altor factori de risc
Risc moderat	Intervenții chirurgicale de durată mică la bolnavii cu vârsta cuprinsă între 40-60 de ani, în lipsa altor factori de risc; Intervenții chirurgicale de durată mare** la bolnavii cu vârsta < 40 de ani în lipsa altor factori de risc
Risc înalt	Intervenții chirurgicale de durată mică la bolnavii cu vârsta > 60 de ani sau/și în prezența altor factori de risc
Risc extrem de înalt	Intervenții chirurgicale de durată mare la bolnavii cu vârsta > 40 de ani cu antecedente tromboembolice, neoplazii sau trombofilie; intervenții chirurgicale ortopedice majore la membrele inferioare, traumatisme masive, traumatismele măduvei spinării.

**Notă:** \*Intervenții chirurgicale de durată mică – durată până la 45 min.

\*\*Intervenții chirurgicale de durată mare – durată mai mult de 45 min.

Conform rezultatelor obținute, din totalul pacienților operați ( $n = 22$ ) la 8 pacienți (36%) s-a apreciat riscul moderat de dezvoltare TEV și la 8 pacienți (36%) – risc înalt de dezvoltare TEV, iar la 6 pacienți (27,27%) – risc foarte înalt de dezvoltare a TEV. Aceasta denotă faptul că la pacienții cu maladii chirurgicale, indiscutabil, există riscul dezvoltării TEV, gradul riscului fiind stabilit în concordanță cu vârsta pacientului, volumul intervenției și asocierea factorilor concomitenți de risc.

Este important de subliniat faptul că valoarea predictivă a factorilor de risc nu este egală, iar la aprecierea necesității efectuării trombotrofiei, trebuie de luat în considerație factorii individuali de risc și valoarea cumulativă a tuturor factorilor de risc.

În cazuistica noastră, profilaxia tromboembolismului s-a efectuat la toți cei 33 de pacienți cu Heparină – la 8 bolnavi, Nadroparină – la 16 pacienți și Enoxaparină – la 9 pacienți (tab. 7).

Tabelul 7

## Profilaxia TEP la pacienții evaluați

Preparat	Doze	Interval	Nr. bolnavi
Heparină	5000 U/1 ml s.c.	2 ori pe zi	8
Nadroparină	2800 U/0,3 ml s.c.	o dată pe zi	16
Enoxaparină	20 mg/0,2 ml s.c.	o dată pe zi	9

În aprecierea tratamentului preventiv al tromboembolismului venos este decisivă evidențierea factorilor favorizanți congenitali (trombofilia) și/sau dobândiți (vârsta mai mare de 40 de ani, operații ortopedice de durată, traume locomotorii, obezitate, boală varicoasă, antecedente de tromboze ale membrilor inferioare, afecțiuni pulmonare cronice, imobilizări la pat de lungă durată, chimioterapie, trombocitoze, policitemie). Prezența factorilor de risc sus numiți modifică și inițiază cascada coagulării determinând trombozele.

Factorii de risc se divizează în declanșatori și determinanți. Factorul declanșator esențial în cadrul studiului nostru, l-a constituit intervenția chirurgicală. O a doua cauză declanșatoare de TEP este imobilizarea prelungită, care suprimă pompa musculară, sprijinul pe un plan tare modifică metabolismul venos, astfel fiind create cele trei condiții responsabile de apariția trombozei venoase – triada Virchow.

Dezvoltarea trombozei venoase asociată intervențiilor chirurgicale este rezultatul perturbării hemodinamice, hemoragiei, ventilației pulmonare dirijate, la inducerea în somnul narcotic, stresul preoperator, intervenția chirurgicală precum și tipul anesteziei. S-a demonstrat faptul că riscul dezvoltării TEP la efectuarea anesteziei locale crește de 11,5 ori, iar la efectuarea anesteziei generale crește de 19 ori. Trombozele corelate cu intervenția chirurgicală, de regulă, își au originea în venele profunde ale membrilor inferioare, începând cu etapa intraoperatorie – acestea denotă importanța aplicării bandajului elastic la membrele inferioare pre-, intra- și postoperator în asociere cu trombotrofia medicamentoasă. Necesitatea efectuării trombotrofiei la pacienții chirurgicali este ab-

solut justificată și trebuie efectuată prin ajustarea individuală a dozei de anticoagulanți.

Profilaxia tromboflebitei profunde se poate face eficient cu 5000 U de heparină subcutanat (s.c.) la un interval de 8-12 ore. Administrarea heparinei durează 4-5 zile cu indicarea concomitentă a anticoagulantelor orale. Factorii favorizanți care nu se supun corecției pot face necesară administrarea prelungită a anticoagulantelor, uneori pentru toată viața.

În intervențiile laparoscopice, pneumoperitoneul practic induce modificări ale întoarcerii venoase de la membrele inferioare raportat la presiunea de insuflație a  $CO_2$ , ceea ce produce creșterea agregării plachetare și hipercoagulabilitate [35]. Conform unei meta-analize pe 153 832 de pacienți, cărora li s-a efectuat colecistectomie laparoscopică, s-a constatat o rată de 0,03% a declanșării trombozei venoase profunde (TVP), și de doar 0,02% cazuri letale de TEP, comparativ cu o incidență de 5% și, respectiv, 0,4% la cei colecistectomizați prin metoda clasică [36].

Riscul dezvoltării trombozei venoase crește odată cu vârsta de peste 40 de ani, datorită unor dezechilibre în sistemele de coagulare și anticoagulare. La pacienții cu vârsta de peste 65 de ani, incidența TEP este de 9%, iar după 80 de ani riscul crește de 200 de ori față de persoanele de 20 de ani [33].

Unul din factorii etiologici frecvent depistați în cazuistica noastră a fost fibrilația atrială cronică (12 cazuri), care conform datelor din literatura de specialitate, se depistează drept cauză a tromboembolismului în mai puțin de 10% din cazuri. Trombii intracardiaci apar numai în condiții patologice, în care leziunile endocardului valvular se asociază cu stază venoasă pe circuitul mare și fibrilație atrială. S-a mai constatat că de cele mai multe ori tromboza intracardiacă coexistă cu tromboza venoasă [12, 16].

Odată cu vârsta, apar o serie de noi factori printre care obezitatea, care crește riscul TEP de 3 ori la persoanele cu indexul masei corporale  $> 25 \text{ kg/m}^2$  prin creșterea cantității de trombocite și activității procoagulante în lanțul hemostazei pe fonul crescut al fibrinolizei asociate. De asemenea, hiperlipidemia majorează agregarea trombocitelor.

Relația cancer – TEP, deși cunoscută din 1865 (dr. Trousseau observând TEP migratorii în neoplasmul gastric), în ultimul timp îmbracă noi aspecte, astfel riscul diagnosticării unui neoplasm ocult este maxim în primele 6 luni de la TEP și poate persista până la 2-10 ani, sugerând că procesul tumoral poate induce hipercoagulabilitate cu mult timp înaintea manifestărilor clinice. Studiile arată că riscul diagnosticării unei neoplazii oculte este de 4-5 ori mai mare în cazul TEP idiopatice, față de cea secundară. Pe de altă parte, TEP reprezintă o complicație frecventă la pacienții neoplazici, studiile arătând că 1 din 7 pacienți internați cu cancer au decedat datorită tromboembolismului pulmonar [22]. Experimental a fost demonstrat că există o legătură complexă între celulele canceroase, celulele endoteliale și trombocite.

Într-un studiu efectuat de Suzuki et al. [19], s-a constatat că incidența emboliei pulmonare la pacienții supuși unei intervenții chirurgicale pentru o leziune malignă a fost de 22%, comparativ cu numai 0,32% pentru o afecțiune benignă.

Dilatațiile varicoase prezintă un factor de risc important în formarea trombilor, astfel încât acestea presupun existența unor defecte în endoteliul vascular, care duc la modificarea hemodinamicii cu încetinirea fluxului sanguin în venele membrelor inferioare.

Riscul de tromboembolism la pacienții cu infarct miocardic (IM) este comparabil cu cel al pacienților din chirurgia generală, IM fiind asociat cu tromboza venoasă profundă [37]. Tendința spre trombogeneză este explicată prin asocierea câtorva factori de risc cum ar fi vârsta înaintată, imobilizarea prelungită și staza venoasă din cauza insuficienței cardiace deja dezvoltate.

Pacienții cu insuficiență cardiacă cronică (ICC), de asemenea, sunt predispuși spre formarea trombilor. Acest fapt a fost demonstrat în două mari studii (MEDENOX și PRINCE, 1999) unde la pacienții cu ICC gradul III-IV s-a efectuat profilaxia complicațiilor tromboembolice cu Enoxaparin. Astfel, comparativ cu lotul martor cu tratament "placebo", unde au apărut episoade tromboembolice în 15% cazuri și, respectiv, în alt lot de studiu s-a efectuat profilaxia cu doze mici de Heparină subcutanat, aici dezvoltându-se TEP în 16% cazuri. În ambele studii, s-a demonstrat rolul heparinei cu masă moleculară mică în reducerea și chiar prevenirea tromboembolismului [37].

Din motive încă necunoscute tabagismul predispune la formarea trombilor, mai ales atunci când este combinat cu alți factori de risc care, acționând sinergic, dezvoltă boala tromboembolică.

Recent, s-a pus problema rolului inflamației în TEP, întrucât unele studii au arătat că riscul TEP se asociază cu niveluri crescute ale IL 8, cu bolile inflamatorii cronice intestinale, cu procesele infecțioase și septice din organism. Pe de altă parte, alți markeri ai inflamației cum ar fi fibrinogenul, proteina C-reactivă, nu au corelat cu risc crescut de trombogeneză [22].

Riscul recidivei în următorii doi ani, după primul episod de TEP, este de 17,5%, iar peste 8 ani acesta crește până la 30,3%, fapt explicat prin asocierea factorilor de risc suplimentari, odată cu înaintarea în vârstă [33]. În lotul studiat, la examenul morfopatologic la doi pacienți s-a determinat prezența TEP recidivant.

Inițierea cât mai precoce a tratamentului cu anticoagulante la pacienții cu TEP, confirmat sau suspectat (în perioada de confirmare a diagnosticului) cu unul dintre anticoagulantele directe, scade brusc atât indicele letalității precum și riscul recurențelor. Actualmente, cele mai utilizate sunt heparinele cu masă moleculară mică, care au o biodisponibilitate, proprietăți farmacocinetice și efect anticoagulant superior heparinei nefracționate. Regimul de administrare diferă în funcție de preparatul utilizat (tab. 8).

Cazuistica noastră confirmă ideea promovată și de alți autori despre inevitabilitatea decesului, în pofida efectuării tratamentului profilactic anticoagulant. În asemenea cazuri, este importantă evidențierea factorilor congenitali (trombofilia) care este, spre regret, imposibil de cercetat la toți pacienții cu factori de risc de TEP. Tratamentul profilactic

Tabelul 8

### Regimul de administrare a heparinei cu greutate moleculară mică în tratamentul TEP [30]

Preparatul	Doze	Interval
Fondaparinux	5 mg (greutate corporală < 50 kg) 7,5 mg (greutate corporală < 50-100 kg) 10 mg (greutate corporală > 100 kg)	O dată/zi
Enoxaparină	1,0 mg/kg	Fiecare 12 ore
Nadroparină	86 U/kg	Fiecare 12 ore
Dalteparină*	200 U/kg	O dată/zi

Notă: \*Dalteparina poate fi indicată pacienților cu cancer.

pre-, intra- și postoperator cu crioprecipitat ar putea reduce riscul apariției TEP

### Concluzii

1. TEP este o complicație frecventă, cu o letalitate înaltă, chiar și în cazul profilaxiei tromboembolismului.
2. Prezența factorilor de risc, indiferent de numărul lor, impune un tratament profilactic insistent.
3. Cele mai efective medicamente anticoagulante, la moment, sunt cele din grupul Heparinelor cu masă moleculară mică în doze profilactice (Fondaparinux, Enoxaparină, Nadroparină).
4. Suportul medicamentos anticoagulant necesită a fi reevaluat și indicat persoanelor după 40 de ani.
5. Problema TEP rămâne deschisă pentru cercetări ulterioare în vederea evidențierii factorilor de risc și reducerii letalității.

### References

1. Bauer A, Lip G. Evaluation of the patient with established venous thrombosis (Up To Date excerpt). <http://patients.uptodate.com/topic.asp?file=coagulat/7266>
2. Gardiner Chris, Pennaneac'h Coralie, Walford Claire, et al. An evaluation of rapid D-dimer assays for the exclusion of deep vein thrombosis. *British Journal of Haematology*. 2005;128(6):842-848.
3. Botnaru V. Boli cardiovasculare [Cardiovascular aches]. Chișinău, 2008;403-416.
4. Corcimaru I. Hematologie [Haematology]. Chișinău, 2007;319-322.
5. Cristea H, Rusu ML, Jurj C, et al. Noi factori de risc în trombozele venoase profunde [New risk factors in deep venous thrombosis]. *Clujul Medical*. 2007;LXXX(3):578-583.
6. Cushman M. Inherited risk factors for venous thrombosis. *Hematology*. 2005;452-457.
7. Cushman M. Epidemiology and Risk Factors for Venous Thrombosis. *Semin Hematol*. 2007;44(2):62-69.
8. De Stefano V. Inherited thrombophilia and life-time risk of venous thrombo-embolism: is the burden reducible? *J Thromb Haemost*. 2004;2:1522-5.
9. Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2000;3:292-308.
10. Gris JC, Quere I, Dauzat M, et al. Response: thromboprophylaxis for first fetal loss. *Blood*. 2004;104:3413-4.
11. Antonescu D, Gherasim L, Tulbure D, et al. Ghid de prevenție a tromboembolismului venos [Guide of prevention of venous thrombo-embolism]. *Medicina Internă [Internal Medicine]*. 2007;5(5):23-39.
12. Gherasim L. *Medicină Internă [Internal Medicine]*. București, 1996;Vol. 2;920-954; 1050-1085.

13. Harrison TR. Principiile Mediciniei Interne [Principles of Internal Medicine]. Ed. 14, partea IX-a;372, 1620-1624.
14. Hotineanu V. Chirurgie. Curs selectiv. Chişinău, 2008;214.
15. Piparva Kiran G, Buch Jatin G. Deep vein thrombosis in a woman taking oral combined contraceptive pills. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2011;2(3):185-186.
16. Gherasim L, Bălănescu Ş, Ilieşiu A. Tratatamentul anticoagulant în practica medicală. Ghid de diagnostic şi tratament. Ghid CMR [Anticoagulant treatment in the medical practice. Guide of diagnostic and treatment. Guide CMR]. Vol. 1;89-124.
17. Boeer K, Cuznetov L, Loesche W. Thrombin generation as marker to estimate thrombosis risk in patients with abnormal test results in lupus anticoagulant routine diagnostics. *Thrombosis Journal*. 2013;11(1):24.
18. Ramadan L, Ali-el-Ashmawi, Shawkee-el-Hadad, et al. Laboratory Diagnosis of Pulmonary Thromboembolism *Med. J. Cairo Univ*. 1994;62(3):631-640.
19. Suzuki N, Kataoka F. Intermittent pneumatic compression for prevention of pulmonary thromboembolism after gynecology surgery. *Thromb J*. 2005;3(18).
20. Oger E, Lacut K, Le Gal G, et al. Hyperhomocysteinemia and low B vitamin levels are independently associated with venous thromboembolism: results from the EDITH study: a hospital-based case-control study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004;4:793-799.
21. Poponick J, Bosker G. The current challenge of venous thromboembolism in the hospitalized patients: optimizing recognition, evaluation and prophylaxis of deep venous thrombosis and pulmonary embolism. Hospital Medical Consensus Report. American Health Consultants. 2002;1-14.
22. Prandoni P. Acquired risk factors for venous thromboembolism in medical patients. *Hematology*. 2005;458-461.
23. Quere I, Gris JC, Dauzat M. Homocysteine and venous thrombosis. *Seminars in vascular medicine*. 2003;5:183-188.
24. Ridker P, Hennekens C, Selhub J, et al. Interrelations of hyperhomocysteinemia, factor V Leiden and risk of future venous thromboembolism. *Circulation*. 1997;95:1777-1782.
25. Rosendaal F. Venous thrombosis: the role of genes, environment and behavior. *Hematology*. 2005;1-12.
26. Schreiber D. Deep venous thrombosis and thrombophlebitis. [www.emedicine.com/emerg/topic122.htm](http://www.emedicine.com/emerg/topic122.htm)
27. Bates Shannon M, Ginsberg Jefferey S. Treatment of Deep-Vein Thrombosis. *The New England Journal of Medicine*. 2004;351:267-77.
28. Sykest M, Feganc Mosquera D. Thrombophilia, polymorphisms and vascular disease. *J Clin Pathol*. 2000;53:300-306.
29. Task Force Report. Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. *European Heart Journal*. 2000;21:1301-1336.
30. Tromboembolismul pulmonar. Protocol Clinic Naţional PCN-148 [Pulmonar thromboembolism. National Clinical Protocole PCN-148]. Chişinău, 2011.
31. World Health Organization. The World Health Report. Geneva: WHO, 2002.
32. World Health Organization. Venous thromboembolic disease and combined oral contraceptives: results of international multicentre case-control study. World Health Organization Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. *Lancet*. 1995;346:1575-1582.
33. Bokarev IN, Popova LV. Venozyy tromboembolizm i tromboemboliya legochinoy arterii [Venous thromboembolism and thromboemboly of pulmonary artery]. Moskva, 2005.
34. Compendiu de ghiduri ale Societăţii Europene de Cardiologie prescurtate. Secţiunea IV. Tromboembolismul pulmonar. 2011.
35. Ghelase M. Studiul factorilor de risc şi prevenţia tromboembolismului venos în chirurgie. *Craiova Medicală*. 2008;10(1):16-21.
36. Zurawska Urszula, Parasuraman Sudha, Goldhaber Samuel Z. Prevention of Pulmonary Embolism in General Surgery Patients. American Heart Association. *Circulation*. 2007;115:e302-e307.
37. Anderson Frederick AJr, Spencer Frederick A. Risk Factors for Venous Thromboembolism. American Heart Association. *Circulation*. 2003;107:19-116.

## Impact capacities of food industry on elimination of iodine deficiency

\*G. Obreja, O. Lozan

School of Public Health Management, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy  
Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: galina.obreja@gmail.com. Manuscript received February 24, 2014; accepted April 05, 2014

### Abstract

**Background:** Salt iodization is the strategy approved by the Moldovan Government to eliminate and prevent iodine deficiency. The impacts of salt iodization requires data on food industry involvement and commitment in reaching two of main objectives of the national public health programs. The aim of the survey was to investigate food industry understanding and attitudes as the main stakeholders in the implementation of salt iodization strategy to control iodine deficiency.

**Material and methods:** Cross-sectional survey of 386 representatives of food industry across the country was compiled. A self-administered questionnaire was used to assess food industry knowledge, perception and attitudes related to salt iodization to control iodine deficiency.

**Results:** general knowledge about salt iodization to prevent iodine deficiency was relatively good. Food industry is committed to be a partner for the Government in the sustainable elimination of Iodine deficiency.

**Conclusions:** Consumer education, rising of consumer demand for iodized salt, mandatory use of iodized salt in food production, revising of old food standards and technologies and providing of evidence on iodized salt using in food production are the main supports the industry needs to accomplish their role.

**Key words:** iodine deficiency, food industry, salt iodization, sanitary management, nutrition.

## Capacitățile de impact ale industriei alimentare privind eliminarea deficienței de iod

### Introducere

Deficiența de iod (DI) a fost subestimată o perioadă îndelungată de timp, în special în țările din Europa de Sud-Est și nu a fost considerată o problemă importantă [1]. Astăzi DI continuă să afecteze populația din regiune, având la origine deficiența de iod în factorii de mediu. Impactul DI asupra sănătății și bunăstării populației este multiplu, manifestându-se printr-un spectru larg de efecte pe parcursul vieții cu sechele devastatoare, constituind o problemă serioasă în sănătatea publică și un impediment major în dezvoltarea economică și socială.

Pentru a pune în evidență faptul că gușa este doar una dintre sechelele deficienței de iod, Basil Hetzel a propus, în 1983, termenul „tulburări prin deficit de iod” pentru înlocuirea „gușii endemice” și descrierea spectrului larg de efecte adverse, care apar drept consecință a DI [2].

Deficiența moderată și lejeră de iod rezultă cu afectarea ireversibilă a creierului în dezvoltare, cele mai vulnerabile grupuri fiind femeile gravide, sugarii și copiii mici. Organizația Mondială a Sănătății (OMS) și Fondul Națiunilor Unite pentru Copii (UNICEF) au recomandat, la începutul anilor '90, iodarea universală a sării ca strategie de control a DI [3].

Republica Moldova reprezintă o regiune geografică cu deficiență naturală de iod. Studiile efectuate la mijlocul anilor '90 au stabilit că DI este o problemă reemergentă importantă de sănătate publică la nivel național, după suspendarea în anii '70 a măsurilor de control [4]. La sfârșitul anilor '90, problema DI devine o prioritate pe agenda politică, iar guvernul Republicii Moldova a adoptat, începând cu anul 1998, trei programe naționale consecutive de eliminare a tulburărilor prin deficit de iod ca problemă de sănătate publică, având ca strategie iodarea sării alimentare. Două dintre obiectivele programului național de eradicare a tulburărilor prin deficit de iod în derulare prevăd creșterea ponderii întreprinderilor din industria alimentară care utilizează sarea iodată până la 100% [5]. Sarea iodată nu modifică aspectul, culoarea și nici consistența produselor alimentare [6, 7].

Politicile publice de iodare a sării sunt compatibile cu cele de reducere a consumului de sare destinate să prevină bolile cardiovasculare și au un beneficiu înalt pentru sănătatea publică [8]. Industria alimentară este unul din partenerii principali pe ambele segmente, atât a celui de înlocuire a sării neiodate cu sare iodată, cât și de reducere a conținutului de sare „ascunsă” în produsele alimentare. Astfel, colaborarea cu industria alimentară este esențială pentru implementarea strategiilor de sănătate publică legate de consumul de sare. Industria alimentară trebuie să fie încurajată să reducă conținutul de sare în produsele, pe care le fabrică până la cel mai mic nivel posibil și să utilizeze sarea iodată în calitate de ingredient alimentar.

### Material și metode

Un studiu care a cuprins 386 de persoane, reprezentanți ai industriei alimentare, a fost efectuat în august-octombrie 2013. Rata de răspuns a constituit 89,1%. Evaluarea cunoș-

tințelor, atitudinilor și practicilor a fost efectuată în baza unui chestionar autoadministrat, care conținea întrebări repartizate în 4 domenii: date generale, cunoștințe despre și percepția deficienței de iod și a impactului ei asupra sănătății și bunăstării populației, atitudini cu privire la deficiența de iod și programele naționale de eliminare a tulburărilor prin deficit de iod adoptate și implementate și practicile privind suplینirea necesităților de iod. Pentru analiza datelor a fost utilizat programul Excel. Datele au fost prezentate ca valori relative (rate și proporții) și medii [scorul mediu pe scara de la 1 (cel mai mic) până la 5 (cel mai mare)].

### Rezultate și discuții

Majoritatea respondenților (62,4%) au vârsta de până la 50 de ani, iar 74,1% din respondenți au vechimea în muncă până la 20 de ani. Studiul superior sau colegial profesional în domeniu au nouă din zece respondenți (86,0%). Acest fapt sugerează ideea, că introducerea subiectului deficienței de iod ca problemă de sănătate publică în curricula de instruire ar putea contribui la creșterea conștientizării problemei și industria alimentară ar putea deveni partener esențial în implementarea și menținerea durabilă a intervenției – iodarea sării alimentare.

Circa două treimi din respondenți reprezintă industria de panificație (70,5%), 14,5% – industria de procesare a cărnii și de fabricare a produselor din carne, 5,4% – industria de fabricare a produselor din legume, 4,7% – industria produselor lactate, 1,0% – industria de fabricare a produselor din pește, 0,8% – industria de fabricare a condimentelor și 3,1% alte tipuri de industrie alimentară.

Studiul a relevat, de asemenea, că nivelul general de cunoștințe despre deficiența de iod este relativ înalt. Aproape toți reprezentanții industriei alimentare (98,2% [IÎ<sub>95</sub> 96,1%; 99,5%]) au auzit despre deficiența de iod, iar 95,1% (IÎ<sub>95</sub> 92,3%; 97,6%) dintre aceștia, cunosc că DI este o problemă de sănătate publică în Republica Moldova. În același timp, circa jumătate dintre respondenți (45,6% [IÎ<sub>95</sub> 40,0%; 50,0%]) consideră că deficiența de iod este o problemă exclusiv medicală.

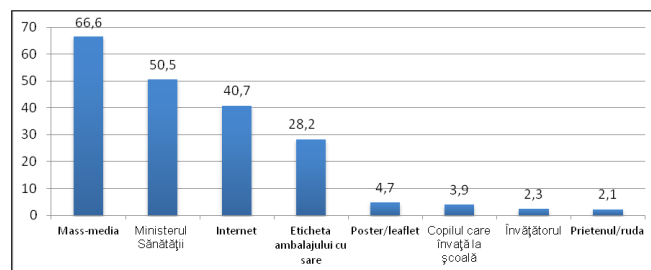


Fig. 1. Sursa de informare a reprezentanților industriei alimentare despre deficiența de iod (%).

Sursa principală de informare despre deficiența de iod este mass-media (66,1% [IÎ<sub>95</sub> 61,3%-71,4%]), urmată de Ministerul Sănătății cu instituțiile subordonate (50,5% [IÎ<sub>95</sub> 45,6%; 55,3%]), Internet (40,7% [IÎ<sub>95</sub> 35,7%; 45,2%]), eticheta sării iodate (28,2% [IÎ<sub>95</sub> 24,6%; 33,2%]), pe când școala este o

sursă minoră de informare despre deficiența de iod, doar 3,9% ( $I\hat{I}_{95}$  1,7%; 5,2%) din reprezentanții industriei alimentare au menționat copilul, care învață la școală ca sursă de informare, iar 2,3% ( $I\hat{I}_{95}$  1,5%; 4,4%), au menționat învățătorul (fig. 1). Mai mult de jumătate din respondenți (59,6% [ $I\hat{I}_{95}$  54,0%; 63,8%]) știu că iodul este o substanță minerală esențială, alți 37,3% ( $I\hat{I}_{95}$  32,3%; 41,9%) consideră că iodul este o substanță chimică obișnuită. Faptul că glanda tiroidă este organul care are nevoie de iod pentru buna funcționare, a fost remarcat de 96,1% ( $I\hat{I}_{95}$  93,6%; 97,5%) din respondenți.

În același timp, în cadrul studiului s-a menționat că reprezentanții industriei alimentare dețin cunoștințe eronate referitor la consecințele deficienței de iod, care se limitează la gușa endemică. Astfel, 90,4% ( $I\hat{I}_{95}$  86,6%; 92,6%) dintre respondenți consideră că gușa endemică este cea mai gravă consecință a deficienței de iod, specifică Republicii Moldova. Doar 25,1% ( $I\hat{I}_{95}$  20,9%; 29,6%) dintre respondenți asociază deficiența de iod cu afectarea ireversibilă a creierului, iar 29,5% ( $I\hat{I}_{95}$  24,7%; 34,7%) o asociază cu reducerea însușitei școlare/reducerea productivității muncii.

Nivelul de cunoștințe despre sursa principală de iod în rația alimentară este relativ înalt. Aproape toți respondenții (96,4% [ $I\hat{I}_{95}$  93,6%; 97,5%]) au menționat, că sarea iodată este sursa principală de iod în rația alimentară a populației din Republica Moldova, 32,9% ( $I\hat{I}_{95}$  27,5%; 36,8%) au menționat peștele și fructele de mare ca sursă importantă de iod, iar 12,4% ( $I\hat{I}_{95}$  9,1%; 15,6%) – pâinea. În general, reprezentanții industriei alimentare consideră că angajații din întreprinderile în care lucrează dețin cunoștințe suficiente despre deficiența de iod (scorul mediu  $3,45 \pm 1,28$ ).

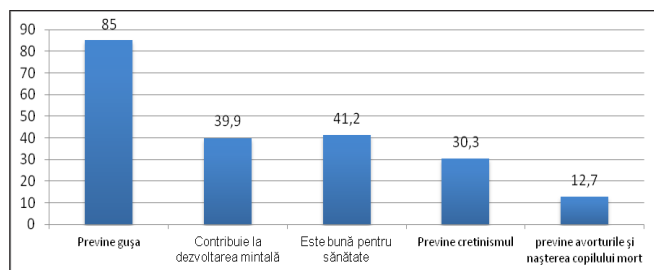


Fig. 2. Opiniile reprezentanților industriei alimentare privind beneficiile sării iodate în comparație cu cea neiodată (%).

Circa 85,0% ( $I\hat{I}_{95}$  81,1%; 88,2%) dintre reprezentanții industriei alimentare sunt de părere că sarea iodată previne gușa endemică, 41,2% ( $I\hat{I}_{95}$  36,2%; 45,9%) – că este bună pentru sănătate, iar 30,3% ( $I\hat{I}_{95}$  25,6%; 34,8%) – că previne cretinismul. Doar 39,9% ( $I\hat{I}_{95}$  34,3%; 43,9%) dintre reprezentanții industriei alimentare asociază beneficiile sării iodate în comparație cu cele ale sării neiodate cu contribuția la dezvoltarea mintală. Ponderea respondenților care consideră că sarea iodată previne avorturile și nașterea copilului mort este foarte mică, constituind 12,7% ( $I\hat{I}_{95}$  9,1%; 15,7%) (fig. 2).

Nouă din zece respondenți (87,8% [ $I\hat{I}_{95}$  83,3%; 89,9%]) au menționat că sunt familiarizați cu prevederile programului național de eradicare a tulburărilor prin deficit de iod și le cunosc bine (scorul mediu  $3,36 \pm 1,26$ ). Conținutul programului este clar pentru respondenți (scorul mediu  $3,74 \pm 1,04$ )

și gradul de realizabilitate al obiectivelor este unul relativ înalt (scorul mediu  $3,40 \pm 1,04$ ). De asemenea, colaborarea cu autoritățile responsabile în vederea prevenirii consecințelor deficienței de iod a fost considerată drept una bună (scorul mediu  $3,63 \pm 1,19$ ).

Nouă din zece respondenți (86,8% [ $I\hat{I}_{95}$  82,2%; 89,1%]) au menționat că legislația în vigoare le cere să utilizeze sarea iodată în calitate de ingredient alimentar la fabricarea produselor alimentare. Circa 84,5% ( $I\hat{I}_{95}$  80,0%; 87,3%) dintre respondenți au menționat că utilizează sarea iodată în calitate de ingredient alimentar la fabricarea produselor alimentare, 7,8% ( $I\hat{I}_{95}$  4,9%; 9,9%) au menționat că utilizează sare neiodată, iar 7,5% ( $I\hat{I}_{95}$  4,9%-9,9%) – că utilizează ambele tipuri de sare. Doar 56,7% ( $I\hat{I}_{95}$  51,0%; 60,9%) dintre reprezentanții industriei alimentare, care încă nu utilizează sarea iodată, planifică să înlocuiască sarea neiodată din compoziția produselor alimentare cu sare iodată, iar ceilalți 43,3% ( $I\hat{I}_{95}$  38,2%; 47,9%) – nu vor schimba nimic.

Printre cauzele utilizării sării neiodate la fabricarea produselor alimentare au fost menționate: prețul mai mare la sarea iodată în comparație cu sarea neiodată (38,9% [ $I\hat{I}_{95}$  33,3%; 42,9%]), nesiguranța privind lipsa efectelor negative ale sării iodate asupra calității produselor alimentare fabricate (32,9% [ $I\hat{I}_{95}$  27,5%; 36,8%]), lipsa unui cadru legislativ, care să impună utilizarea sării iodate la fabricarea produselor alimentare (29,0% [ $I\hat{I}_{95}$  24,7%; 33,7%]) și standardele și tehnologiile învechite (25,0% [ $I\hat{I}_{95}$  20,9%; 29,6%]). Doar 6,7% ( $I\hat{I}_{95}$  4,0%; 8,8%) dintre respondenți au menționat că nutriția nu este o prioritate a întreprinderii lor.

În ceea ce privește suportul necesar în vederea utilizării sării iodate, respondenții din industria de fabricare a pâinii și produselor de panificație au menționat: crearea unui cadru legislativ, care să impună utilizarea sării iodate – 15,5% ( $I\hat{I}_{95}$  11,8%; 18,9%), reducerea prețului la sarea iodată – 14,5% ( $I\hat{I}_{95}$  10,9%; 17,8%) și liberalizarea prețurilor la produsele alimentare – 7,0% ( $I\hat{I}_{95}$  4,9%; 9,9%). Modificarea standardelor și a tehnologiilor învechite de fabricare a produselor alimentare și asigurarea industriei alimentare cu dovezi privind lipsa efectelor negative ale sării iodate asupra calității produselor alimentare fabricate (7,5% [ $I\hat{I}_{95}$  4,9%; 9,9%]) - opinii exprimate în special de respondenții din alte domenii ale industriei alimentare, decât cea de panificație.

Circa o treime dintre reprezentanții industriei alimentare (33,9% [ $I\hat{I}_{95}$  28,5%; 37,8%]) consideră că acțiunile de promovare a sării iodate de către autoritățile responsabile sunt insuficiente. Majoritatea absolută a reprezentanților industriei alimentare (95,3% [ $I\hat{I}_{95}$  92,4%; 96,7%]) sunt interesați să cunoască mai multe despre deficiența de iod și măsurile de prevenire a ei. În același timp, jumătate dintre reprezentanții industriei alimentare (51,3% [ $I\hat{I}_{95}$  46,0%; 55,9%]) nu sunt dispuși să reducă conținutul de sare în produsele alimentare fabricate.

Referitor la strategiile de prevenire a deficienței de iod, mai mult de jumătate dintre participanți (59,3% [ $I\hat{I}_{95}$  54,0%; 63,8%]) susțin intensificarea activităților de informare și educare a populației, iar 5,2% ( $I\hat{I}_{95}$  3,8%; 6,9%) consideră că spectrul produselor alimentare fortificate trebuie extins.

Peste 80 la sută dintre reprezentanții industriei alimentare



(83,4% [ $I\ddot{I}_{95}$  78,9%; 86,4%]) utilizează sarea iodată pentru a preveni deficiența de iod, 16,3% ( $I\ddot{I}_{95}$  12,7%; 19,9%) au menționat că consumă nucile, care în viziunea dâșilor ar fi o sursă de iod, 16,6% ( $I\ddot{I}_{95}$  12,7%; 19,9%) utilizează apa iodată, iar 4,4% ( $I\ddot{I}_{95}$  2,5%; 6,5%) utilizează suplimente alimentare care conțin iod.

### Concluzii

1. Reprezentanții industriei alimentare dețin cunoștințe generale relativ bune despre deficiența de iod și utilizarea sării iodate ca strategie de control și prevenire a acestei deficiențe. Ei sunt, însă, insuficient informați despre spectrul vast al tulburărilor prin deficit de iod și „foamea ascunsă”, iar cunoștințele referitor la impactul deficienței de iod se reduc la faptul apariției gușei endemice.

2. Lucrătorii industriei alimentare cunosc programele naționale de eliminare a tulburărilor prin deficit de iod și consideră realizabile obiectivele acestora, la care au atribuții directe, dar sunt insuficient sensibilizați și nu conștientizează riscurile consumului excesiv de sare.

3. Promovarea sării iodate, crearea unui cadru legislativ, care să impună utilizarea ei, modernizarea tehnologiilor învechite de fabricare a produselor alimentare și furnizarea dovezilor privind lipsa efectelor negative ale sării iodate asupra calității produselor alimentare fabricate constituie suportul necesar pentru înlocuirea sării neiodate din produsele alimentare cu sare iodată.

### References

1. McLoughney E. Issues in Salt Iodisation. Elimination of iodine Deficiency Disorders in Central and Eastern Europe, the Commonwealth of Independent States, and the Baltic States. Proceedings of a Conference held in Munich, Germany, 3-6 September, 1997:1-7.
2. Hetsel BS. Iodine deficiency disorders and their eradication. *Lancet*. 1983;2:1126-1129.
3. WHO, UNICEF, ICCIDD. Iodine and health: Eliminating iodine deficiency disorders safely through salt iodisation. Geneva, World Health Organisation, 1994 (WHO/NUT/94.4).
4. Opopol N, Berdaga V, Obreja G, et al. Starea de nutriție în Republica Moldova. Analiza situației și strategiile de intervenție. Raport 1996-2000 [Nutrition situation in the Republic of Moldova. Situation analysis and intervention strategies. Report 1996-2000]. Chișinău: Știința, 2002;38.
5. Hotararea Guvernului nr.596 din 3 august 2011 „Cu privire la aprobarea unor măsuri de eradicare a tulburărilor prin deficit de iod” [Government Decision No.596 of 3 August 2011 On approval of some measures to eliminate iodine deficiency disorders. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova [Official Monitor of the Republic of Moldova]*. 2011;131-133, art.666.
6. Koev Gh, Necrălov L, Tăslinschi N, Obreja G. Efectele posibile ale sării iodate asupra calității cașcavalurilor [Possible effects of iodised salt on the quality of cheese. *Materialele Conferinței Științifice Naționale „Profilaxia maladiilor ioddeficitare” [Materials of National Scientific Conference „The profilaxy of iodine deficiency disorders]*. Chișinău, 2008;67-72.
7. Taslinschi N, Popel Sv, Draganova E. et al. Testarea sării iodate la fabricarea unor produse conservate [Testing of iodised salt in the production of preserved food]. *Materialele Conferinței Științifice Naționale „Profilaxia maladiilor ioddeficitare” [Materials of National Scientific Conference „The profilaxy of iodine deficiency disorders”]*. Chisinau, 2008;124-132.
8. World Health Organisation. Salt as a vehicle for fortification. Report of a WHO Expert Consultation, Luxemburg, 21-22 March 2007. Geneva: World Health Organisation, 2008.

## The oxidative stress in blood hypothermic and normothermic cardioplegia

\*I. Grosu<sup>1</sup>, A. Grosu<sup>2</sup>, I. Guzgan<sup>1</sup>, V. Moscalu<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Cardiac Surgery, Republican Hospital, <sup>2</sup>Institute of Cardiology Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: grosuirina1@gmail.com. Manuscript received December 2013, accepted April 01, 2014

### Abstract

**Background:** The oxidative stress is a potent tool of myocardial injury having a special significance during open-heart surgery. Obtaining of hypothermic cardioplegia is based on the decrease of myocard's metabolic efficiency which results in the increase of its resistance to ischemia.

**Material and methods:** This article is aimed at the evaluation of main indices belonging to oxidative stress in venous coronary sinus blood in 60 patients exposed to valvulopathy correction using hypothermic and normothermic cardioplegia. The patients were divided into 2 groups, depending on cardioplegia: group 1 comprised 30 patients that were subjected to blood hypothermic cardioplegia ( $t < 33^{\circ}\text{C}$ ); group 2 also consisted of 30 patients, subjected to blood normothermic cardioplegia ( $t \geq 33^{\circ}\text{C}$ ). The groups were homogenous considering clinical and functional indices of the heart, detected with the patients before the surgical intervention.

**Results:** The oxidative stress is found to be activated in open-heart surgery evidence proved by serum lipid hydroperoxides (LH) and malonic dialdehyde (MD) significant increase across 110 min of ischemia and at 2-3 min of reperfusion till 55.7-58.9%. This enhancement is associated with antioxidant system failure due to a significant quantitative reducing of the main antioxidant compounds at 55 and 110 min of ischemia, glutathion-peroxidase, glutathion-reductase, superoxide-dismutase (SOD), catalase (CAT) and total antioxidant activity (TAA) the most marked decline being characteristic to SOD and CAT (41.85-46.20%). However TAA and CAT have elevated in reperfusion start by 14.4 and 32.6%.

**Conclusions:** The normothermic cardioplegia was appreciated as a more favorable condition concerning myocardial antioxidant protection ensuring because it provided a less rise of LH and MD as well as a less depletion of explored antioxidant factors.

**Key words:** open-heart surgery, cardioplegia, hypothermic, normothermic, oxidative stress.

## Stresul oxidativ în cardioplegia sanguină hipotermică și normotermică

### Introducere

Stresul oxidativ (SO) este conceput drept un mecanism patogenetic important de afectare a funcției și structurii organelor vitale, intensitatea căruia depinde, pe de o parte, de rata formării radicalilor liberi de oxigen (RLO), iar pe de altă parte, de fiabilitatea sistemului antioxidant, care intervine atenuant prin intermediul componentelor sale intracelulare și intercelulare cu abilitatea de *scavenger* sau neutralizare a RLO. Implicarea pertinentă a SO în evoluția afecțiunilor cardiovasculare este concludent dovedită în numeroase studii fundamentale și clinice, rolul acestuia constând, *per ansamblu*, în alterarea membranelor cardiomiocitelor și organelor lor, periclitarea funcționalității pompelor de calciu și a sintezei oxidului nitric, decuplarea oxidării fosforilative mitocondriale, creșterea expresiei citokinelor proinflamatoare și a moleculelor de adeziune intercelulară, stimularea apoptozei, medierea fenomenului de insulinorezistență și a leziunilor diabetogene etc. [1, 2, 3]. Longevitatea RLO este extrem de mică (< 0,1 sec), dar și formarea lor (anionul superoxid, radicalul hidroxil și peroxidul de hidrogen) reprezintă un proces enzimatic foarte rapid, astfel că sistemul antioxidant este oportun în vederea menținerii echilibrului cantitativ al radicalilor. Metabolizarea RLO este realizată pe cale enzimatică de către catalază, superoxid-dismutază (SOD), glutation-peroxidază (GP) și glutation-reductază (GR), precum și pe cale neenzimatică prin intermediul glutationului cu potențial redox, alpha-tocoferolilor și vitaminei C. Prin urmare, funcționalitatea sistemului multicomponent antioxidant este iminentă la conotația controlului efectiv al stresului oxidativ în condițiile patologice, care sporesc ponderea cantitativă a RLO. Expresia componentelor enzimatică ale sistemului antioxidant este realizată în manieră constitutivă și inductibilă, iar factorii de inducere sunt, de regulă, excesul de RLO, precum și unii factori care stimulează sinteza acestora.

Îndeosebi, importante sunt injuriile biochimice și funcționale ale miocardului, induse de SO în cadrul operațiilor pe cord deschis cu circulație extracorporeală, precum și asupra calității restabilirii postoperatorii a activității cardiace, inclusiv asupra complicațiilor la distanță. Contribuțiile patogenetice ale SO se estimează nu numai pe perioada de ischemie a miocardului, dar și în timpul reperfuziei, determinată de redresarea circuitului coronarian, când accesul la oxigen asigură formarea exagerată a RLO în aparatul mitocondrial al celulelor cardiace și accentuează repercusiunile stresului oxidativ. Activarea proceselor de eliberare a RLO în perioada de ischemie este în conexiune directă cu activarea xantinoxidazei, ciclooxigenazei, lipooxigenazei, NAD(P)H-oxidazei și citocromului P450.

Astfel, sindromul ischemie-reperfuzie, ca o inerentă a operațiilor pe cord deschis, este o condiție de intensificare a SO care, la rândul său, determină gradul de protecție a miocardului prin aplicarea cardioplegiei.

Explorările privind perfectarea protecției miocardului au

avut drept suport utilizarea mai multor tipuri de cardioplegii: de la soluții cristaloide până la cardioplegii sanguine diluate și native, eficacitatea terapeutică fiind evaluată și în cazul suplînirii lor cu diverse substanțe organice și neorganice.

Dacă supremația cardioplegiei sanguine față de cea cristaloide este în fond dovedită, atunci pe parcursul ultimilor 10-15 ani foarte intens este abordată problema evaluării comparative a eficienței protecției miocardului prin aplicarea în manieră intermitentă sau continuă a cardioplegiei sanguine hipotermice vizavi de cea normotermică. Valoarea terapeutică este mai cu seamă ponderală în cadrul cardioplegiei intermitente, iar în timpul ischemiei se anunță factorul primordial de influențare a efectului. Potrivit experienței diferitor autori, de exemplu timpul necesar pentru efectuarea anastomozelor coronariene distale complicate, variază de la 13 la 30 de min, fără un impact contondent asupra miocardului.

Opțiunea de bază a cardioplegiei hipotermice este proiectată pe reducerea activității metabolice a miocardului ce conduce la majorarea rezistenței lui antiischemice. Cardioplegia sanguină normotermică, utilizată inițial de T. Salerno în Universitatea McGill (Canada), are drept fundament 3 principii [6, 7]: 1) limitarea inhibiției enzimelor miocardului; 2) limitarea declinului de sinteză a compușilor macroergici; 3) temperarea restabilirii metabolice și funcționale a cordului pentru perioada reperfuziei.

Este necesar un material probatoriu veritabil pentru a demarca cu certitudine prioritățile cardioplegiei sanguine hipo- și normotermice, aplicate în cadrul operațiilor pe cord deschis. În acest context este de menționat, că estimarea protecției intraoperatorii a miocardului, bazată pe markerii stresului oxidativ, se impune prin valoare predictivă înaltă [8].

**Scopul studiului:** evaluarea dinamicii unor indici ai stresului oxidativ în cardioplegia sanguină normotermică sau hipotermică, aplicată pacienților în cadrul operației pe cord deschis.

### Material și metode

În studiu au fost incluși 60 de pacienți cu valvulopatii, care au suportat corecția valvulară în cadrul operației pe cord deschis cu circulație extracorporeală. Pacienții au fost randomizați în două loturi, în funcție de regimul termic al cardioplegiei:

- Lotul 1 – 30 de pacienți, la care li s-a aplicat cardioplegia sanguină hipotermică (CH) ( $t < 33^{\circ}\text{C}$ ).
- Lotul 2 – 30 de pacienți, la care li s-a aplicat cardioplegia sanguină normotermică (CN) ( $t \geq 33^{\circ}\text{C}$ ).

Privind indicii clinici și funcționali ai cordului, atestați la pacienți înaintea intervenției chirurgicale, loturile au fost omogene.

În sângele sinusului coronarian venos preluat după 1, 55 și 110 min de la clamparea aortei, precum și la min 2-3 al reperfuziei, au fost apreciați indicii stresului oxidativ:

- Produsele peroxidării lipidelor: hidroperoxizii lipidici tardivi (HPL) și dialdehida malonică (DAM).

– Componentele enzimatică ale sistemului antioxidant: superoxid-dismutaza (SOD), GR, GP, catalaza (CAT), precum și activitatea antioxidantă totală (AAT).

Indicii stresului oxidativ individualizați la min 1 al clampării aortei au fost estimați drept indici inițiali.

Datele obținute au fost comparate între loturi, iar modificările în dinamică s-au raportat la valorile inițiale ale parametrilor.

Analiza statistică s-a efectuat aplicând criteriul t-Student. Discrepanța cu marja de eroare < 5% a fost considerată drept statistic semnificativă ( $p < 0,05$ ).

### Rezultate

Dinamica concentrațiilor serice ale produselor peroxidării lipidice în ambele loturi este prezentată în tabelul 1.

Analiza dinamicii acestor 2 produse importante ale peroxidării ilipidelor și care, în mod direct, reflectă gradul de activare a stresului oxidativ și al impactului asupra miocardului evidențiază creșterea continuă și semnificativă a concentrației lor serice pentru perioada ischemiei, atât în cadrul cardioplegiei hipotermice, cât și normotermice. Valoarea inițială a HPL și MDA se estimează la cote similare în ambele loturi.

Astfel, în min 55 de la clamparea aortei se decelează o creștere de 19-20% a HPL. Incrementul acestora în min 110 de ischemie devine și mai pronunțat și consemnează 48-50%. De menționat în acest context, că sporul HPL în perioada medie a ischemiei (55 de min) până la dublarea timpului (perioada tardivă, 110 min) a fost mai accentuat în lotul 1, la pacienții cărora s-a aplicat cardioplegia hipotermică: 24 *versus* 20%. În ambele perioade de ischemie estimate, valoarea absolută a HPL în cardioplegia normotermică este mai mică față de indicele CH, deși reculul este statistic nesemnificativ.

În primele 2-3 min de la redresarea circulației coronariene, conținutul HPL se estimează majorat față de nivelul indicelui stabilit în min 110 de ischemie, elevarea respectivă fiind de asemenea mai pronunțată în lotul cu CH: 7,22 *versus* 3,88%. Prin urmare, restabilirea funcțională a cordului începe cu valori mai mici (circa 9%) ale HPL în min 2-3 de reperfuzie, când a fost aplicată cardioplegia normotermică, comparativ cu CH:  $0,81 \pm 0,041$  *versus*  $0,89 \pm 0,038$  uc/ml.

Comparativ cu dinamicul HPL, conținutul dialdehidei malonice are o creștere în primele 55 de min de la clamparea

aortei mai concludentă. Incrementul MDA constituie 36,3% în cadrul cardioplegiei hipotermice și este notabil mai mic în cadrul cardioplegiei normotermice – 28,6%. Față de sporul HPL acesta se estimează cu 91% mai mare în CH și cu 43% în CN. Pe palierul ischemiei 55-110 min, majorarea DAM a fost practic egală în ambele formule de cardioplegie: 11,98% (CH) și 12,43% (CN).

Începutul perioadei de reperfuzie s-a impus în ambele loturi printr-o creștere aproape neglijabilă a DAM (2-4%) dar, totuși, concentrația serică a indicelui apreciată la min 2-3 este mai mică în lotul 2, unde s-a aplicat cardioplegia normotermică:  $28,27 \pm 1,45$  *versus*  $29,82 \pm 1,47$   $\mu\text{mol/L}$ .

Așadar, dinamica HPL și DAM în cadrul sindromului ischemie-reperfuzie, care însoțește operațiile pe cord deschis, se remarcă prin unele particularități însemnate:

Creșterea HPL este mai importantă pentru perioada avansării ischemiei de la min 55 la min 110, rata acesteia fiind superioară în cadrul cardioplegiei hipotermice.

Creșterea DAM este mai concludentă pentru perioada medie de ischemie, 55 de min, rata acesteia fiind de asemenea superioară în cadrul cardioplegiei hipotermice.

Începutul reperfuziei miocardului se impune printr-o elevare mai pronunțată a HPL comparativ cu DAM.

În toate perioadele de timp explorate ale sindromului ischemie-reperfuzie, valorile medii ale HPL și DAM în cardioplegia normotermică sunt mai mici *versus* CH.

Sub aspectul evidențelor de activare a stresului oxidativ în cadrul operației pe cord deschis determinate de dinamica HPL și DAM este important de stabilit fezabilitatea sistemului antioxidant.

Dinamica GPO și GR, enzimelor cheie de asigurare a funcționalității sistemului glutacion-redox, este prezentată în tabelul 2.

Majorarea cantitativă continuă a produselor peroxidării lipidice pentru perioada ischemie-reperfuzie a fost asociată de un declin marcant al nivelului seric al GPO și GP.

Concentrația serică a glutacionperoxidazei s-a redus semnificativ în primele 55 de min de la clamparea aortei cu 22,8% în cardioplegia normotermică, reculul fiind și mai pronunțat în cardioplegia hipotermică – 26,8%. Descreșterea GPO la perioada tardivă a ischemiei (min 110) atinge cote de 34,4 și 38,3% față de nivelul inițial în lotul 2 și, respectiv, lotul 1.

Tabelul 1

Concentrația serică a HPL și DAM pentru perioada de ischemie și reperfuzie a miocardului

Perioada	Lotul 1 (n = 30) – CH		Lotul 2 (n = 30) – CN	
	HPL (uc/ml)	DAM ( $\mu\text{mol/L}$ )	HPL (uc/ml)	DAM ( $\mu\text{mol/L}$ )
Inițial	$0,56 \pm 0,022$	$19,15 \pm 1,21$	$0,54 \pm 0,025$	$18,76 \pm 1,23$
Ischemie, min 55	$0,67 \pm 0,034$ $p < 0,05$	$26,11 \pm 1,28$ $p < 0,05$	$0,65 \pm 0,038$ $p < 0,05$	$24,12 \pm 1,33$ $p < 0,05$
Ischemie, min 110	$0,83 \pm 0,066$ $p < 0,05$	$29,24 \pm 1,75$ $p < 0,05$	$0,78 \pm 0,053$ $p < 0,05$	$27,12 \pm 1,83$ $p < 0,05$
Reperfuzie, min 2-3	$0,89 \pm 0,038$ $p < 0,01$	$29,82 \pm 1,47$ $p < 0,05$	$0,81 \pm 0,041$ $p < 0,01$	$28,27 \pm 1,45$ $p < 0,05$

Legendă: p – semnificația discrepanței *versus* indicele inițial.

Tabelul 2

## Concentrația serică a GPO și GP pentru perioada de ischemie și reperfuzie a miocardului

Perioada	Lotul 1 (n = 30) – CH		Lotul 2 (n = 30) – CN	
	GPO ( $\mu\text{M/s.L}$ )	GR (nM/s.L)	GPO ( $\mu\text{M/s.L}$ )	GR (nM/s.L)
Inițial	0,908 $\pm$ 0,032	7,51 $\pm$ 0,26	0,898 $\pm$ 0,031	7,54 $\pm$ 0,27
Ischemie, min 55	0,665 $\pm$ 0,025 p < 0,05	6,60 $\pm$ 0,28 p < 0,05	0,693 $\pm$ 0,028 p < 0,05	6,46 $\pm$ 0,25 p < 0,05
Ischemie, min 110	0,560 $\pm$ 0,043 p < 0,05	5,44 $\pm$ 0,41 p < 0,05	0,589 $\pm$ 0,041 p < 0,05	5,68 $\pm$ 0,44 p < 0,05
Reperfuzie, min 2-3	0,546 $\pm$ 0,021 p < 0,01	4,88 $\pm$ 0,38 p < 0,01	0,569 $\pm$ 0,020 p < 0,01	5,04 $\pm$ 0,39 p < 0,01

Legendă: p – semnificația discrepanței *versus* indicele inițial.

Comparativ cu valoarea GPO consemnată la min 55 de ischemie, concentrația serică a enzimei s-a depreciat la min 110 cu 15,0 și 15,8% în cardioplegia normotermică și, respectiv, hipotermică. Prin urmare, deprecierea cantitativă a GPO este mai ponderală pentru perioada ischemiei de 55 de min și are un grad aproape înjumătățit în perioada cuprinsă între 55 și 110 min de ischemie. Începutul reperfuziei nu se manifestă printr-o micșorare notabilă a GPO, decrementul față de min 110 de ischemie nu depășește 3,4%, iar comparativ cu nivelul inițial enzima antioxidantă se apreciază cantitativ redusă cu 36,6% (CN) și 39,9% (CH). Merită a fi subliniat faptul, că în toate perioadele de timp explorate ale sindromului ischemie-reperfuzie nivelul seric al GPO este mai ridicat la pacienții cu cardioplegie normotermică.

Gradul micșorării concentrației serice a glutathionreductazei depistată la min 2-3 de reperfuzie în raport cu valoarea inițială, este în fond similar celui inerent GPO: 33,2 și 35,0% în lotul 2 și, respectiv, lotul 1. Totuși, dinamica GR excelează prin faptul, că nu se estimează, ca în cazul GPO, o reducere evident ponderală a concentrației ei serice în primele 55 de min de ischemie. În perioadele de ischemie 55 și 110 min, cotele de micșorare a GR identificate sunt practic egale: 12,1 și 17,6% în lotul 1 și 14,3 și 12,0% în lotul 2.

Analogic GPO, nivelurile serice medii ale glutathionreductazei sunt mai mari în cardioplegia normotermică la toate intervalele de timp analizate. Această particularitate se află în concordanță inteligibilă cu nivelurile mai reduse ale HPL și DMA în CN *versus* CH.

Un indicator oportun al funcționalității sistemului antioxidant este AAT. Dinamica valorii acesteia, precum și a superoxid-dismutazei poate fi evaluată în tabelul 3.

Analiza dinamicii AAT evidențiază 2 elemente distinctive.

Primul constă în micșorarea la o cotă dublă mai mare a valorii AAT în primele 55 de min de ischemie pe fundalul cardioplegiei hipotermice față de cardioplegia normotermică: 25,1% *versus* 12,4%. Drept urmare valoarea AAT în lotul 2 în această perioadă de ischemie a miocardului este semnificativ mai mare cu 17,7% în raport cu indicele CH: 3,45  $\pm$  0,056 *versus* 2,93  $\pm$  0,066 mM/s.L. În perioada tardivă a ischemiei (110 min) AAT menține un declin mai rezervat, iar valoarea ei în cardioplegia normotermică rămâne semnificativ superioară cu 11,2% indicelui CH: 3,11  $\pm$  0,084 *versus* 2,78  $\pm$  0,072 mM/s.L.

Tabelul 3

## Concentrația serică a GPO și GR pentru perioada de ischemie și reperfuzie a miocardului

Perioada	Lotul 1 (n = 30) – CH		Lotul 2 (n = 30) – CN	
	AAT (mM/s.L)	SOD (u/L)	AAT (mM/s.L)	SOD (u/L)
Inițial	3,91 $\pm$ 0,053	920 $\pm$ 31	3,94 $\pm$ 0,044	915 $\pm$ 27
Ischemie, min 55	2,93 $\pm$ 0,066 p < 0,05	670 $\pm$ 27 p < 0,05	3,45 $\pm$ 0,056 p < 0,05 p1 < 0,05	693 $\pm$ 26 p < 0,05
Ischemie, min 110	2,78 $\pm$ 0,072 p < 0,05	535 $\pm$ 38 p < 0,01	3,11 $\pm$ 0,084 p < 0,05 p1 < 0,05	584 $\pm$ 37 p < 0,01
Reperfuzie, min 2-3	3,18 $\pm$ 0,043 p < 0,05	415 $\pm$ 23 p < 0,01	3,54 $\pm$ 0,051 p < 0,05 p1 < 0,05	459 $\pm$ 21 p < 0,01 p1 < 0,05

Legendă: p – semnificația discrepanței *versus* indicele inițial;  
p1 – semnificația discrepanței *versus* indicele lotului 1.

Al doilea se impune prin creșterea valorii AAT către min 2-3 de reperfuzie în medie cu 14%, fenomen caracteristic ambelor loturi. Astfel, valoarea AAT la min 2-3 de reperfuzie este în ambele loturi mai mare față de nivelul inerent min 55 și 110 de ischemie, dar semnificativ mai mic în comparație cu nivelul inițial. Totodată, valoarea AAT în cadrul cardioplegiei normotermice se estimează la min 2-3 de reperfuzie semnificativ superioară (11,3%) indicelui atestat în cardioplegia hipotermică.

Spre deosebire de AAT, conținutul SOD a realizat un declin continuu pe toată perioada ischemie-reperfuzie. Rata de micșorare mai importantă a SOD s-a constatat la min 55 de ischemie, aceasta constituind 27,17% în lotul 1 și 24,26% în lotul 2.

Față de nivelul stabilit la min 55 concentrația serică a SOD a diminuat în min 110 de ischemie la cote mai mari în cadrul cardioplegiei hipotermice: 20,15 *versus* 15,73%. Deci, dacă AAT a avut pe parcursul acestei perioade un declin de până la 10%, atunci superoxid-dismutaza s-a redus dublu mai mult. Comparativ cu nivelul inițial, concentrația serică a SOD la min 110 de ischemie se estimează micșorată cu 41,85 și 36,16% la pacienții din lotul 1 și, respectiv, lotul 2.

Contrar AAT, nivelul seric continuă să se deprecieze către min 2-3 de reperfuzie, reculul corespunzător în comparație

cu valoarea de la min 110, fiind destul de consistent: 22,43 și 21,40% în CH și, respectiv, CN. Datorită acestui fapt reperfuza naturală a miocardului începe cu valori concludent reduse ale SOD: cu 54,89% (lotul 1) și cu 49,84 (lotul 2). Deoarece, în toate intervalele de timp explorate diminuarea SOD în cardioplegia hipotermică a fost mai rezervată, nivelul acesteia în lotul 2 la min 2-3 de reperfuzie se consemnează semnificativ superior cu circa 11% față de indicele lotului 1.

Dinamica nivelului cantitativ al catalazei determinat în hematii are similaritate certă cu patternul AAT (fig. 1). Sub acest aspect, este important de menționat, pe de o parte, reducerea mai însemnată a CAT pentru perioada ischemiei în cadrul ischemiei hipotermice, iar pe de altă parte, majorarea indicelui către min 2-3 de reperfuzie cu până la 32,6%.

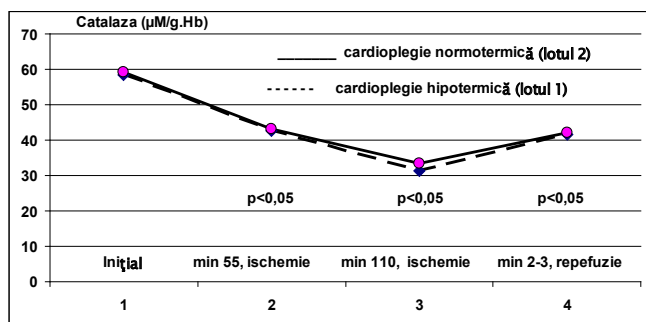


Fig. 1. Dinamica catalazei în loturi (p - semnificația discrepantei vs indicele inițial).

De notat, că la toate intervalele de timp ale sindromului ischemie-reperfuzie, valoarea medie a SOD este semnificativ redusă comparativ cu nivelul inițial, aceasta fiind totuși superioară, deși cu un decalaj nesemnificativ, în lotul 2.

Așadar, potrivit datelor obținute, funcționalitatea sistemului antioxidant în operațiile pe cord deschis este compromisă, gradul de periclitate al acesteia fiind mai pronunțat în cardioplegia hipotermică.

### Discuții

Rezultatele studiului au demonstrat activarea stresului oxidativ în miocardul pacienților în perioada intraoperatorie, fapt dovedit prin creșterea semnificativă a HPL și DAM în sângele sinusului coronarian pentru perioada ischemiei (110 min) care, de altfel, a continuat și redresarea circuitului coronarian (min 2-3 de reperfuzie). Elevarea conținutului DAM a fost mai accentuată pe parcursul ischemiei de 55 de min, iar a HPL – la o perioadă tardivă (110 min). Prin urmare se poate trece în evidență valoarea predictivă mai concludentă a DAM vizavi de activarea SO în cadrul perioadei de ischemie a miocardului până la 1 oră, iar utilitatea HPL drept marker al SO este în acest sens mai relevantă pentru un impact ischemic de durată mai mare. Odată formați, HPL suportă reacții rapide de descompunere, prin scindarea cărora derivă o diversitate mare de compuși (alcani, aldehide, acizi grași epoxi și hidroxi), printre care și DAM, ce reflectă astfel intensitatea procesului de peroxidare a lipidelor și de alterare a componentelor membranei, precum și a funcției cardiace.

Trebuie de remarcat că nivelul elevării HPL se atestă a fi într-un raport inteligibil cu gradul declinului HPO. Gluta-

tionperoxidaza este enzima seleniu-dependentă extrem de importantă în arsenalul sistemului antioxidant, deoarece la cote de 30% se găsește în mitocondrii, unde se produce formarea în proporție de 80% RLO [9]. Catalaza, de exemplu, este identificată predilect în formă citozolică, lipsește în mitocondriile unor organe sau se află în cantități foarte mici. Inactivarea RLO (în primul rând al peroxidului de hidrogen mitocondrial) nu este ultima funcție a GPO, care acționează ca o peroxinitrit-reductază, dar catalizează degradarea hidroperoxizilor lipidici și proteici. Dacă reglarea expresiei CAT este efectuată dominant în manieră constitutivă, atunci expresia GPO este ușor modulată prin diferiți factori prooxidanți (înșuși HPL pot crește expresia GPO).

Glutationreductaza este enzima care participă nemijlocit la menținerea raportului dintre glutatiunul redus și cel oxidat, aceasta acționând catalizator asupra reducerii formei disulfidice a glutatiunului, care necesită NADPH. Nivelul seric al GR a diminuat în studiul nostru la cote similare declinului GPO, fapt ce periclitează capacitatea redox a glutatiunului, antioxidant neenzimatic.

Creșterea sintezei mitocondriale de RLO (în primul rând a anionului superoxid) este determinată nu numai de ineficiența GR și a sistemului glutatiunic, dar și de reducerea expresiei SOD. Activitatea Mn-SOD mitocondriale reprezintă până la 60% din activitatea tisulară a enzimei. Nivelul anionului superoxid este foarte important în vederea expresiei inductibile a SOD, care își exercită efectul antioxidant nu numai prin eliminarea excesului de radical superoxid, dar și al oxigenului singlet. Datele noastre indică a micșorare continuă și marcată a concentrației serice a SOD în perioada ischemie-reperfuzie, fapt care se corelează cu majorarea produselor peroxidării lipidelor.

Excesul anionului superoxid este o condiție de formare în surplus a peroxidului de hidrogen, care pe fundalul deficitului de GPO se acumulează citozolic prin difuzie, fiind expus acțiunii de metabolizare a catalazei. Peroxidul de hidrogen este cel mai stabil dintre toate speciile active ale oxigenului, fiind un oxidant nucleofilic foarte puternic.

Conținutul seric al CAT este decelat în declin semnificativ pentru perioada ischemiei, fapt ce indică asupra premisei de acumulare a peroxidului de hidrogen și activarea SO. Trebuie de menționat, că în perioada inițială de reperfuzie se constată o elevare a nivelului CAT, fenomen care ar fi plauzibil determinat de ieșirea enzimei din peroxizomii eritrocitelor în condițiile redresării naturale a circuitului coronarian. Hematiile sunt o sursă bogată de peroxid de hidrogen și, de aceea, înmagazinează opulent catalaza, deficitul ei fiind caracteristic îndeosebi în hiperhomocisteinemie, estimată drept un factor de risc cardiovascular, inclusiv prin defensiva antioxidantă precară și impactul asupra endoteliului vascular [10, 11].

Trebuie de remarcat, că odată cu creșterea nivelului seric al catalazei în perioada reperfuziei s-a urmărit și majorarea AAT. Plauzibil de admis, că catalaza peroxizilor hematiilor reprezintă o valență însemnată a activității antioxidante totale. Totuși, creșterea CAT și AAT în perioada de reperfuzie nu a fost însoțită de bruijul declinului HPL și DAM, fapt ce limitează capacitatea predictivă a acestora asupra impactului

oxidativ miocardic, estimat la redresarea circuitului coronarian. Cu toate acestea, este semnificativă reducerea lor în perioada ischemiei și corelativă gradului de creștere a HPL și DAM. Pe de altă parte, GPO, GR și SOD pot fi acceptate drept markeri ai stresului oxidativ și predictorii ai protecției cardiace atât pentru perioada ischemiei, cât și reperfuziei.

Cardioplegia normotermică s-a dovedit a fi, în studiul nostru, mai favorabilă față de cea hipotermică în ceea ce privește capacitatea de limitare a intensității stresului oxidativ, sugestie expusă, de altfel, anterior de mai mulți autori și fundamentată prin rezultatele studiilor direcționate [12, 13, 14].

R. Nowicki și colab. (2010) au evaluat, în acest sens, activitatea stresului oxidativ, determinând în sângele sinusului coronarian concentrația DAM și activitatea SOD în diferite perioade ale ischemiei miocardului protejat prin cardioplegia normotermică și imediat după redresarea circulației coronariene [15]. Datele obținute au evidențiat reducerea enzimei antioxidante odată cu creșterea timpului de ischemie, elevarea dialdehidei malonice, având analogic evidențelor noastre, maximumul cantitativ în reperfuzie. Totodată, indicii care caracterizează calitatea restabilirii cardiace, inclusiv pe o perioadă de durată, s-au corelat atât cu markerul defensivei antioxidante, cât și cu produsul final al peroxidării lipidelor. Aplicând metoda TUNEL în vederea detectării semnelor de alterare a nucleelor cardiomiocitelor iminente apoptozei celulare, s-a stabilit că sindromul ischemie/reperfuzie se manifestă prin creșterea ratei apoptozei, aceasta fiind în raport direct cu conținutul dialdehidei malonice și indirect cu activitatea superoxid-dismutazei. Rata apoptozei, de asemenea, s-a corelat cu nivelurile circulante ale creatinkinazei MB și troponinei I.

Un instrument alterativ al stresului oxidativ constă în activarea răspunsului inflamator nespecific. Expresia IL-6 și IL-8, a citokinelor, derivate de celulele endoteliale sub acțiunea speciilor reactive de oxigen și, care posedă efect puternic chemoatractant față de neutrofile, crește semnificativ în operațiile pe cord deschis pe fundalul SO, determinat de reducerea glutatationului și catalazei [8, 16]. Nivelul citokinelor se corelează autentic, de asemenea, cu concentrația serică a proteinei C reactive (markerul principal al inflamației nespecifice) estimată în primele 7 zile postoperatorii.

Suplinirea soluțiilor cardioplegice cu antioxidanți naturali sau substanțe cu acțiune antioxidantă în scopul atenuării stresului oxidativ este astăzi un obiectiv al multor cercetări, care promit beneficii cardioprotectoare relevante [17, 18].

### Concluzii

1. În cadrul operațiilor pe cord deschis, aplicate pacienților pentru corecția valvulopatiilor, s-a constatat activarea stresului oxidativ, manifestată prin elevarea semnificativă în sângele preluat din sinusul venos coronarian al conținutului hidroperoxidilor lipidici și dialdehidei malonice în perioada ischemiei (110 min) și în debutul reperfuziei (min 2-3) cu până la 58,9 și, respectiv, 55,7%.

2. Creșterea cantitativă a produselor peroxidării lipidelor este asociată de compromiterea funcționalității sistemului antioxidant impusă prin diminuarea semnificativă în perioada ischemiei a GPO, GR, SOD, AAT și CAT, declinul maxim

fiind caracteristic superoxid-dismutazei și catalazei: cu până la 41,85 și, respectiv, 46,20%. În perioada de reperfuzie AAT și CAT se estimează în creștere față de min 110 de ischemie (incrementul maxim fiind 14,4 și, respectiv, 32,6%) în timp ce GPO, GR și SOD continuă descreșterea care este mai importantă pentru SOD (-22,4%).

3. Cardioplegia sanguină normotermică asigură o protecție antioxidantă a miocardului mai concludentă față de cea hipotermică, entitate justificată prin evidența creșterii la cote mai mici a HPL și DAM, cât și a limitării declinului componentelor sistemului antioxidant la perioada ischemiei (min 55 și 110) și reperfuziei, valorile AAT și SOD fiind decelate semnificativ superioare indicilor cardioplegiei hipotermice.

### References

- Hutcheson R, Rocic P. The metabolic syndrome, oxidative stress, environment and cardiovascular disease: the heart exploration. *Exp. Diab. Res.* 2012; doi:10.1155/2012/271028.
- Cavalca V, Veglia F, Squellerio I, et al. Glutathione, vitamin E and oxidative stress in coronary artery disease: relevance of age and gender. *Eur. J. Clin. Invest.* 2009;39(4):267-272.
- Kumar S, Kasseckert S, Kostin S, et al. Ischemic acidosis causes apoptosis in coronary endothelial cells through activation of caspase-12. *Cardiovasc. Res.* 2007;73(1):172-180.
- Santos C, Anilkumar N, Zhang M, et al. Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radic. Biol. Med.* 2011;50(7):777-793.
- Misra M, Sarwat M, Bhakuni P, et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med. Sci. Monit.* 2009;15(10):209-219.
- Salerno TA. Continuous blood cardioplegia: option for the future or return to the past? *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1990;22(Suppl.V):S49.
- Caputo M. Randomized comparison between normothermic and hypothermic cardiopulmonary bypass in pediatric open-heart surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 2005;80:982-988.
- Chambers DJ. Oxidative stress injury during cardiac surgery: How important is it? *Cardiovas. Res.* 2007;73:626-662.
- Margis M, Dunand C, Teixeira F, et al. Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview. *FEBS.* 2008;275:3959-3970.
- Noichri Y, Chalghoum A, Chkioua L, et al. Low erythrocyte catalase enzyme activity is correlated with high serum total homocysteine levels in tunisian patients with acute myocardial infarction. *Diagnostic Pathology.* 2013;8:68-73.
- Meera KS, Marcus SR. Endothelial dysfunction and oxidative stress in hypertension. *Asian. J. Med. Res.* 2012;1:84-89.
- Mezzetti A, Calafiore AM, Lapenna D, et al. Intermittent antegrade warm cardioplegia reduces oxidative stress and improves metabolism of the ischemic-reperfused human myocardium. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1995;109(4):787-795.
- Grech ED, Baines M, Steyn R, et al. Evidence that continuous normothermic blood cardioplegia offers better myocardial protection than intermittent hypothermic cardioplegia. *Br. Heart J.* 1995;74(5):517-521.
- Durandy Y. Warm pediatric cardiac surgery: European experience. *Asian. Cardiovasc. Thorac. Ann.* 2010;18:386-395.
- Nowicki R, Saczko J, Kulbacka J, et al. The estimation of oxidative stress markers and apoptosis in right atrium auricles cardiomyocytes of patients undergoing surgical heart revascularisation with the use of warm blood cardioplegia. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010;48(2):202-207.
- Wechter J, Phillips L, Toledo A, et al. Allopurinol protection in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J. Invest Surg.* 2010;23(5):285-293.
- Kingston R. The therapeutic role of taurine in ischaemia-reperfusion injury. Apoptosome (An up-and-coming therapeutic tool). 2010;15:283-304.
- Huang J, Du S, Zhang X. A systematic review and meta-analysis of the effectiveness of edaravone for treatment against ischemic-reperfusion injury in patients undergoing cardiac operation with cardiopulmonary by-pass. *Pharm. Clin. Res.* 2010; doi: CNKI:SUN:YXLY.0.2010-06-015.

## REVIEW ARTICLES

### Ophthalmic manifestations of chronic migraine

E. Bendelic<sup>1</sup>, I. Moldovanu<sup>2</sup>, \*C. Curca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy

<sup>2</sup>Institute for Neurology and Neurosurgery, Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: ccrist@mail.ru. Manuscript received December 10, 2013; accepted April 05, 2014

#### Abstract

**Background:** Migraine is a common disorder and its pathogenesis remains still unclear. Several hypotheses about the mechanisms involved in the pathogenesis of migraine have been proposed, but the issue is still far from being fully clarified. Neurovascular system remains one of the most important mechanisms involved in the pathogenesis of migraine and it could be possible that hypo-perfusion might involve other areas besides brain, including the retina. This is, for example, of particular interest in a form of migraine, the retinal migraine, which has been associated with hypo-perfusion and vasoconstriction of the retinal vasculature. Although vasoconstriction of cerebral and retinal vessels is a transient phenomenon, the chronic nature of the migraine might cause permanent structural abnormalities of the brain and also of the retina. On this basis, a few studies have evaluated whether retina is involved in migraine patients. Migraine is divided into two major subtypes: migraine without aura and migraine with aura. Migraine without aura is characterized by at least five attacks of recurrent headache lasting somewhere from 4 to 72 h. The other major subtype is migraine with aura, characterized by recurrent attacks of reversible focal neurological symptoms that usually develop gradually over 5-20 min and last for less than 60 min. If aura-like phenomenon is persistent, and ophthalmic diseases are excluded, an examination through neurovisualization is recommended (MRI, CT).

**Conclusions:** Although the vasospasm of cerebral and retro-bulbar blood vessels is a transient phenomenon, the chronic nature of the disease might be a risk factor for structural abnormalities of the brain and perhaps the retina.

**Key words:** migraine, retro-orbital pain, photophobia.

### Manifestările oftalmologice ale migrenei cronice

Migrena este o afecțiune cronică, dizabilitantă, frecvent întâlnită în rândurile populației, care constituie o problemă majoră de sănătate publică cu un impact socio-economic considerabil [7, 8, 10]. În raportul OMS (2000), migrena a fost inclusă ca a 19-a cauză de incapacitate pentru ambele sexe (a 9-a pentru femei) [8]. În plan clinic, migrena se caracterizează prin atacuri recurente de cefalee severă, pulsatilă, de obicei unilaterală, agravată de mișcare, cu durată de 4-72 de ore, acompaniată de disfuncție autonomă (greață, vomă), foto- și/sau fonofobie, precedată sau însoțită la unii pacienți de fenomene neurologice focale tranzitorii (*aură*).

Migrena este mai frecventă, în special, în cursul perioadei cele mai productive a vieții adulte, la vârsta de 20-50 de ani [7]. Câțeva studii europene documentează influența negativă a migrenei asupra calității vieții subiectului, iar cercetările medico-economice denotă că în medie 15% dintre adulți au fost absenți de la serviciu pe motiv de atacuri de migrenă în cursul unui an [1, 8].

**Prevalența migrenei.** Estimările prevalenței migrenei sunt relatate în literatura de specialitate, extrem de variate, cu o rată diferită de la 10% până la 50%. Această diversitate de rezultate ar putea fi explicată prin diferențe de criterii de diagnostic utilizate în studii, precum și în metodologia studiilor [2]. Criteriile de diagnostic ale migrenei, propuse de Societatea Internațională de Cefalee (SIC) în 1988, apoi revizuite în 2004 și publicate în Clasificarea Internațională a Tulburărilor Cefalalgice (CITC, ediția a II-a) [9], cât și efectuarea studiilor conform unei metodologii acceptate, cu

selecționarea eșantioanelor în dimensiuni adecvate, au permis ameliorarea cercetărilor epidemiologice la acest subiect.

Rezumând datele de prevalență, în cursul unui an, rezultate din mai mult de 15 cercetări epidemiologice efectuate în diverse țări ale Europei de Vest, proporția estimată a adulților care au acuzat cefalee în Europa, este de 51%, migrenă – 13,7% (femei – 16,6%, bărbați – 7,5%), cefalee cronică – 3,5% (femei – 4,8%, bărbați – 1,9%) [8]. În SUA, migrena afectează în mediu 15% dintre adulți (femei – 17% și bărbați – 6%) [6].

**Migrena episodică.** Conform publicațiilor recente, migrena se divizează, în conformitate cu frecvența atacurilor pe lună în: migrenă rară (1-4 zile/lună cu cefalee), migrenă frecventă (5-14 zile/lună cu cefalee) și migrenă cronică (≥ 15 zile/lună cu cefalee cu durată > 4 ore/zi pentru cel puțin 3 luni) (MC) [10].

Așadar, pacienții cu migrenă episodică (ME) sunt considerați acei, care au o frecvență a atacurilor de migrenă de 1-14 zile pe lună.

**Migrena cronică.** MC constituie o complicație a ME, maladie progresiv evolutivă, formă clinică nouă inclusă în CITC (ediția II-a, 2004) [9]. Prevalența MC în populație este estimată la 3-4% [6, 7, 8], 60-80% dintre pacienții cu cefalee, care se adresează pentru consultație în centrele specializate de cefalee, sunt cu MC [6]. Circa 14% dintre pacienții cu ME dezvoltă MC în cursul unui an de evidență [10]. Mulți pacienți debutează cu migrenă de tip episodic rară, care treptat devine mai frecventă în cursul vieții până a ajunge să afecteze zilnic pacientul sau aproape zilnic. Cauza acestui

proces de cronicizare este necunoscută [10]. Unii cercetători consideră că procesul de cronicizare a migrenei este asociat cu abuz medicamentos, tulburări psihoafective, fumat, tulburări de somn, istoric de traumatism cranian sau cervical și nivel educațional jos [10]. Sexul feminin este considerat un factor de risc pentru cefalee, în general, însă nu pentru cronicizarea ei. În publicațiile de specialitate anterioare au fost relatate diverse aspecte sociodemografice și clinice ale pacienților cu migrenă [2, 3, 4, 10], dar există puține studii clinico-epidemiologice comparative ale formei cronice și celei episodice de migrenă.

A fost estimată prevalența migrenei episodice (16,5%) și a celei cronice (3,5%) în Republica Moldova. Studiul epidemiologic efectuat a permis elucidarea unor particularități ale pacienților cu MC: prevalează femeile (84,9%), din spațiul rural (67,7%), cu studii primare și medii (74,3%), care se ocupă mai mult cu munca fizică sau nu sunt angajați în câmpul muncii (64,5%), condițiile lor de trai și starea materială fiind medii și nefavorabile (72%), [5]. Fenomenul cefalgic la pacienții cu MC are următorul pattern clinic: pulsilitate (85%), unilateralitate (70%), afectarea activităților zilnice (96%), agravarea cefaleei la efort fizic (84%), prezența foto- și fonofobiei (88,2%) [11].

#### Manifestări neurooftalmologice ale migrenei

**Fotofobia** este unul din criteriile ICHD – 2 pentru definierea migrenei și este simptomul neurologic cel mai frecvent al cefaleei primare. Definiția uzuală a fotofobiei este nesatisfăcătoare. Conform IHS, ea este definită ca o sensibilitate excesivă la lumină, în timp ce alții o definesc în contextul cefaleei, ca o exacerbare a sensibilității după expunerea la lumină.

Unele date privind mecanismul fotofobiei sunt bazate pe studiile patogenezei migrenei, deoarece pacienții cu migrenă sunt mai sensibili la lumină, zgomot, miros, simț tactil, în comparație cu indivizii fără migrenă, chiar în timpul perioadei între atacuri. Persistența discomfortului vizual între atacurile de migrenă sugerează ideea, că acești pacienți prezintă o dezadaptare la hiperexcitabilitate sau hipersensibilitate corticală.

Fotofobia pare a fi o proprietate intrinsecă a indivizilor cu migrenă și poate fi considerată o formă a alodinie. Alodinia este definită ca o durere, provocată de stimuli nedureroși și e mediată parțial de neuronii senzitivi talamici, care procesează informația nociceptivă de la meninge și cea senzitivă de la țesutul cutanat al întregului corp. Deci, mecanismul alodinie la lumină integrează interrelația funcțională între celulele ganglionare retiniene, nervul optic, talamus, sistemul trigemenovascular.

Celulele ganglionare retiniene cu melanopsină (mRGC) mediază fotosensibilitatea, procesează lumina, pe când celelalte tipuri de celule ganglionare retiniene (RGC) se pot leza când sunt expuse la lumină. Celulele ganglionare retiniene cu melanopsină (mRGC) procesează lumina fără implicarea altor celule ganglionare retiniene (conuri și bastonașe), fiind maximal sensibile la spectrul albastru al luminii. În raport cu alte RGC, cele mRGC au pondere mică, axonii lor se proiectează pe nucleul suprachiasmatic (pentru a media ritmul circadian) și pe partea dorsală a talamusului posterior care,

deasemenea, conține neuroni senzitivi. Talamusul este „stația” centrală pentru căile conductoare ale durerii în creier.

Pentru atenuarea fotofobiei pot fi folosiți ochelarii tonaj. S-a demonstrat că ochelarii FL-41, cu tonare de culoare roză, ameliorează starea pacienților cu fotofobie, asociată cu blefarospasm benign. Se mai folosește tonarea galbenă (în încăpere) și culoarea de chihlimbar (afară). Pacienții cu migrenă deseori folosesc ochelari cu ton întunecat, ceea ce este contraproductiv, și îi face să fie dezadaptați la lumină. Pentru ameliorarea stării de fotofobie a fost folosită și blocada ganglionilor simpatici cervicali, ceea ce a avut un efect evident.

**Aura vizuală.** Aura vizuală este caracterizată prin simptome vizuale pozitive (fosfene, fotopsii etc.) și negative (scotom, hemianopsie etc.), sau combinația lor.

În anii 1940, Lashley [19] a menționat că aura migrenoasă este manifestarea clinică a unei modificări, care se răspândește peste ariile corticale vizuale cu o viteză de 3-5 mm/minut. Neurofiziologul Leao [20] a publicat detaliile unui fenomen electrofiziologic de hiperexcitare corticală urmată de o supresie, fenomenul fiind inițiat prin stimulare mecanică sau chimică și putând migra pe suprafața corticală a creierului animalelor experimentale cu o viteză de 3-4 mm/minut. Acest fenomen, cunoscut astăzi ca depresia corticală Leao, a fost menționat în calitate de cauză a aurei migrenoase în baza vitezei lente de progresare corticală, similar cu manifestările aurei migrenoase [21]. Această idee este fortificată și de faptul că depresia corticală, la fel ca și aura, depășește teritoriile neurovasculare. Conform acestui scenariu, descreșterea fluxului sanguin, care are loc în timpul aurei migrenoase, este consecința directă a reducerii necesităților metabolice în neuronii funcționali afectați și nu este o cauză primară a simptomelor aurei. Expansiunea depresiei corticale (EDC) este legată fiziologic de aura vizuală, deși a fost depistată și la pacienții fără aură. EDC reprezintă o depolarizare intensă a membranelor neuronale și gliale, caracterizată prin pierderea rezistenței membranelor. Este asociată cu edem celular, schimbări ionice și neurochimice. Este o masivă eliberare a glutamatului și potasiului, ceea ce cauzează creșterea concentrației extracelulare a potasiului, cu creșterea sodiului și calciului intracelular. Inițial, fluxul sanguin cerebral se reduce pentru un scurt timp, apoi urmează o hiperemie profundă de scurtă durată, după care survine oligemia de lungă durată. Oligemia durează până la o oră, dar poate persista și mai multe zile. Factorii trigger ai EDC sunt: stimularea directă a cortexului, aplicațiile cu KCl, trauma, activitatea epileptică, hipoxia și ischemia severă. Femeile sunt mai receptibile la EDC decât bărbații; indivizii cu migrenă au pragul EDC mai redus. Conform datelor RMN funcționale și magnetoencefalografiei, substratul anatomic al aurei vizuale constă în schimbările neuronale ale cortexului striat și extrastriat. Aceste date s-au demonstrat la pacienții cu migrenă, la care aura vizuală a dispărut sau s-a modificat la afectarea căilor vizuale. De exemplu, fotopsiile în formă de zigzag nu se văd în regiunea defectului de câmp vizual, sau în ochiul slab văzător [21].

#### Fenomene vizuale pozitive și “fulgi vizuali”

Primul raport despre această entitate îi aparține lui Lui



et al, care a descris 10 pacienți cu fenomene vizuale pozitive persistente. Trei dintre ei aveau simptome cu certitudine caracteristice migrenei, doi dintre ei aveau în anamneză migrenă cu aură, cu simptome care, posibil, aveau legătură cu migrena și cinci – cu fenomene vizuale persistente fără atacuri de migrenă. Patru din cinci pacienți, din ultimul grup, descriu fenomenul de “fulgi vizuali” pe tot câmpul vizual. Alții descriu acest fenomen ca o aeropsie sau “vederea aerului”. Majoritatea pacienților descriu imagini simple, neformate ca: puncte, crăpături, linii, cercuri, lumini sclipitoare, “furnici”, bucle în câmpul vizual. La o scanare SPECT a acestor pacienți s-a depistat o hipoperfuzie bilaterală parietală sau parieto-occipitală. Un pacient cu aură prelungită (episoade de “fulgi vizuali” și parestezii bilaterale timp de 5 zile) a prezentat tulburări de semnal în lobul occipital stâng pe hărțile ACD.

Pacienții care acuză “fulgi vizuali” sunt predominant activi, atenți la detalii, cu migrenă în anamneză, ceea ce sugerează ipoteza precum că starea de hiperexcitabilitate corticală este responsabilă pentru generarea fenomenului de “fulgi vizuali”.

Studiile recente sugerează că migrena și, în particular, migrena cu aură este un factor de risc pentru leziuni cerebrale anatomice [14, 15]. Deși simptomele clinice ale migrenei sunt foarte clar manifeste și invalidante, până la 50% dintre cei suferinzi sunt nediagnosticsați [16] și, drept rezultat, administrează tratamente improprii. Cercetările în domeniul migrenei au fost până de curând „frânate” de absența unor biomarkeri obiectivi [17]. Atunci când manifestările clinice, în baza cărora este stabilit diagnosticul clinic, nu reflectă heterogenitatea substraturilor biologice ale migrenei este nevoie de identificarea unor markeri biologici ai bolii. Din fericire, odată cu dezvoltarea unor tehnici neuroimagistice sofisticate, au fost stabilite anumite caracteristici funcționale și anatomice ale migrenei.

#### Markerii imagistici ai migrenei

Există două categorii extinse de modificări neuroimagistice asociate migrenei: biomarkeri funcționali și biomarkeri anatomici. Ambele tipuri au fost explorate în paralel în ultimele două decade și reprezintă manifestări ale aceluiași proces patofiziologic, care rezultă în manifestarea clinică deja cunoscută a migrenei [17].

#### Biomarkeri imagistici funcționali

Tehnicile neuroimagistice funcționale sunt cele implicate în studierea multiplelor modificări neurofuncționale în cadrul migrenei. Acestea includ: 1) tehnici de determinare a fluxului sangvin, care stabilesc rata de mișcare prin creier a moleculei-marker; 2) imagieria prin difuzie care stabilește viabilitatea celulară prin determinarea capacității neuronilor de a menține gradientele osmotice transmembranare normale 3) BOLD (blood oxygen level depending imaging), care stabilește abilitatea neuronilor de a răspunde stimulărilor fiziologice și 4) tehnici de rezonanță magnetică spectroscopică oferă informații despre funcția metabolică a neuronilor. Sarcina primordială a tehnicilor neuroimagistice funcționale a fost de a cuantifica meritele relative ale celor două teorii patogenice competitive ale migrenei: teoria vasogenă și teoria neurogenă.

Până prin 1980, migrena era explicată prin teoria vasoge-

nă, care stipula că accesul de migrenă constă în manifestarea clinică a unei forme de dereglare cerebrovasculară. Această teorie afirmă că aura este cauzată de o ischemie, indusă de o vasoconstricție tranzitorie, iar cefaleea este cauzată de o vasodilatare – „rebound”, care activează axonii nociceptivi din pereții sau din jurul vaselor cerebrale [18]. Teoria era bazată pe distensia cunoscută a porțiunilor extracraniene ale carotidelor în timpul accesului de migrenă și de potență înaltă a ergotaminelor vasoconstrictoare de a întrerupe accesul migrenos.

Teoria alternativă neurogenă interpretează migrena ca pe o patologie a creierului, în care modificările vasculare sunt rezultatul unor disfuncții neuronale. Această teorie a fost favorizată de observațiile clinice, în care simptomele auri se răspândesc dincolo de hotarele anumitor teritorii neurovasculare.

#### Biomarkeri imagistici anatomici

Tomografia Computerizată (TC) și Rezonanța Magnetică Nucleară (IRM) reprezintă instrumentele principale ale medicului practician, utilizate pentru excluderea unei cauze secundare a cefaleei.

#### Leziunile substanței albe

Odată cu dezvoltarea IRM, s-a demonstrat o incidență sporită a leziunilor substanței albe la pacienții cu migrenă [24, 25]. La subiecții asimptomatici, ele pot fi identificate începând cu 11% în decada a patra a vieții și până la 83% în decada a șaptea a vieții. Acestea sunt niște leziuni nespecifice care ar putea fi cauzate de ischemie, demielinizare, patologie a țesutului conjunctiv și multe alte etiologii. Semnificația clinică a lor nu este cunoscută, dar numărul și extinderea lor corelează cu riscul pentru accidentul cerebrovascular [26]. Un studiu extins arată că 29,4% dintre pacienții migrenosi cercetați, cu vârsta de până la 40 de ani, au avut leziuni ale substanței albe, comparativ cu 11,2% dintre persoanele de aceeași vârstă din grupul de referință [17]. Rezultatele unor studii recente sugerează că riscul apariției leziunilor profunde ale substanței albe crește odată cu creșterea frecvenței acceselor migrenoase. De aceea autorii sugerează, că există o relație între accesele de migrenă și apariția leziunilor substanței albe, ceea ce susține ideea că migrena este o boală cerebrală progresivă [14, 15]. Un alt studiu recent al modificărilor cantitative morfometrice și de difuzie la pacienții migrenosi, în comparație cu subiecții-control, a stabilit locusuri de afectare predilectă a creierului la pacienții cu migrenă în lobii frontali, trunchiul cerebral și cerebel, precum și o corelație pozitivă între frecvența acceselor migrenoase și durata bolii, pe de o parte, și gradul de afectare a creierului, determinate prin tehnici neuroimagistice funcționale, pe de altă parte [27].

Unele studii au stabilit că migrena, în special migrena cu aură, este asociată cu un risc cardiovascular, fiindcă are loc activarea factorilor protrombotici și vasoactivi în perioada crizei [11, 14]. În migrena cu aură, disfuncțiile vizuale sunt condiționate de dereglări circulatorii în bazinul *a. cerebrale* posterioare. Deoarece disfuncțiile vasculare în migrenă se pot extinde și la arterele coronariene, putem accepta că migrena, în special cea cu aură, poate fi asociată și cu alte evenimente vasculare, nu doar cu ischemia cerebrală.

Retina este partea periferică a analizatorului vizual. Ea se dezvoltă din extremitatea cefalică a tubului neural, deaceia ea poate fi considerată ca o parte a creierului exteriorizată la periferie. Sistemul neurovascular rămâne a fi unul din mecanismele cele mai importante, implicate în patogeneza migrenei și este posibil ca hipoperfuzia să poată implica alte zone în afară de creier, inclusiv retina. Aceasta prezintă un interes special într-o formă a migrenei, și anume migrena retiniană, care este asociată cu hipoperfuzia și constricția vaselor retiniene.

În literatura de specialitate sunt descrise cazuri de neuropatie optică ischemică anterioară și posterioară la pacienți după un episod de migrenă cu aură vizuală (migrenă clasică) și mai puțin frecvent, după un episod de aură vizuală fără cefalee (migrenă acefalgică) [28]. Deasemenea, sunt raportate cazuri de embolie a arterei centrale a retinei pe fond de atac migrenos [28]. Deși constricția vaselor cerebrale și retiniene este un fenomen tranzitoriu, caracterul cronic al migrenei poate cauza leziuni structurale permanente ale creierului și ale retinei. Reieșind din datele de mai sus, câteva studii au evaluat implicarea retinei în procesul patologic la pacienții cu migrenă. Tan et al. nu au găsit o diferență semnificativă în grosimea RNFL între pacienții cu migrenă și grupul de control [31].

Martines et al., în studiul lor, au constatat că grosimea medie a RNFL la pacienții cu migrenă era în limitele normei, însă grosimea RNFL în cadranul temporal a fost semnificativ mai mică decât cea a grupului de referință, 62,2 (10,8) mm vs 70,8 (12,4) mm, respectiv, ( $p = 0,0001$ ). Cu toate acestea, nu a existat nicio diferență între pacienții cu migrenă și grupul de referință în cadranele superior, inferior și nazal,  $p = 0,8810$ ,  $p = 0,1531$ ,  $p = 0,8300$ , respectiv. Având în vedere examenul clinic, grosimea RNFL, precum și parametrii discului optic, nimeni din grupul pacienților cu migrenă nu a fost diagnosticat cu glaucom. Concluzie: RNFL în cadranul temporal la pacienții cu migrenă este mai subțire decât în grupul de referință. În plus, s-a găsit o corelație între severitatea migrenei și parametrii RNFL [30].

Un alt studiu, efectuat de către Stefano Gipponi [32], care prevedea investigația a 40 de femei: 24 de paciente incluse în grupul de studiu și 16 incluse în grupul de referință, a constatat că pacientele cu migrenă prezentau o reducere semnificativă a RNFL în cadranul superior ( $p < 0,005$ ). De asemenea, examinând ambii ochi la fiecare persoană cuprinsă în studiu, s-a observat o diferență semnificativă a grosimii fibrelor nervoase în același cadran la cele 2 grupuri ( $p < 0,005$ ). Conform rezultatelor acestui studiu, pacienții cu migrenă prezintă o reducere a grosimii RNFL în cadranul retinian superior, în comparație cu grupul de referință.

În acest studiu, nu au fost incluși pacienții care administrase un tratament profilactic antimigrenos și pacienții după 45 de ani, pentru a exclude afecțiunea posibilă a acestor factori la grosimea RNFL. Spre deosebire de alte studii, în prezentul au fost incluși doar subiecți de gen feminin, pentru a exclude posibilele diferențe hormonal dependente. În timpul atacului migrenos, pacienții prezintă deseori dureri retroorbitale cu

senzație de presiune. În legătură cu aceasta, M. Etemadifar et al. au efectuat un studiu, în care au evaluat eficiența  $\beta$ -adrenergicelor locale la pacienții cu migrenă. În studiul clinic, au fost incluși 43 de pacienți cu migrenă (7 bărbați și 36 de femei) cu vârsta medie de 34,2 ani, durata medie a bolii fiind de 9,5 ani și 13,1 zile lunar cu cefalee. Acestor pacienți li s-a instilat sol. Timolol maleate 0,5%, de 2 ori pe zi și s-au prezentat la vizite programate săptămânal în prima lună, apoi în săptămâna a 8-a și a 12-a după începutul tratamentului. Severitatea atacurilor migrenoase a fost apreciată subiectiv de către pacienți. După tratament, frecvența atacurilor a scăzut la 3,4 zile lunar și durata atacului migrenos a scăzut de la 16,4 ore la 2,1 ore, ceea ce este statistic semnificativ ( $p < 0,001$ ). Severitatea atacurilor, de asemenea a diminuat. Reacții adverse nu s-au raportat. Un neajuns al acestui studiu, este absența grupului de referință [33].

### References

1. Bigal ME, Lipton RB. Concepts and mechanisms of migraine chronification. *Headache*. 2008;48:7-15.
2. Henry P, Auray JP, Gaudin AF, et al. Prevalence and clinical characteristics of migraine in France. *Neurology*. 2002;59:232-7.
3. Köseoglu E, Naçar M, Talaslioglu A, et al. Epidemiological and clinical characteristics of migraine and tension-type headache in the case of 1146 women from Kayseri, Turkey. *Cephalalgia*. 2003;23:381-8.
4. Lu S-R, Fuh JL, Chen WT, et al. Chronic daily headache in Taipei, Taiwan: prevalence, follow-up and outcome predictors. *Cephalalgia*. 2001;21:980-6.
5. Moldovanu I, Odobescu S. The prevalence of headache disorders in the Republic of Moldova: a population-based study. *Cephalalgia*. 2007;27:673.
6. Scher A, Midgette LA, Lipton RB. Risk factors for headache chronification. *Headache*. 2008;48:16-25.
7. Stovner LJ, Hagen K, Jensen R, et al. The global burden of headache: a documentation of headache prevalence and disability worldwide. *Cephalalgia*. 2007;27:193-210.
8. Stovner LJ, Zwart JA, Hagen K, et al. Epidemiology of headache in Europe. *European Journal of Neurology*. 2006;13:333-345.
9. The International classification of headache disorders, 2nd edition. *Cephalalgia*. 2004;24(Suppl 1):1-160.
10. Wiendels NJ. Chronic frequent headache in the general population: prevalence and associated factors. *Cephalalgia*. 2006;26:1434-1442.
11. Bigal Marcelo E, Lipton Richard. *Headache*. 2008;48(1):7-15.
12. Gantenbien AR, Sandor PS. Physiological parameters as biomarkers of migraine. *Headache*. 2006;46:1069-1074.
13. Granziera C, DaSilva AF, Snyder J, et al. Anatomical alterations of the visual motion processing network in migraine with and without aura. *PLoS Med*. 2006;3:e402.
14. Kruit MC, van Buchem MA, Hofman PA, et al. Migraine as a risk factor for subclinical brain lesions. *JAMA*. 2004;291:427-434.
15. Kruit MC. Infarcts in the posterior circulation territory in migraine. The population-based MRI CAMERA study. *Brain*. 2005;128:2068-2077.
16. Lipton RB. Migraine diagnosis and treatment: results of the American Migraine Study II. *Headache*. 2001;41:638-645.
17. Cutrer Michael F, Black David F. Imaging Findings of Migraine. *Headache*. 2006;46(7):1095-1107.
18. Wolff HG. Headache and Other Head Pains. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Oxford University Press, 1963.
19. Lashley KS. Patterns of cerebral integration indicated by scotomas of migraine. *Arch Neurol Psychiatry*. 1941;46:331-339.
20. Leão AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol*. 1944;7:359-390.
21. Milner P. Note on a possible correspondence between the scotomas of migraine and spreading depression of Leao. *EEG Clin Neurophysiol*. 1958;10:705.

22. Cicek Wober-Bingol. Magnetic Resonance Imaging for Recurrent Headaches in Childhood and Adolescence. *Headache*. 1996;36:83-90.
23. Tood J. "Benign" imaging abnormalities in children and adolescents with headache. *Headache*. 2006;46:387-398.
24. Fazekas F, Koch M, Schmidt R, et al. The prevalence of cerebral damage varies with migraine type: A MRI study. *Headache*. 1992;32:287-291.
25. Cooney BS. Frequency of magnetic resonance imaging abnormalities in patients with migraine. *Headache*. 1996;36:616-621.
26. Kuller LH, Longstreth WT Jr, Arnold AM, et al. White matter hyperintensity on cranial magnetic resonance imaging: A predictor of stroke. *Stroke*. 2004;35:1821-1825.
27. Schmitz N. Attack frequency and disease duration as indicators for brain damage in migraine. *Headache*. 2008;48(7):1044-105.
28. Lee AG. Posterior ischemic optic neuropathy associated with migraine. *Headache*. 1996;36(8):506-10.
29. Kurth T. Migraine and risk of cardiovascular diseases in women. *JAMA*. 2006;296(3):283-291.
30. Martinez A, Proupim N, Sanchez M. Retinal nerve fibre layer thickness measurements using optical coherence tomography in migraine patients. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(8):1069-75.
31. Tan FU, Akarsu C, Güllü R. Retinal nerve fiber layer thickness is unaffected in migraine patients. *Acta Neurol Scand*. 2005;112(1):19-23.
32. Gipponi S, Scaroni N, Venturelli E, et al. Reduction in retinal nerve fiber layer thickness in migraine patients. *Neurol Sci*. 2013;34(6):841-5.
33. Etemadifar M, Abedi MR. The preventive role of topical timolol in treatment of migraine headaches. *Journal of Research in Medical Sciences*. 2005;10(5):288-291.

## Extrahepatic bile ducts

S. Suman

Department of Topographic Anatomy and Operative Surgery, School of Public Health Management Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova  
Corresponding author: sumanser@yahoo.com. Manuscript received October 02, 2013; accepted February 15, 2014

### Abstract

**Background:** It is well-known that the extrahepatic bile ducts diseases has a permanent growing rate in the overall structure of human morbidity and, therefore, their treatment takes a special place in modern surgical science. Current surgical practice has revealed a vast individual anatomical variability of the bile ducts. It is considered that 10-20% of the Earth's population have different variants of the extrahepatic bile ducts. Taking into consideration a considerable number of the blood vessels network individual peculiarities of the region, as well, variants of, their overall proportion reaches to 40-50%. An increasing number of publications in scientific journals, textbooks and atlases are dedicated to the anatomical variants of the extrahepatic bile ducts.

**Conclusions:** Theoretically, it may be found that every second person is a carrier of an individual variant of the location of the arterial and bile systems from hilum and hepatic pedicle. Moreover, their relationship with the level of hepatic peduncle frequently changes on the background of inflammation of the gall bladder or of the adjacent formations. Each encounter with the situation of an atypical location of anatomical structures of the hepato-duodenal ligament put in front of the surgery a dilemma and very often fosters the emergence of serious disabling complications, the frequency of which has no tendency to decrease. Thus, the extra-hepatic biliary ducts modify their form, dimensions, itinerary depending on the age, normal or pathological condition, affection of the organs in the neighbourhood, etc. Together with the variations of the fusion angle of the common hepatic duct with the cystic one, their topographic co-relations also vary very much, therefore the hepatic duct is oftener located medially to the cystic duct, even if other variants are not excluded either: lateral or posterior side of the common hepatic duct in regard to the cystic one, their repeated crossing, etc. The systematized information in question may condition or even determine, to a certain extent, the strategic aspects in the terms of diagnosis, treatment and prognosis.

**Key words:** extrahepatic bile ducts, individual anatomical variability.

### Căile biliare extrahepatice

La tema în cauză se cunosc numeroase publicații, care elucidează diverse variante structurale și topografice cu referire la căile biliare, atât intra- cât și extrahepatice [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Totuși, actualmente, se cere o analiză amplă a informației acumulate, atât în aspect medico-biologic, cât și aplicativ.

Așadar, cea mai voluminoasă glandă a corpului uman – ficatul, își drenează secretul/excretul în duoden. Conform obiectivelor trasate în actualul reviu, am vrea să ne referim succint numai la căile biliare extrahepatice. Morfologia lor este influențată de tipul de alimentație și de modalitatea de digestie [11, 12].

Ductul hepatic comun, de obicei, are drept surse de formare ductul hepatic drept și ductul hepatic stâng care, la un nivel sau altul, fuzionează. După unirea canalului hepatic comun cu ductul cistic apare coledocul – calea biliară principală. Iar calea biliară accesorie (numită și aparat diverticular) este reprezentată de vezicula biliară și ductul cistic. În literatura

de specialitate, canalul coledoc este cunoscut și sub denumirea de duct hepatocoledoc [13, 14].

Astfel, ductul hepatic drept se formează în hilul hepatic, uneori – intraorganic. Corelațiile lui spațiale cu ramurile lobare ale *v. portae* și ale *a. hepatica propria* variază mult de la subiect la subiect. Cele menționate se referă, pe de o parte, la numărul afluenților biliari care participă la formarea ductelor hepatice drept și stâng, pe de altă parte – la nivelul fuzionării acestor canale care colectează bila de la sectoarele ficatului.

După cum s-a menționat, interes atât în aspect fundamental cât și aplicativ, prezintă numărul surselor de formare a ductelor hepatice cu formațiuni anatomice adiacente. Așadar, de cele mai dese ori (în 51% din cazuri conform datelor relatate de C. Couinaud, 1957), ductul hepatic drept rezultă din fuzionarea a două canale, care drenează bila de la lobul hepatic drept; lungimea (la fel și diametrul) variază într-un diapazon vast. El poate fi scurt sau în număr de două canale care la unul și același nivel fuzionează cu ductul hepatic stâng.

Conform sursei sus-citate, incidența acestei variante constituie 12%. Însă nivelul de vărsare a celor două canale biliare din dreapta în ductul hepatic stâng poate fi diferit. Aceste variante, completate cu transpoziția unui canal din dreapta, cu deschidere în canalul hepatic stâng, pot atinge cca 30% din cazuri. Cu o incidență mult mai joasă, ductul hepatic stâng, la fel, poate fi constituit din două canale, care aproximativ la unul și același nivel fuzionează între ele și cu ductul hepatic drept (cca 3% din cazuri) [15].

Canalele biliare sectorale, care se varsă separat în ductul hepatic comun, nu trebuie să fie confundate cu canale biliare accesorii (adiacente). Tot în aria variabilității individuale se impune noțiunea deja amintită – transpoziția canalelor biliare, atunci când un canal care acumulează bila de la un sector lobar se varsă în ductul hepatic al lobului opus.

Ductul hepatic stâng, de regulă, se formează extraorganic, fiind amplasat în șanțul hilar transversal, în apropierea marginii posterioare a lobului pătrat, având din partea sa posterioară ramul stâng al *v. portae*. Lungimea și diametrul ductului hepatic stâng depășesc de puțin parametrii respectivi ai ductului hepatic din dreapta [16].

Din punct de vedere clinic, prezintă interes variantele când ductele hepatice drept și stâng practic lipsesc, ele fiind substituite prin 3-4 ducte, care colectează bila de la sectoarele și segmentele ficatului, iar fuzionarea lor dă naștere ductului hepatic comun. Ductul hepatic stâng, în plan morfologic, în raport cu cel drept, este mai constant.

Din punct de vedere topografic, începutul ductului hepatic comun coincide cu nivelul bifurcației *v. portae*. De cele mai dese ori, arterele hepatică dreaptă și cistică se află în spatele ductului hepatic comun, deși nu se exclud și alte variante – amplasarea vaselor sus-nominalizate din dreapta sau din stânga ductului hepatic comun ș. a. [17].

La adulți lungimea ductului hepatic comun variază de la 12-30 mm la 60-70 mm, lungimea medie fiind de cca 30 mm, iar diametrul mediu măsoară 4-5 mm [18].

Ductul hepatic comun, de obicei, la nivelul porțiunii superioare a duodenului fuzionează cu ductul cistic, formând canalul coledoc, care de cele mai dese ori se termină la nivelul treimii medii a porțiunii descendente a duodenului. Lungimea lui medie echivalează cu cca 5 cm, iar diametrul mediu constituie cca 5 mm [13].

Ductul cistic urmează vezicula biliară, având o lungime de 33-45 mm și diametrul de 3-4 mm. De menționat, că cel din urmă devine mai mare în locul joncțiunii lui cu canalul hepatic comun [14].

În literatura de specialitate, se cunosc mai multe variante de raporturi și confluențe ale canalelor hepatic comun cu cel cistic: duct cistic scurt, cu ostium pe fața laterală a ductului hepatic comun; poate fi un duct cistic lung care urmează paralel celui hepatic comun pe un traiect de câțiva centimetri.

Ductul cistic poate avea traiect spiralat, cu ostiumul pe una din fețele canalului hepatic comun: posterioară, stângă sau anterioară. Se cunosc și alte variante ale raporturilor și modului de fuzionare ale canalelor hepatic comun și cistic. De exemplu, uneori ele urmează paralel pe un traiect de 2-5 cm, fiind separate printr-un sept subțire din țesut conjunctiv

sau printr-un sept mucozal dublu – rezultat al concreșterii tunicilor mucoase ale ductelor respective. Cele menționate prezintă interes clinic, deoarece, dacă nu se ține cont de existența virtuală a variantei în cauză, în colecistectomie poate fi lezat peretele hepaticocoledocului [3, 5, 6, 10].

De remarcat faptul, că fuzionarea canalelor hepatic comun și cistic poate avea loc mult mai distal – la nivelul capului pancreasului. Semnificația acestei variante structurale a hepaticocoledocului constă nu atât în absența porțiunilor supra- și retroduodenale a lui, cât în posibilitatea apariției complicațiilor în caz de colecistectomie – bont lung al ductului cistic. Varianta în cauză a fost depistată de C. И. Юпатов (1967) în 3,9% din cazuri [10].

Așadar, revenind la aspectul topografic al canalului hepaticocoledoc, putem remarca existența confluentului biliar superior – locul fuzionării canalelor hepatice drept și stâng cu formarea ductului hepatic comun. Noțiunea *confluent biliar inferior* corespunde nivelului, la care ductul cistic se varsă în cel hepatic comun, dând naștere coledocului [19].

În componența căii biliare extrahepatice principale se descriu patru segmente: supraduodenal, retroduodenal, retropancreatic și intraparietal. Astfel, canalul hepaticocoledoc, în majoritatea cazurilor, se termină printr-un orificiu comun cu ductul pancreatic principal în ampula hepatopancreatică a lui Vater [3, 4, 5, 6, 9, 10, 13, 18, 20, 21].

Ductul hepatic comun, la rândul său, poate fi subdivizat în două porțiuni: 1 – cea situată în șanțul transvers al feței inferioare a ficatului, la nivelul hilului hepatic, anterior de celelalte componente ale pediculului hepatic; 2 – porțiunea situată la nivelul pediculului hepatic. Referitor la ductul coledoc s-au descris trei porțiuni: 1 – retroduodenală; 2 – retropancreatică și 3 – intraparietală [18]. Atât clinicienii, cât și morfologii, acordă o atenție deosebită raporturilor dintre pancreas și coledoc, când cel din urmă este amplasat intraorganic, deoarece afectarea unui organ poate implica în procesul patologic și celălalt organ [6, 21, 22].

Principiul componenței histologice a peretelui căilor biliare extrahepatice, cu excepția veziculei biliare, în linii generale, rămâne același ca și în perioada prenatală de dezvoltare a organismului. Peretele lor este constituit din două tunici: 1 – tunica mucoasă și 2 – tunica musculofibroasă. Tunica mucoasă include în componența sa stratul epitelial și lama proprie. Epiteliocitele au formă prismatică, ele fiind amplasate într-un rând. Printre epiteliocitele de acoperire pot fi observate și celule caliciforme solitare. În citoplasma epiteliocitelor căilor biliare extrahepatice pot fi observate incluziuni – granule care conțin pigmenți biliari, lipide; ceea ce poate servi drept argument în favoarea funcției de resorbție a celulelor epiteliale. Lama proprie include în componența sa fascicule colagene, fibre elastice în număr destul de mare, ele fiind orientate atât longitudinal cât și circular în raport cu axul mare al componentelor căilor biliare. Printre structurile fibrilare sus-nominalizate pot fi observate și celule musculare netede, însă într-un număr mai mic. Aglomerările de celule musculare netede, în anumite zone, formează sfinctere ale căilor biliare. În tunica mucoasă a căilor biliare se depistează glande tubulare, care pot avea formă glomerulară sau ramificată, deși ele mai mult amintesc criptele intestinale.

Tunica fibromusculară este constituită din țesut conjunctiv preponderent lax, în care predomină fascicule colagene, fibre elastice, cu diversă orientare spațială. Pe acest fundal, de rând cu celulele țesutului conjunctiv, se conțin și celule musculare netede. Tunica în cauză formează conexiuni cu organele adiacente [23, 24, 25].

La multiplele mecanisme de conectare ale tractului digestiv se referă și aparatul sfincterian al căilor biliare extrahepatice. În literatura morfologică și clinică, schematic, se menționează că cele din urmă sunt dotate cu patru sfinctere: sfincterul Mirizzi – cu sediul la nivelul locului de fuziune a canalelor hepatice drept și stâng. Sfincterul Lutkens este localizat imediat sub ostiumul ductului cistic și unirea lui cu ductul hepatic comun; el dirijează pătrunderea bilei în colecist. Alte două sfinctere – cel descris de Oddi, iar ceva mai distal de el se află sfincterul descris de Westphal – ambele cu sediu în porțiunea intramurală a coledocului. Drept dispozitiv de dirijare a fluxului bilei servește și *valvula spiralis* – Heiseri [9, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

### Concluzii

Căile biliare extrahepatice își modifică forma, dimensiunile, traiectul în funcție de perioada de vârstă, de starea normală sau patologică, de afectarea oganelor adiacente ș. a. De exemplu, colecistul piriform este caracteristic pentru persoanele de vârstă tânără și matură, cel de formă conică predomină în perioada senilă; modificările patologice mai des se asociază cu forma cilindrică sau cu deformarea veziculei biliare. De rând cu variațiile unghiului de confluere a ductului hepatic comun cu cel cistic, variază mult și corelațiile topografice ale lor; astfel ductul hepatic comun, mai des, este amplasat medial de ductul cistic, deși nu se exclud și alte variante: sediul lateral sau posterior al ductului hepatic comun în raport cu cel cistic, intersectarea repetată a lor ș. a.

Astfel, informația obținută și sistematizată în actualul reviu poate condiționa sau chiar determina, în anumită măsură, aspectele strategice în sens diagnostic, curativ și pronostic ale proceselor patologice care frecvent afectează zona în cauză.

### References

1. Duca S, Pașca T, Bîrle Gh, et al. Rezultate imediate și tardive în sfînteroplastia oddiană [Immediate and late results in sphincteroplastia Oddi]. *Chirurgia*. 1986;35(3):191-198.
2. Papilian V. Anatomia omului. Splanhnologia [Human Anatomy. Splanhnology]. Ed. 9. București: ALL, 1998.
3. Șerbina R. Hidrodinamica biliară în perioada postoperatorie precoce și modalitățile de corecție ale hipertensiunii biliare [Biliary hydrodynamics in the early postoperative period and arrangements for the correction of high biliary tension]. Teză de doctorat [PhD thesis]. Iași, 2003.
4. Voylenko VN. Osobennosti topografii obshchego pechionochno go i zhelchnogo protokov pri patologii i ikh znachenie v khirurgii [Features of the topography of the common hepatic and gall ducts in the pathology and their significance in surgery]. V: *Khirurgicheskaya anatomiya i vostonovitelnaya khirurgiya organov pishchevaritelnogo trakta* [In: Surgical anatomy and reconstructive surgery of digestive organs]. Kiev: „Zdorovia”, 1968:120-121.
5. Gugushvili LL. Khirurgicheskaya anatomiya i arterialnoe krovosnabzhenie vnepechionochnykh zhelchnykh protokov [Surgical anatomy and the arterial supply of extrahepatic bile ducts]. Avtoref. kand. disertatsii. *Meditsina*, 1972;297-384.
6. Umbrumyants OA. O topografii krovenosnykh sosudov i zhelchnykh protokov v vorotakh pecheni [About the topography of blood vessels and bile ducts in the porta hepatis]. *Vestnik Khirurgii [Bulletin of Surgery]*, 1967;98(6):52-57.
7. Frauchi VH. Topograficheskaya anatomiya i operativnaya khirurgiya zhivota i taza [Topographic anatomy and operative surgery of the abdomen and pelvis]. Izdatelstvo Kazanskogo universiteta [The publisher of Kazan university], 1966;175-218.
8. Yupatov SI. O strukture zhelchnykh khodov i ikh vzaimootnosheniakh s sosudami [About the structure of the bile ducts and their relationship with the vascular system]. Avtoreferat doktorskoy dissertatsii [The author's abstract of PhD thesis]. Moscow, 1967;27.
9. Boyden EA. The anatomy of the choledochoduodenal jonction in man. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1957.
10. Vlad M. Carrefour-ul biliopancreatic [Carrefour's biliopancreatic]. București: Modelism, 1999;173.
11. Ifrim M, Andrieș V, Bratu D. Anatomia omului [Human Anatomy]. Chișinău: Editura de Stat, 2007;304-317.
12. Niculescu V, Niculescu MC. Studiul unor variante de origine a ramurilor trunchiului celiac [Study of the original variants of celiac trunk branches]. Al VIII-lea Congres Național al Societății Anomiștilor din România. Rezumate [VIII national Congress of the Anatomists' Society in Romania. Summary]. București, 2006;104-105.
13. Couinaud C. Le foie. Études anatomiques et chirurgicales [The liver. Anatomical and surgical studies]. Paris: Masson et Co, 1957.
14. Oliver Cl. Chirurgie des voies biliaires extra- et intrahepatiques [Extra- and intrahepatic surgery of biliary tract]. Paris: Masson, 1961;13-17, 23-26.
15. Papilian V. Anatomia omului (ediție revizuită și adăugată de I. Albu) [Human Anatomy (the edition revised and added by I. Albu)]. București: Editura didactică și pedagogică, 1974.
16. Niculescu V, Niculescu M. Abdomenul [Abdomen]. Litografia U.M.F. „Victor Babeș”, Timișoara: Eurostampa, 2006;33-42; 128-152; 209-266.
17. Ifrim M, Niculescu Gh. Compendiu de anatomie [Anatomy Compendium]. București, 1988;402-434.
18. Albu I, Geordia R. Anatomie clinică [Clinical Anatomy]. Ed. III rev. și adăug [The III-d edition, corrected and supplemented]. București: BIC ALL, 2004;145-170.
19. Duca S. Sfînterul lui Oddi. Patologie și terapeutică chirurgicală [Sphincter of Oddi. Pathology and surgical therapeutics]. București, 1983;183.
20. Delmont J. Le Sphincter d'Oddi: Anatomie traditionnelle et anatomie fonctionnelle [The sphincter of Oddi: traditional anatomy and functional anatomy]. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 1979;3:157-165.
21. Buligescu L. Tratat de hepatogastroenterologie [Treatise on hepatogastroenterology]. București, 1999;2:788-82.
22. Chevrel IP, Fontaine C. Anatomie Clinique du Tronc [Clinical Anatomy of Trunk]. V. 2. Paris, 1994.
23. Eliseev VT, Afanasiev YuI, Kopaev YuN, et al. Histologia [Histology]. Moscow: Medicine, 1972;473-487.
24. Abell TL, Wercman RF, Familoni BO, et al. Biliare, pancreatic and sphincter of Oddi electrical and mechanical signals recorded during ERCP. *Digestive Diseases and Science*. 1998;43(3):540-546.
25. Coelho JCU, Wiederkehr JC. Motility of Oddi's sphincter. Recent developments and clinical applications. *Am. J. Surgery*. 1996;172(1):48-51.
26. Juvara I, Vereanu I. Studiul reliefului endocolocian [Study of endocolocian relief]. *Chirurgia*. 1973;11(10):11.
27. Toouli J. Sphincter of Oddi motility. *Br. J. Surg.* 1984;71:251-256.
28. Miasnikov AD, Suvorov EG. Anatomico-topograficheskie osobennosti ven podzheludochinoy zhelezy cheloveka [Anatomic and topographic features of human pancreatic veins]. Nauchnye trudy 2-i Vsesoyuznoi tematicheskoy konferentsii. Razvitie, morfologiya i plastichnosti venoznogo rusla v usloviakh normy, patologii i experimenta [The theses of the 2<sup>nd</sup> all-union thematic conference. Development, morphology and plasticity of the venous bed in the conditions of norm, pathology and experiment. M.: Medicine, 1979;206-207.
29. Sako FF. Morfologicheskoe osnovy sfinkterov pishchevaritelnogo trakta [Morphological basis of sphincters of the digestive tract]. V: *Fiziologiya i patologiya sfinkternykh aparatov pishchevaritelnogo sistema* [Physiology and pathology of sphincter apparatus of the digestive system. Tomsk, 1984;33-38.

## *Hypericum perforatum* L. and its component Hiperforin in the treatment of various diseases

C. Matcovschi<sup>1</sup>, V. Gonciar<sup>1</sup>, \*S. Matcovschi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: sergiu.matcovschi@usmf.md. Manuscript received January 20, 2014; accepted April 05, 2013

### Abstract

**Background:** St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) is a plant known and used since ancient times, but it has gained popularity in the past 20 years as a remedy effective in treating depression. Throughout the centuries St. John's Wort has been used to treat digestive disorders, helminthiasis, injuries, consequences of trauma, fever, snake bites, mental disorders and other pathologies. It was very popular until the advent of synthetic drugs. The effects of St. John's wort were "rediscovered" in the late 1970s – early 1980s by German doctors who ultimately approved St. John's wort as a prescription drug to treat depression. Since the adverse effects of synthetic antidepressants limited the use and acceptance by many patients, in the last two decades there has been an increased demand to alternative treatment of depression with drugs from *Hypericum perforatum* L. that have a high efficiency, as compared to synthetic antidepressants, but produce smaller adverse effects, and a lower rate of abandonment of treatment by patients. In this article some other effects of St. John's wort, including the effect of healing, antifungal, anti-inflammatory, antimycobacterial, antiviral etc are demonstrated. The most important active substance responsible for various pharmacological effects of St. John's wort is hyperforin.

**Conclusions:** Since hyperforin in its pure form is unstable, it is of great interest and importance to study the action of hyperforin extracted from flowers of St. John's wort of local flora of the Republic of Moldova in the laboratory of Scientific Center of Drug Investigation of Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy, which presents the diethylammonium salt of hyperforin (hyperforin-diethylammonium) and is characterized by a good stability: in dry form it keeps unchanged at least one year and a half.

**Key words:** *Hypericum perforatum* L., St. John's wort, hyperforin.

## *Hypericum Perforatum* L. și componenta ei Hiperforina în tratamentul diverselor maladii

### Introducere

*Hypericum Perforatum* L., numită în popor și sunătoare, pojarăniță, buruiană de foc, floare de năduf sau crucea voinicului, este o plantă erbacee, perenă, cu flori galbene, care crește spontan pe câmpii și dealuri, la margine de drumuri și păduri și înflorește din iulie până în septembrie. Ea are miros aromat, balsamic, ușor rășinos și un gust amarui-astringent. Această plantă atinge o înălțime de 25-60 cm, are o tulpină lungă și ramificată, ușor lemnoasă în partea de jos, și înflorește în cime galben-aurii.

*Hypericum Perforatum* L. este o plantă cunoscută și folosită din antichitate, în special pentru uz extern, dar a obținut o popularitate sporită în Europa și SUA, în ultimii 20 de ani, ca remediu eficient în tratamentul dereglărilor psihice, în special al stărilor de depresie ușoară și moderată, conform Clasificării Internaționale a Maladiilor CIM-10 (ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision) [11].

De-a lungul veacurilor, sunătoarea a fost utilizată pentru tulburări digestive, helminți, vindecarea rănilor, consecințelor traumatismelor, febră, mușcături de șarpe, dereglări psihice și alte patologii. A fost foarte populară până la apariția medicamentelor sintetice.

Folosirea *Hypericum Perforatum* L. în tratamentul diverselor maladii a fost documentată de medicii antici greci, care cunoșteau bine plantele, Hippocrates (cca. 460-377 î. Hr.), Theophrastus (cca. 372-287 î. Hr.), Dioscorides (cca. 40-90) și Galen (cca. 130-200) [11].

În sec. XIII, sunătoarea este menționată în lista de plante

medicinale de la Școala medicală din Salerno ca *Herba demonis fuga* sau „planta care alungă diavolul” [42].

Utilizarea sunătoarei în tratarea depresiei se datează din timpul lui Paracelsus, medic, botanist, alchimist, fizician, astrolog, teolog și filozof elvețian din perioada Renașterii (cca. 1493-1541), dar mulți autori cred că grecii antici au folosit această plantă pentru tratarea bolilor psihice pe care le etichetau ca fiind demonice [26]. Sunătoarea a fost remarcată pentru prima dată ca un remediu contra melancoliei și “neburniei” de botanistul, herbalistul, medicul și astrologul englez Nicholas Culpeper (1616-1654), în 1652 [23].

În 1597, J. Gerard [36], faimosul botanist englez, s-a referit la unguentul de sunătoare ca la cel mai bun și prețios remediu cu acțiune cicatrizantă. El scria că medicamentele pregătite din florile și semințele acestei plante sunt eficiente ca diuretice și contra calculilor din vezica urinară, iar frunzele sunt bune pentru a fi puse pe arsuri și răni și, de asemenea, contra ulcerelor purulente și murdare. Sunătoarea pe atunci era atât de populară, încât chirurgii o foloseau pe larg pentru curățarea rănilor și ea a fost inclusă în prima Farmacopee oficială din Londra (1618) [93]. N. Culpeper [23] a menționat, în 1652, proprietățile unice în vindecarea rănilor ale unguentului pe baza acestei plante. El a menționat, de asemenea, proprietățile benefice ale plantei împotriva înțepăturilor și mușcăturilor de animale veninoase.

Alte utilizări populare ale sunătoarei includeau tratamentul calculilor și ulcerărilor ureterelor [45], pentru terapia ulcerărilor rinichilor, a febrei, a helminților, icterului, gutei, reumatismului [38]. R. E. Griffith [39] a menționat că planta

poate fi aplicată în formă de ulei sau unguent pentru ulcere, tumori, și ca diuretic. Unul dintre primii și cei mai vestiți doctori, care au folosit sunătoarea, a fost Dioscorides, medic militar în armata împăratului roman Nero. El a recomandat-o pentru sciatică, arsuri, ca diuretic, pentru tratarea febrei periodice [41].

La sfârșitul anilor 1800, sunătoarea era administrată în maladii urinare, diaree, icter, menoragie, isterie, depresie și traumatisme. În ultimul timp, sunătoarea a fost utilizată ca remediu popular în tratamentul carcinomului ovarian, cancerului uterin, cancerului gastric, tumorilor limfatice, astmului bronșic, diareei, dizenteriei, neurasteniei, depresiei nervoase, isteriei, cataractei, rabiei, helmintozei, hemoragiilor, afecțiunilor urinare etc. [81].

Ea a fost utilizată pe larg în medicina populară din Germania pentru a depăși oboseala, indispoziția și depresia, ceea ce a cauzat necesitatea de a studia extractele de *Hypericum* în conformitate cu metodele științifice și obiective [42].

Efectele *Hypericum Perforatum* L. au fost „redescoperite” la sfârșitul anilor ‘70 și începutul anilor ‘80 de către medicii germani care, în cele din urmă, au aprobat sunătoarea ca un medicament de bază pentru tratamentul depresiei ușoare. Într-un scurt răstimp, sunătoarea a depășit orice alt medicament antidepressiv utilizat în Germania și rămâne a fi până în prezent un remediu terapeutic de importanță națională [26, 43]. Sunătoarea a început să fie folosită tot mai pe larg în Europa, în special în Germania, după ce a fost aprobată în 1984 de „German Commission E”, iar în 1999, această plantă a fost introdusă în Farmacopeea Europeană [11]. În 1998, vânzările preparatelor obținute din sunătoare au constituit 6 miliarde de dolari SUA [44].

Medicamentele obținute din *Hypericum Perforatum* L. au fost admise și pe piața SUA prin înregistrarea lor de către „Food and Drug Administration (FDA)” în 1994, iar suma vânzărilor din 1995 până în 1997 s-a majorat de la 20 de milioane, până la 200 de milioane dolari SUA [11]. În SUA, în 2002, s-au tratat cu preparate obținute din *Hypericum perforatum* L. 12% din populație [97].

În ultimul timp, interesul cercetătorilor s-a concentrat pe efectele antidepressive ale *Hypericum perforatum* L. Cu toate acestea, planta are și alte acțiuni, inclusiv acțiune cicatrizantă [76], antifungică [65], antiinflamatoare [50], antimicobacteriană [32], antivirală [79].

#### **Efectul antidepressiv**

Depresia este considerată o boală de vârf, în mare extindere la acest început al mileniului trei. Ea prezintă o stare patologică gravă, care se manifestă prin deprimare accentuată, tristețe, descurajare profundă și pesimism cronic, toate asociate cu neliniște și scăderea tonusului general de rezistență al organismului.

Depresia este una din cele mai frecvente probleme psihologice întâlnite în practica medicală. Organizația Mondială a Sănătății prognozează, că depresia severă va fi a doua principală cauză de invaliditate la nivel mondial, până în 2020 [97]. Aproximativ 75% din stările de depresie sunt de gravitate ușoară sau moderată și sunt tratate în instituțiile de acordare a

asistenței medicale primare. Majoritatea pacienților se află în plină activitate socială și ocupațională și au o vârstă cuprinsă între 25 și 50 de ani [48].

În tratamentul stărilor de depresie, cel mai des se recurge la psiho- și farmacoterapie. Dar, efectele adverse ale antidepressivelor sintetice limitează folosirea și acceptarea lor de mulți pacienți, îndeosebi, de cei ce necesită administrarea de durată a acestor medicamente. Nu sunt rare cazurile când bolnavii abandonează tratamentul cu medicamente sintetice peste câteva săptămâni de la debutul bolii. Tratamentul depresiei cu medicamente sintetice contemporane se încheie cu succes doar în 65-75% din cazuri și numai la 40-50% dintre pacienți starea psihologică se normalizează complet [48].

Deaceia, în ultimele 2 decenii, tot mai des se recurge la tratamentul de alternativă al pacienților depresivi cu preparate obținute din sunătoare, care au o eficacitate înaltă și produc puține efecte adverse.

Eficacitatea înaltă a *Hypericum Perforatum* L. i-a motivat pe mulți cercetători să caute și alte plante valoroase în tratamentul depresiei. Experiențe îndelungate au depistat numeroase preparate antidepressive naturale. S-a stabilit, că o serie de medicamente pe bază de plante par a fi promițătoare în managementul depresiei ușoare și moderate [27, 54]. Dar, unii autori exprimă un grad de scepticism în privința utilității acestor remedii [80].

Examinând studiile referitoare la 27 de medicamente pe bază de plante, J. Sarris [82] a ajuns la concluzia, că sunătoarea este una din cele mai eficiente în tratamentul anxietății și depresiei. La aceeași concluzie se ajunge și în altă lucrare a acestui autor, publicată mai recent [83]. Efectul sunătoarei în tratamentul depresiei este demonstrat și în experiențe pe animale [99], șoareci [6] și șobolani [63].

În prezent, nu există suficiente dovezi clinice solide pentru utilizarea altor medicamente pe bază de plante în tulburările psihice.

K. Linde și colab. [59] consideră, că dovezile actuale privind extractele de *Hypericum* sunt inconsecvente și confuze. Meta-analiza efectuată de ei, demonstrează că în unele studii, la pacienții internați care îndeplinesc criteriile pentru depresie majoră, extractele de *Hypericum* au efecte benefice minime, în timp ce alte studii sugerează că *Hypericum* și antidepressivele standarde, au efecte benefice similare.

Cu toate acestea *Hypericum Perforatum* L. rămâne cel mai eficace remediu, uimind și în prezent prin eficacitatea sa dovedită în diverse studii clinice [16].

Studiile preclinice efectuate pe animale sugerează că *Hypericum Perforatum* L. este eficace în trei sisteme majore biochimice relevante pentru activitatea antidepressivă, și anume inhibarea recaptării serotoninei, noradrenalinei și dopaminei în neuroni [68].

Comparată cu celebrul Prozac (fluoxetină), extractul de *Hypericum Perforatum* L. a demonstrat proprietăți antidepressive cel puțin egale, uneori mai mari decât ale acestuia. În studiul randomizat al lui M. Fava, și colab. [28], realizat în Massachusetts General Hospital din Boston, SUA, după metoda aleatorie, dublu-orb, au fost examinate 3 loturi de

pacienți, administrând 900 mg/zi de extract standardizat de sunătoare, 20 mg/zi de fluoxetină sau placebo, timp de 12 săptămâni. Evaluarea pacienților s-a efectuat în conformitate cu scara Hamilton (HAMD-17) a depresiei și a revelat scoruri mai joase ale gradului de depresie pentru pacienții tratați cu extract de *Hypericum Perforatum* L. comparativ cu cei care au administrat fluoxetină ( $10,2 \pm 6,6$  față de  $13,3 \pm 7,3$ ,  $p < 0,03$ ). De asemenea, și ratele de remisiune (scorul pe scara Hamilton  $< 8$ ) ale bolii au fost mai crescute la bolnavii care au primit hiperforină (38% față de 30% pentru fluoxetină și 21% pentru placebo). Ambele loturi tratate cu substanțe active (*Hypericum Perforatum* L. și fluoxetină) au demonstrat rezultate net superioare lotului care a luat placebo.

Substanța activă responsabilă de acțiunea farmacologică a sunătoarei este hiperforina, un fluoroglucinol care acționează asupra neurotransmișilor din creier prin mai multe mecanisme, cum ar fi: inhibarea recaptării serotoninei, dopaminei, noradrenalinei, dar și a GABA (acid gamma-aminobutiric) și glutamatului, creșterea concentrației intracelulare a sodiului și calciului în neuroni [9, 87, 97]. Cu toate că inhibarea recaptării este responsabilă, în cea mai mare parte, pentru efectul antidepressiv și alte mecanisme ar putea contribui, de asemenea, la exercitarea acțiunii globale antidepressivă [69]. După părerea lui K. Leuner și colab. [58], hiperforina reprezintă o substanță interesantă, dintr-o clasă nouă de medicamente antidepressivă.

Dar, nu se exclude faptul că și alte substanțe active (hipericina, pseudo hipericina, o gamă largă de flavonoide etc.) pot cauza o acțiune antidepressivă a sunătoarei [16, 17, 19].

O echipă de cercetători de la Pro Science Private Research Clinic GmbH din Linden, Germania, a efectuat un studiu randomizat, dublu-orb, controlat cu placebo, pe trei grupuri a câte 18 voluntari în fiecare pentru a determina efectele asupra electroencefalogrammei (EEG) a două extracte din sunătoare: hipericină și diferite cantități de hiperforină. Ei nu au observat niciun efect asupra EEG pentru hipericină, dar au găsit efecte asupra EEG, care corelau cu conținutul de hiperforină. Autorii consideră, că produsele din sunătoare, care conțin cantități mari de hiperforină au un efect protectiv asupra sistemului nervos central [84]. Această ipoteză a fost confirmată și într-un studiu experimental pe șobolani [25].

W. E. Muller și colab., [66] de la Department of Pharmacology, Biocenter University of Frankfurt, Germania, au comparat efectul hiperforinei cu cel al hipericinei și kaempferolului (alți componenți ai sunătoarei) asupra receptorilor adrenalinei și ai serotoninei în creier la șobolani. Autorii au constatat efectul hiperforinei asupra acestor receptori, în timp ce nici hipericina și nici kaempferolul nu au exercitat niciun efect asupra lor [66].

G. Laakmann și colab. [52, 53] au efectuat un studiu multicentric, randomizat, dublu-orb, controlat cu placebo, pentru a aprecia eficacitatea clinică și siguranța a două extracte diferite de sunătoare, cu care au tratat în condiții de ambulatoriu 147 de bărbați și femei, care sufereau de depresie ușoară sau moderată. În timpul perioadei de tratament de 42 de zile, pacienții au primit câte 1 comprimat de 3 ori pe zi de placebo, extract de *Hypericum* WS 5573 (300 mg, cu un conținut de 0,5% de

hyperforină), sau extract de *Hypericum* WS 5572 (300 mg, cu un conținut de 5% de hyperforină). Procesul de fabricare a ambelor preparate de *Hypericum* a fost identic, astfel încât ele diferă numai în ceea ce privește conținutul lor în hiperforină. Simptomele depresive au fost evaluate în zilele 1, 7, 14, 28, și 42, folosind Scala de evaluare Hamilton pentru Depresie (HAMD-17) și Scala de autoevaluare a Depresiei (Depression Self-Rating Scale) în modificarea von Zerssen. De asemenea, a fost evaluat gradul de severitate a bolii în zilele 1 și 42, utilizând Scala „Clinical Global Impression (CGI) scale”. Rezultatele obținute au demonstrat, că efectul terapeutic al sunătoarei în depresia ușoară și moderată depinde de concentrația de hiperforină în medicament. Rolul hiperforinei în tratamentul depresiei a fost demonstrat și în alte studii [10, 21] și confirmat mai târziu și de alți cercetători [94, 98].

Savanții germani A. Singer și colab. [87], de la Universitatea din Frankfurt, au demonstrat că hiperforina mărește concentrația intracelulară a sodiului în neuroni. Această creștere determină inhibarea transportorului responsabil de recaptarea serotoninei, cu apariția efectului antidepressiv. Blocarea transportorului nu este atât de intens ca în cazul antidepressivelor clasice, deaceia și efectele adverse sunt mai reduse. Până în prezent, hiperforina este singurul antidepressiv cunoscut care acționează în acest mod. Celelalte antidepressivă care inhibă recaptarea serotoninei, nu acționează asupra canalelor de sodiu.

Într-un studiu dublu-orb, randomizat, placebo-controlat, efectuat pe 375 de pacienți, Y. Lecrubier și colab. [57] au investigat siguranța și eficacitatea antidepressivă a extractului hidroalcoolic de *Hypericum perforatum* SW 5570, administrat câte 300 mg, de trei ori pe zi. Bolnavii au fost examinați la debutul cercetării și după 1, 2, 4 și 6 săptămâni de tratament. Autorii au constatat, că preparatul evaluat are o siguranță înaltă și eficacitate mai mare decât placebo în tratarea depresiei ușoare și moderate.

În alt studiu multicentric, de asemenea dublu-orb, randomizat, placebo-controlat, efectuat de M. Gastpar și colab. [37] din Departamentul de Psihiatrie și Psihoterapie de la Universitatea din Essen (Germania), scopul a fost de a demonstra non-inferioritatea și siguranța extractului de *Hypericum* STW3-VI, administrat o dată pe zi, față de inhibitorul selectiv al recaptării serotoninei citalopram (20 mg) în tratamentul depresiei moderate. Cura de tratament a durat 6 săptămâni. Autorii au ajuns la concluzia, că eficacitatea extractului de *Hypericum* STW3-VI (900 mg), administrat o dată pe zi, nu este inferioară celei a citalopramului, administrat în doză de 20 mg/zi. Ambele preparate au avut o activitate net superioară în comparație cu placebo. Extractul de *Hypericum* STW3-VI a demonstrat și o mai bună siguranță și tolerabilitate în comparație cu citalopramul. Aceste rezultate au arătat, că extractul de *Hypericum* STW3-VI este o bună alternativă a antidepressivelor chimice în tratamentul ambulatoriu al pacienților cu depresie moderată.

K. Linde și colab. [60] au analizat datele despre eficacitatea sunătoarei, publicate în 29 de studii (total 5489 de pacienți), inclusiv 18 cercetări de comparație a extraselor de *Hypericum*



*Perforatum* L. cu placebo și 17 investigații de comparație a extraselor de *Hypericum Perforatum* L. cu antidepressive standard, sintetice. Concluziile autorilor au fost următoarele: datele disponibile sugerează, că extractele de *Hypericum* testate în studii a) sunt superioare față de placebo la pacienții cu depresie majoră, b) sunt la fel de eficiente ca și antidepressivele sintetice standard și c) au mai puține efecte adverse decât antidepressivele standard.

Într-un studiu prospectiv, efectuat pe un lot de 440 de pacienți cu depresie ușoară sau moderată, a fost apreciat efectul tratamentului de durată (52 de săptămâni) a unui extract standardizat de sunătoare, administrat în doză de 500 mg/zi. Scorul Hamilton al depresiei (HAMD), a scăzut de la valoarea inițială de 20,58 până la 12,07 peste 26 de săptămâni și până la 11,18 peste 52 de săptămâni. Rata efectelor secundare a fost mai mică decât la administrarea antidepressivelor standard [13].

R. Nahas și O. Sheikh [67] au trecut în revistă metodele complementare și alternative de tratament al tulburărilor depresive majore. Au fost selectate doar studiile relevante efectuate pe oameni. Autorii au ajuns la concluzia, că există dovezi convingătoare că sunătoarea este eficientă ca monoterapie, dar trebuie de ținut cont de posibilele interacțiuni ale plantei cu alte medicamente.

Sunătoarea este de obicei bine tolerată, cu efecte adverse minime din partea tractului gastro-intestinal, oboseală și fototoxicitate. În general, nu se recomandă pentru a fi utilizată în asociere cu alte antidepressive [62].

Povara cheltuielilor în creștere ce țin de îngrijirea sănătății psihice a populației dictează necesitatea obținerii informației cu privire la rezultatele clinice și economice ale utilizării medicamentelor complementare și alternative. O meta-analiză efectuată de D. Solomon și colab. [88] a studiilor randomizate, controlate, din perioada 1994-2010 a demonstrat, că preparatele din *Hypericum perforatum* L. sunt superioare față de placebo și la fel de eficiente ca și antidepressivele standard în tratamentul depresiei ușoare și moderate. Un avantaj clar față de antidepressivele chimice îl constituie frecvența redusă a efectelor adverse și ratele mai mici de abandonare a tratamentului de către pacienți, precum și raportul cost-eficiență optimal. Cel mai important risc, asociat cu utilizarea sunătoarei, îl prezintă interacțiunile posibile cu alte medicamente, dar el poate fi atenuat prin folosirea extractelor cu conținut scăzut de hiperforină. Deoarece costurile indirecte, cauzate de depresie, sunt de cinci ori mai mari decât costurile directe de tratament și ținând cont de creșterea prețurilor antidepressivelor farmaceutice, costul relativ scăzut al extractului de *Hypericum perforatum* L. îl face important din punct de vedere economic în terapia depresiei ușoare și moderate [88]. Acest fapt poate avea un rol important în tratamentul pacienților, care nu-și pot permite antidepressive standard sau care nu le pot tolera din cauza efectelor adverse [35].

Conform datelor S. Lawvere și M. C. Mahoney [56] de la Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, New York, preparatele standardizate ale extractelor de sunătoare sunt disponibile la prețuri de la 10 până la 25 de dolari SUA pentru o lună de

tratament. Dar, este important să știm, că nu toate produsele din sunătoare sunt standardizate.

#### **Efectul antiinflamator, regenerativ și cicatrizant**

*Hypericum perforatum* L. a fost folosit mult timp cu succes ca un remediu pentru cicatrizarea rănilor și accelerarea vindecării arsurilor. Efectul lui poate fi explicat parțial prin acțiunea sa antibacteriană [81]. Tinctura obținută din flori și frunze proaspete ale acestei plante medicinale s-a dovedit mai eficientă, atunci când a fost administrată oral la șobolanii albi, decât aplicarea ei topică și mai eficientă decât *Calendula* (o altă plantă cu efect cicatrizant). În tratarea rănilor, epitelizarea a avut loc în 15 zile de tratament cu *Hypericum perforatum* L. și în 16,5 zile în lotul tratat cu *Calendula* [76].

Eficacitatea sunătoarei este confirmată și în cercetări clinice. Într-un studiu pe un lot de 24 de femei, cărora li s-a efectuat recent operații cezariene, s-a examinat acțiunea unui extract de ulei de *Calendula* în combinație cu *Hypericum perforatum* L. în proporție de 30:70, în comparație cu acțiunea extrasului din ulei de grâu. Pacientele tratate cu *Hypericum/Calendula* au prezentat o scădere mai mare (cu aproximativ 38%) a perimetrului plăgilor, comparativ cu pacientele din lotul martor (cu aproximativ 16%) [55].

Rezultatele studiului lui I. P. Sântar și colab. [91] au demonstrat, că părțile aeriene ale *Hypericum perforatum* L., plantă folosită pe larg în Turcia, contribuie la vindecarea plăgilor și au efect anti-inflamator.

N. Oztürk și colab. [72] explică activitatea cicatrizantă a *Hypericum perforatum* L. prin creșterea producției de collagen și activarea celulelor fibroblaste, care joacă un rol decisiv în vindecarea plăgilor.

Rezultatele studiului original, efectuat de E. J. Hunt și colab. [47] sugerează, că extractul de *Hypericum perforatum* L. inhibă producerea de radicali liberi în celule și țesuturi vasculare umane.

Este cunoscut faptul, că sunătoarea posedă și efect antiinflamator [70]. *Oleum Hyperici*, extractul uleios de sunătoare, este unul dintre cele mai vechi remedii populare, în mod tradițional utilizate în tratamentul topic al plăgilor, vânătăilor, ulcerelor, tăieturilor, arsurilor, hemoroizilor și, de asemenea, pe rol de antiseptic [3]. A. L. Miller [64] menționează, că sunătoarea este eficientă în vindecarea rănilor, având acțiune antiinflamatoare și analgezică.

Studiul efectuat de E. Tedeschi și colab. [92] demonstrează, că extrasele de sunătoare pot fi de perspectivă în tratamentul bolilor inflamatorii cronice. Despre efectul antiinflamator moderat al sunătoarei relatează și J. Barnes și colab. [8]. Folosirea *Hypericum perforatum* L., partea componentă esențială a căruia este hiperforina, în tratamentul simptomatic al inflamațiilor minore ale pielii și ca un suport în vindecarea rănilor minore a fost recunoscută și oficializată în Uniunea Europeană [77]. S. Sosa și colab. [89] au demonstrat în experiențe pe șoareci efectul antiinflamator la administrarea topică a *Hypericum perforatum* L. și ale unor componente ale plantei, inclusiv ale hiperforinei.

C. M. Schempp și colab. [86] au efectuat un studiu prospectiv, randomizat, dublu-orb, controlat cu placebo, monocentric,

pentru a aprecia eficacitatea unei creme, care conține *Hypericum*: extract standardizat de 1,5% de hiperforină (*verum*), în comparație cu *placebo* în tratamentul dermatitei atopice subacute. La 21 de pacienți care sufereau de dermatită atopică, cu evoluție ușoară sau moderată cu scorul SCORAD (The Scoring of Atopic Dermatitis) egal în medie cu 44,5, tratamentul cu *verum* sau *placebo* a fost aplicat de 2 ori pe zi în mod aleatoriu, pe partea stângă sau dreaptă a corpului. Pacienții au fost tratați timp de patru săptămâni. Optsprezece pacienți au încheiat studiul. Intensitatea leziunilor eczematoase s-au îmbunătățit pe ambele părți tratate. Cu toate acestea, *Hypericum*-crema a fost semnificativ superioară față de *placebo* la toate vizitele clinice (zilele 7, 14, 28) ( $p < 0,05$ ). Colonizarea pielii cu *Staphylococcus aureus* a fost redusă atât cu *verum*, cât și cu *placebo*, indicând o tendință de activitate antibacteriană mai bună a *Hypericum*-cremei ( $p = 0,064$ ). Toleranța pielii și compatibilitatea cosmetică a fost bună sau excelentă atât cu *Hypericum*-crema cât și cu *placebo*. Acest studiu arată o superioritate semnificativă a *Hypericum*-cremei, comparativ cu *placebo*, în tratamentul local al dermatitei atopice ușoare și moderate. Cu toate acestea, autorii consideră că eficacitatea terapeutică a *Hypericum*-cremei trebuie să fie evaluată în studii suplimentare pe un lot mai mare de pacienți și în comparație cu preparate terapeutice standarde (de exemplu cu glucocorticoizi) [86].

I. Arsić și colab. [3] au studiat efectul antiinflamator și antimicrobian al 3 creme din extracte de sunătoare de 15%, pregătite în conformitate cu prescripțiile medicinei tradiționale, pe bază de diferite uleiuri vegetale folosite ca extractant, și anume: de măslină, de palmier și ulei de floarea soarelui. Scopul a constat în estimarea oportunității aplicării dermatologice a acestor creme. Studiul a fost dublu-orb, randomizat. Rezultatele investigației au demonstrat efecte antiinflamatorii semnificative ale cremelor evaluate în tratamentul dermatitei iritante de contact.

A. Koeberle și colab. [49] au efectuat un studiu experimental pe șoareci și au ajuns la concluzia, că acțiunea antiinflamatoare a sunătoarei se explică prin proprietățile hiperforinei de suprimare a biosintezei de  $PGE_2$  *in vitro* și *in vivo*, acționând în așa fel asupra sintezei microzomale de  $PGE_2$ .

Proprietățile antiinflamatoare ale sunătoarei pot fi datorate efectelor sale inhibitorii asupra exprimării genelor pro-inflamatorii, cum ar fi genele ciclooxigenazei-2, interleukinei-6, și sintetazei de oxid nitric (iNOS) [92].

Sunătoarea este un inhibitor al Interleukinei-6 (IL-6), care este o citokină importantă, implicată în procesul inflamator [20]. În plus, s-a constatat că hiperforina inhibă ciclooxigenaza COX-1 și 5-lipooxigenaza (5-LO), enzimele-cheie în formarea de eicosanoide proinflamatorii. Hiperforina a fost de trei ori mai puternică decât aspirina, în capacitatea sa de a inhiba COX-1 și aproape echivalentă cu zileuton în capacitatea sa de a inhiba 5-LO. Hiperforina nu a inhibat semnificativ COX-2, 12-lipooxigenaza (12-LO) sau 15-lipooxigenaza (15-LO) [2]. Capacitatea sunătoarei de a inhiba 5-LO deschide perspectiva ei de a fi folosită în tratamentul astmului bronșic [31]. Alt mecanism, prin care sunătoarea

poate reduce inflamația, ar fi reducerea producerii sintetazei inductibile de oxid nitric (iNOS), care este mărită în fazele inițiale ale procesului inflamator [92].

#### Efectul antiinfecțios

H. L. Field și colab. [30] au revizuit cunoștințele ce țin de farmacologia, mecanismele de acțiune, precum și de eficacitatea terapeutică a *Hypericum Perforatum* L. Trecerea în revistă efectuată de acești autori arată, că cele mai multe dintre datele disponibile privind eficacitatea și siguranța sunătoarei implică utilizarea sa în tratamentul depresiei ușoare și moderate. Ei au demonstrat, că de rând cu utilizarea acestei plante în depresie, există rapoarte care sugerează posibile efecte terapeutice ale *Hypericum Perforatum* L. și în alte patologii, cum ar fi afecțiunile maligne, anumite infecții etc., dar acestea sunt preliminare pentru a-și permite scoaterea unor concluzii.

Cu toate acestea, sunătoarea este folosită topic pentru vindecarea rănilor de sute de ani, ținând cont de acțiunea sa antibacteriană exercitată de hiperforină [31]. Principalele ei componente sunt hipericina și hiperforina. Acești compuși organici sunt utilizați nu numai ca medicamente antidepresive, dar și în calitate de preparate antimicrobiene și antivirale [94].

N. A. Derbentseva, A. S. Robinovich [24] și B. E. Aizenman [1] au demonstrat eficacitatea *in vivo* și *in vitro* a preparatelor novoimanina și imanina (preparate antibacteriene obținute din *Hypericum perforatum* L.) împotriva infecțiilor *Staphylococcus aureus*, care s-au dovedit a fi mai eficiente decât sulfanilamidele.

C. M. Schempp și colab. au demonstrat, în 1999, că hiperforina posedă proprietăți antibacteriene împotriva *Staphylococcus aureus* multirezistent și bacterii gram pozitive [85].

I. Arsić și colab. [3] au demonstrat efectul antimicrobian al 3 creme din extracte de sunătoare de 15%, pregătite pe bază de uleiuri de măslină, de palmier și de floarea soarelui. *In vitro* aceste creme în concentrații minime de 1280  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2560  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sau  $> 2560 \mu\text{g}/\text{mL}$  au fost active contra majorității microorganismelor studiate, atât gram pozitive: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus canis*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Bacillus anthracis* și *Listeria monocytogenes*, cât și gram negative: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Serratia rubidaea* și *Proteus mirabilis*, precum și *Candida albicans*.

V. Peeva-Naumovska și colab. [73] au evaluat efectele antibacteriene ale trei unguente, care conțin din *Hypericum perforatum* L. lipofil (30%, 40% și 50% *Hyperici oleum*), destinat pentru aplicarea cutanată sau vaginală, împotriva a șase tulpini bacteriene: *Streptococcus pyogenes* (două tulpini), *Streptococcus viridans*, *Micrococcus luteus* ATCC9341, *Moraxella catarrhalis* și *Lactobacillus acidophilus*. Inhibarea creșterii bacteriene a fost înregistrată pentru toate tulpinile testate, cu excepția *L. acidophilus*, care este o parte din flora bacteriană vaginală normală. Acest studiu demonstrează că aplicarea vaginală a unguentelor evaluate nu distorsionează flora vaginală normală. Cum era și de așteptat, mărirea concentrației de *Hyperici oleum* în unguent a dus la creșterea efectului antibacterian al unguentului.

O serie de studii disponibile în literatura de specialitate demonstrează activitatea antibacteriană *in vitro* a extractelor obținute din părțile aeriene ale *Hypericum perforatum* L. și sprijină utilizarea acestor plante în medicina tradițională pentru a trata rănilor, afecțiunile cutanate și unele infecții [4, 14, 78].

C. Barbagallo și G. Chisari [7] au demonstrat, că solvenții organici sunt mai efectivi în extragerea de componente antibacteriene a plantelor de sunătoare decât apa.

Într-o încercare de a determina dacă există o dependență sezonieră privind activitatea antibacteriană a extraselor de sunătoare s-a demonstrat, că probele colectate în luna august au fost mai active decât cele colectate în iulie [12].

Un medicament utilizat pe scară largă în tratamentul vânătăilor, rănilor și arsurilor este uleiul de *Hypericum perforatum* L. (*Oleum Hyperici*), obținut prin macerarea florilor proaspete în ulei, expuse la soare timp de câteva săptămâni. Extractul de ulei este de culoare roșie strălucitoare, cu o fluorescență portocalie-roșie [81].

B. Gudžic și colab. [40] au demonstrat activitatea microbiologică a uleiului de *Hypericum perforatum* L. asupra microorganismelor testate (*K. pneumoniae*, *Salmonella enteridis*, *S. lutea* 9341, *S. aureus* 6538, *E. coli* 95, *B. subtilis* „S” și *B. subtilis* 841). Autorii nu au observat nicio activitate a preparatului față de *P. aeruginosa*.

O activitate puternică antibacteriană a *Oleum Hyperici* împotriva mai multor tulpini bacteriene a fost observată în unele studii [75].

Studii ale activității antimicrobiene a diferitelor componente ale sunătoarei au fost efectuate în India mai multe decenii în urmă [34]. Ele au permis izolarea unui principiu activ, numit hiperforină, care posedă proprietăți antibacteriene [85]. Structura sa chimică a fost elucidată în 1975 de N. S. Bystrov și colab. [18].

Hiperforina prezintă principalul constituent al preparatului antibacterian novoimanina [5].

I. Brondz și colab. [14] de asemenea au constatat, că hiperforina are proprietăți antibacteriene. B. Fiebich și colab. [29], A. Voss și P. Verweij [96] consideră, că efectul antibacterian al hiperforinei se manifestă la administrarea sa în doze mari.

J. Reichling și colab. [78], într-un studiu al activității antibacteriene al unui extract de *Hypericum perforatum* L. a raportat, că hiperforina a fost principiu activ antimicrobian. Hiperforina a demonstrat un efect excelent împotriva *S. aureus* metilino-rezistent.

P. Avato și colab. [4] au investigat proprietățile antimicrobiene ale părților aeriene ale *Hypericum perforatum* L. în diferite extracte (metanol, eter de petrol, cloroform și acetat de etil). Frațiunea de acetat de etil a fost cea mai activă. Creșterea microorganismelor a fost inhibată semnificativ de către hipericină, hiperforină și sarea sa de dicyclohexilammonium stabilă, iar flavonoidele păreau să fie complet inactive.

Analizând datele literaturii de specialitate ce țin de acțiunea antibacteriană a *Hypericum perforatum* L., Z. Saddiqe și colab. [81] au ajuns la concluzia, că planta are o lungă istorie de vindecare a rănilor, asociată de activitatea sa antibacteriană. Multe publicații demonstrează activitatea antibacteriană

a extractelor vegetale brute, cremelor și unguentelor care conțin aceste extracte. Extractele s-au dovedit a fi mai active împotriva bacteriilor gram pozitive decât împotriva bacteriilor gram negative. În plus, extractele alcoolice s-au dovedit a fi mai active decât soluțiile apoase. În ceea ce privește activitatea antifungică, sunătoarea este mai puțin studiată. Planta conține un spectru larg de compuși biologic activi. Cu toate acestea, în prezent, numai hiperforina și hipericina au fost identificate ca principalele componente antimicrobiene ale acestei plante. Deoarece preparatele tradiționale din plante (ceaiuri și tincturi), nu conțin hiperforină, persistă necesitatea de a studia aceste preparate pentru a determina ingredientele active aflate în ea.

În investigații efectuate *in vitro*, extractul de *Hypericum perforatum* L. demonstrează activitate antivirală, inclusiv și contra virusului HIV, deși nu au fost găsite dovezi despre această acțiune *in vivo* [64].

În literatura de specialitate există date și despre acțiunea antifungică a preparatelor obținute din extracte de *Hypericum perforatum* L. Recent, unele dintre ele au fost trecute în revistă de Z. Saddiqe și colab. [81].

#### Alte efecte farmacologice

Unii autori au raportat rezultate interesante cu privire la activitatea anticarcinogenică a hiperforinei [98]. C. Quiney și colab. [74] au calificat hiperforina drept o substanță fermă pentru dezvoltarea de noi molecule terapeutice în elaborarea medicamentelor pentru tratamentul diferitor boli, inclusiv al tumorilor maligne. Rezultatele studiului efectuat de F. Sun și colab. [90] au demonstrat potențialul antitumoral al hiperforinei. Conform cercetării acestor autori, sarea N, N-Diciclohexilamina de hiperforină prezintă un nou medicament antitumoral. G. Lorusso și colab. [61] consideră, că hiperforina oferă perspective de noi abordări terapeutice ale cancerului.

Există numeroase propuneri de a folosi sunătoarea în sindromul premenstrual [31], în tratamentul alcoolismului (ținând cont de efectul ei antidepresiv) [71], diverse dereglări somatice [95].

M. Franklin și colab. [33] au constatat creșterea concentrațiilor plasmatice de corticosteron la șobolani, după administrarea intraperitoneală a unei singure doze de extract de sunătoare (200 mg/kg), de hipericină (0,2 mg/kg) sau hiperforină (9,3 mg/kg).

Într-un studiu randomizat, dublu-orb, controlat cu *placebo*, în care au fost implicați 23 de adulți supraponderali sănătoși, subiecții care au administrat tratament cu sunătoare (900 mg pe zi), extract de *Citrus aurantium* (975 mg/zi) și cofeină (528 mg/zi), au pierdut în greutatea corporală semnificativ mai mult decât subiecții care au administrat *placebo* [22].

În alt studiu, de asemenea randomizat, dublu-orb, controlat cu *placebo*, în care au fost incluși 72 de alergători pe distanțe lungi și triatloniști, s-a demonstrat că cei care au luat vitamina E și sunătoare timp de 6 săptămâni, au manifestat o îmbunătățire a capacității de rezistență, în comparație cu subiecții care au luat doar vitamina E sau *placebo* [46].

N. Kumar și colab. [51] au constatat acțiunea antiagresivă a hiperforinei.

### Concluzii

Sunătoarea (*Hypericum perforatum* L.) este una dintre plantele medicinale cele mai cunoscute pe parcursul a sute de ani și cele mai bine investigate, care poate fi folosită cu succes în tratamentul mai multor maladii. Cea mai importantă substanță activă responsabilă de diverse acțiuni farmacologice ale sunătoarei este hiperforina.

Deoarece hiperforina în forma sa pură este instabilă [81, 98], este de mare interes și importanță studiul acțiunii hiperforinei extrase din flori de sunătoare, din arealul Republicii Moldova, evaluate în laboratorul Centrului Științific în domeniul Medicamentelor al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, care prezintă sare de dietilamoniu a hiperforinei (hiperforină-dietilamoniu) și se deosebește printr-o bună stabilitate: în stare uscată se păstrează neschimbată cel puțin un an și jumătate.

### References

- Aizenman BE. Antibiotic preparations from *Hypericum perforatum*. *Mikrobiologicheskii Zhurnal*. 1969;31:128-133.
- Albert D, Zundorf I, Dingermann T, et al. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochem Pharmacol*. 2002;64:1767-1775.
- Arsić I, Zugić A, Tadić V, et al. Estimation of Dermatological Application of Creams with St. John's Wort Oil Extracts. *Molecules*. 2012;17(1):275-294.
- Avato P, Raffo F, Guglielmi G, et al. Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity. *Phytotherapy Research*. 2004;18:230-232.
- Aveniurova EL. Effect of novoiimanine on the cellular permeability indices of staphylococci. *Antibiotiki*. 1977;22(7):630-634.
- Bach-Rojecky L, Kalodjera Z, Samarzija I. The antidepressant activity of *Hypericum perforatum* L. measured by two experimental methods on mice. *Acta Pharm*. 2004;54(2):157-162.
- Barbagallo C, Chisari G. Antimicrobial activity of three *Hypericum* species. *Fitoterapia*. 1987;58:175-177.
- Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *J Pharm Pharmacol*. 2001;53:583-600.
- Beerhues L. Hyperforin. *Phytochemistry*. 2006;57:2201-2207.
- Bhattacharya SK, Chakrabarti A, Chatterjee SS. Activity profiles of two hyperforin-containing *hypericum* extracts in behavioral models. *Pharmacopsychiatry*. 1998;31(Suppl 1):22-29.
- Bilia AR, Gallori S, Vincieri FF. St. John's wort and depression: efficacy, safety and tolerability-an update. *Life Sci*. 2002;70(26):3077-3096.
- Borchardt JR, Wyse DL, Sheaffer CC, et al. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2008;2:98-110.
- Brattström A. Long-term effects of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) treatment: a 1-year safety study in mild to moderate depression. *Phytomedicine*. 2009;16(4):277-283.
- Brondz I, Greibrokk T, Groth PA, et al. The relative stereochemistry of hyperforin – an antibiotic from *Hypericum perforatum* L. *Tetrahedron Letters*. 1982;23:1299-1300.
- Butterweck V. Mechanism of Action of St John's Wort in Depression. What is Known? *CNS Drugs*. 2003;17(8):539-562.
- Butterweck V, Christoffel V, Nahrstedt A, et al. Step by step removal of hyperforin and hypericin: activity profile of different *Hypericum* preparations in behavioral models. *Life Sci*. 2003;73(5):627-639.
- Butterweck V, Schmidt M. St. John's wort: role of active compounds for its mechanism of action and efficacy. *Wien Med Wochenschr*. 2007;157(13-14):356-361.
- Bystrov NS, Chernov BK, Dobrynin VN, et al. The structure of hyperforin. *Tetrahedron Letters*. 1975;32:2791-2794.
- Caccia S, Gobbi M. St. John's wort components and the brain: uptake, concentrations reached and the mechanisms underlying pharmacological effects. *Curr Drug Metab*. 2009;10(9):1055-1065.
- Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, et al. Interleukin-6 involvement in antidepressant action of *Hypericum Perforatum*. *Pharmacopsychiatry*. 2001;34(Suppl 1):S8-S10.
- Chatterjee SS, Bhattacharya SK, Wonnemann M, et al. Hyperforin as a possible antidepressant component of hypericum extracts. *Life Sci*. 1998;63(6):499-510.
- Colker CM, Kalman DS, Torina GC, et al. Effects of *Citrus aurantium* extract, caffeine, and St John's wort on body fat loss, lipid levels, and mood states in overweight healthy adults. *Curr Ther Res*. 1999;60:145-153.
- Culpeper N. The English Physician, or an Astro-physical Discourse on the Vulgar Herbs of this Nation. London, England: Nathaniel Brook; 1652. cited: *Hypericum perforatum*. Monograph. *Altern Med Rev*. 2004;9:318-325.
- Derbentseva NA, Robinovich AS. Isolation, purification and study of some physicochemical properties of novoiimanin. In: A. I. Solovyeva (Ed.). *Novoiimanin Ego Lech. Svoistva*. Kiev: Naukova Dumka, 1968;15-18.
- Dimpfel W, Schober F, Mannel M. Effects of a methanolic extract and a hyperforin-enriched CO<sub>2</sub> extract of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) on intracerebral field potentials in the freely moving rat (Tele-Stereo-EEG). Pro Science Private Research Clinic GmbH, Linden, Germany. *Pharmacopsychiatry*. 1998;31(Suppl 1):30-35.
- Dugoua JJ, Mills E, Perri D, et al. Safety and efficacy of St. John's wort (hypericum) during pregnancy and lactation. *Can J Clin Pharmacol*. 2006;13(3):e268-e276.
- Dwyer AV, Whitten DL, Hawrelak JA. Herbal medicines, other than St. John's Wort, in the treatment of depression: a systematic review. *Altern Med Rev*. 2011;16(1):40-49.
- Fava M, Alpert J, Nierenberg AA, et al. A Double-blind, randomized trial of St John's wort, fluoxetine, and placebo in major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2005;25(5):441-447.
- Fiebich B, Heinrich M, Langosch JM, et al. Antibacterial activity of hyperforin from St. John's Wort. *Lancet*. 1999;354:777.
- Field H.L., Monti D.A., Greeson J.M., Kunkel E.J.S. St. John's Wort. *Int'l J Psychiatry in Medicine* 2000; 30(3): 203-219.
- Filandrinos D, Yentsch TR, Meyers KL. St. John's Wort. In: *Herbal Products. Toxicology and Clinical Pharmacology*. Second Edition. Edited by T. S. Tracy, R. L. Kingston. New Jersey: Humana Press Inc., 2007;71-95.
- Fitzpatrick FK. Plant substances active against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics & Chemotherapy*. 1954;4:528-536. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol*. 2010;131(3):511-521.
- Franklin M, Chi JD, Mannel M, et al. Acute effects of LI 160 (extract of *Hypericum perforatum*, St John's wort) and two of its constituents on neuroendocrine responses in the rat. *J Psychopharmacol*. 2000;14(4):360-363.
- Gaind KN, Ganjoo TN. Antibacterial principle of *Hypericum perforatum* L. *Indian Journal of Pharmacy*. 1959;21:172-175.
- Gaster B, Holroyd J. St John's Wort for Depression. A Systematic Review. *Arch Intern Med*. 2000;160:152-156.
- Gerard J. The Herball or General History of Plantes. Imprinted by John Norton, London, 1597. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol*. 2010;131(3):511-521.
- Gastpar M, Singer A, Zeller K. Comparative efficacy and safety of a once-daily dosage of hypericum extract STW3-VI and citalopram in patients with moderate depression: a double-blind, randomised, multi-centre, placebo-controlled study. *Pharmacopsychiatry*. 2006;39(2):66-75.
- Greene T. The Universal Herbal. London: Caxton Press, 1824. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol*. 2010;131(3):511-521.
- Griffith RE. Medical Botany. Philadelphia: Lea & Blanchard, 1847. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona AA review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol*. 2010;131(3):511-521.
- Gudzc B, Nedeljkovic JM, Dordevic S, et al. Composition and antimicrobial activity of essential oil of Hyperici Herb (*Hypericum perforatum* L.) from Vlasina region. *Facta Universitatis Series: Physics, Chemistry and Technology*. 1997;1:47-51.
- Gunther RT. The Greek Herbal of Dioscorides. Hafner Publishing Company, 1968. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the

- antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(3):511-521.
42. Gupta RK, Möller H-J. St. John's Wort, An option for the primary care treatment of depressive patients? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2003;253:140-148.
  43. Haller CA. St John's wort, depression, and catecholamines. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;76(5):393-395.
  44. Harrison P. Herbal medicine takes root in Germany. *CMAJ.* 1998;158(5):637-639.
  45. Hill J. The Family Herbal. C. Brightly, T. Kinnersley. Bungay, 1808. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(3):511-521.
  46. Hottenrot K, Sommer H-M, Lehl S, et al. The influence of vitamin E and extract from hypericum on the endurance capacity of competitors. A placebo-controlled double-blind study with long-distance runners and triathletes. *Deutsche seitschrift für Sportmedizin.* 1997;48:22-27.
  47. Hunt EJ, Lester CE, Lester EA, et al. Effect of St. John's wort on free radical production. *Life Sciences.* 2001;69:181-190.
  48. Keith SJ, Matthews SM. The value of psychiatric treatment: its efficacy in severe mental disorders. *Psychopharmacol Bull.* 1993;29(4):427-430.
  49. Koeberle A, Rossi A, Bauer J, et al. Hyperforin, an Anti-Inflammatory Constituent from St. John's Wort, Inhibits Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1 and Suppresses Prostaglandin E2 Formation in vivo. *Front Pharmacol.* 2011;2:7.
  50. Kumar V, Singh PN, Bhattacharya SK. Anti-stress activity of Indian *Hypericum perforatum* L. *Indian Journal of Experimental Biology.* 2001;39:344-349.
  51. Kumar N, Husain GM, Singh PN, et al. Antiaggressive activity of hyperforin: A preclinical study. *Drug Discov Ther.* 2009;3(4):162-167.
  52. Laakmann G, Deniel A, Kieser M. Clinical significance of Hyperforin for the efficacy of *Hypericum* extracts on depressive disorders of different severities. *Phytomedicine.* 1998;5(6):435-442.
  53. Laakmann G, Schüle C, Baghai T, et al. St. John's Wort in Mild to Moderate Depression: The Relevance of Hyperforin for the Clinical Efficacy. *Pharmacopsychiatry.* 1998;31:54-59.
  54. Lakhan SE, Vieira KF. Nutritional and herbal supplements for anxiety and anxiety-related disorders: systematic review. *Nutr J.* 2010;9:42.
  55. Lavagna SM, Secci D, Chimentì P, et al. Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *Farmaco.* 2001;56:451-453.
  56. Lawvere S, Mahoney MC. St. John's Wort. *Am Fam Physician.* 2005;72:2249-2254.
  57. Lecrubier Y, Clerc G, Didi R, et al. Efficacy of St. John's Wort Extract WS 5570 in Major Depression: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Am J Psychiatry.* 2002;159:1361-1366.
  58. Leuner K, Kazanski V, Müller M, et al. Hyperforin – a key constituent of St. John's wort specifically activates TRPC6 channels. *FASEB J.* 2007;21:4101-4111.
  59. Linde K, Berner M, Egger M, et al. St John's wort for depression. Meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Psychiatry.* 2005;186:99-107.
  60. Linde K, Berner MM, Kriston L. St John's wort for major depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2008;4. Art. No: CD000448. DOI: 10.1002/14651858.CD000448.pub3.
  61. Lorusso G, Vannini N, Sogno I, et al. Mechanisms of Hyperforin as an anti-angiogenic angioprevention agent. *Eur J Cancer.* 2009;45(8):1474-1484.
  62. Mar C, Bent S. An evidence-based review of the 10 most commonly used herbs. *West J Med.* 1999;171(3):168-171.
  63. Mennini T, Gobbi M. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. *Life Sciences.* 2004;75:1021-1027.
  64. Miller AL. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*): clinical effects on depression and other conditions. *Altern Med Rev.* 1998;3(1):18-26.
  65. Milosevic T, Solujic S, Sukdolak S. In Vitro Study of Ethanol Extract of *Hypericum perforatum* L. on Growth and Sporulation of Some Bacteria and Fungi. *Turkish Journal of Biology.* 2007;31:237-241.
  66. Muller WE, Singer A, Wonnemann M, et al. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract. Department of Pharmacology, Biocenter University of Frankfurt, Germany. *Pharmacopsychiatry.* 1998;31(Suppl 1):16-21.
  67. Nahas R, Sheikh O. Complementary and alternative medicine for the treatment of major depressive disorder. *Can Fam Physician.* 2011;57(6):659-663.
  68. Nathan PJ. The experimental and clinical pharmacology of St John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Molecular Psychiatry.* 1999;4:333-338.
  69. Nathan PJ. *Hypericum perforatum* (St John's Wort): a non-selective reuptake inhibitor? A review of the recent advances in its pharmacology. *J Psychopharmacol.* 2001;15(1):47-54.
  70. O'Hara M, Kiefer D, Farrell K, et al. A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Arch Fam Med.* 1998;7(6):523-536.
  71. Overstreet DH, Keung WM, Rezvani AH, et al. Herbal remedies for alcoholism: promises and possible pitfalls. *Alcohol Clin Exp Res.* 2003;27:177-185.
  72. Oztürk N, Korkmaz S, Oztürk Y. Wound-healing activity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology.* 2007;111:33-39.
  73. Peeva-Naumovska V, Panovski N, Grdanovska T, et al. Formulations of St. John's Wort oil ointment and evaluation of its antibacterial effect. Available from: [www.amapseec.org/cmapseec.1/Papers/pap\\_p067.htm](http://www.amapseec.org/cmapseec.1/Papers/pap_p067.htm) (accessed la 22.01.2012).
  74. Quiney C, Billard C, Salanoubat C, et al. Hyperforin, a new lead compound against the progression of cancer and leukemia? *Leukemia.* 2006;20(9):1519-1525.
  75. Radulovic N, Stankov-Jovanovic V, Stojanovic G, et al. Screening of *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food chemistry.* 2007;103:15-21.
  76. Rao SG, Udupa AL, Rao G, et al. Wound healing activity of *Calendula officinalis* and *Hypericum*: two homeopathic drugs promoting wound healing in rats. *Fitoterapia.* 1991;62:508-510.
  77. Reinhard L. The HMPC monograph on *Hypericum*: Background, development, contents. *Wiener Medizinische Wochenschrift.* 2010;160(21-22):557-563.
  78. Reichling J, Weseler A, Saller R. A current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry.* 2001;34:S116-S118.
  79. Richer A, Davies DE. Effects of anthralin and hypericin on growth factor signaling and cell proliferation *in vitro*. *Biochemical Pharmacology.* 1995;50:2039-2045.
  80. Saeed SY, Bloch RM, Antonacci DJ. Herbal and Dietary Supplements for Treatment of Anxiety Disorders. *Am Fam Physician.* 2007;76(4):549-556.
  81. Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(3):511-521.
  82. Sarris J. Herbal medicines in the treatment of psychiatric disorders: a systematic review. *Phytother Res.* 2007;21(8):703-716.
  83. Sarris J, Kavanagh DJ. Kava and St. John's Wort: current evidence for use in mood and anxiety disorders. *J Altern Complement Med.* 2009;15(8):827-836.
  84. Schellenberg R, Sauer S, Dimpfel W. Pharmacodynamic effects of two different hypericum extracts in healthy volunteers measured by quantitative EEG. Pro Science Private Research Clinic GmbH, Linden, Germany. *Pharmacopsychiatry.* 1998;31(Suppl 1):44-53.
  85. Schempp CM, Petz K, Wittmer A, et al. Antibacterial activity of hyperforin from St. John's Wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram positive bacteria. *Lancet.* 1999;353:2129.
  86. Schempp CM, Windeck T, Hezel S, et al. Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's wort cream-a randomized, placebo controlled, double blind half-side comparison. *Phytomedicine.* 2003;10(Suppl 4):31-37.
  87. Singer A, Wonnemann M, Mullar WE. Hyperforin, a major antidepressant constituent of St. John's Wort, inhibits serotonin uptake by elevating free intracellular Nf. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1999;290(3):1363-1368.
  88. Solomon D, Ford E, Adams J, et al. Potential of St John's Wort for the Treatment of Depression: The Economic Perspective. *Aust N Z J Psychiatry.* 2011;45:123-130.
  89. Sosa S, Pace R, Bornancin A, et al. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Hypericum perforatum* L. *J Pharm Pharmacol.* 2007;59(5):703-709.
  90. Sun F, Liu JY, He F, et al. *In vitro* antitumor activity evaluation of hyperforin derivatives. *J Asian Nat Prod Res.* 2011;13(8):688-699.

91. Sântar IP, Akkol EK, Yilmazer D, et al. Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. *J Ethnopharmacol.* 2010;127(2):468-477.
92. Tedeschi E, Menegazzi M, Margotto D, et al. Anti-inflammatory actions of St. John's wort: inhibition of human inducible nitric-oxide synthase expression by down-regulating signal transducer and activator of transcription-  $\alpha$  (STAT-1 $\alpha$ ) activation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;307(1):254-261.
93. Urdang G. Pharmacopoeia Londinensis of 1618. Madison: State Historical Society of Wisconsin, 1944. cited: Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(3):511-521.
94. Vacek J, Klejduš B, Kubán V. Hypericin and hyperforin: bioactive components of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). Their isolation, analysis and study of physiological effect. *Ceska Slov Farm.* 2007;56(2):62-66.
95. Volz HP, Murck H, Kasper S, et al. St. John's wort extract (LI 160) in somatoform disorders: results of a placebo-controlled trial. *Psychopharmacology.* 2002;164:294-300.
96. Voss A, Verweij P. Antibacterial activity of hyperforin from St. John's wort. *Lancet.* 1999;354:777.
97. Williams JW, Holsinger T. St John's for depression, worts and all. *BMJ.* 2005;330:E350-E351.
98. Zanolli P. Role of hyperforin in the pharmacological activities of St. John's Wort. *CNS. Drug Rev.* 2004;10(3):203-218.
99. Zhang ZJ. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sci.* 2004;75(14):1659-1699.

## Myocardial ischaemia markers in cardiac surgery

I. Guzman

Department of Cardiac Surgery, Republican Hospital, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: iurieg@yahoo.com. Manuscript received December 26, 2013; accepted February 03, 2014

### Abstract

**Background:** The variations of the recovery time, complications and survival rates among the cardiac patients who have had a heart surgery are vast. Many formulas and theories are used to predict clinical outcome and recovery time. The identification of biomarkers that provide concrete, evidence supporting clinical outcomes has greatly affected such field of medicine as cardiology, helping the clinicians to predict a clinical course in acute ischemia. Recent studies have discovered the biomarkers that may be used as predictors of cardiac patients' state after post-cardiothoracic surgery, besides, their applications are numerous. This study represents a review of widely recognized markers of myocardial ischaemia that are already included in guidelines and clinical protocols, as well as recently emerging markers for the diagnosis of acute coronary syndrome. A comparative analysis of the strength and weaknesses of the available markers, concerning to the detection of peri-operative ischaemia in cardiac surgery, has been made. Revealing of cardiac troponin (CTN), its isoforms CTN I and CTN T, being complemented by high-sensitivity CTN, have been accepted as a gold standard for detecting cardiac ischaemia.

**Conclusions:** Developing sensitive methods for CTN suggests taking into account the false positive cases. Troponin determination results should be interpreted in a clinical context and can not be used in isolation. Multimarker approach would be useful in case of such opportunities. BNP appears to be one of the markers suitable for this approach to cardiac surgery. But further studies are needed to implement the new markers that are emerging on the market.

**Key words:** markers, myocardium, cardiac ischemia, surgery.

### Markerii ischemiei miocardice în chirurgia cardiacă

Evaluarea lezărilor miocardului în timpul operațiilor pe cord, atât din punct de vedere clinic, cât și științific, are o importanță majoră, spre exemplu, pentru evaluarea diverselor strategii de protecție a cordului. La pacienții care au suportat astfel de operații, mai ales *by-pass* coronarian (CABG), diagnosticarea precoce perioperatorie a infarctului miocardic (IM) este importantă, deoarece acesta rămâne a fi o complicație serioasă [1]. În acest scop, sunt utili parametrii hemodinamici, care caracterizează funcția inimii după intervenție, dobândiți prin metode invazive, cum ar fi măsurările în artera pulmonară/ventriculul drept (cateter Swan-Ganz, ventriculografie, micromanometrie). Aceste metode implică anumite riscuri, care constituie un impediment pentru utilizarea de rutină. Competitivă a devenit ecografia transesofagiană, care poate aprecia funcția ventriculului stâng și excursia segmentelor pereților inimii. Însă și aici apar limitări, când este vorba de schimbări mai subtile.

În cardiologie diagnosticul IM se bazează pe modificarea

ECG și eliberarea crescută de markeri biochimici. O serie din acești markeri și-au ocupat locul, devenind practici de rutină, alții sunt în proces de testare sau se folosesc în combinație cu cei aprobați. Chirurgia cardiacă impune un cadru puțin mai diferit de cel al sindromului coronarian acut (SCA), făcând interpretarea testelor prin markeri mai dificilă. Aceasta se datorează cardiectomiei și toracotomiei, condiții în care se impun cerințe înalte față de sensibilitatea markerilor pentru a exclude interferența cu mușchii scheletali.

**Scopul** acestui reviu este de a prezenta caracteristica markerilor ischemiei miocardice, aplicați sau aflați la faza testării pentru depistarea infarctului miocardic, și analiza posibilității utilizării lor în chirurgia cardiacă.

#### Markeri afirmați

##### Mioglobina

Mioglobina este o hemoproteină găsită în aproape toate tipurile de țesut muscular și este deosebit de ridicată în mușchiul

inimii și în mușchii scheletali. Pentru depistarea mioglobinei cardiace și scheletale în prezent sunt disponibile imunoteste cantitative. Importanța acestui marker este bazată pe sensibilitatea mare și precoce imediat după IM. În același timp, partea lui slabă este specificitatea scăzută datorită prezenței unor niveluri ridicate de mioglobină în mușchii scheletali [2].

Ghidurile ACCF/AHA dau o recomandare Clasa IIB de măsurare a mioglobinei, concomitent cu CK-MB sau cu troponină cardiacă (CTN) la pacienții, care se prezintă în termen de 6 ore de la debutul simptomelor de IM [3]. Cu toate acestea, în contextul noilor teste de sensibilitate înaltă a CTN măsurarea de rutină a mioglobinei în evaluarea pacienților cu IMA poate să se diminueze. Rolul mioglobinei va fi retrogradat de către creatinkinaza (CK) totală (fără MB), LDH și SGOT (AST). Prin urmare, se recomandă ca mioglobina să nu fie utilizată pe cont propriu, dar numai în contextul altor markeri, EKG, concomitent, cu evaluarea clinică.

**Troponina cardiacă**

Eliberarea de troponină cardiacă (CTN) se credea anterior că apare numai în prezența necrozei celulelor musculare cardiace. Dezvoltarea recentă a testelor de mare sensibilitate pentru CTN (Hs-CTN) a dus la diagnosticul precoce de infarct miocardic acut, dar și la costuri competitive [4].

În toate cazurile, eliberarea cinetică a CTN este de scurtă durată, cu revenirea după eveniment la valorile inițiale normale într-o fereastră de 24 de ore. Deși mecanismele nu au fost elucidate, teoriile apărute includ numeroase perturbări ale fiziologiei cardiomiocitelor, eliberarea de către celule a produselor de degradare proteolitică, modificarea permeabilității membranei plasmatică și formarea de vezicule membranoase secretorii, care conțin derivate ale CTN intracelulare (fig. 1).

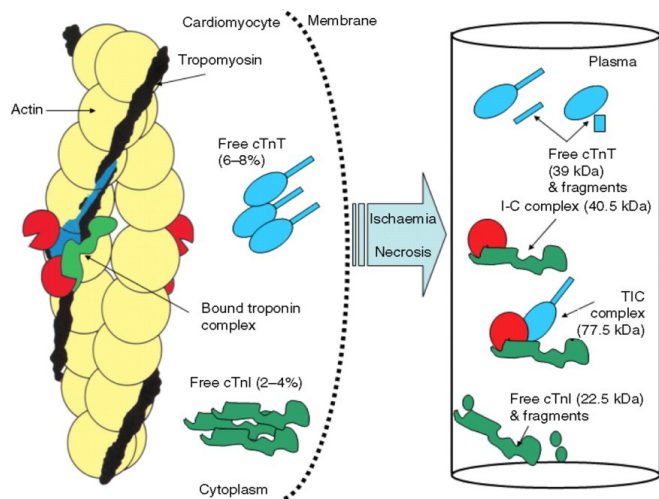


Fig. 1. Schema eliberării troponinelor în ser.

Au fost identificate anumite situații clinice și fiziologice care sugerează că CTN este eliberată în timpul ischemiei în lipsa necrozei deja formate [5]. Acestea includ pacienții care prezintă tahicardie supraventriculară [6] fără modificări electrocardiografice, la pacienții cu embolism pulmonar [7], unde CTN poate fi ca o versiune, ce indică o eliberare reversibilă în urma exercitării eforturilor fizice de durată [8].

În cadrul consensului experților Colegiului American de Cardiologie [9] s-a stabilit tactica de diferențiere a stărilor, care pot provoca o elevare de CTN, inclusiv cu utilizarea altor markeri, precum CK (<http://acb.rsmjournals.com/content/45/4/349.abstract>).

Indiferent de situațiile care pot genera ridicarea CTN (fig. 2), valorile crescute ale markerului presupun o prognoză nefavorabilă. Nivelurile ridicate de hsCTN T în perioada prechirurgicală la pacienții cu *by-pass* aorto-coronarian posedă o valoare independentă de predicție pentru dezvoltarea fibrilației arteriale (FA) după intervenție [10].

Pentru pacienții cu SCA, fără elevarea segmentului ST, la baza formării pronosticului și tacticii terapeutice este de preferință includerea estimării riscului global, mai repede decât estimarea riscului printr-un singur marker. Merită atenție cazurile testelor fals-pozitive de determinare a Hs-CTN [11].

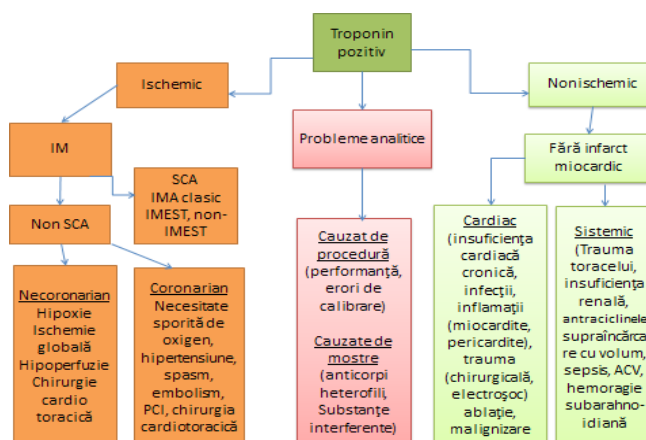


Fig. 2. Modelul conceptual de distribuție clinică a nivelului ridicat al Troponinei.

**Creatinkinaza**

Creatinkinaza (CK) este o enzimă care se găsește în cantități mari în țesutul muscular, datorită rolului său în contracția musculară [12]. CK are doua subunități, M și B, care sunt combinate pentru a forma trei izoenzime: CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) și CK-MM (CK-3). CK-MB este specifică țesutului cardiac, în timp ce CK-BB se găsește în țesutul cerebral, iar CK-MM este în țesutul muscular cardiac și scheletal. În plus, eliberarea de CK-MB are loc numai după moartea celulelor miocardice și lipsește în procesul stabilirii ischemiei [13]. Prin urmare, CK-MB a fost considerată a fi cel mai util biomarker pentru detectarea afectării miocardice. Studiile cinetice au demonstrat ca CK-MB este detectabilă la 4-8 ore de la prima instalare de dureri în piept, atingând valori maxime la 18-24 ore după IM. Totuși, imunodiagnosticul Ck-MB este lipsită de specificitate absolută, este slab exprimată în IM minor și are o valoare pronostică joasă la pacienții cu SCA, ceea ce duce la neglijarea acestui marker de către ghidurile moderne [14]. În pofida acestor părți slabe, în prezent, poate fi un test de rutină în *follow-up* al pacienților cardiaci, inclusiv după CABG.

**Lactat dehidrogenaza**

Lactat dehidrogenaza (LD) este o enzimă implicată în

Tabelul 1

## Valori comparative ale markerilor tradiționali pentru depistarea ischemiei și necrozei miocardului

Markerul	Izoforma	Gama de referință	Prima detectare (postinfarct)	Valori maxime (post infarct)	Sensibilitatea/specificitatea
Creatinkinază	CK-MB	< 6U/L	4-8h	18-24h	90%/80%
Lactat dehidrogenază	Rata LD1/LD2	<1,0	8-12h	24-72h	90%/90-99%
Mioglobină	Nu are	15-120 ug/L	2-4h	10-12h	99%/70%
Troponină	CTNI, CTNT	< 0,08 ug/L	2-8h	18-24h	99%/99%

metabolismul anaerob, care asigură conversia piruvatului în lactat [15].

LD este omniprezentă, însă una din cinci izoenzime, LD1, este mai mare în țesutul muscular cardiac. LD1 crește după IM, iar când rata LD1:LD2 este mai mare de 1,0, se stabilește diagnosticul de IM. Creșterea LD1 și modificarea raportului LD1:LD2 sunt detectabile la 8-12 ore postinfarct (tab. 1), și au valori maxime la 24-72 de ore [16].

**Albumina modificată de ischemie (IMA)**

Stabilirea diagnosticului stărilor ischemice este deseori dificil. Troponina cardiacă este sensibilă și specifică pentru detectarea distrucției miocardice, dar concentrația ei poate să nu crească în timpul ischemiei miocardice reversibile. IMA este primul biomarker util în evaluarea ischemiei miocardice precoce disponibil în rețelele comerciale. Concentrația IMA crește rapid, odată cu instalarea ischemiei și rămâne a fi ridicată timp de câteva ore după încetarea sindromului ischemic. Utilizată împreună cu EKG-ul și cu troponina, IMA permite corectarea sindromului coronarian acut mai devreme decât orice altă metodă disponibilă.

IMA este, așadar, o proteină nouă a cărei concentrație este dozată pentru măsurarea ischemiei cardiace. Testul realizat pentru dozarea IMA (Albumin Cobalt Binding Test) este bazat pe capacitatea scăzută a regiunilor N-terminale ale albuminei umane de a lega cobaltul în condiții de ischemie miocardică (probabil din cauza unui mecanism care include producerea de radicali liberi) [17, 18].

Pentru evaluarea eficienței testului de legare a cobaltului de albumină s-au făcut mai multe studii. Astfel, mai mulți pacienți suspecți cu SCA au fost supuși acestui test. Inițial s-a constatat un fenomen de reducere a legării cobaltului exogen cu regiunile N-terminale ale albuminei serice umane *in vitro* la pacienții cu dureri stenocardice acute, suspecți de angină instabilă sau infarct miocardic. Apoi s-a realizat un test colorimetric pentru a evidenția cantitatea de cobalt legată de albumină, a cărui rezultat se măsoară în unități de absorbantă [19].

Atunci când este realizat împreună cu dozarea altor markeri cardiaci, cum ar fi troponina, acest test reprezintă un avantaj diagnostic important în detecția unui atac de cord timpuriu [20]. Astfel, albumina modificată de ischemie este un biomarker foarte util în evaluarea cardiopatiei ischemice, iar dozarea ei împreună cu efectuarea unor teste complementare poate îmbunătăți în mod evident strategiile de diagnostic în durerile stenocardice acute. Acest lucru este valabil și pentru situațiile de hipoperfuzie din chirurgia cardiacă. La pacienții supuși operației de *by-pass* aorto-coronarian a fost stabilit un

paralelism net între nivelul IMA, apariția fibrilației atriale și necesitatea de inotropi în perioada postoperatorie [21].

**Peptidul natriuretic de tip B**

Peptidul natriuretic de tip B (BNP) sau peptidul natriuretic cerebral este sintetizat, în special, de ventriculii cardiaci, iar concentrațiile lor circulatorii sunt semnificativ crescute în insuficiența cardiacă congestivă (CHF). Concentrația plasmatică a BNP a fost utilizată pentru un diagnostic corect al insuficienței cardiace la pacienții internați cu simptome de insuficiență cardiacă decompensată [22].

La om, BNP este produs din proBNP, care conține 108 aminoacizi și, după o prelucrare proteolitică, eliberează în circulație o moleculă matură și un fragment N-terminal din 32 aminoacizi. BNP a fost inițial clonat din creier, dar actualmente este considerat un hormon de sânge produs preponderent în ventriculii cardiaci [23]. Este cunoscut faptul, că aceste peptide au efecte, cum ar fi diureza, natriureza, vasodilatația, și acționează ca un hormon circulant, care inhibă sinteza de aldosteron și secreția de renină. Astfel, BNP pare să joace un rol important în reglarea tensiunii arteriale și a volumului de sânge [24].

BNP este eliberat de inimi cu patologii în proporții foarte expresive. Drept rezultat apare interesul de măsurare a concentrațiilor plasmatică ale BNP pe rol de instrument de diagnosticare în cardiologie sau cardiochirurgie. De fapt, mai multe studii au arătat că măsurarea BNP circulant poate discrimina pacienții cu insuficiență cardiacă congestivă decompensată și pacienții cu dispnee ca urmare a etiologiei noncardiace [25]. În SCA, BNP adaugă informații importante de prognostic pentru datele clinice și de laborator, cum ar fi ECG, rezultatele ecocardiografiei, precum și nivelurile troponinei și CK [26].

Evaluarea nivelului BNP nu ar trebui folosit ca un test independent, dar sensibilitatea ridicată și valoarea predictivă negativă poate fi utilă pentru a sugera informații suplimentare pentru un diagnostic de insuficiență cardiacă. Nivelurile de BNP sunt mai mici la pacienții cu insuficiență cardiacă și fracție de ejeție păstrată, decât la pacienții cu insuficiență cardiacă cu fracția de ejeție a ventriculului stâng redusă, dar la un nivel al BNP dat, prognosticul la pacienții cu insuficiență cardiacă cu fracția de ejeție păstrată este la fel de slab ca și la cei cu fracția de ejeție a ventriculului stâng redusă [27]. Principalul punct forte al BNP este o valoare predictivă negativă excelentă cu privire la disfuncția ventriculară stângă și insuficiența cardiacă, dar mai sunt necesare și alte instrumente specifice de diagnostic pentru a defini aceste anomalități [28]. În afară de aceasta, BNP este o moleculă



mică, instabilă și poate fi subestimată de imunotestele bazate pe recunoașterea de anticorpi [29]. Cercetările curente sugerează un nou avantaj al BNP, care poate fi luat în considerație la aplicarea în cardiocirurgie. S-a adeverit, că cinetica de eliberare a biomarkerilor cardiaci după chirurgia valvulară este semnificativ diferită pentru biomarkerii, cum ar fi CK, TnI sau BNP. La pacienții supuși înlocuirilor de valvă doar nivelurile de BNP au corelat cu durata administrării post-operatorii de preparate inotrope, timpul de ventilație și timpul aflării în secția de terapie intensivă [30].

#### Biomarkeri noi

În ultimii ani, au fost investigați numeroși biomarkeri, cu scopul de a stabili utilitatea lor ca mijloc diagnostic și de stratificare a riscului de ischemie acută, alături de markerii convenționali. Au fost studiați mai mulți biomarkeri noi. Printre aceștia se numără markerii stresului oxidativ (mieloperoxidaza), factorul de diferențiere creștere 15, markerii trombozei și inflamației sau markerii cascadei inflamației (de exemplu markeri specifici ai inflamației vasculare) etc.

#### Mieloperoxidaza

Mieloperoxidaza (MPO) este o hemoproteină, produsă de leucocitele neutrofile polimorfonucleare și macrofage. MPO convertește clorura și peroxidul de hidrogen în hipoclorit, ultimul fiind eliberat în timpul inflamației și fiind implicat în oxidarea lipidelor, care se conțin în particulele de lipoproteide de densitate joasă (LDL). Acest proces contribuie la formarea celulelor spumante în ateroscleroză. MPO este un marker de instabilitate a plăcii și, prin urmare, se prezintă ca un potențial marker cu valoare prognostică puternică de un IM în viitorul apropiat. Valorile MPO sunt cele mai mici la pacienții cu boală coronariană stabilă, mai mari la pacienții cu angină instabilă, iar cele mai mari – la pacienții cu IMA. Totuși, aplicabilitatea MPO în calitate de marker pentru evaluarea ischemiei acute rămâne discutabilă [31].

#### Copeptina

Copeptina este fragmentul C-terminal al precursorului hormonului vasopresină, care este eliberat ca răspuns la scăderea tensiunii arteriale. Testarea copeptinei a relevat faptul, că ea are o foarte puternică valoare predictivă negativă, împreună cu CTN, pentru IMA [32]. În plus, nivelurile de copeptină sunt crescute precoce după IMA și sunt detectabile la pacienții, care se prezintă la scurt timp după debutul simptomelor, în timp ce troponina este încă negativă [33].

#### Factorul de diferențiere creștere 15

Factorul de diferențiere creștere 15 (GDF-15, de asemenea, cunoscut sub numele de TGF-PL, MIC-1, PDF, PLAB, și PTGFB) este un factor de creștere prin transformare. Cardiomiocitele exprimă și secretă GDF-15 la instalarea ischemiei și reperfuziei, sugerând că acesta ar putea fi un factor de protecție. De asemenea, GDF a fost identificat în macrofagele activate. Un proces regulatoriu distinct a fost găsit în mai multe țesuturi după lezare, ischemie, și alte forme de stres [34]. De menționat apariția recentă a studiilor dedicate aplicării acestui marker în cardiocirurgie. S-a demonstrat, că nivelul preoperator al GDF-15 în plasmă este un predictor independent al mortalității și morbidității postoperatorii a

pacienților cardiocirurgicali. El poate adânci în continuare stratificarea după scorurile de risc și markerii cardiovasculari, aducând noi date pentru stratificarea de risc [35].

#### Proteina cardiacă, care leagă acizii grași (H-FAB)

Principalul avantaj al H-FAB este că aceasta este eliberată la scurt timp după leziunile cardiace și, astfel, poate duce la îmbunătățirea potențială a testului la mioglobină, cunoscută ca un biomarker precoce, dar al cărui principal dezavantaj este faptul, că aceasta nu este specifică numai pentru miocard, ci și pentru mușchii scheletali [36]. Și totuși, H-FAB este utilă în stabilirea riscului chiar și la pacienții fără elevări de BNP sau troponine [37].

#### Proteina C-reactivă înalt sensibilă (hsCRP)

Proteina C-reactivă este un marker al inflamației și poate fi parte a mecanismului de tromb-producție a plăcii aterosclerotice. Nivelurile elevate sunt predictive pentru deces și insuficiență cardiacă post-IM. HsCRP este nespecifică pentru inflamațiile cardiace, cu toate acestea, sunt în curs de elaborare instrumente de măsurare a formelor specifice de inflamație vasculară, care pot fi specifice pentru IMA și alte stări de ischemie [38].

#### Colina sângelui integral

Colina sângelui integral (WBCHO) include măsurarea colinei în eritrocite hemolizate. Colina se eliberează din țesuturile ischemizate în plasmă. Aici, colina este eventual preluată de celulele sanguine (de unde provine diferențierea între aceste două măsurători). Ambele niveluri – al colinei sângelui integral și al colinei plasmatice, sunt utilizate pentru estimarea ischemiei cardiace la pacienții cu troponină negativă [39].

#### N-oxidul de trimetilamină

N-oxidul de trimetilamină (TMAO) este un metabolit dietetic relativ comun la animale. El provine din degradarea colinei prezente în fosfatidilcolină (lecitină) din alimente, cum ar fi: ouă, lapte, ficat, carne roșie, pui, fructe de mare și pește. Colina și alte specii care conțin trimetilamină (de exemplu, betaina) sunt degradate de microbi intestinali, formând gazul trimetilamină (TMA). Această moleculă este apoi absorbită și metabolizată în ficat prin flavin monooxigenaze (FMO), formând TMAO [40].

Un studiu publicat în 2013 [41] a asociat nivelurile de TMAO în sânge cu bolile cardiace și a subliniat, că flora intestinală are un rol important în formarea acestei molecule la om. Interrelația demonstrată dintre nivelurile TMAO și viitoarele evenimente cardiace, cum ar fi infarctul miocardic, accidentul vascular cerebral, și moartea ar putea fi stabilită chiar și în cazurile, când nu există nici o dovadă prealabilă a bolilor cardiace, demonstrată prin metode tradiționale. TMAO modifică, de asemenea, depunerile și eliminarea colesterolului din celulele endoteliale. TMAO dietetic agravează dezvoltarea leziunilor aterosclerotice la șoarecii cu apolipoproteina E nulă (APOE-/-), fără modificări semnificative în colesterolul plasmatic, trigliceride, lipoproteine, nivelul de glucoză și conținutul trigliceridelor ficatului. Dar mecanismele moleculare exacte, în care TMAO mediază efectul său proaterosclerotic, sunt necunoscute până în prezent [42].

Având în vedere aceste dovezi, TMAO ar putea acționa ca un biomarker bun pentru prognozarea riscului cardiovascular, deși sunt necesare mai multe studii pentru a valida testarea TMAO pe rol de instrument clinic atât pentru prevenirea bolilor cardiovasculare, cât și ca indicator cu valoare de prognostic al ischemiei intraoperatorii.

Cu scopul de a dezvolta un test inovator de prognostic pentru sindromul coronarian acut, Proiectul Cardbio (Illinois, SUA) a inclus și studiul TMAO [43]. Acest biomarker, apărut în studiile recente bazate pe dovezi, de bună calitate, pare a fi un candidat bun pentru depistarea precoce a formării plăcii aterosclerotice. În contextul tentativei proiectului vizat mai sus de a reduce metabolizarea L-carnitinei în sistemul de digestie pentru a preveni bolile cardiovasculare, TMAO ar putea fi pe post de biomarker cu mecanism de prognozare [44].

#### Abordarea multimarker

Mulți dintre markerii enumerați mai sus s-au dovedit a fi superiori troponinelor în analizele retrospective, dar nu au fost testați în studii prospective și nu sunt disponibili încă pentru uzul de rutină. Este util de a diferenția markerii de risc acut de IM și cei de mortalitate pe termen lung. Folosirea combinată a markerilor de necroză miocardică, inflamație, disfuncție miocardică și renală, și activare neuromorală contribuie semnificativ la îmbunătățirea identificării corecte a pacienților cu risc înalt pentru evenimente cardiovasculare ulterioare. Mai multe studii au demonstrat că abordarea multimarker îmbunătățește stratificarea riscului [45]. Pentru stratificarea riscului acut este recomandată folosirea troponinelor (CTNT sau CTNI). În același timp sau în zilele următoare, clearance-ul creatininei serice (CICr) și BNP sau NTproBNP permit estimarea oricărei disfuncții renale sau miocardice, ca și impactul inherent al acestora asupra tratamentului și prognosticului pe termen lung. În mod curent, doar proteina C-reactivă, măsurată prin determinări de înaltă sensibilitate (hsCRP), este disponibilă pentru evidențierea activității inflamatorii de rutină responsabile pentru mortalitatea pe termen lung [46, 47].

#### Concluzii

Deși există o serie de biomarkeri candidați pentru detectarea ischemiei cardiace în cardiochirurgie, incluși în domeniul de cercetare și dezvoltare, biomarkerilor cardiaci ai necrozei celulelor le lipsește specificitatea. Totuși, ca standard de aur a fost acceptată determinarea troponinei cardiace, a izoformelor CTN I și CTN T, fiind completată de CTN de înaltă sensibilitate. Alți markeri sunt, prin urmare, ca un bun aditiv pentru utilitatea diagnostică și de prognostic al CTN în investigarea precoce a pacienților, care prezintă simptome de tip ischemic. Utilitatea clinică a biomarkerilor de ischemie constă în valoarea lor predictivă negativă, mai degrabă, decât capacitatea lor de a dicta conduita în ischemia acută a miocardului. Având în vedere dezvoltarea metodelor de CTN sensibile, sunt necesare eforturi suplimentare pentru a caracteriza mecanismele de eliberare de CTN din cardiomiocite, ținând cont, în același timp, și de cazurile fals-pozitive. Rezultatele determinării troponinei ar trebui să fie interpretate într-un context clinic și nu pot fi utilizate în mod izolat. Ar fi utilă abordarea mul-

timarker în cazul existenței unei asemenea oportunități. BNP pare să fie unul din markerii adecvați pentru această abordare în chirurgia cardiacă. În plus, există încă loc pentru noi markeri: cercetarea actuală pare să sugereze mai mulți markeri gata să vină în clinică, care vor îmbunătăți diagnosticarea, prognozarea și predictivitatea în cazurile ischemiei acute, hipoperfuziei miocardului, evaluării metodelor novatoare de protecție a inimii în cardiochirurgie.

#### References

1. Landsberg G, Bittie WS, Mosseri M, et al. Perioperative Myocardial Infarction. *Circulation*. 2009;119:2936-2944.
2. Rajappa M, Sharma A. Biomarkers of cardiac injury: an update. *Ang*. 2005;56(6):67791.
3. Wright RS, Anderson JL, Adams CD, et al. ACCF/AHA focused update incorporated into the ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients with Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: a Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines developed in collaboration with the American Academy of Family Physicians, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:e215-367.
4. Gaze DC. High-sensitive cardiac troponin assays: application for prime-time use. *Biomark Med*. 2010;4:341-343.
5. White HD. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:2406-2408.
6. Redfearn DP, Ratib K, Marshall HJ, et al. Supraventricular tachycardia promotes release of troponin I in patients with normal coronary arteries. *Int J Cardiol*. 2005;102:521-522.
7. Muller-Bardorff M, Weidtmann B, Giannitsis E, et al. Release kinetics of cardiac troponin T in survivors of confirmed severe pulmonary embolism. *Clin Chem*. 2002;48:673-675.
8. Shave R, Baggish A, George K, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms and implications. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:169-176.
9. ACCF 2012 Expert Consensus Document on practical clinical considerations in the interpretation of Troponin elevations. a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *JACC*. 2012;62(21):2429-2461.
10. Hernandez-Romero D, Lahoza J, Romero-Aniorte A, et al. High-sensitivity troponin T as a biomarker for the development of atrial fibrillation after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2013. doi: 10.1093/ejcts/ezt488
11. Vafaie M, Biener M, Mueller M, et al. Analytically false or true positive elevations of high sensitivity cardiac troponin: a systematic approach. *Heart*. 2013;0:1-7.
12. Bloomberg DJ, Kimber WD, Burke MD. Creatine kinase isoenzymes. Predictive value in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Am J Med*. 1975;59:464-469.
13. Ishikawa Y, Saffitz J, Mealman T. Reversible myocardial ischemic injury is not associated with increased creatine kinase activity in plasma. *Clin Chem*. 1997;43:467-75.
14. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *European Heart Journal*. 2011;32:2999-3054.
15. Wu AHB. Cardiac Markers. 2<sup>nd</sup> ed. Alan H.B. Wu, editor. Totowa: Humana Press, 2003;484.
16. Leung F, Handerson A. Thin-layer agarose electrophoresis of lactate dehydrogenase isozymes in serum: a note on the method of reporting and on the lactate dehydrogenase isoenzyme1/isoenzyme2 ratio in acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1979;25:2092-11.
17. Oh BJ, Seo MH, Kim HS. Insignificant role of the N-terminal cobalt-binding site of albumin in the assessment of acute coronary syndrome: discrepancy between the albumin cobalt-binding assay and N-terminal-targeted immunoassay. *Biomarkers*. 2012;17(5):394-401.

18. Lu J, Stewart AJ, Sadler PJ, et al. Allosteric inhibition of cobalt binding to albumin by fatty acids: implications for the detection of myocardial ischemia. *J Med Chem.* 2012;55(9):4425-30.
19. Bar-Or D, Lau E, Rao N, et al. Characterization of the Co2+ and Ni2+ binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. *Eur J Biochem.* 2001;268:42-7.
20. Breitling LP, Rothenbacher D, Grandi NC, et al. Prognostic usefulness of free fatty acids in patients with stable coronary heart disease. *Am J Cardiol.* 2011;108:508-513.
21. Kanko M, Yavuz S, Duman C, et al. Ischemia-modified albumin use as a prognostic factor in coronary bypass surgery. *J Cardiothorac Surg.* 2012;7:3.
22. Abassi Z, Karram T, Ellaham S, et al. Implications of the natriuretic peptide system in the pathogenesis of heart failure: diagnostic and therapeutic importance. *Elsevier Pharmacology & Therapeutics.* 2004;102:223-241.
23. Ogawa Y, Nakao K, Mukoyama M, et al. Natriuretic peptides as cardiac hormones in normotensive and spontaneously hypertensive rats. The ventricle is a major site of synthesis and secretion of brain natriuretic peptide. *Circ Res.* 1991;69:491-500.
24. Nishikimi T, Maeda N, Matsuoka H. The role of natriuretic peptides in cardioprotection. *Elsevier Cardiovascular Research.* 2006;69:318-328.
25. de Lemos J, Morrow D. Brain Natriuretic Peptide Measurement in Acute Coronary Syndromes. Ready for Clinical Application? *Circulation.* 2002;106:2868-70.
26. Omland T, de Lemos JA, Morrow DA, et al. Prognostic value of N-terminal pro-atrial and pro-brain natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* 2002;89:463-465.
27. Van Veldhuisen DJ, Linssen GC, Jaarsma T, et al. B-type natriuretic peptide and prognosis in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(14):1498-506.
28. Vuolteenaho O, Ala-Kopsala M, Ruskoaho H. BNP as a biomarker in heart disease. *Adv Clin Chem.* 2005;40:1-36.
29. Tamm N, Seferian Karina R, Semenov Alexander G, et al. Novel Immunoassay for Quantification of Brain Natriuretic Peptide and Its Precursor in Human Blood. *Clinical Chemistry.* 2008;54:9:1511-1518.
30. Agarwal SK, Singh S, Kapoor A, et al. Release kinetics of cardiac biomarkers in patients undergoing valve replacement surgery for rheumatic heart disease. *Journal of Cardiothoracic Surgery.* 2013;8(Suppl 1):P145.
31. Eggers KM, Dellborg M, Johnston N, et al. Myeloperoxidase is not useful for the early assessment of patients with chest pain. *Clin Biochem.* 2009;43(3):2405.
32. Voors AA, von Haehling S, Anker SD, et al. C-terminal proavopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *Eur Heart J.* 2009;30:1187-1194.
33. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, et al. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(1):60-8.
34. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell.* 2003;113:685-700.
35. Heringlake M, Charitos E, Gatz N, et al. Growth differentiation factor 15: a novel risk marker adjunct to the EuroSCORE for risk stratification in cardiac surgery patients. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(6):672-81.
36. Morrow DA. Biomarkers of myocardial necrosis: past, present and future. *Humana Press.* 2006;325.
37. Wood FO, de Lemos JA. Sorting through new biomarkers. *Curr Cardiol Rep.* 2008;10(4):31926.
38. Chan D, Ng LL. Biomarkers in acute myocardial infarction. *BMC Med.* 2010;8(1):34.
39. Danne O, Lueders C, Storm C, et al. Whole blood choline and plasma choline in acute coronary syndromes: prognostic and pathophysiological implications. *Clin Chim Acta.* 2007;383(1-2):103.
40. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 2011;472(7341):57-63.
41. Tang WH, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2013;368(17):1575-84.
42. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med.* 2013;19(5):576-85.
43. Proiectul CardBio [http://2013.igem.org/Team:UIUC\\_Illinois](http://2013.igem.org/Team:UIUC_Illinois)
44. Mayr M. Recent Highlights of Metabolomics in Cardiovascular Research. *Circulation: Cardiovascular Genetics.* 2011;4:463-464.
45. Möckel M, Danne O, Müller R, et al. Development of an optimized multimarker strategy for early risk assessment of patients with acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta.* 2008;393(2):103.
46. Ghidul de management al infarctului miocardic al Ministerului Sănătății din România. [Guide for management of myocardial infarction from the Ministry of Health, Romania]. *Monitorul Oficial [Official Monitor].* 2009. Partea I [part 1], nr. 608bis.
47. Infarctul miocardic acut. Protocol clinic național [Acute myocardial infarction. National clinical protocol]. Chișinău, 2011;125. [http://old.ms.md/\\_files/11061-protocol%2520clinic%2520na%25C5%25A3io%2520Infarctul%2520miocardic%2520acut%252C%2520actualizat%25202011.pdf](http://old.ms.md/_files/11061-protocol%2520clinic%2520na%25C5%25A3io%2520Infarctul%2520miocardic%2520acut%252C%2520actualizat%25202011.pdf)

## Functional mitral insufficiency management in aortic valve replacement

S. Barnaciuc

Department of Cardiac Surgery, Republican Hospital, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author: barnaciuc@yahoo.com. Manuscript received December 26, 2013; accepted February 03, 2014

### Abstract

**Background:** The article describes the literature about functional mitral insufficiency associated with surgical approach in aortic valve pathology – which is an actual problem regarding incidence of this pathology simultaneously to aortic valve pathology. This work includes etiologic and physiopathologic aspect, contemporary principles of diagnosis and treatment, surgical technique depending upon mechanism of functional mitral insufficiency origin and elucidation of predictors' factors screening criteria in progression or regression of mitral insufficiency. In the course of study predictors of mitral insufficiency evolution, gradient pressure of aortic valve, mitral valve ring diameter, presence of arrhythmias, ejection fraction of left ventricle and ventricular mass were determined. The proof of the effect of mitral valve failure after the replacement of aortic valve is the symptom of profound left ventricle pathology. Therefore echocardiological parameters of the left ventricle dysfunction, especially of diastolic one, may be predictor of mitral failure effect in case of surgical approach to the aortic valve.

**Conclusions:** Decrease of functional mitral insufficiency is expected in the majority of cases after aortic valve replacement, but decrease grade depends upon all predictors' factors that were studied. At present there is no evidence that coexistent postoperative mitral insufficiency can affect survival, but the impact upon the symptoms is still unclear. A complete evaluation of long term functional state is still an important field of study.

**Key words:** mitral insufficiency, aortic valve pathology, predictors' factor.

## Gestionarea insuficienței mitrale funcționale în timpul înlocuirii valvei aortice

### Introducere

Gestionarea adecvată a regurgitării mitrale moderate în stenoza severă a valvei aortice la pacienții, la care li se înlocuiește valva aortică, rămâne nedefinită. Protezarea de valvă aortică este cea mai frecventă intervenție în chirurgia patologiilor valvulare. Insuficiența mitrală se determină aproximativ la 2/3 dintre pacienții, cărora le este planificată protezarea valvei aortice. Determinăm insuficiența mitrală funcțională și organică. În ultimul timp, insuficiența mitrală funcțională capătă o importanță clinică tot mai mare, fiind tot mai des discutată la congresele și forurile de specialitate, și este determinată de dereglarea structurii și funcției aparatului valvular fără a fi dereglată integritatea cuspelelor valvei mitrale. În acest caz, cuspele valvei nu coaptează din cauza dilatării semnificative a inelului fibros și a hipotoniei mușchilor papilari, și un asemenea tip de insuficiență mitrală este numită „relativă” sau „mitralizarea” unei afectări a ventriculului stâng [1, 3].

Insuficiența mitrală funcțională are un prognostic mai favorabil în comparație cu regurgitarea organică după protezarea valvei aortice. În pofida faptului că insuficiența relativă de valvă mitrală nu este un viciu cardiac în sensul obișnuit al cuvântului, tulburările hemodinamice au același caracter ca într-o afectare organică [8, 10].

Insuficiența mitrală funcțională cronică poate fi suficient de lung compensată dar, în orice caz, aceasta crează o povară suplimentară pentru miocard, crescând probabilitatea de agravare a insuficienței cardiace, și pe termen lung, ducând la remodelarea cavității VS. Dereglarea structurilor funcționale și anatomice ale valvei mitrale, distribuția spațială a zonelor de hipochinezie a miocardului sunt principalele cauze de regurgitare. Suprasarcina de volum în condițiile miocardului compromis duce la dilatarea cavităților și a inelului fibros, iar progresarea dilatării lui ar putea afecta negativ magnitudinea de regurgitare, adică este pus în aplicare principiul „regurgitarea duce la regurgitare” [2, 3].

Ar trebui corijată insuficiența mitrală simultan cu viciul valvei aortice? – este o întrebare discutabilă în cazul pacienților cu regurgitare mitrală moderată (gradul II) sau moderat – severă (gradul III) [3, 6, 10].

Conform literaturii de specialitate internațională, intervenția pe ambele valve este asociată cu o mortalitate postoperatorie mai mare (de la 5% la 12,5%), și o rată mai mare a complicațiilor, pe când intervenția separată pe valva aortică induce o mortalitate de 4%. Pe de altă parte, regurgitarea mitrală necorijată poate progresa postoperator, agravând astfel insuficiența cardiacă și alterând calitatea vieții [7].

Abordarea chirurgicală a insuficienței mitrale funcționale ar fi putut fi evitată, în prezența unor factori de prognostic ai regresiei regurgitării mitrale după înlăturarea patologiei aortice. Cu toate acestea, chirurgia combinată bivalvulară poate fi recomandată pacienților cu regurgitare mitrală stabilă, dar semnificativă sau progresivă. Intervenția de corijare

a insuficienței mitrale în același timp cu corijarea patologiei aortice, duce la rezultate contradictorii, și în prezent nu există nici un algoritm clar de tratament pentru insuficiența mitrală funcțională în chirurgia patologiei valvei aortice [10].

### Fiziopatologie

Severitatea insuficienței mitrale crește în timp, în raport cu creșterea gradientului transaortic și atunci când ajunge a fi moderată sau severă, poate contribui la dezvoltarea simptomelor insuficienței cardiace. Insuficiența mitrală se poate agrava prin mai multe mecanisme (fig. 1). În primul rând, creșterea presiunii din ventriculul stâng duce la creșterea gradientului de presiune dintre atricul stâng-ventriculul stâng, mărindu-se volumul regurgitant prin orificiul atrioventricular stâng. În al doilea rând, supraîncărcarea cronică de presiune remodelează ventriculul stâng care, la rândul său, promovează deformarea valvei mitrale. În plus, dacă insuficiența mitrală este severă, scade volumul-bătaie, reducând astfel gradientul de presiune aortică, ceea ce face detectarea stenozei aortice mai dificilă – „flux redus, gradient scăzut”. Fibrilația atrială, care complică frecvent insuficiența mitrală, poate reduce și mai mult gradientul de presiune aortică. În cele din urmă, insuficiența mitrală severă poate împiedica detectarea disfuncției miocardice subclinice cu păstrarea indicilor de performanță miocardică, cum ar fi scurtarea fracționată și fracția de ejeție a ventriculului stâng [5, 15].

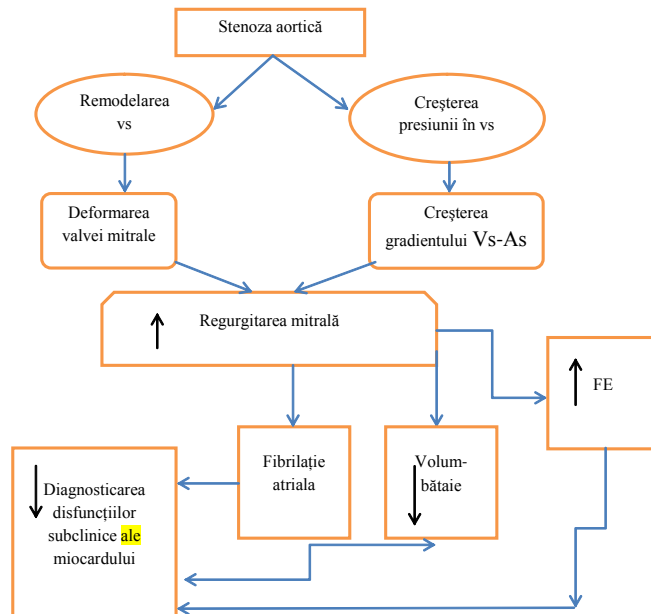


Fig. 1. Fiziopatologia insuficienței mitrale funcționale.

### Metode de diagnostic

Ecocardiografia bidimensională (2-D), M-mod, Dopplerul pulsatil și continuu permit studierea indicilor de bază pre- și postoperatori, care ar putea influența evoluția insuficienței mitrale, cum ar fi: gradientul presional maximal pe valva

aortică, gradientul presional mediu, suprafața de deschidere a valvei aortice și gradul de regurgitare. De asemenea, sunt importante măsurările la nivelul cavităților cordului – diametrul telediastolic, telesistolic al ventriculului stâng, masa ventriculului și grosimea pereților, fracția de scurtare și eiecție, dimensiunile atriului stâng, ale inelului mitral, ale aparatului subvalvular și nivelul de regurgitare mitrală.

Coronarografia preoperatorie permite diagnosticul leziunilor coronariene, în special cele asimptomatice care fiind mai mari de 50% necesită abordare chirurgicală.

#### **Predictori ai evoluției insuficienței mitrale**

Diametrul atriului stâng preoperator mai mare de 50 mm, gradientul maximal la valva aortică mai mic de 65 mmHg, gradientul mediu mai mic de 45 mm Hg, fracția de eiecție mai mică de 40%, fibrilația atrială au un pronostic nefavorabil atât imediat postoperator cât și pe termen lung de supraveghere. De asemenea, în unele surse se găsesc corelații dintre evoluția insuficienței mitrale și vârstă, sex, masa ventriculului stâng, suprafața corporală și afectările coronariene [6, 9].

#### **Metode de tratament**

Remodelarea ventriculului stâng, observată după protezarea valvei aortice, poate induce schimbarea gradului de regurgitare mitrală în perioada postoperatorie. Cu toate acestea, în prezent nu se cunoaște modul în care insuficiența mitrală ușoară sau severă afectează rezultatele precoce și tardive ale tratamentului chirurgical al valvei aortice. Studiarea „mitralizării” în patologia aortică în scopuri de diagnostic și prognostic este o provocare actuală. Încă în 1983, Alain Carpentier a propus metoda cunoscută în toată lumea ca „abordarea funcțională” a corecției chirurgicale a patologiei valvei mitrale. Principala diferență între abordarea propusă este conservarea și restaurarea funcției valvei mitrale, și nu a anatomiei acesteia. În majoritatea cazurilor, chirurgii au tendința de a finaliza orice reconstrucție cu inel de suport, în conformitate cu principiile stabilite de fondatorul reconstrucției valvei mitrale A. Carpentier. Reducerea dimensiunii inelului și creșterea suprafeței de coaptare duce la închiderea mai bună a cuspelelor și dispariția regurgitării. Inelele de suport sunt rigide, semi-rigide și flexibile. În prezent, o mare popularitate capătă inelele de suport cu curbe anatomico-fiziologice (Geo-Form). Alegerea inelului de suport sau a anuloplastiei cu sutură pentru repararea insuficienței mitrale funcționale rămâne a fi o problemă controversată [6].

Pe scară largă sunt utilizate așa-numitele metode de reconstrucție posterioară de valvă mitrală, cele mai cunoscute dintre care sunt oferite de J. Kay, G. Wooller, D. Cooley, G. Reed. Toate tehnicile de mai sus au ca scop reducerea perimetrului inelului fibros mitral. Pentru corecția insuficienței mitrale relative sunt folosite pe larg intervențiile asupra structurilor subvalvulare, cum ar fi metodele de scurtare a corzilor sau îndepărtarea de corzi secundare. Nu cu mult timp în urmă a fost dezvoltată o nouă abordare chirurgicală pentru corecția insuficienței mitrale, așa numita metodă de apropiere a mușchilor papilari cu buclă din Gore - Tex [11, 15]. Varietatea metodelor de corecție chirurgicală a insuficienței mitrale funcționale indică dificultatea prezentă în restabilirea funcției normale a valvei.

Fiecare metodă are avantajele și dezavantajele sale, așa că nu este de mirare lipsa de consens cu privire la utilizarea unei sau a altei metode.

#### **Discuții**

Gradul de îmbunătățire a insuficienței mitrale după înlocuirea valvei aortice este destul de variabil în lucrările studiate. Este cert faptul că starea funcțională se îmbunătățește la majoritatea pacienților numai după protezarea izolată a valvei aortice, dar din păcate, supraviețuirea pe termen lung trebuie prognozată, în pofida intervenției cu succes pe valva aortică. Mai multe studii au constatat că reducerea insuficienței mitrale variază în funcție de etiologie, altele au identificat alți parametri preoperatori cum ar fi: prezența bolii coronariene, lipsa de diabet zaharat, lipsa de hipertensiune pulmonară, prezența insuficienței cardiace congestive, gradul de regurgitare tricuspidiană, boala cerebrovasculară. O dovadă o constituie prezența insuficienței mitrale funcționale după înlocuirea valvei aortice este un simptom de patologie avansată a ventriculului stâng, deci parametrii ecocardiografici de disfuncție a ventriculului stâng, în special a disfuncției diastolice pot servi ca buni predictorii ai evoluției insuficienței mitrale în abordarea chirurgicală a valvei aortice [3, 4, 8, 14].

#### **Concluzii**

Reducerea insuficienței mitrale funcționale este de așteptat în majoritatea cazurilor de înlocuire a valvei aortice, însă gradul de micșorare este dependent de factorii predictorii enumerați mai sus. Actualmente, nu există dovezi clare că coexistența insuficienței mitrale postoperatorii ar afecta supraviețuirea, iar impactul acesteia asupra simptomatologiei rămâne neclar. O evaluare competentă a stării funcționale pe termen lung este un domeniu important de studiu în continuare [1, 2, 5, 7, 13].

#### **References**

1. Unger P, Dedobbeleer C, Van Camp G, et al. Mitral regurgitation in patients with aortic stenosis undergoing valve replacement. *Heart*. 2010;96(1):9-14.
2. Barreiro CJ, Patel ND, Fitton TP, et al. Aortic valve replacement and concomitant mitral valve regurgitation in the elderly: impact on survival and functional outcome. *Circulation*. 2005;112(9 Suppl):1443-1447.
3. Moazami N, Diodato MD, Moon MR, et al. Does functional mitral regurgitation improve with isolated aortic valve replacement? *J Card Surg*. 2004;19(5):444-448.
4. Caballero-Borrego J, Gómez-Doblas JJ, Cabrera-Bueno F, et al. Incidence, associated factors and evolution of non-severe functional mitral regurgitation in patients with severe aortic stenosis undergoing aortic valve replacement. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008;34(1):62-66.
5. Takeda K, Matsumiya G, Sakaguchi T, et al. Impact of untreated mild-to-moderate mitral regurgitation at the time of isolated aortic valve replacement on late adverse outcomes. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010;37(5):1033-1038.
6. Litmathe J, Boeken U, Kurt M, et al. Predictive risk factors in double-valve replacement (AVR and MVR) compared to isolated aortic valve replacement. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;54(7):459-463.
7. Harling L, Saso S, Jarral OA, et al. Aortic valve replacement for aortic stenosis in patients with concomitant mitral regurgitation: should the mitral valve be dealt with? *Eur J Cardiothorac Surg*. 2011;40(5):1087-1096.
8. Christenson JT, Jordan B, Bloch A, et al. Should a regurgitant mitral valve be replaced simultaneously with a stenotic aortic valve? *Tex Heart Inst J*. 2000;27(4):350-355.
9. Absil B, Dagenais F, Mathieu P, et al. Does moderate mitral regurgita-

- tion impact early or mid-term clinical outcome in patients undergoing isolated aortic valve replacement for aortic stenosis? *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003;24(2):217-222.
10. Alghamdi AA, Elmistekawy EM, Singh SK, et al. Is concomitant surgery for moderate functional mitral regurgitation indicated during aortic valve replacement for aortic stenosis? A systematic review and evidence-based recommendations. *J Card Surg.* 2010;25(2):182-187.
11. Vanden Eynden F, Bouchard D, El-Hamamsy I, et al. Effect of aortic valve replacement for aortic stenosis on severity of mitral regurgitation. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(4):1279-1284.
12. Unger P, Plein D, Van Camp G, et al. Effects of valve replacement for aortic stenosis on mitral regurgitation. *Am J Cardiol.* 2008;102(10):1378-1382.
13. Wan CK, Suri RM, Li Z, et al. Management of moderate functional mitral regurgitation at the time of aortic valve replacement: is concomitant mitral valve repair necessary? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;137(3):635-640.
14. Waisbren EC, Stevens LM, Avery EG, et al. Changes in mitral regurgitation after replacement of the stenotic aortic valve. *Ann Thorac Surg.* 2008;86(1):56-62.
15. Carabello BA. The management of functional mitral regurgitation. *Curr Cardiol Rep.* 2007;9(2):112-117.

## CLINICAL CASES

### Atypical giant lipomas

\*V. Curca, V. Culiuc, F. Bzovii

Department of General Surgery and Semiology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy  
Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: eva.curca@mail.ru. Manuscript received September 02, 2013; accepted February 15, 2014

#### Abstract

**Background:** The giant lipomas represent benign tumors of soft tissues. They are come across rather seldom and require a surgical treatment. According to the data of different studies, single lipomas are more common for women, while multiple lipomas are mainly characteristic of men. These tumors can develop at any age however they are rarely detected in children and youths. Patients usually describe lipomas as slowly growing formations, which do not cause any discomfort.

**Material and methods:** A short characteristic of giant lipomas as well as two cases of atypical giant lipomas – on the neck and retroperitoneal region – are reported in this paper. In the latter cases the giant lipomas have been removed surgically. A histological analysis has confirmed the primary diagnosis. The postoperative course has been uneventful.

**Results:** Roughly 60% of single cutaneous lipomas contain clonal genetic changes: the most frequent chromosomal aberrations include breaks of 12q13-15, but there can be changes in the arms of 6p and 13q. These mutations are not characteristic of the multiple lipomas. Typically, lipomas are identified in the subcutaneous tissues of the trunk and upper limbs, but they can seldom be found in internal organs.

**Conclusions:** At the first examination retroperitoneal lipomas can be taken for gastro-intestinal tumors. Abdominal lipomas are usually identified only when they become giant. Large-sized lipomas can compress the blood vessels and nerves in the vicinity and, as a result, induce abnormalities in blood circulation and paresthesia. There are difficulties in the surgical treatment of large, unusually located lipomas, which compress blood vessels, main nerves and internal organs.

**Key words:** atypical giant lipoma, subcutaneous lipoma, retroperitoneal lipoma.

#### Introduction

Lipomas are benign tumors originated from mature fat cells. They are the most common benign mesenchymal tumors covered with fibrous capsules. From the histological point of view, lipomas do not differ from adipose tissue, but in terms of the biochemical point of view lipomas differ from normal adipose tissue by the content of lipoprotein lipase and the presence of large number of precursor cells [1, 4]. Lipomas are classified by the following categories:

The single lipomas (the most frequent), that are superficial and small. They increase along with the body mass increase, but do not decrease with the weight loss [11].

Diffuse congenital lipomas. They are diffuse, not well demarcated, usually located on the trunk. They often infiltrate

the muscle fibres, creating difficulties for surgical treatment. They consist of immature fat cells [11].

Symmetric benign lipomas are the lipomas of the head, neck, shoulders and upper limbs. Men are affected 4 times as frequent as women. Their medical history often includes excessive consumption of alcohol or diabetes [5, 6, 7].

Familial multiple lipomatosis. It ranges from a few to a large number of small lipomas, well demarcated, located on limbs. The lipomas typically appear during or immediately after adolescence period. They don't usually appear on the neck and shoulders (unlike symmetrical benign lipomatosis). They are characterized by a family aggregation and autosomal-dominant inheritance.

Dercum's disease (*adiposis dolorosa*). These type of lipo-

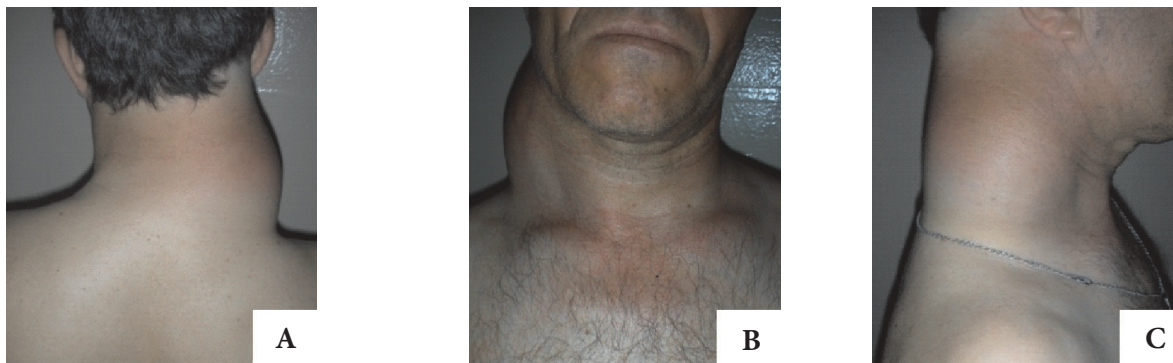


Fig. 1. The results of the inspection. A. Anterior vision. B. Posterior vision.



Fig. 2. The result of the ultrasound scan.

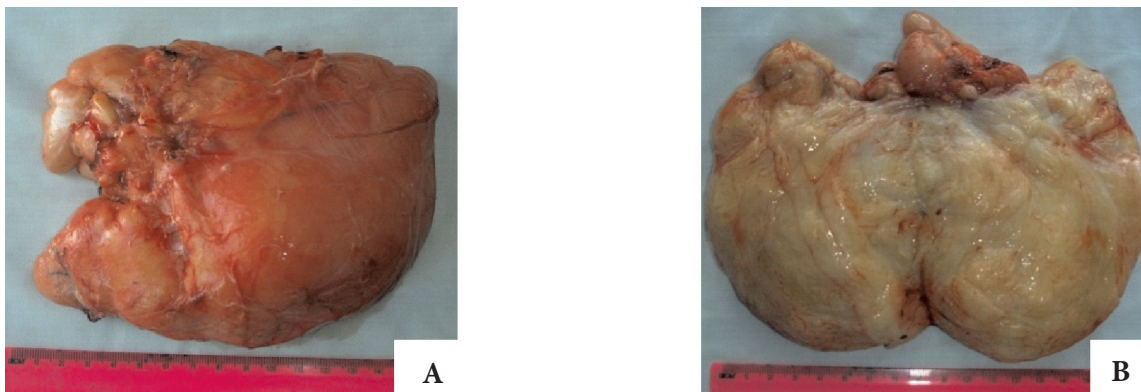


Fig. 3. Macroscopic specimen. A. Posterior vision. B. Anterior vision.

mas cause pain and they are usually located on limbs of post-menopausal obese women. These lipomas are often associated with alcoholism, depression and emotional instability [2, 3, 8].

**Angiolipomas.** Sensitive nodules, under the skin, present in adolescents. Often have multiple lobes and are tougher than other lipomas. The pain, associated with them, is vague and can be spontaneous or caused by pressure.

**Hibernomas.** They are represented by circular, well differentiated asymptomatic nodules. The typical location – interscapular region, groin, neck, or mediastinum. They consist of brown fat cells.

Lipomas are generally represented by subcutaneous no-

dules of 2-10 cm. The lipomas bigger than 5 cm are called giant lipomas. Often lipomas have numerous lobules. The skin that covers the tumor is normal and is not attached to the lipoma.

Lipomas are identified by the computer tomography (particularly, for differentiation of lipomas and liposarcomas) and ultrasonography. The lipomas of the digestive tract are met very seldom. Thus, the stomach lipomas represent only 1-3% of benign gastric tumors. In other sections of the digestive tract the distribution of lipomas is irregular. According to the data from modern literature, approximately 35% of small intestine lipomas are located in the duodenum [10].

### Presentation of clinical cases

**Case 1.** In aseptic surgery department of Chisinau Municipal Clinical Hospital № 1 a 49-year-old man with a round mass in the cervical region has been admitted. First a small nodule with a dynamic growth appeared, and then the patient was sick for about 26 years. A primary inspection has shown the presence of the singular nodular formation on the right side of the cervical region. The dimension of the formation has been about 20x10 cm, which has determined the deformation of the neck. While palpating it has appeared subcutaneous, soft, oval and painless, with a regular shape (fig. 1).

The ultrasound scan has shown the presence of the formation of a regular shape on the right side of the cervical region, which has consisted of an adipose tissue, and the presence of separate vessels.

Its dimensions have been 90 x 66 mm in the sagittal section, and in the frontal region it has not been possible to perform the measurement. The USG diagnosis conclusion has been giant lipoma (fig. 2).

The decision has been to surgically eliminate the lipoma. Under the general anaesthesia, the skin has been incised from the mastoid process to the upper right margin of the clavicle on the right. The muscle *platysma* has been cut, the tumour has been mobilized by a blunt way, then the lipoma has been discarded. The remaining area has been drained with a perforation tube of Redon type. The postoperative wound has been sutured by layers, and aseptic dressing has been applied.

The removed lipoma has had 15 x 20 x 18 cm in size, has been firm, elastic, and a content of adipose tissue and fibrin (fig. 3) has been found at the transection. The histological analysis has shown multiple lobules of adipose tissue, which has included the areas of fibro-connective tissue. The histological analysis conclusion has been a fibrolipoma. The postoperative period has had a favorable evolution.

**Case 2.** In the septic obstetrics department of the Chisinau Municipal Clinical Hospital № 1 a 47-year-old patient has been hospitalized on emergency with the following symptoms: pain in the lower abdomen and lumbar region, general weakness, fever 38.4°C, discomfort, the presence of an alien body in the abdominal cavity, the feeling of heaviness in the stomach area. According to the patient, the disease started 4 days before her appeal to the doctor, that is, when the first complain appeared.

Vaginal examination has shown an increased uterus with myomatous nodules, pain at a palpation, mucous secretions. The transvaginal ultrasound scan has identified a diffuse cervical myoma of about 15 weeks old and a polyp on the endometrium.

The diagnosis at hospitalization has been pelviperitonitis, nodular cervical myoma, necrosis of the myomatous nodule, polyposis of the endometrium.

It has been decided to perform a midline laparotomy. During the inspection of the peritoneal cavity organs, a tumor of 30 x 40 cm has been identified; it has been mobile, with indistinct outline, yellow-gray in color, with accretion in retro-peritoneal space between Treitz ligament and mesocolon. After opening the omental bursa, it has been found that

the tumor has not accreted with mesocolon. Metastases or other pathological formations in liver and mesenteric colon have not been identified. The tumor has been mobilized and removed. The tumor weight has been  $\approx$  1.5 kg. An increased uterus with multiple sub-serous myomatous nodules has been visualized in the pelvic cavity. A white-gray soft nodule of 3 x 4 cm coated with fibrin has been noticed on the posterior wall. The serous of the uterus has been slightly hyperemic and the uterine appendages without any peculiarities. A subtotal hysterectomy has been made without touching the appendages, followed by the drainage of the pelvic cavity.

The postoperative diagnosis has been retroperitoneal lipoma (or liposarcoma?), cervical myoma, ischemic necrosis of the myomatous nodule and pelvic peritonitis.

The macroscopic analysis has shown a formation of 30 x 14 x 7,5 cm, elastic at a palpation, rough, with a 17 x 7 cm long sector, with several lobules, yellow-pink in color. At the cross-section a yellow lobular formation with 2 x 2 cm reddish areas, dirty-yellow in the middle has been detected. Also small, dirty-pink, ovoid formations of 1.5 cm, dirty-yellow in the middle have been detected.

The histological analysis confirmed a lipoma with severe bleeding. The postoperative period had a favorable evolution.

### Results and discussion

According to the data from the literature, the exact incidence of lipomas is unknown, but it is probably much higher than reported, as most of the cases of the lipomas are ignored because of their quiet evolution [5]. Lipomas usually grow at a very slow rate, and the etiology of a rapid growth into giant lipomas is still a matter of debate [1]. They typically arise in the fourth to sixth decade of life. Liposarcomas consist of lipoblasts and may occur wherever fat is present, but they are most commonly found within intramuscular fat tissue. The histological subtypes of liposarcomas include well differentiated, myxoid, round cells and pleomorphic liposarcomas. Well-differentiated liposarcomas exhibit low malignant potential, myxoid liposarcomas display an intermediate malignant behaviour, and round cells and pleomorphic liposarcomas exhibit aggressive behaviour with early metastasis [1, 8].

Lipomas may have a family aggregation and can be found most frequently in obese people, people with diabetes and hypercholesterolemia, or in those people who have suffered a traumatic injury. Roughly 60% of single cutaneous lipomas contain clonal genetic changes: the most frequent chromosomal aberrations include breaks in the 12q13-15, but there can be changes in the arms of 6p and 13q.

These mutations are not characteristic of multiple lipomas [11]. None of these features is applicable to the cases of the patients described in the article. Although a benign lipoma can occur in any region of the body where the fat tissue is present, mesenteric lipomas are rarely reported. In general, they are produced as a result of slow growing, do not form lobules, are soft, mobile, do not penetrate into neighbouring organs. Most mesenteric lipomas are identified accidentally or when they become huge. Their uncommon symptoms include



anorexia, abdominal distension, weight loss, abdominal pain, constipation and the sensation of fullness, especially after meals. When the tumour grows close to the intestinal lumen and away from the mesenteric root, it can cause the abdominal pain by pressing upon the intestinal loops; however, the passage of the intestinal contents may be allowed like in our case due to the consistency of the lipoma and the liquid nature of small intestine contents [9].

### Conclusions

Retroperitoneal lipomas can be wrongly considered to be gastro-intestinal tumors at the first examination.

Abdominal lipomas are usually identified only when they become giant.

Large-sized lipomas can compress blood vessels and nerves in the vicinity and as a result induce abnormalities in blood circulation and paresthesia.

There are difficulties in surgical treatment of large, unusually located lipomas, which compress blood vessels, main nerves and internal organs.

### References

- Allen B, Rader C, Babigian A. Giant lipomas of the upper extremity. *Can. J. Plast. Surg.* 2007;15(3):141-144.
- Bonatus TJ, Alexander AH. Dercum's disease (adiposis dolorosa). A case report and review of the literature. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1986;251-3.
- Brodovsky S, Westreich M, Leibowitz A, et al. Adiposis dolorosa (Dercum's disease): 10-year follow-up. *Ann Plast Surg.* 1994;33(6):664-8.
- Cha JM, Lee JI, Joo KR, et al. A Case Report of Giant Mesenteric Lipoma. *J. Korean Med. Sci.* 2009;24:333-6.
- Economides NG, Liddell HT. Benign symmetric lipomatosis (Madelung's disease). *South. Med. J.* 1986;79(8):1023-5.
- Gomes da Silva R, Detoffol Bragança R, Ribeiro Costa C, et al. Multiple symmetric lipomatosis. *J. Cutan. Med. Surg.* 2011;15(4):230-5.
- Cribb GL, Cool WP, Ford DJ, et al. Giant lipomatous tumours of the hand and forearm. *J. Hand. Surg [Br].* 2005;30:509-12.
- Hansson E, Svensson H, Stenram U, et al. Histology of adipose tissue inflammation in Dercum's disease, obesity and normal weight controls: a case control study. *J. Inflamm.* 2011;8(1):24.
- Ilhan H, Tokar B, Isiksoy S, et al. Giant mesenteric lipoma. *J. Pediatr. Surg.* 1999;34:639-40.
- Kransdorf M J. Benign soft-tissue tumors in a large referral population: distribution of specific diagnoses by age, sex, and location. *American Journal of Roentgenology.* 1995;164:395-402.
- Tallini G, Dal Cin P, Rhoden KJ, et al. Expression of HMGI-C and HMGI(Y) in ordinary lipoma and atypical lipomatous tumors: immunohistochemical reactivity correlates with karyotypic alterations. *Am. J. Pathol.* 1997;151(1):37-43.

## Visceral leishmaniasis in the Republic of Moldova

V. Lungu

National Centre of Public Health, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: vlungu@cnspl.md. Manuscript received November 25, accepted February 15, 2014

### Abstract

**Background:** Leishmaniasis is a parasitic disease that is found in parts of the tropics and subtropics countries. It is classified as a Neglected Tropical Disease. Leishmaniasis is caused by the infection with *Leishmania* parasites, which are spread by the bite of phlebotomine sand flies. There are several different forms of leishmaniasis in people. The most common forms are cutaneous leishmaniasis, which causes skin sores, and visceral leishmaniasis, which affects several internal organs (usually spleen, liver, and bone marrow).

**Material and methods:** A girl of one year old from Georgia who came in visit in the Republic of Moldova at her relatives. After acute debut with fever, dyspepsia, asthenia, patient subjected conventional treatment for such situations. Because of the lack of the well outcome she underwent sternal puncture. At morphological assessment, have been found intracellular inclusions specific for *Leishmaniasis*. Biological material has been directed towards National Centre of Public Health where was identified *Leishmania spp.*

**Conclusions:** This was the first case of leishmaniasis in Moldova. The disease has been imported from an endemic zone for *Leishmaniasis*. This case shows that is necessary to be vigilant in diagnosing of exotic diseases.

**Key words:** visceral leishmaniasis, imported case.

## Leishmanioza viscerală în Republica Moldova

### Introducere

Leishmanioza este o boală parazitară, provocată de un protozoar din genul *Leishmania*. Genul *Leishmania* întru-nește mai multe specii, care morfologic sunt similare în toate stadiile de dezvoltare, dar diferă din punct de vedere biochimic, clinic și epidemiologic:

- *L. donovani*, include 4 subspecii;
- *L. tropica*, include 3 subspecii;

- *L. mexicana*, include 4 subspecii;
- *L. brasiliensis*, include 3 subspecii.

Aceste tipuri și subspecii sunt corelate cu relațiile gazdă – vector și cu sindroamele clinice la om și pot exista sub 2 forme: amastigotul (*leishmania*) – se dezvoltă în organismul vertebratelor și promastigotul (*leptomonas*) – se dezvoltă în organismul vectorului.

*L. donovani* provoacă la om leishmanioza viscerală (boa-

la kala azar); *L. tropica* – leishmanioza cutanată (butonul de Orient); *L. brasiliensis* și *L. mexicana* – leishmanioza cutaneo-mucoasă.

Rezervorul de infecție este atestat la animalele sălbatice și canidele domestice, omul având o importanță minoră. Boala se transmite prin mușcătura unei insecte din genul *Phlebotomus*. Speciile care transmit infecția la om variază de la o zonă la alta. Infecția mai poate fi transmisă congenital și accidental prin transfuzii de sânge [1, 2, 3, 4].

Cele mai frecvente forme clinice sunt leishmanioza cutanată și leishmanioza viscerală.

În leishmanioza cutanată (LC) rezervorul natural este reprezentat de oameni și câini domestici. Se manifestă prin leziuni unice sau multiple ale pielii, mai frecvent pe suprafețele descoperite ale corpului. Perioada de incubare constituie 2-24 de luni. În locul afecțiunii (unde a mușcat insecta) mai întâi apare o papulă roșie, pruriginoasă, care după câteva săptămâni se acoperă cu o crustă uscată, albă, care ulterior se înmoaie și se îngroașă, devenind brună și aderentă. În zona centrală, apare o ulcerăție care se lărgește centrifug. La baza formațiunii, în dermă, apare un țesut de granulație, iar marginile devin indurate de infiltrația fibroblastelor. Sunt atestate 2 variante clinice: forma urbană, uscată și forma rurală, umedă.

Forma urbană se întâlnește în bazinul mediteranean și India și afectează mai frecvent copiii și adulții tineri. În această formă ulcerăția poate lipsi, leziunea este de obicei singulară și evoluează lent, mai mult de un an, lăsând după vindecare o cicatrice depigmentată.

Forma rurală este endemică în zona de deșert din Orientul Mijlociu, Afganistan și Africa. Are o incubăție scurtă, 2-6 săptămâni, leziunile sunt de obicei multiple, localizate pe membrele inferioare și sunt însoțite de adenopatie regională. Dacă nu se complică cu infecții bacteriene, leziunile se vindecă spontan în 3-6 luni, lăsând cicatrice importante.

Forma lipoidă, întâlnită frecvent în Iran și Irak, implică zone mari, în special ale feței. Este o manifestare alergică, fiind rezultatul unei reacții hiperergice. Leziunea se vindecă în centru, dar se extinde la periferie.

Forma lepromatoidă, întâlnită în Etiopia, evoluează sub formă de nodul lepromatos, care se răspândește încet pe toată suprafața corpului, nu ulcerază și este expresia unei imunodeficiențe [5, 6, 7, 8].

Leishmanioza viscerală (LV) este mai frecventă la copiii sub 10 ani. În această formă, paraziții inoculați de insectă ajung mai întâi în ganglionii limfatici regionali, apoi pătrund în torentul sangvin în leucocitele circulante, de unde sunt apoi captate de celulele sistemului reticulo-histocitar din splină, ficat, măduva hematogenă, ganglionii limfatici, unde se multiplică sau sunt distruși, în funcție de răspunsul imun al gazdei. Deși aspectul clinic este similar în toată lumea, există anumite particularități locale care justifică clasificarea LV în 3 tipuri:

- *LV africană (kala azar)*, care afectează mai frecvent persoanele de gen masculin cu vârsta cuprinsă între 10-20 de ani. Infecția este endemică la câini și unele carnivore sălbatice.

- *LV mediteraneană, infantilă* afectează, de regulă, copiii sub 4 ani, iar dintre adulți, mai frecvent turiștii. Rezervorul potențial în natură este reprezentat de șobolani.
- *LV indiană*, afectează copiii mai mari și adulții tineri; în această zonă omul fiind singurul rezervor de paraziți.

Perioada de incubăție variază de la 4 zile la câteva luni. Uneori, înainte de instalarea simptomelor generale, în locul înțepăturii, apare o mică papulă, denumită leishmaniom cutanat. Boala se poate instala progresiv sau poate debuta brusc, cu febră înaltă, însoțită de manifestări generale: cefalee, inapetență, transpirații abundente, tulburări dispeptice, pierdere în greutate, astenie progresivă. Hepatosplenomegalia se manifestă de la începutul bolii și, de obicei, splina este mai proeminentă decât ficatul. Adenopatia este generalizată, apare mai târziu și este nedureroasă. Hemoleucograma pune în evidență: anemie, leucopenie, trombocitopenie. Tegumentele de pe față, mâini, picioare și abdomen sunt hiperpigmentate, de culoare cenușie-neagră, fapt care a determinat denumirea de kala-azar (febră neagră). La acești pacienți sunt frecvente diferite complicații: anemie hemolitică, leziuni renale acute, hemoragii ale mucoasei. Mortalitatea este de obicei ridicată [9, 10, 11, 12, 13].

La persoanele care au suportat leishmanioză, după vindecare, se instalează o imunitate permanentă tipospecifică.

Diagnostic. Febra cronică, splenomegalia și leucopenia la un bolnav dintr-o zonă endemică sugerează leishmanioza. Vizualizarea formelor amastigote de paraziți prin examenul microscopic al punctatului din măduva hematogenă, splină, ficat, nodulii limfatici (în LV) sau din leziunile cutanate (în LC) reprezintă testul clasic de confirmare pentru leishmanioză. Deși specificitatea microscopiei este mare, sensibilitatea sa variază, fiind mai mare în splină (93-99%) decât pentru măduva osoasă (53-86%) sau aspiratul din nodulii limfatici (53-65%). Mai mult decât atât, precizia unui examen microscopic este influențată de calificarea personalului de laborator și calitatea reagenților. Cultivarea leishmaniilor pe medii de cultură sporește sensibilitatea diagnosticului microscopic. Examenul histologic nu poate stabili un diagnostic de specie. Speciile de *Leishmania* pot fi identificate prin abordări imunologice (utilizarea anticorpilor monoclonali). Deși aceste teste sunt disponibile, acestea nu sunt teste de diagnostic standard, datorită sensibilității și specificității lor insuficiente. Plus la aceasta, dezavantajul lor principal constă în faptul că rămân pozitive timp de mulți ani după o terapie de succes. Un procedeu de diagnosticare specific și sensibil este detectarea ADN-ului prin tehnici de biologie moleculară [14, 15, 16, 17].

**Relatare de caz** Pacienta R. M., născută la 08.03.2012 în o. Rustavi, Georgia. Din anamneză s-a constatat că a sosit în R. Moldova, împreună cu părinții, pe 22 martie 2013 în oșpeție la rude în satul Bucovăț, r. Strășeni. S-a îmbolnăvit acut în primele zile ale lunii aprilie. Copilul a manifestat febră înaltă, inapetență, tulburări dispeptice, astenie pronunțată. S-au adresat la Centrul Medicilor de Familie din raionul respectiv, unde s-a prescris tratament adecvat dia-

gnosticului stabilit. Deoarece starea bolnavei nu s-a ameliorat, s-au adresat la Institutul Mamei și Copilului, unde au fost internați pe 21 aprilie 2013. Deoarece a fost suspectată o patologie neoplazică, a fost indicată puncția măduvei hematogene, realizată la 29.04.2013. Examinarea punctatului sternal a pus în evidență prezența unor incluziuni intracelulare, morfologic asemănătoare cu *Leishmania*, din care motiv, cu suspiciune de leishmanioză viscerală, bolnava a fost transferată la Spitalul Clinic Republican de Boli Infecțioase „T. Ciorbă”. La 30.04.2013, frotiul a fost expedit în laboratorul parazitologic al Centrului Național de Sănătate Publică pentru confirmarea (sau infirmarea) diagnozei. La examinarea punctatului a fost depistată *Leishmania spp.*

### Rezultate și discuții

Leishmanioza este una dintre bolile cele mai neglijate din lume, afectând în mare parte cei mai săraci dintre săraci, în special populația țărilor în curs de dezvoltare. Se consideră că aproximativ 350 de milioane de persoane sunt supuse riscului de infestare cu *Leishmania*. Conform datelor Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), actualmente, boala este raportată în 88 de țări. La nivel mondial, prevalența globală a leishmaniozei este de 12 milioane de cazuri, cu o incidență anuală de 2 milioane de noi cazuri și de la 20 000 până la 30 000 cazuri de decese. Principalele focare endemice cunoscute sunt:

- Litoralul mării Mediterane și Portugalia, principalele gazde – rezervor fiind câinii domestici și vulpea europeană. Boala se înregistrează la copii și adulți, în proporții diferite și există dovezi puternice de frecvență înaltă a formelor subclinice de boală, de lungă durată, morbiditatea reală fiind necunoscută.
- Asia Centrală: focare active se întâlnesc în Afganistan, Armenia, Azerbaidjan, Georgia, Kazahstan, Kârgâzstan, Turkmenistan și Uzbekistan. Gazde – rezervor sunt considerați câinii domestici, vulpile și șacalii.
- Arabia Saudită: există dovezi că câinii domestici con-

stituie un rezervor pentru *L. infantum*, în timp ce pentru *L. donovani* rezervorul îl reprezintă omul.

- Irak: câinii sunt sursele de infecție, dar studiile serologice recente sugerează faptul că parazitul se întâlnește și la șacali.
- China: cele mai multe cazuri sunt la copiii sub 5 ani, câinii fiind gazda – rezervor principală.
- America Latină: gazdele – rezervor sunt vulpile [17] (fig. 1).

Leishmanioza nu se întâlnește în Australia și insulele din Pacific. În ultimii 10 ani, au fost realizate descoperiri științifice majore în diagnosticarea, tratamentul și prevenirea leishmaniozei, au fost reduse și prețurile la mai multe medicamente esențiale. Aceste evoluții au facilitat implementarea în unele țări a programelor regionale de control durabil al acestei invazii. Cu toate acestea, programe de control funcționale sunt încă puține, iar morbiditatea și mortalitatea prin leishmanioză, la nivel mondial, are o tendință îngrijorătoare de creștere. În ultimii ani, numărul de pacienți adulți cu leishmanioză viscerală (LV) în formă de co-infecție cu HIV, care sunt dificil de diagnosticat și de gestionat, a fost în creștere [18, 19]. În prezent, aproape 80 la sută din totalul cazurilor raportate de leishmanioză cutanată (LC) provin din Turcia, Turkmenistan și Uzbekistan. În regiunea europeană a OMS, cazuri de LV se înregistrează în Albania, Bosnia, Bulgaria, Croația, Cipru, Franța (regiunile sudice), Grecia, Ungaria, Macedonia, Malta, Muntenegru, Portugalia, România, Spania, Serbia și Turcia [17, 20].

Cu toate că leishmanioza este o boală neglijată și nu este raportată în majoritatea țărilor din Europa, este greu de constatat cu exactitate, câte cazuri noi se înregistrează în fiecare an. În Republica Moldova, până în acest an, cazuri de leishmanioză nu au fost diagnosticate.

Un punct de reper strategic a fost atins în 2007, când în cadrul Asambleei a 60-a a OMS, în Rezoluția WHA 60.13 „Controlul leishmaniozei”, s-a subliniat că leishmanioza prezintă o povară subestimată în majoritatea țărilor din regiunea europeană a OMS. Aceasta dictează necesitatea urgentă



Fig. 1. Distribuția geografică a leishmaniozei.

de a actualiza informația cu privire la amploarea problemei, legate de leishmanioză în cadrul Regiunii Europene a OMS, care poate deschide calea dezvoltării politicilor adecvate și strategiilor pentru a face față acestei parazitoză la nivel regional și de țară [17, 21].

### Concluzii

1. Această descriere prezintă o premieră de leishmanioză viscerală pentru Republica Moldova.

2. Cazul a fost importat dintr-o zonă endemică la această parazitoză.

3. Cele expuse dovedesc că medicii curativi ar trebui să manifeste o conștientizare și interes mai sporit față de invaziile netradiționale pentru Republica Moldova.

### References

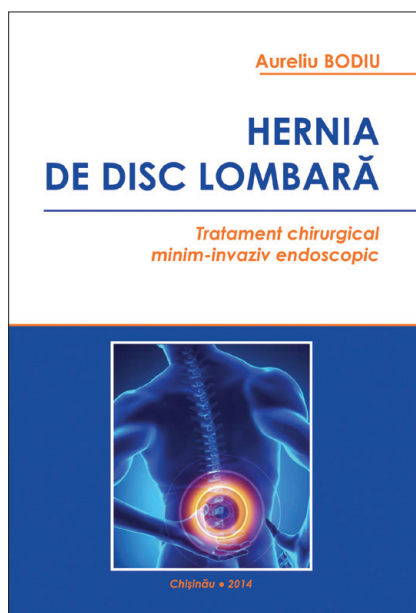
- Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol.* 2006;6:552-557.
- Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. *Clin Dermatol.* 1996;14:417-423.
- Leishmania Infection. Center for Disease Control, 2007. [http://www.cdc.gov/ncidod/dpd/parasites/leishmania/factsht\\_leishmania.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dpd/parasites/leishmania/factsht_leishmania.html). Top. 7.
- Rădulescu Simona. Parazitologie medicală [Medical parasitology]. București, 2000;110-123.
- Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001;95(3):239-243.
- Malekpour M, Esfandbod M. Images in clinical medicine. Cutaneous leishmaniasis. *N Engl J Med.* 2010;11:362-366.
- Narain JP, Dash AP, Parnell B, et al. Elimination of neglected tropical diseases in the South-East Asia Region of the World Health Organization. *Bull World Health Organ.* 2010;88:206-210.
- Rose K, Curtis J, Baldwin T, et al. Cutaneous leishmaniasis in red kangaroos: isolation and characterisation of the causative organisms. *Int J Parasitol.* 2004;34:655-664.
- Ahluwalia IB, Bern C, Costa C, et al. Visceral leishmaniasis: consequences of a neglected disease in a Bangladeshi community. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2003;69:624-628.
- Barnett P, Singh SP, Bern C, et al. Virgin soil: the spread of visceral leishmaniasis into Uttar Pradesh, India. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73:720-725.
- Collin S, Davidson R, Ritmeijer K, et al. Conflict and kala-azar: determinants of adverse outcomes of kala-azar among patients in southern Sudan. *Clin Infect Dis.* 2004;38:612-619.
- Rey LC, Martins CV, Ribeiro HB, et al. American visceral leishmaniasis (kala-azar) in hospitalized children from an endemic area. *J Pediatr (Rio J).* 2005;81:73-78.
- Zijlstra EE, el-Hassan AM, Ismael A, et al. Endemic kala-azar in eastern Sudan: a longitudinal study on the incidence of clinical and subclinical infection and post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;51:826-836.
- Chappuis F, Rijal S, Soto A, et al. A meta-analysis of the diagnostic performance of the direct agglutination test and rK39 dipstick for visceral leishmaniasis. *BMJ.* 2006;333(7571):723.
- Lockwood DN, Sundar S. Serological tests for visceral leishmaniasis. *BMJ.* 2006;333(7571):711-712.
- Maia-Elkhoury AN, Carmo EH, Sousa-Gomes ML, et al. Analysis of visceral leishmaniasis reports by the capture-recapture method. *Rev Saude Publica.* 2007;41:931-937.
- World Health Assembly. The World Health Assembly Resolution (WHA60.13) on the "Control of Leishmaniasis". Geneva, Switzerland, 2007.
- Chicharro C, Alvar J. Lower trypanosomatids in HIV/AIDS patients. *Ann Trop Med Parasitol.* 2003;97(Suppl.):175-178.
- Alvar Jorge, Aparicio Pilar, Aseffa Abraham, et al. The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clinical Microbiology Reviews.* 2008;334-359.
- Harizanov R, Rainova I, Tzvetkova N, et al. Geographical distribution and epidemiological characteristics of visceral leishmaniasis in Bulgaria. *Eurosurveillance.* 2013;18(29):18.
- Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March, 2010.



## Monografia „Hernia de disc lombară. Tratament chirurgical minim-invaziv endoscopic”

Tipografia Academiei de Științe a Moldovei, Chișinău, 2014, 180 p.

Autor: **Aureliu BODIU**, dr., colaborator științific superior, conferențiar universitar  
Institutul de Neurologie și Neurochirurgie, Republica Moldova



Domeniul chirurgiei spinale a fost terenul, în care în ultimii ani au avut loc progrese tehnologice fără precedent. Dintre acestea, cea mai importantă realizare este dezvoltarea tehnicilor miniinvazive spinale. Aceste tehnici au fost promovate de mai mulți cercetători, care le-au nominalizat „chirurgie spinală neinvazivă” sau „chirurgie spinală prin aborduri mici” etc. Metodele diverse,

utilizate în cadrul acestor operații, includ endoscopia, sistemele retractoare tubulare, ghidarea imagistică transcutană etc.

Tendința principală în aplicarea tehnicilor miniinvazive a fost și rămâne asigurarea unui rezultat clinic durabil, care este egal sau superior metodelor standarde existente la moment, dar cu minimalizarea morbidității postoperatorii și a timpului necesar pentru recuperare. Creșterea continuă a numărului de raportări de succese, care vin din centrele specializate sau de la chirurghi cu experiență mare, au dus la sporirea interesului pentru aceste proceduri în cercuri mai largi ale comunității chirurgicale. Unul din obstacolele potențiale în calea răspândirii acestor metode este curba lungă de învățare și necesitatea adoptării unor instrumente și metode noi. În același timp, instrumentarul este perfecționat continuu, iar instrumentele care sunt folosite *astăzi* sunt mai ușor de manipulat decât cele de *ieri* și, posibil, mai greu de manipulat decât cele de *mâine*. În fine, aceste îmbunătățiri progresive vor duce la aceea că tehnicile în cauză vor deveni ușor de însușit, ușor de aplicat și, deci, vor primi o răspândire largă, constituind un standard de tratament.

Monografia recenzată reprezintă o sursă contemporană de informare pentru acei care manifestă interes față de

tratamentul maladiilor degenerative ale coloanei vertebrale și, în special, pentru cei interesați de tehnicile miniinvazive contemporane. Lucrarea include un reviu amplu al metodelor miniinvazive care au existat de-a lungul anilor.

Autorul descrie detaliat tehnica chirurgicală, însă descrierea metodei nu se limitează numai la aspectul pur tehnic al procedurii. De asemenea, în monografie sunt discutate indicațiile operatorii, interdependențele dintre localizarea anatomică, aspectul imagistic și corelațiile intraoperatorii. Sunt analizate obiectiv dificultățile, complicațiile posibile și măsurile de management și prevenire a lor.

În studiul efectuat au fost incluși 101 de pacienți cu hernii de disc intervertebral lombar, operați prin metoda miniinvazivă endoscopică. Perioada de catamneză a fost de cel puțin un an, cu o durată medie de 1,4 ani și un diapazon de 1-5 ani.

Pacienții au fost evaluați conform unui șir de criterii clinico-imagistice contemporane. Un accent deosebit în această lucrare a fost pus pe obiectivizarea rezultatelor tratamentului operator prin folosirea scârilor de evaluare a calității vieții, dezabilității funcționale etc. Studiul este efectuat la un nivel metodic și tehnic contemporan. Autenticitatea rezultatelor obținute nu trezesc dubii.

Metodele clinice de cercetare au fost completate cu rezultatele unui examen complex: evaluarea stării generale și statutului neurologic, tomografia computerizată și rezonanța magnetică, radiografiile funcționale etc. Aprecierea unitară a eficacității tratamentului s-a efectuat conform scârilor internațional acceptate.

Lucrarea are ca scop optimizarea tratamentului chirurgical al pacienților cu hernii de disc intervertebral lombar prin aplicarea unor criterii de pronostic al eficienței, evidențierea particularităților de prezentare imagistică a herniei de disc (localizare, tip de rupere, conflict disco-radicular etc.) și rezultate la distanță. Este efectuată o analiză detaliată și este prezentată descrierea particularităților tehnice ale intervenției chirurgicale, recomandările practice și analiza complicațiilor.

Monografia este dedicată neurochirurgilor, neurologilor, medicilor-rezidenți și studenților.

**Diomid Gherman**, dr. h., profesor, academician  
Catedra Neurologie, USMF „Nicolae Testemițanu”



Un nume răsunător în medicina autohtonă și o personalitate renumită în cadrul comunității universitare este domnul profesor Aurel Danilov, medic și profesor de înaltă speță.

S-a născut la 25 februarie 1934, în comuna Crișcăuți, județul Soroca, România. În 1946, după absolvirea școlii primare din satul natal, într-o perioadă foarte dramatică, dictată de consecințele celui mai sângeros război mondial și foamete, la îndrumarea bunului său tată, recent întors de pe frontul japonez, merge să-și continue studiile la școala medie de cultură generală din Arionestii. Peste 2-3 ani, s-a deschis o școală de cultură generală în satul Visoca, la vreo 6 km de satul natal, unde s-a transferat, locuind la gazdă numai iarna, iar toamna și primăvara zilnic făcea naveta dus și întors pe jos. Astfel, trecând prin mai multe greutăți, a finalizat cu brio școala de cultură generală și în 1952, prin concurs, este înmatriculat la Institutul de Stat de Medicină din Chișinău.

La universitate a avut marele noroc să locuiască într-o cameră de cămin cu viitorii profesori universitari: regretatul Anton Spănu – chirurg remarcabil, Alexandru Izvoareanu – cardiolog deosebit, Nicolae Frunțașu – anatomo-morfolog valoros și Boris Ianachevici – neurolog ilustru. Toți cei 6 ani cât au viețuit împreună, s-au îmbogățit unul pe altul atât spiritual cât și la studii. Se pregăteau serios de fiecare lecție, examen, se ajutau reciproc. Între ei a existat o concurență sănătoasă la învățătură, exemplu demn de urmat pentru colegii de curs.

După finalizarea cu succes a anilor 3-4, toți s-au angajat prin cumul la servicii de noapte în diferite secții din clinicile medicale din Chișinău, unde au activat până la absolvirea Institutului de Medicină. Ulterior, aproape toți au devenit specialiști de profil în secțiile, în care-și făceau serviciile de noapte.

După absolvirea universității, dl Aurel Danilov, timp de aproape 10 ani, până prin 1968, a lucrat în circumscripția Parcova, raionul Brătușeni cu comunele Fântâna Albă, Gașpar, Chetroșica Veche și Nouă, Cupcini, în total aproape 20 de mii populație. A fost un adevărat medic generalist, fiind după necesități și chirurg, și obstetrician, și pediatru, și uneori chiar și traumatolog, reanimatolog. Concomitent a construit un spital modern cu secții de terapie, pediatrie, obstetrică și ginecologie, amenajând și un cabinet de radiologie, un laborator clinic. A învățat să facă radioscopii și bronhografi. În condiții de sat, efectua un tratament modern al abceselor pulmonare, al bronșiectaziilor, introducând antibiotice endobronhial, cu rezultate eficiente, care au fost reflectate în numeroase articole științifice.

În 1961, a fost transferat în circumscripția Dondușeni, mai aproape de părinții săi și ai soției. După 5 ani de lucru în această localitate, în total aproape 10 ani pe linia întâi a medicinei autohtone, doctorul internist și medicul șef al circumscripției Dondușeni, Aurel Danilov, a fost admis prin concurs în secundariatul clinic la Institutul de Terapie al Academiei de Științe Medicale din or. Moscova, al cărui director era academicianul A. L. Miasnikov. Cu permisiunea ministrului sănătății de atunci Nicolae Testemițanu și a medicului-șef raional, Aurel Danilov, și-a luat și familia la Moscova pentru a-și aprofunda studiile postuniversitare.

Concomitent cu studiile în secundariatul clinic, profesorul Aurel Danilov s-a încadrat în studiul academic, tratând bolnavii, frecventând ulterior și seminarele filozofice, acumulând și material științific pentru teza de doctor în medicină, propusă de profesorii Ahrem-Ahremovici R. M. și Muharlemov Nurmuhamed M. După absolvirea secundariatului,

s-a angajat la serviciu în Sanatoriul Cardiologic Podlipki din regiunea Moscova, unde în 6 luni a finalizat teza de doctor în medicină, pe care a susținut-o la Consiliul Științific Specializat al Institutului de Terapie din orașul Moscova, la începutul anului 1970.

Întors în țară, a depus documentele și a fost angajat pe bază de concurs în calitate de asistent universitar la Catedra de Terapie de Facultate a Institutului de Stat de Medicină din Chișinău.

Fiind asistent universitar pe parcursul a 15 ani, din proprie inițiativă, a studiat peste 1500 de fișe medicale, protocoale de necropsii ale pacienților internați și decedați în spitalele municipale nr. 1, 2, 3, 4 și în Spitalul Clinic Republican cu valvulopatii reumatismale și aterosclerotice. Rezultatul acestei lungi cercetări s-a soldat cu scrierea și publicarea, în 1987, a unei monografii fundamentale cu tema: „Valvulopatiile mitrale la adulți, vârstnici și senili”. Timp de mai mulți ani, a fost vicepreședinte al Societății Interniștilor și a lucrat în Consiliul Științific Specializat pentru susținerea tezelor de doctor și doctor habilitat în științe medicale.

În 1991, asistentul universitar A. Danilov susține cu succes teza de doctor habilitat în cadrul Centrului de Cardiologie „A. L. Miasnikov” al Academiei de Științe Medicale, or. Moscova, cu tema: „Valvulopatiile cardiace mitrale în funcție de vârstă (particularități clinico-morfologice, actualități în mecanismele compensatorii ale insuficienței cardiace: date actuale în tratamentul cu digoxină)”, iar în 1993 este ales prin concurs șef catedră Medicină internă nr. 1 (pentru subordinatori), concomitent conferindu-i-se și titlul științifico-didactic de profesor universitar. Aurel Danilov este printre primii doctori habilitați și profesori universitari postbelici în medicina internă dintre cadrele autohtone.

Și-a exercitat funcția de șef catedră în primii ani după obținerea independenței de către țara noastră, când nu erau manuale în limba maternă, când toți erau ocupați cu studierea și implementarea procesului didactic în limba română. Atunci, toți scriau, traduceau manuale, elaborau îndrumări metodice, făceau perfecționări și stagii didactice în România, din care cauză profesorul Aurel Danilov a avut mai puțini doctoranzi și competitori.

Astfel, domnul profesor Aurel Danilov a activat succesiv ca asistent universitar (peste 15 ani), șef catedră (aproape 10 ani), profesor universitar iar, în ultimul timp – profesor consultant la una și aceeași Clinică medicală a Departamentului Medicină internă timp de aproape 45 de ani.

În prezent, activează în calitate de profesor universitar la aceeași catedră. Ține prelegeri în fața studenților anului VI, facultatea Medicină, a rezidenților. Mulți ani la rând, a fost membru al comisiilor de atestare a medicilor interniști și cardiologi din Republica Moldova, continuă să participe la activitatea Consiliilor medicale de consultare a celor mai gravi și complicați pacienți, din diferite secții ale Spitalului Clinic Municipal „Sfânta Treime”. A publicat peste 100 de articole științifice în reviste de specialitate, inclusiv în „Buletinul Academiei de Științe a Moldovei”. Participă activ la lucrările conferințelor, congreselor, ședințelor societăților de interniști și cardiologi. Publică articole sociale în revistele „Literatura și Arta”, „Natura”, „Vânătorul și Pescarul Moldovei”.

Pentru merite deosebite în activitatea prodigioasă a fost decorat cu ordinul „Gloria muncii”, medalia „Nicolae Testemițanu” și „Veteran al muncii”.

Domnul profesor Aurel Danilov are o familie frumoasă, formată din soția Emilia – învățătoare, fiica Liliana – doctor nefrolog de categorie superioară, doctor în medicină, feciorul Lucian – otorinolaringolog, doctor în medicină, conferențiar universitar. Astfel, domnul Danilov a ajuns la această vârstă onorabilă de 80 de ani și se simte fericit, deoarece în această viață a reușit să construiască și să mențină o familie mare și implinită și să-și realizeze toate visele și proiectele.

Stimate domnule Profesor, la această remarcabilă aniversare, întreaga comunitate universitară, vine să Vă aducă cele mai sincere felicitări și urări de sănătate, prosperitate, realizări notabile în activitatea Dumneavoastră atât de necesară *Alma mater*. Să Vă bucurați de viață, să fiți plin de optimism și energie alături de cei dragi. La mulți ani!

**Ion Ababii**, dr. h., profesor, academician  
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”



În rândul personalităților marcante, care contribuie la edificarea și dezvoltarea medicinei în Republica Moldova, pe drept, se înscrie și numele fizicianului de formare, profesorului universitar Dumitru Croitoru. De 55 de ani încoace, toate generațiile de medici, absolvenți ai USMF „Nicolae Testemițanu” leagă numele profesorului universitar Dumitru Croitoru cu medicina, deoarece tot atâtea ani domnia sa este încadrat în procesul de pregătire a medicilor și farmaciștilor.

S-a născut Dumitru Croitoru la 15 martie 1934, într-o familie de plugari de viță din satul Alexandreni, raionul Edineț. A urmat o carieră tipică pentru reprezentanții intelectualității moldave de după cel de-al doilea război mondial. A frecventat școala de cultură generală din Edineț, pentru care lucru era nevoit zilnic să facă naveta din satul natal până în centrul raional, efort ce denota dorința sa arzătoare de a face carte. De atunci, hotărât să se facă pedagog fizician, a pornit spre capitală. Absolvește cu mențiune facultatea de Fizică și matematică a Universității Pedagogice „Ion Creangă” din Chișinău (1956) și după satisfacerea serviciului militar se angajează în calitate de laborant superior la catedra de Fizică a instituției nominalizate. Turnura decisivă a tânărului fizician spre medicină s-a produs în anul 1959, sub influența marelui patriot al neamului, organizator și reformator al medicinei autohtone Nicolae Testemițanu. Devenind atunci asistent al catedrei de Fizică a Institutului de Stat de Medicină din Chișinău, domnul profesor Dumitru Croitoru activează până astăzi în sistemul de pregătire a medicilor din Republica Moldova.

A urmat doctoratul la Institutul de Medicină „I. M. Secenov”, Moscova (1960-1963), a susținut teza de doctor în pedagogie (1967), devenind profesor universitar. În anul 1970, este ales șef al catedrei de Fizică medicală, pe care a condus-o până în anul 1999. Pe parcursul anilor, îndeplinește funcția de vice-decan al facultății de Pediatrie (1969), apoi vice-decan al facultății Medicină generală (1975), exercitând totodată și alte activități publice importante, conduce, în calitate de președinte, Societatea Tehnico-Medicală din Republica Moldova (1981-1989). În această perioadă, sub conducerea profesorului D. Croitoru, au fost făcuți pași importanți în scopul profilării cursului de biofizică în conformitate cu cerințele exigente de pregătire a cadrelor medicale și începe să activeze seminarul metodic-științific în domeniul biofizicii.

Mulți medici, cunoscuți și mai puțin cunoscuți, care au activat și activează actualmente în sistemul ocrotirii sănătății din țară, au fost ajutați, la vremea lor, de către înțeleptul dascăl Dumitru Croitoru. Este vorba de timpurile deloc ușoare ale „socialismului dezvoltat”, când o faptă sau chiar o vorbă ce nu se încadra în ideologia dominantă pe atunci, te putea costa cariera profesională. Spre onoarea domnului profesor Dumitru Croitoru, care ocupa în acea perioadă posturi importante în administrația Institutului de Stat de Medicină din Chișinău, domnia sa a rămas permanent o persoană cu demnitate, onestitate, bunăvoință și spirit de ajutor pentru colectivul și studenții Institutului.

Concomitent cu dezvoltarea Universității, și prin administrarea chibzuită a profesorului Dumitru Croitoru, se îmbunătățește esențial baza tehnico-materială a catedrei, crește nivelul profesional al cadrelor didactice. Reorganizarea mai amplă a catedrei s-a efectuat în anii nouăzeci, când *de facto* au fost puse bazele unei noi catedre „Biofizica și Informatica”, bine înzestrată cu computere și aparataj didactic modern.

Succesele profesorului universitar Dumitru Croitoru în plan didactic și științific din acea perioadă sunt confirmate de următoarele realizări: în colaborare cu colegii din orașele Moscova și Sankt-Petersburg, au fost editate două manuale (D. Croitoru. *Лекционные демонстрации по физике*. Chișinău, 1974; D. Croitoru, A. Remizov, V. Samoilov. *Лабораторный и лекционный эксперимент по медицинской и биологической физике*. Chișinău, 1983), apreciate la justa valoare și recomandate pentru toate instituțiile de învățământ superior cu profil medical din fosta Uniune Sovietică.

Odată cu revenirea la grafia latină, la catedră se simțea lipsa de literatură didactică de profil, de manuale și alte materiale metodico-didactice, în special în limba română. Din aceste motive, profesorul universitar Dumitru Croitoru a acordat o deosebită atenție elaborării manualelor de biofizică conform cerințelor și programelor noi de studii. Un exemplu concludent în acest sens îl prezintă traducerea în limba română de către colaboratorii catedrei a manualului A. Remizov „Fizica medicală și biologică” (1991). Au urmat mai multe ediții ale manualelor scrise de către profesorul universitar Dumitru Croitoru, sau de colective de autori conduse de domnia sa: *Lucrări practice la biofizică*, ed. 1996, 2001; *Biofizica medicală (prelegeri)*, ed. 1999; *Biofizica (lucrări practice, demonstrații, exerciții)*, ed. 2005, 2006, 2009; *Biofizica medicală (prelegeri, exerciții)*, ed. 2010, 2013; în total 19 titluri de manuale, compendii, culegeri de teste și alte materiale metodico-didactice. De menționat, că două manuale ale sale au fost traduse în limba engleză (2004, 2010) și actualmente se pregătește ediția în limba engleză a celui de al treilea manual.

Profesorul universitar Dumitru Croitoru a efectuat cercetări în domeniul modelării fenomenelor și a proceselor fizice din materia vie, expuse în cele două monografii și peste 100 de publicații științifice. A elaborat și confecționat aparate didactice unice noi, care au completat fondul științific al procesului de studii în domeniul biofizicii medicale. Aceste aparate au fost menționate cu Medalia de Aur la Expoziția Internațională de aparate Didactice de la Moscova (1991) și cu Medalia de Argint la Expoziția Internațională de Invenție de la Geneva (2001). Caracterul inovator al acestor elaborări este confirmat prin 37 de brevete de invenții.

Meritele deosebite ale profesorului universitar Dumitru Croitoru în dezvoltarea învățământului medical superior au fost înalt apreciate de conducerea statului, domnia sa fiind purtător al titlurilor onorifice de „Lucrător Emerit al Școlii Superioare” din Republica Moldova, „Inventator de Elită”, cavalier al ordenelor „Gloria Muncii” și „Знак Почета”.

Ajuns astăzi la o vârstă onorabilă, profesorul universitar Dumitru Croitoru este considerat de către comunitatea universitară drept unul din pilonii Universității, mare patriot al *Alma mater*, un talentat și renumit pedagog și om de știință de excepție.

Cu ocazia acestui jubileu remarcabil, domnule profesor, Vă dorim multă sănătate, viață lungă și activă, cu multă recunoștință din partea discipolilor și generațiilor de medici și farmaciști educați și îndrumați de Dumneavoastră. La mulți ani plini de bucurii și optimism!

**Ion Ababii**, dr. h., profesor, academician,  
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”



Profesorul universitar, doctorul habilitat în medicină Ivan Butorov, cunoscut specialist în medicina internă, iscusit pedagog, savant cunoscut în țară și peste hotare, stimat de colegii de breaslă și mentor pentru mulți tineri antrenați în procesul didactic și de cercetare, mult apreciat de studenți, rezidenți, doctoranzi, a atins în această primăvară, cu soare blând de catifea, venerabila vârstă de 70 de ani.

A văzut lumina zilei la 27 martie, anul 1944, într-o familie de agricultori, oameni gospodari, de la care a învățat hărnicia, disciplina, responsabilitatea, care i-au fost de mare folos în viață.

În 1962 absolvește școala de cultură generală din satul de baștină Lujnoe, regiunea Kaluga, Federația Rusă.

Profesorul universitar Ivan Butorov și-a început calea vieții în lumea imensă a medicinei în 1962, fiind student la școala de medicină din Tiraspol până în 1964. Ulterior, se angajează în calitate de felcer și activează cu dăruire de sine în satele Porumbești și Mingir din raionul Leova, apoi în satul Roșcani din Strășeni, unde a organizat un seminar unional, consacrat vaccinării, inaugurând pentru prima dată un cabinet destinat profilaxiei bolilor prin vaccinare.

În 1968, este admis în calitate de student la Institutul de Stat de Medicină din or. Chișinău, pe care-l absolvește cu mențiune în anul 1974. În perioada studenției este membru al Comitetului Sindical Studențesc. Pe parcursul anilor 1974-1976 își face studiile în secundariatul clinic, specialitatea Medicină internă.

Și-a început cariera în calitate de asistent universitar la catedra Terapie de spital, în 1977. După o muncă asiduă de cercetare, în 1982, susține cu succes teza de doctor în medicină, iar în 1988 i se conferă titlul științifico-didactic de conferențiar universitar. Mai târziu, în 1990, susține teza de doctor habilitat în medicină, iar în 1993 i se acordă titlul științifico-didactic de profesor universitar.

În perioada 1982-1985, activează și în calitate de vice-decan al facultății Pediatrie, iar din 1985 până în 1988 a fost vice-decan la facultatea de Perfecționare a medicilor.

În 1992, este fondată catedra Boli Interne nr. 6, reprofilată în 2010 în Clinica medicală nr. 6, disciplina (catedra) Boli ocupaționale, pe care o conduce cu multă măiestrie până în prezent.

Fiind mereu în căutare, întru realizarea multor idei de o importanță majoră, pe parcursul acestor ani de activitate, având calitatea de cercetător de talie internațională, se identifică cu numărul de publicații științifice, apărute în țară și peste hotare. Relevanța cercetărilor realizate este confirmată prin 540 de lucrări științifice, publicate de-a lungul anilor de activitate fructuoasă, inclusiv 5 monografii, 14 recomandări metodice pentru medicii din țară, numeroase invenții și inovații.

A participat activ cu comunicări la conferințe, congrese și simpozioane naționale și internaționale.

Impunător este aportul profesorului universitar Ivan Butorov în pregătirea cadrelor științifice de înaltă calitate. Sub îndrumarea înțeleaptă a Domniei sale, eminent savant și pedagog, au fost pregătiți 13 doctori și 3 doctori habilitați în medicină (actualii profesori universitari: I. Țibîrnă, S. Matcovschi, N. Bodrug). Încă 2 teze de doctor în științe medicale sunt în curs de pregătire. Până în prezent, Domnia sa continuă să realizeze cu succes cercetări științifice de actualitate pentru țara noastră.

Prestigiul și recunoașterea națională și internațională a investițiilor întreprinse privind mecanismele fiziopatologice, metodele de diagnostic, elaborarea principiilor de optimizare a tratamentului maladiilor pulmonare este certă și de netăgăduit. Cu o asemenea impresionantă carte de vizită este firească acordarea calității de membru al unui șir de societăți științifice în domeniu din țară și de peste hotare.

Profesorul universitar Ivan Butorov activează cu succes și în domeniul didactic și curativ, asigurând coordonarea și standardizarea predării la disciplina Boli ocupaționale; elaborează cursuri și alte materiale didactice ce țin de învățământul universitar și postuniversitar; instruieste cadrul didactic privind metodologia de predare a lecțiilor practice; elaborează programe și planuri de studii la disciplina de care este responsabil; participă la organizarea și desfășurarea procesului de evaluare a cunoștințelor studenților și rezidenților.

Participă și dirijează conferințele clinice matinale, conferințele clinico-morfopatologice și științifico-practice în incinta Spitalului Clinic al Ministerului Sănătății. Oferă consultații în clinică, în alte instituții medico-sanitare publice municipale și republicane.

Domnul profesor Ivan Butorov a efectuat stagii și perfecționări în domeniul medical în Rusia (Institutele de Medicină din Moscova și Sankt-Petersburg), Belarus și România.

Pe parcursul a 15 ani (1985-2000) a fost membru al Comisiei de admitere la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Munca asiduă a profesorului universitar Ivan Butorov este apreciată și solicitată în calitate de membru al Comisiei Metodice de profil Boli interne, Societății Internaționale „Bronhopneumopatia obstructivă cronică”, Societății Interniștilor din Republica Moldova și al Societății de profilaxie a osteoporozei.

A fost decorat cu mai multe distincții și titluri, printre care se numără: titlul onorific „Eminent al Ocrotirii Sănătății” (1975), medalia „За трудовые отличия” (1986), medalia „Ветеран труда” (1989). Însă poate mai importante decât aceste recunoașteri oficiale rămân dragostea pe care i-o poartă colegii săi, aprecierea și respectul, cu totul deosebite, ale foștilor săi discipoli.

Este un om de o cumsecădenie aparte, vesel și glumeț, consecvent în prietenie, simplu cu toți, foarte modest și săritor la nevoie, gata să ajute pe fiecare cu ceea ce poate. Așa îl știu toți colegii și prietenii.

Multstimate dle profesor Ivan Butorov, la vârsta marilor împliniri, corpul profesoral al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, întreaga comunitate universitară își exprimă toată recunoștința pe care o meritați din plin, dorindu-Vă multă sănătate, energie și forțe pentru a Vă putea bucura în continuare de viață alături de colegi și discipoli. La mulți ani!

**Ion Ababii**, dr. h., profesor, academician  
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”



## Valentina Parfentiev – 100 de ani de la naștere



În acest an, se împlinesște un centenar de la nașterea profesorului Valentina Parfentiev, remarcabil savant și pedagog, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Om emerit al Republicii Moldova, ex-șef catedră Chirurgie operatorie și Anatomie topografică, activând în cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” pe parcursul a 31 de ani.

Valentina Parfentiev s-a născut la 04 aprilie 1914, în orașul Harkov, Ucraina, într-o familie de medici. În timpul războiului civil, apoi în perioada postbelică, din cauza foamei și dezastrului care se instalase în țară, ei au fost nevoiți să plece din oraș și să se stabilească în sectorul rural.

În anii 1934-1939, Valentina Parfentiev își face studiile la Institutul de medicină din Odesa. După absolvire, pentru merite remarcabile și succese notorii în anii de studii, a fost propusă în calitate de asistent universitar la catedra de Anatomie topografică și Chirurgie operatorie.

În august 1941 a fost evacuată în Stalingrad, unde s-a aflat timp de un an, trecând prin toate ororile războiului. La finele anului 1942, s-a transferat în Kazani, unde a lucrat timp de două luni, iar din ianuarie 1943 s-a angajat la primul Institut de medicină din Moscova „I. M. Secenov”.

În perioada 01 martie 1943 – 14 septembrie 1951 a lucrat la al doilea Institut de medicină din Moscova „N. I. Pirogov” în funcția de asistent universitar, la catedra Chirurgie operatorie și Anatomie topografică. În același timp, activa în calitate de medic în cadrul clinicilor de chirurgie din Moscova ale profesorilor N. A. Bogoraz și M. M. Novicov.

În 1944 susține teza de doctor în medicină cu tema: “Blocajul trunchiurilor neurale ale gâtului în socul pleuropulmonar”.

La 14 septembrie 1951 a fost transferată la Institutul de medicină din Reazani în calitate de asistent la catedra Anatomie topografică și Chirurgie operatorie. În martie 1952, i s-a conferit titlul de conferențiar universitar.

La 23 aprilie 1954, în cadrul Institutului de medicină din Reazani, susține teza de doctor habilitat în medicină cu tema: “Arhitectonica vaselor sangvine intraorganice ale ficatului în normă, în hipertonie și în ulcer gastric”.

La 23 iunie 1954 a fost numită în funcția de șef catedră Anatomia omului a Institutului de medicină din Chișinău. Din septembrie 1955, în legătură cu boala îndelungată a profesorului S. M. Rubașov, a condus concomitent și catedra de Chirurgie operatorie și Anatomie topografică.

În 1955, i s-a conferit titlul științific de profesor universitar. Din 09 septembrie 1956 a fost numită șef catedră Chirurgie operatorie și Anatomie topografică. Colectivul catedrei, în frunte cu profesorul Valentina Parfentiev, a elaborat un sistem instructiv-didactic și științific cu orientare practică, sporind astfel tradițiile renumiților savanți ai școlii anatomotopografiștilor, folosind experiența și potențialul creator autohton.

Activitatea științifică a profesorului Valentina Parfentiev în cadrul catedrei a început cu introducerea macro-microscopiei și metodei de preparare a pieselor anatomice prin injectarea vaselor sangvine cu mase rezistente la corodare. Folosind aceste metode, au făcut cercetări valoroase Ion Podubnii, Nicolae Frunțașu, Ludmila Chiroșca, Filaret Moraru, Alexandra Colesnic, Valentina Tcaciuc, Stanislav Iutanov.

În anul 1963 la catedră se elaborează o direcție științifică nouă și anume: utilizarea pentru plastie a transplanturilor osoase conservate în soluții slabe de formol (0,25-0,75%). Cercetările au fost inițiate de către studenții Vladislav Razvadovschi și Victor Dmitrienco. În scurt timp, în 1966, metoda a fost patentată ca invenție, și s-a lansat implementarea ei în practică. Cu această tematică au susținut teze Vladislav Razvadovschi, Victor Dmitrienco, Ion Marin, Larisa Iacunina, Ludmila Chiroșca, Ion Brus, Olga Bedencov, Victor Remizov, Pavel Țăpu, Valeriu Beloded, Boris Topor. Metoda de conservare a țesutului osos prin formalizare în soluții slabe a înlocuit metodele de congelare și liofilizare în toate băncile de țesuturi din fosta Uniune Sovietică. Cercetări în această direcție s-au efectuat în diverse instituții științifice, au fost publicate sute de articole și susținute mai mult de 25 de teze. În prezent, transplanturile formalizate de os, tendoane, ligamente, fascii, pahimeninge sunt folosite pe larg în procedeele chirurgicale plastice la noi în țară și peste hotare.

În 1966, având în vedere succesele științifice remarcabile, profesorul Valentina Parfentiev a fost înaintată de către Consiliul științific al Institutului de medicină din Chisinau la concurs pentru obținerea titlului de membru-corespondent al Academiei de științe Medicale a Uniunii Sovietice. Conform criteriilor științifice corespundea pe deplin, însă, după cum știm, se luau în calcul și alte circumstanțe (nu era membru de partid...).

Pentru lucrările sale științifice valoroase în domeniul medicinei și pentru participare activă în viața medicală, profesorului Valentina Parfentiev, în 1973, i s-a conferit titlul Om Emerit în știință din Republica Moldova, a fost decorată cu medalia „Pentru vitejie în muncă”.

Profesorul Valentina Parfentiev a publicat circa 200 de lucrări științifice, dintre care 4 monografii, a redactat 3 culegeri de articole, a participat la diverse foruri științifice.

În 1987, în legătură cu vârsta de pensionare, rămâne să activeze în continuare la catedră în funcția de profesor-consultant.

Pe parcursul anilor, a activat în calitate de secretar științific al institutului, a fost președinte al secției medicale a Societății republicane pentru popularizarea cunoștințelor politice și științifice, membru al biroului societăților „Znanie” și „Universitatea sănătății”, membru al Consiliului de experți pe lângă Ministerul Sănătății.

Valentina Parfentiev a decedat la 19 martie 1996. Numele ei va rămâne în memoria discipolilor, colegilor și prietenilor, în memoria tuturor celor care au cunoscut-o și cu care a comunicat vreodată. Relațiile și legăturile științifice și profesionale, stabilite de Valentina Parfentiev, stilul de muncă, spiritul intelectual, devotamentul și profesionalismul rămân a fi un exemplu demn de urmat pentru discipolii, care-i continuă ideile pe tărâmul științific și pedagogic.

**Boris Topor**, dr. h., profesor universitar  
Șef catedră Anatomie topografică și Chirurgie operatorie  
USMF „Nicolae Testemițanu”

## GUIDE FOR AUTHORS

The authors are strongly requested to visit our web site [www.curierulmedical.org](http://www.curierulmedical.org), and follow the directions of the Publication Ethics and Publication Malpractice Statement.

The articles are accepted for publication in Romanian, English and Russian. All articles are double-blind peer reviewed by two independent experts.

The articles must be sent electronically by the authors, responsible for the correspondence, with a cover letter written to the Editor-in-Chief Boris Topor, MD, PhD, Professor. The letter should contain a statement, saying that the manuscript has been seen and approved by all the authors and the article has not been previously published.

The authors are responsible for the content of the articles. The papers describing a research, involving animal or human subjects, should state in the cover letter that the rules of working with animals have been observed and the official consent has been obtained from the patients, and it has been approved by the designated board of the institution involved. The potential conflict of interests should be acknowledged by all the authors and editorial reviewers. If such a conflict is recognized, the reviewer is excluded from the review process and another reviewer is assigned.

#### All papers must be executed in the following manner:

**1. The manuscripts should be typed** in format A4, 1.5-spaced, with 2.0 cm margins, printing type 12 Times New Roman, in Microsoft Word.

**2. The title page** should include the first and last names of all the authors, their academic degrees, the name of the department and institution from which the paper has arrived, the phone number and e-mail address of the corresponding author.

**3. The abstract** should be written on the title page in English and be limited from 220 to 240 words. The abstract should end with 3 to 6 key words.

**4. The text of clinical or experimental articles** (has to be less than 16 pages long) should consist of an Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusions and be followed by no more than 40 References. The **review articles** must not exceed 25 pages and contain no more than 100 references.

**5. The tables and figures** must be typed, consecutively numbered and followed by an explanatory text. The figures that have to emphasize a comparison or details are published in colour. If coloured figures are to be placed, the author must pay an additional fee of €100 per page (1-8 figures on a page).

**6. The references** are to be listed in order of their appearance in the text, and the appropriate numbers are to be inserted in the text [in square brackets] in proper places. The references must comply with the general format outlined in the Uniform Requirements for the Manuscripts Submitted to Biomedical Journals developed by the International Committee of Medical Journal Editors ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)), chapter IV.A.9. The references in the Cyrillic script should be transliterated into Latin script as follows: A-A, B-B, B-V, G-G, D-D, E-E, E-E, Ж-ZH, 3-Z, И-I, Й-Y, К-K, Л-L, М-M, Н-N, О-O, П-P, P-R, C-S, T-T, Y-U, Ф-F, X-KH, Ц-TS, Ч-CH, Ш-SH, Щ-SCH, Ы-Y, Э-E, Ю-YU, Я-YA; Ъ and Ь are omitted. Immediately after the transliteration the translation of the title in English [in the square brackets] should follow. For example: Ivanov IV, Sidorov VM, Kozlov NF. Transplantatsiya organov i tkaney [Transplantation of organs and tissues]. Vestnik Khirurgii [Messenger of Surgery]. 2010; 26(6):45-49.

**Address of the Journal Office**  
192, Ștefan cel Mare Avenue  
Chișinău, MD-2004  
Republic of Moldova  
Telephone: +37322244751  
Fax: +37322295384  
[www.curierulmedical.org](http://www.curierulmedical.org)  
[editor@curierulmedical.org](mailto:editor@curierulmedical.org)  
[secretary@curierulmedical.org](mailto:secretary@curierulmedical.org)

## GHID PENTRU AUTORI

Redacția recomandă insistent autorilor să viziteze pagina web a revistei Curierul Medical [www.curierulmedical.org](http://www.curierulmedical.org) pentru a face cunoștință cu cerințele și respectarea ulterioară a „Regulamentului despre etica editorială”.

Sunt acceptate spre publicare articole în limba română, engleză sau rusă. Toate articolele sunt îndreptate pentru recenzare la 2 experți independenți.

Articolele se expediază prin poșta electronică, în adresa redactorului-șef Boris Topor, dr. h., profesor, cu o scrisoare de însoțire din partea autorului, responsabil pentru corespondență. Scrisoarea va confirma faptul că toți autorii sunt de acord cu conținutul articolului și că articolul dat nu a fost publicat anterior.

Pentru conținutul articolelor sunt responsabili autorii. Dacă în articol sunt prezentate date despre rezultatele cercetărilor efectuate pe oameni sau animale, este necesar ca în scrisoarea de însoțire să se indice, că au fost respectate regulile de rigoare în privința experiențelor efectuate pe animale sau a fost obținut acordul pacienților și permisiunea administrației instituției. În caz de apariție a conflictului de interese, despre această vor fi informați toți autorii și colegiul de redacție al revistei. Dacă conflictul se confirmă, persoanele cointeresate se exclud din procesul de evaluare a articolului și se numește un nou expert.

#### Articolele trebuie să respecte următoarea structură:

**1. Articolele se imprimă** în formatul A4, Times New Roman 12, în Microsoft Word la intervalul 1,5, cu câmpurile de 2 cm.

**2. Foia de titlu** conține prenumele și numele autorilor, titlul și gradul științific, instituția, numărul de telefon și adresa electronică a autorului corespondent.

**3. Rezumatul** în limba engleză (220-240 cuvinte) se expune consecutiv pe foaia de titlu, inclusiv cuvintele-cheie, de la 3 până la 6. În rezumat este obligat să fie expus scopul cercetării (dacă nu este clar din titlu), metodologia studiului, rezultatele obținute și concluziile.

**4. Textul articolelor clinice, experimentale** (până la 15 pagini) cuprinde: Introducere; Material și metode; Rezultate obținute; Discuții; Concluzii și Bibliografie până la 40 de referințe. Altă structură se acceptă, dacă aceasta corespunde conținutului materialului. **Articolele de sinteză** nu vor depăși 25 de pagini și bibliografia până la 100 de surse.

**5. Tabelele și figurile** trebuie să fie enumerate și însoțite de legendă. Figurile care necesită contrastare sau evidențierea detaliilor sunt executate color. Figurile color se publică din sursele autorului – 100 €, 1-8 figuri pe pagină.

**6. Referințele**, în conformitate cu cerințele Comitetului Internațional al Editorilor Revistelor Biomedicale ([www.icmje.org](http://www.icmje.org), capitolul IV.A.9), se expun în ordinea apariției în text. În lista referințelor titlul articolului, se traduce în limba engleză, poziționându-se în paranteze pătrate. Referințele bibliografice prezentate în grafie chirilică sunt transliterate în grafie latină, utilizând următoarele semne grafice: A-A, B-B, B-V, G-G, D-D, E-E, E-E, Ж-ZH, 3-Z, И-I, Й-Y, К-K, Л-L, М-M, Н-N, О-O, П-P, P-R, C-S, T-T, Y-U, Ф-F, X-KH, Ц-TS, Ч-CH, Ш-SH, Щ-SCH, Ы-Y, Э-E, Ю-YU, Я-YA; Ъ și Ь se omit. Immediat după transliterare, în paranteze pătrate, se prezintă traducerea titlului articolului în limba engleză. De exemplu: Ivanov IV, Sidorov VM, Kozlov NF. Transplantatsiya organov i tkaney [Transplantation of organs and tissues]. Vestnik Khirurgii [Messenger of Surgery]. 2010; 26(6):45-49.

**Adresa redacției**  
Bd. Ștefan cel Mare, 192  
Chișinău, MD-2004  
Republica Moldova  
Telefon: +37322244751  
Fax: +37322295384  
[www.curierulmedical.org](http://www.curierulmedical.org)  
[editor@curierulmedical.org](mailto:editor@curierulmedical.org)  
[secretary@curierulmedical.org](mailto:secretary@curierulmedical.org)

## ГИД ДЛЯ АВТОРОВ

Редакция настоятельно рекомендует авторам посетить электронную страницу журнала Curierul Medical [www.curierulmedical.org](http://www.curierulmedical.org) для ознакомления с требованиями и последующего соблюдения «Положения об издательской этике».

К публикации принимаются статьи на одном из трёх языков: английском, румынском или русском. Все статьи направляются на рецензию двум независимым экспертам.

Статью подают на имя главного редактора, д. м. н., профессора Б. М. Топор, в электронной форме, с сопроводительным письмом от имени автора, ответственного за переписку. Письмо должно содержать подтверждение, что все авторы согласны с содержанием статьи и она нигде ранее не публиковалась.

Ответственность за содержание статьи несут авторы. Если в статье приводятся результаты исследований, проведенных на животных или пациентах, в сопроводительном письме следует указать, что соблюдались правила работы с животными, было получено согласие пациентов и разрешение администрации учреждения. В случае возникновения конфликта интересов об этом извещаются все авторы и редакционный совет журнала. Если конфликт подтверждается, заинтересованные лица исключаются из процесса рассмотрения статьи, и назначается другой эксперт.

#### Все статьи должны быть оформлены следующим образом:

**1. Статью печатают** в формате A4, с интервалом 1,5, с полями в 2,0 см, шрифтом 12 Times New Roman, Microsoft Word.

**2. Титульный лист** включает в себя фамилию, имя и отчество авторов, ученые степени и звания авторов, название учреждения, из которого поступает работа, а также номер телефона и электронный адрес автора, ответственного за переписку.

**3. Резюме** (220-240 слов) на английском языке должен быть напечатан на титульном листе. За резюме приводят ключевые слова – от 3 до 6. Текст резюме должен содержать обоснование исследования (если оно не отражено в названии), материал и методы, результаты и выводы. При составлении резюме необходимо использовать активный, а не пассивный залог.

**4. Статья клинического и экспериментального характера** (до 15 страниц) должна содержать следующие разделы: введение, материал и методы, результаты, обсуждение, выводы и библиография (не более 40 источников). Иной порядок изложения допустим, если он соответствует содержанию. **Обзорная статья** может содержать до 25 страниц и включать не более 100 ссылок на литературу.

**5. Таблицы и рисунки** нумеруют и сопровождают пояснениями. Рисунки, которые требуют выделения контраста или деталей по цвету, печатаются в цвете. Цветные рисунки оплачивают авторы: 100 € – от 1 до 8 рисунков на странице.

**6. Список литературы** необходимо печатать в порядке появления ссылок в тексте и в соответствии с едиными требованиями Международного Комитета Издателей Медицинских Журналов ([www.icmje.org](http://www.icmje.org), глава IV.A.9). Библиографические ссылки на кириллице транслитерируют на латиницу следующим образом: A-A, B-B, B-V, G-G, D-D, E-E, E-E, Ж-ZH, 3-Z, И-I, Й-Y, К-K, Л-L, М-M, Н-N, О-O, П-P, P-R, C-S, T-T, Y-U, Ф-F, X-KH, Ц-TS, Ч-CH, Ш-SH, Щ-SCH, Ы-Y, Э-E, Ю-YU, Я-YA, Ъ и Ь опускают. Сразу же после transliterации приводят в квадратных скобках перевод на английском языке. Например: Ivanov IV, Sidorov VM, Kozlov NF. Transplantatsiya organov i tkaney [Transplantation of organs and tissues]. Vestnik Khirurgii [Messenger of Surgery]. 2010; 26(6):45-49.

**Адрес редакции**  
Пр. Șтефан чел Маре, 192  
Кишинёв, MD-2004  
Республика Молдова  
Телефон: +37322244751  
Факс: +37322295384  
[www.curierulmedical.org](http://www.curierulmedical.org)  
[editor@curierulmedical.org](mailto:editor@curierulmedical.org)  
[secretary@curierulmedical.org](mailto:secretary@curierulmedical.org)