

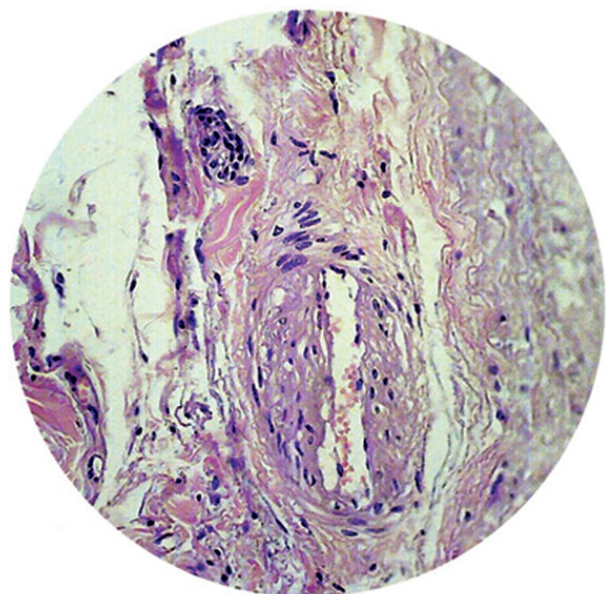
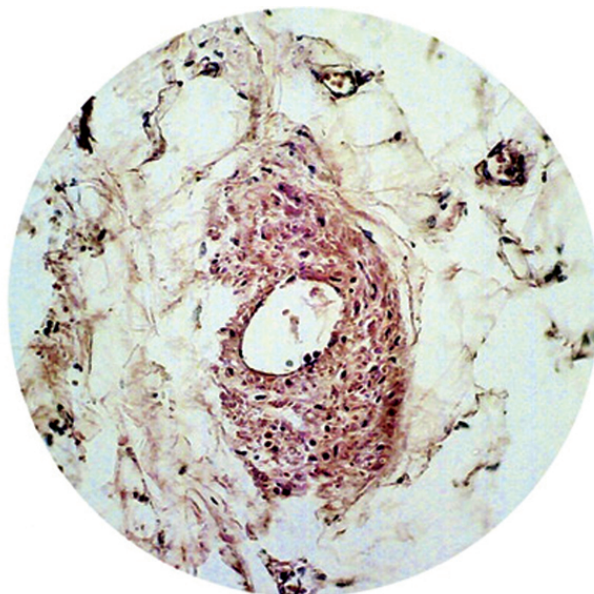
CONTENT HIGHLIGHTS:

Tamara Hacina

Structural peculiarities of the ascending aorta and their role in cardiovascular surgery: morphological and immunohistochemical study

Svetlana Hadjiu

The role of ciliary neurotrophic factor in development of residual disorders in children with perinatal brain injury: a prospective, cohort study



Categoria C (hotărârea CSSDT/CNAA nr. 224 din 01.10.2015)
înregistrată la IBN/IDSI la 16.11.2015



GROPRINOSIN®

inozine pranobex, 500mg

Creat pentru a învinge virușii!

PREPARAT IMUNOMODULATOR CU ACȚIUNE ANTIVIRALĂ



Nr. 14425 din 18.08.2009

- **preîntâmpină și stopează dezvoltarea infecției virale**
- **scade gravitatea simptomatologiei și perioada de boală**
- **restabilește imunitatea și scade numărul complicațiilor**



GEDEON RICHTER

METROMICON FORTE ovule N7

Metronidazol 750 mg + Miconazol nitrat 200 mg

Terapie de elecție în:

- vaginoza bacteriană cu sau fără candidoză
- vaginita tricomoniatică



METROMICON FORTE - asociere a două substanțe active incluse în ghidurile actuale de tratament a infecțiilor vaginale

DOZE ȘI MOD DE ADMINISTRARE

Se administrează vaginal câte un ovul o dată pe zi, seara, timp de 7 zile. În caz de vaginite recidivante sau vaginite rezistente la tratament se administrează câte un ovul o dată pe zi, seara, timp de 14 zile.

REAȚII ADVERSE

Tulburări gastrointestinale: durere și spasme abdominale, gust metalic în gură, xerostomie, constipații, diaree, inapetență, greață, vomă. **Tulburări ale sistemului nervos:** cefalee, dereglări de coordonare (ataxie), neuropatie periferică (la administrarea îndelungată), convulsii. **Tulburări psihice:** neliniște, labilitate emoțională. **Tulburări acustice și vestibulare:** vertij. **Tulburări hematologice și limfatice:** leucopenie. **Tulburări ale sistemului imunitar:** reacții alergice (erupții cutanate, inclusiv urticarie). **Tulburări generale și la nivelul locului de administrare:** iritație (arsuri, prurit), deosebi la începutul tratamentului, care însă nu necesită sistarea tratamentului și este determinată de acțiunea medicamentului asupra mucoasei vaginale inflamate. În caz de iritație severă tratamentul va fi sistat.

CONTRAINDICAȚII

Hipersensibilitate la componentele medicamentului; epilepsie; porfirie; dereglări severe ale funcției hepatice; I-ul trimestru de sarcină; perioada de lactație; vîrsta sub 18 ani (la virgine).

ADMINISTRAREA ÎN SARCINĂ ȘI PERIOADA DE ALĂPTARE

Medicamentul este contraindicat în I-ul trimestru de sarcină. În al II-lea și al III-lea trimestru de sarcină poate fi administrat în cazul cînd beneficiul scontat pentru mamă depășește riscul posibil pentru făt. La necesitatea administrării medicamentului în perioada de lactație se va întrerupe alimentația la sîn, reluîndu-se peste 24–48 ore după finisarea tratamentului.

Certificat de înregistrare nr. 19041 din 20.03.2013

www.farmaprim.md

MD-4829, Republica Moldova, r-nul Criuleni, sat. Porumbeni, str. Crinilor, 5.
Tel.: (+373 22) 28-18-45, Fax: (+373 22) 28-18-46. e-mail: info@farmaprim.md

REMELOX supozitoare rectale N10

Meloxicam 7,5 mg; 15 mg

Inflamația și durerea nu mai e o problemă



Acțiune prolongată Selectivitate înaltă

DOZE ȘI MOD DE ADMINISTRARE

Administrarea rectală (adulți): 1 supozitor (15 mg) o dată în zi sau 1 supozitor (7,5 mg) de 1-2 ori în zi.

Administrarea combinată: doza maximă nictemerală de meloxicam administrată în formă de comprimate și supozitoare nu trebuie să depășească 15 mg.

REAȚII ADVERSE

Din partea sistemului hematopoietic: frecvent - anemie, leucopenie, trombocitopenie. Din partea sistemului respirator: mai puțin frecvent - bronhospasm (la pacienții cu „triada aspirinică”). Din partea tractului gastrointestinal: frecvent - grețuri, vomă, diaree, dureri abdominale, constipație. Din partea sistemului cardiovascular: mai puțin frecvent - edeme periferice, creșterea tensiunii arteriale, palpitații, bufeuri. Din partea sistemului nervos central: frecvent - cefalee și vertij, somnolență, acufene. Din partea sistemului urinar: mai puțin frecvent - modificarea indicilor funcției renale (concentrație sporită de creatinină și/sau uree în sânge). Din partea aparatului vizual: mai puțin frecvent - conjunctivită, dereglarea acuității vizuale. Dermatologice: frecvent - prurit, urticarie, fotosensibilitate. Reacții alergice: mai puțin frecvent - edem angioneurotic, reacții de hipersensibilitate de tip imediat, inclusiv cele anafilactice și anafilactoide.

CONTRAINDICAȚII

Hipersensibilitate la produs (inclusiv la AINS din alte grupe); sîngerare sporită (inclusiv hemoragii din TGI); insuficiență hepatică severă; insuficiență renală severă; copii și adolescenții sub 15 ani; sarcină; perioada de alăptare.

ADMINISTRAREA ÎN SARCINĂ ȘI PERIOADA DE ALĂPTARE

Produsul nu se administrează în perioada de sarcină și alăptare. În timpul tratamentului alăptarea se întrerupe.

Certificat de înregistrare nr. 18487; nr. 18488 din 22.12.2012

www.farmaprim.md

MD-4829, Republica Moldova, r-nul Criuleni, sat. Porumbeni, str. Crinilor, 5.
Tel.: (+373 22) 28-18-45, Fax: (+373 22) 28-18-46. e-mail: info@farmaprim.md

SUMAR

CONTENT

SUMAR	CONTENT
<p style="text-align: center;">EDITORIAL</p> <p style="text-align: center;">Adrian Belii</p> <p>O nouă performanță universitară – mențiunea de <i>Exelență în Cercetare</i> din partea Comisiei Europene</p>	<p style="text-align: center;">EDITORIAL</p> <p style="text-align: center;">Adrian Belii</p> <p>A new university accomplishment – <i>Excellence in Research Award</i> offered by the European Committee</p>
<p style="text-align: center;">ARTICOLE ORIGINALE</p> <p style="text-align: center;">Tamara Hacina</p> <p>Particularitățile structurale ale aortei ascendente și rolul lor în chirurgia cardiovasculară: studiu morfologic și imunohistochimic</p>	<p style="text-align: center;">ORIGINAL ARTICLES</p> <p style="text-align: center;">Tamara Hacina</p> <p>Structural peculiarities of the ascending aorta and their role in cardiovascular surgery: morphological and immunohistochemical study</p>
<p style="text-align: center;">Svetlana Hadjiu</p> <p>Rolul factorului ciliar neurotrofic în dezvoltarea tulburărilor reziduale la copii cu leziuni cerebrale perinatale: studiu prospectiv, de cohortă</p>	<p style="text-align: center;">Svetlana Hadjiu</p> <p>The role of the ciliary neurotrophic factor in the development of residual disorders in children with perinatal cerebral lesions: a cohort, prospective study</p>
<p style="text-align: center;">ARTICOLE DE CERCETARE</p> <p style="text-align: center;">Liuba Neamțu, Rodica Selevestru, Svetlana Șciuca</p> <p>Răspunsul imuno-umoral în infecții bronhopulmonare acute inferioare cu <i>Mycoplasma pneumoniae</i>: studiu prospectiv, observațional, pe serie de cazuri</p>	<p style="text-align: center;">RESEARCH ARTICLES</p> <p style="text-align: center;">Liuba Neamtu, Rodica Selevestru, Svetlana Sciuca</p> <p>The humoral immune response in acute lower bronhopulmonary affection in children caused by <i>Mycoplasma pneumoniae</i>: a prospective, case-series study</p>
<p style="text-align: center;">Igor Yevghenievich Sedakov, Vladlena Gennadiyevna Dubinina, Oleksandr Vadimovich Bondar, Oleg Valerievich Lukyanchuk, Oleksandr Vasilievich Zavoloka</p> <p>Caracteristicile comparative ale metodelor de administrare a chimioterapeuticelor pentru tratamentul pacienților cu cancer de sân local-avansat: studiu prospectiv, pe serie de cazuri</p>	<p style="text-align: center;">Igor Yevghenievich Sedakov, Vladlena Gennadiyevna Dubinina, Oleksandr Vadimovich Bondar, Oleg Valerievich Lukyanchuk, Oleksandr Vasilievich Zavoloka</p> <p>Comparative characteristics of the methods of delivery of chemotherapy drugs in the treatment of patients with locally-advanced breast cancer: a prospective, case-series study</p>
<p style="text-align: center;">Vladimir Leonidovich Medvedev, Viktoriia Vladimirovna Lysenko, Alexander Vladimirovich Medvedev, Igor Valerievich Mykhailov, Alexander Ivanovich Strelyaev, Larisa Grigorievna Rosha</p> <p>Prostatectomia radicală ca metodă de tratament în cancerul de prostată local-avansat: studiu bicentric, retrospectiv, descriptiv</p>	<p style="text-align: center;">Vladimir Leonidovich Medvedev, Viktoriia Vladimirovna Lysenko, Alexander Vladimirovich Medvedev, Igor Valerievich Mykhailov, Alexander Ivanovich Strelyaev, Larisa Grigorievna Rosha</p> <p>Radical prostatectomy in the treatment of locally advanced prostate cancer: a retrospective, bicentric, descriptive study</p>
<p style="text-align: center;">Cezara Andronachi</p> <p>Impactul imunogenetic asupra evoluției și tacticii de tratament la pacienții cu amigdalită cronică decompensată asociată sindromului articular: studiu prospectiv, pe serie de cazuri</p>	<p style="text-align: center;">Cezara Andronachi</p> <p>Immunogenetics impact on the evolution and treatment strategy in patients with decompensated chronic tonsillitis associated with articular syndrome: a prospective, case-series study</p>

<p style="text-align: center;">Valeriu Fala</p> <p>Corelația indicilor cantitativi ale membranei Schneider, indentației și manifestărilor clinice ale parodontitei cronice generalizate</p>	67	<p style="text-align: center;">Valeriu Fala</p> <p>Correlations between the quantitative indices of the Schneiderian membrane, the indentation degree and the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis</p>
<p style="text-align: center;">OPINIA EXPERTULUI</p> <p>Valentina Buliga, Vladimir Safta, Stela Adauji, Ana Luța</p> <p>Repere conceptuale privind securitatea farmaceutică</p>	78	<p style="text-align: center;">EXPERT OPINION</p> <p>Valentina Buliga, Vladimir Safta, Stela Adauji, Ana Luta</p> <p>Conceptual landmarks in pharmaceutical security</p>
<p style="text-align: center;">ARTICOLE DE SINTEZĂ</p> <p style="text-align: center;">Octavian Cirimpei, Tatiana Malcova, Diana Cirimpei, Viorel Nacu</p> <p>Substituenții biologici ai pielii – între mit și realitate</p>	88	<p style="text-align: center;">REVIEW ARTICLES</p> <p style="text-align: center;">Octavian Cirimpei, Tatiana Malcova, Diana Cirimpei, Viorel Nacu</p> <p>Biological skin substitutes – between myth and reality</p>
<p>Gheorghe Rojnoveanu, Radu Gurghiș, Alexei Muravca</p> <p>Leiomiomele și tumorile stromale gastrointestinale ale intestinului subțire – cauze rare de hemoragie digestivă (revista literaturii, cazuri clinice)</p>	103	<p>Gheorghe Rojnoveanu, Radu Gurghis, Alexei Muravca</p> <p>Leiomyomas and gastrointestinal stromal tumors of the small bowel – rare causes of gastrointestinal bleeding (literature review, case reports)</p>
<p style="text-align: center;">IMAGINI DIN PRACTICA CLINICĂ</p> <p>Victor Botnaru, Dumitru Chesov, Oxana Munteanu</p> <p><i>Verum aut Falsum Cavitas</i></p>	113	<p style="text-align: center;">IMAGES FROM CLINICAL PRACTICE</p> <p>Victor Botnaru, Dumitru Chesov, Oxana Munteanu</p> <p><i>Verum aut Falsum Cavitas</i></p>
<p style="text-align: center;">RECENZIE DE CARTE</p> <p style="text-align: center;">Alic Darii</p> <p><i>Tamara Hacina</i>. Morfologia aplicată a aparatului vasculonervos al aortei toracice</p>	116	<p style="text-align: center;">BOOK REVIEW</p> <p style="text-align: center;">Alic Darii</p> <p><i>Tamara Hacina</i>. The applied morphology of the neurovascular apparatus of the thoracic aorta</p>

Revista de Științe ale Sănătății din Moldova

Moldovan Journal of Health Sciences

Ediție bilingvă: română, engleză

Fondator:

Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Redactor-șef:

Adrian Belii, dr. hab. șt. med., profesor universitar

Colectivul redacției:

Liviu Belii, redactor stilist de limbă română

Viorica Cazac, redactor stilist de limbă engleză

Tatiana Jechiu, redactor stilist de limbă engleză, netitular

Adresa redacției:

biroul 407, blocul Administrativ, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

Categoria C (hotărârea comună a CSȘDT/CNAA nr. 224 din 01 oct. 2015) Înregistrat IBN/IDSI la 16 noi. 2015

Bilingual edition: Romanian, English

Founder:

Public Institution Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy from Republic of Moldova

Redactor-in-chief:

Adrian Belii, PhD, university professor

Editorial staff:

Viorica Cazac, English redactor

Liviu Belii, Romanian redactor

Tatiana Jechiu, English

redactor, freelancer

Address of Editorial Office:

office 407; Administrative building, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

Editat: Tipografia „Sirius”

Tiraj: 300 ex.

Înregistrat la Ministerul Justiției cu nr. 290 din 01 august 2014

Editorial board

HONORARY MEMBERS

Ababii Ion, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

Ghidirim Gheorghe, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

Gudumac Eva, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

LOCAL EDITORIAL BOARD („NICOLAE TESTEMITANU” STATE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY OF REPUBLIC OF MOLDOVA)

Balica Ion, PhD, associate professor

Bendelic Eugen, PhD, university professor

Bețiu Mircea, PhD, associate professor

Botnaru Victor, PhD, university professor

Catereniuc Ilia, PhD, university professor

Cernețchi Olga, PhD, university professor

Ciobanu Gheorghe, PhD, university professor

Ciocanu Mihail, PhD, university professor

Ciubotaru Anatol, PhD, university professor

Corcimaru Ion, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Croitor Gheorghe, PhD, university professor

Curocichin Ghenadie, PhD, university professor

Gavriliuc Mihai, PhD, university professor

Ghicavâi Victor, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Gamma Rodica, PhD, MPH, associate professor

Groppa Liliana, PhD, university professor

Groppa Stanislav, PhD, university professor, academician of ASM

Gudumac Valentin, PhD, university professor

Guțu Eugen, PhD, university professor

Holban Tiberiu, PhD, university professor

Hotineanu Vladimir, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Lozan Oleg, PhD, MPH, university professor

Matcovschi Sergiu, PhD, university professor

Mereuță Ion, PhD, university professor

Nacu Anatolie, PhD, university professor

Opopol Nicolae, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Popescu Irinel, PhD, university professor

Popovici Mihai, PhD, university professor, academician of ASM

Prisacari Viorel, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Revenco Valerian, PhD, university professor

Rojnoveanu Gheorghe, PhD, university professor

Rudic Valeriu, PhD, university professor, academician of ASM

Safta Vladimir, PhD, university professor

Știuca Svetlana, PhD, university professor

Țăbărnă Gheorghe, PhD, university professor, academician of ASM

Tagadiuc Olga, PhD, university professor

Tănase Adrian, PhD, university professor

Topalo Valentin, PhD, university professor

Țurcan Svetlana, PhD, associate professor

Valica Vladimir, PhD, university professor

Vorojbit Valentina, PhD, associate professor

Vovc Victor, PhD, university professor

Zota Ieremia, PhD, university professor, correspondent member of ASM

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Acalovschi Iurie, PhD, university professor (Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania)

Beuran Mircea, PhD, university professor (Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania)

Beydon Laurent, PhD, university professor (Faculty of Medicine, Angers University, Angers, France)

Bruil Sorin, PhD, university professor, (Mayo Clinic, Jacksonville, Florida, USA)

Cebotari Serghei, PhD, researcher (Hanover Medical School, Hanover, Germany)

Kostin Sawa, PhD, university professor (Max Planck Institute for Heart and Lung Research, Giessen, Germany)

Grigoraș Ioana, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)

Gurman Gabriel, PhD, professor emeritus (Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel)

Lebedinsky Konstantin, PhD, university professor (Medical Academy of Postgraduate Studies, Sankt Petersburg, Russia)

Popa Florian, PhD, university professor (Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania)

Raica Marius, PhD, university professor (Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania)

Săndesc Dorel, PhD, university professor (Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania)

Tărcoveanu Eugen, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)

Tinică Grigore, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)

Todiraș Mihail, PhD, scientist (Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany)

Toma Vasilovski Ian, PhD, university professor (George Washington University Medical Center, Washington, USA)

Zaporozhan Valery, PhD, university professor, academician (Odessa National University of Medicine, Odessa, Ukraine)

LYSOBACT®

Efect terapeutic complex -
antibacterian, antiviral, analgezic, antiinflamator local

Tratează în mod natural procesele inflamatorii ale mucoasei
cavității bucale și a faringelui.

Conține Lizozim - factor natural de protecție a organismului
de prima linie.

Crește imunitatea locală.

Combinatie unică
lizozim 20 mg
piridoxină 10 mg
utilizată pe parcursul
a trei decenii



Acesta este un medicament. Citiți cu atenție prospectul. Dacă apar manifestări
neplăcute, adresați-vă medicului sau farmacistului

EDITORIAL

O nouă performanță universitară – mențiunea de *Exelență în Cercetare* din partea Comisiei Europene

E, fără îndoială, o veste deosebit de frumoasă în acest miez de primăvară!

La 4 aprilie curent, Comisia Europeană a acordat mențiunea de *Exelență în Cercetare* Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, care demonstrează o dată în plus că instituția noastră se află, în continuare, pe un făgaș sigur și corect. Astfel, mențiunea, reprezentată printr-un logo special, reflectă angajamentul USMF „Nicolae Testemițanu” în îmbunătățirea continuă a politicilor de resurse umane în cercetare, în conformitate cu *Carta europeană a cercetătorilor* și *Codul de conduită pentru recrutarea cercetătorilor* [1, 2].

Amintim, că în anul 2005, Comisia Europeană a lansat *Carta europeană a cercetătorilor* [3] și *Codul de conduită pentru recrutarea cercetătorilor* [4], care setează un cadru de reguli și principii referitoare la bunele condiții de lucru ale cercetătorilor.

În contextul dat, ținem să prezentăm doar câteva exemple, trei la număr, de „*Exelență în cercetare*”, care au „găsit” momentul oportun și potrivit să apară pe paginile numărului curent al *MJHS*.

Primul exemplu (citat în ordinea apariției în revistă), ar fi articolul Tamarei Hacina [5], care se referă la „*Particularitățile structurale ale aortei ascendente și rolul lor în chirurgia cardiovasculară*”. Un studiu morfologic și imunohistochimic de unicat, efectuat pe 354 de aorte umane, vine să rezolve enigma structurii și rolului fiziologic al corpului adipos Rindfleisch. Autoarea demonstrează prin dovezi clare rolul vascularizării parietale, particularităților drenajului limfatic și de inervare a aortei ascendente în generarea unor complicații postoperatorii de temut după chirurgia cardiacă pe cord deschis – fibrilația atrială și sângerarea postoperatorie. De asemenea, în premieră, s-a identificat, pe traiectul *vasa vasorum internae* corpusculi asemănători celui carotid, care ar avea o funcție chemoreceptoare. Partea bună este că aceste rezultate pot fi translate practic, fără ezitare, nemijlocit în practica clinică, reducând astfel din riscurile și morbiditatea postoperatorie.

Cea de a doua lucrare, efectuată de Svetlana Hadjiu [6], se axează pe elucidarea „*Rolului factorului neurotrofic în dezvoltarea tulburărilor reziduale la copii cu leziuni cerebrale perinatale*”. Autoarea a constatat, că nivelele serice ale factorului ciliar neurotrofic (CNTF) sunt reduse la copiii cu leziuni cerebrale perinatale (LCP), acestea aflându-se în corelație strânsă cu gravitatea leziunii și cu cea a tulburărilor reziduale. Prefigurându-i un rol de factor neuroprotector, implicat în neu-

EDITORIAL

A new university accomplishment – *Excellence in Research Award* offered by the European Committee

Doubtless, this is very special news during mid-spring!

On 4th of April, the European Committee offered *Excellence in Research Award* to *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy that proves again that our institution is on a right and correct path. Thus, the award, represented by a special logo, reflects the university’s commitment for continuous improving human resources politics in research, according to *European Charter for Researchers* and *Code of Conduct* [1, 2].

We would like to remind that, in 2005, the European Union launched *The European Charter for Researchers* [3] and *Code of Conduct* [4] that sets a certain set of rules and principles to enhance working conditions for researchers.

In this context, we would like to mention a few examples. Three examples of *Excellence in Research* that “found” the perfect time to appear on this very issue of *MJHS*.

The first example (cited in the order of appearance in the issue), would be the article of Tamara Hacina [5], that regards “*Structural peculiarities of the ascending aorta and their role in cardiovascular surgery*”. It is an unique morphologic and immune-histochemical study, made on 354 human aortas, that aims to solve the mystery of the structure and physiologic role of the adipose Rindfleisch body. The author proves through evidence the role of parietal vascularisation, the particularities of the lymphatic drainage and the innervation of the ascending aorta in generation of frightening postoperative complications following open heart surgery, complications like atrial fibrillation and postoperative bleeding. Also, for the first time, following the path of *vasa vasorum internae*, new corpuscles that remind the carotid corpuscle, that are believed to have chemoreceptive functions. The good news is, that these results can be translated into practice, without hesitation, reducing the risks and postoperative morbidity.

The second research, made by Svetlana Hadjiu [6], focuses on elucidation of “*The role of neurotrophic factor in the development of residual disorders in children with perinatal cerebral lesions*”. The author proved, that seric levels of the ciliary neurotrophic factor (CNTF) are reduced in children with perinatal cerebral lesions (PCL), being in a strong correlation with the severity of the lesion and of the residual disorders. Prefiguring its neuroprotective role, involved in neurogenesis and neuroplastics, it is proposed to use CNTF as a biological marker, that could be used for setting the diagnose in children with PCL,

roregenerare și neuroplasticitate, se propune utilizarea CNTF în calitate de marker biologic, care ar putea fi utilizat pentru precizarea diagnosticului în cadrul LCP, dar și a prognozei evoluției leziunilor în elementele constituente ale tulburărilor reziduale.

Și, în sfârșit, cea de a treia lucrare, care se cere menționată în această ordine de idei, este cea a lui Valeriu Fala [7], care prezintă „*Corelația indicilor cantitativi ale membranei Schneider, indentației și manifestărilor clinice ale parodontitei cronice generalizate*”. Maladia, de care suferă între 55% și 98% din populația mai în vârstă de 35 de ani, este, în anumite aspecte, insuficient studiată. Autorul, deci, a evidențiat în premieră unele particularități ale corelațiilor dintre gravitatea parodontitei cronice generalizate cu gradul de indentație uni- și bilaterală și cu dinamica modificărilor cantitative ale membranei Schneider. E un pas considerabil în continuarea cercetărilor în domeniu.

Fiind în ajunul Sfințelor sărbători de Paști, Vă dorim, dragi prieteni, lumină în suflet și în activitatea Dvs. de zi cu zi.

Un Paște fericit!

Adrian Belii,
Redactor-șef

Referințe / references

1. <http://usmf.md/news/excelenta-in-cercetare-pentru-usmf-nicolae-testemitanu/> (Accesat la: 11.04.2016).
2. <https://www.vitae.ac.uk/policy/hr-excellence-in-research/hr-excellence-in-research-background> (Accesat la: 11.04.2016).
3. <http://ec.europa.eu/euraxess/index.cfm/rights/europeanCharter> (Accesat la: 11.04.2016).
4. <http://ec.europa.eu/euraxess/index.cfm/rights/codeOfConduct> (Accesat la: 11.04.2016).
5. Hacina T. Particularitățile structurale ale aortei ascendente și rolul lor în chirurgia cardiovasculară: studiu morfologic și imunohisto-chimic. *MJHS*, 2016; 7(1) : 7-15.
6. Hadjiu S. Rolul factorului ciliar neurotrofic în dezvoltarea tulburărilor reziduale la copii cu leziuni cerebrale perinatale: studiu prospectiv, de cohortă. *MJHS*, 2016; 7(1) : 16-32.
7. Fala V. Corelația indicilor cantitativi ale membranei Schneider, indentației și manifestărilor clinice ale parodontitei cronice generalizate. *MJHS*, 2016; 7(1) : 67-77.

and also it would help to predict the evolution of the lesions and constituent elements of residual disorders.

And finally, the third research that must be mentioned belongs to Valeriu Fala [7], and regards “*The correlation between quantitative indices of the Schneiderian membrane and clinical manifestations of chronic generalized periodontitis*”. The disease, of which 55%-98% of people older than 35 y.o. are suffering, is insufficiently studied. The author underlined, for the first time, some particularities of correlations between the severity of chronic generalized periodontitis, level of unilateral and bilateral indentation, and the dynamics of quantitative modifications of the Schneider membrane. It is a considerable step in the research continuation.

As Easter Holidays approach, we wish you, dear friends, success in your everyday activity and may your hearts be filled with peace.

Happy Easter!

Adrian Belii,
Editor in Chief

Translated into English by *Tatiana Jechiu*

ARTICOL ORIGINAL

Particularitățile structurale ale aortei ascendente și rolul lor în chirurgia cardiovasculară: studiu morfologic și imunohistochimic

Tamara Hacina¹

¹*Catedra de anatomie a omului, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Autor corespondent:

Tamara Hacina, dr. șt. med., conferențiar universitar
Catedra de anatomie a omului
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004
e-mail: tamara.hacina@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Nu a fost studiată, deocamdată, interacțiunea dintre particularitățile morfologice și funcționale ale aortei ascendente cu tehnicile chirurgicale, efectuate pe cord deschis, care implică segmentului dat al aortei, și cu o serie de complicații specifice postoperatorii severe, apărute, în consecință.

Ipoteza de cercetare

Particularitățile macro și microstructurale ale aortei ascendente (componentele ei intrinseci vasculare, nervoase și limfatice) pot determina elementul tactic chirurgical și reduce riscul de complicații postoperatorii specifice severe.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

S-a stabilit, că anumite particularități macro și microstructurale ale aortei ascendente (în special, vascularizarea parietală, drenajul limfatic, inervarea) pot induce fibrilație atrială sau hemoragii severe postoperatorii. În consecință, a fost argumentat științific necesitatea modificării unor tehnici și manopere chirurgicale, utilizate în intervențiile pe cord deschis, cu implicarea aortei ascendente.

Rezumat

Introducere. Tot mai multe publicații recente comunică despre frecvența relativ înaltă a fibrilației atriale și hemoragiei după intervenții pe cord deschis, cu implicarea aortei ascendente. Deseori, aceste complicații sunt un motiv de reintervenție. În ultimii ani, chirurgii cardiaci au început a suspecta faptul, precum că leziunea corpurilor adipoși ai aortei ascendente produc complicațiile menționate, deoarece ei conțin

ORIGINAL ARTICLE

Structural peculiarities of the ascending aorta and their role in cardiovascular surgery: morphological and immunohistochemical study

Tamara Hacina¹

¹*Chair of human anatomy, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Corresponding author:

Tamara Hacina, PhD in Medical Sciences, Associate Professor
Chair of human anatomy
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Stefan cel Mare și Sfânt ave, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: tamara.hacina@usmf.md

What is not known yet, about the topic

No studies have yet been performed regarding the interaction between morphological and functional peculiarities of the ascending aorta and the surgical techniques carried out on open heart, which involves this particular aortic segment, as well as a series of specific severe postoperative complications which might occur as a result of that.

Research hypothesis

Macro and micro peculiarities of ascending aorta (its intrinsic vascular, nervous and lymphatic components) can determine the surgical tactical approach and reduce the risk of specific severe postoperative complications.

Article's added novelty on this scientific topic

It has been established that certain macro and micro peculiarities of the ascending aorta (especially parietal vascularization, lymphatic drainage and innervation) may induce postoperative atrial fibrillation or severe bleeding. Consequently, it has been reasoned the need to modify some scientific techniques and surgical treatment used in open-heart surgery and involving the ascending aorta.

Abstract

Introduction. An increasing number of recent publications reports a relatively high frequency of atrial fibrillation and bleeding after an open-heart surgical intervention with the involvement of the ascending aorta. Often these complications are a cause for reintervention. In the last years, cardiac surgeons began to suspect that the injury of the adipose bodies of the ascending aorta might lead to the mentioned above

structuri nervoase, care sunt responsabile de controlul autonom al funcției cordului. Până în prezent, nu au fost efectuate cercetări morfologice detaliate ale corpilor adipoși ai aortei.

Material și metode. Materialul de investigație a inclus 354 de aorte umane, provenite de la persoane de ambele sexe și de vârstă diferită, începând cu 16 săptămâni de dezvoltare intrauterină și până la vârsta de 93 de ani. Piese anatomice au fost prelevate într-un răstimp de maxim 24 de ore după deces, care au fost preparate prin injectare și colorare cu reactivul Schiff; de asemenea, au fost utilizate metode histologice (colorarea după van Gieson, cu hematoxină-eozină și albastru de metilen) și imunohistochimice.

Rezultate. Au fost precizate particularitățile macro și microstructurale ale aortei ascendente, în special, cele referitoare la vascularizarea parietală, drenajul limfatic și inervare. A fost precizat rolul funcțional al corpului adipos Rindfleisch. Au fost obținute dovezi, care explică enigma sângerărilor postoperatorii, precum și a fibrilației atriale, mult mai frecvente în cazul intervențiilor pe segmentul ascendent al aortei.

Concluzii. Densitatea sporită a vaselor sangvine, a nervilor, prezența nodulilor limfatici în adventicia aortei ascendente sugerează ideea că ea reprezintă o structură funcțională. Luarea în calcul a particularităților vascularizării și relațiilor corpului adipos Rindfleisch cu colectori limfatici ai cordului, va reduce din frecvența complicațiilor după chirurgia cardiovasculară. Se recomandă protejerea intraoperatorie de leziuni a aortei ascendente și, în special, a CAR, mutând locul manipulațiilor chirurgicale mai distal de zona corpului adipos al aortei ascendente, determinând distanța locului de incizie de la șanțul aortopulmonar anterior în funcție de localizarea acestei structuri anatomice.

Cuvinte cheie: aortă ascendentă, corp adipos, fibrilație atrială postoperatorie, hemoragii, zonă reflexogenă.

Introducere

Odată cu creșterea numărului și tipurilor de intervenții chirurgicale pe cord și pe vasele magistrale, efectuate la pacienți din ce în ce mai în vârstă și cu mai multe comorbidități, se multiplică spectrul și frecvența complicațiilor postoperatorii. S-a constatat, că frecvența sângerării postoperatorii este mai mare după intervențiile care implică aorta ascendentă, comparativ cu cele, care implică alte porțiuni ale aortei. De asemenea, în multe cazuri, pentru fibrilația atrială apărută postoperatoriu nu se găsește o explicație plauzibilă [1-3]. Administrarea preventivă de beta-blocanți nu și-a demonstrat efectul scontat; din contră, a fost asociat cu unele efecte adverse.

În ultimii ani, chirurgii cardiaci au început a suspecta faptul, precum că leziunea corpilor adipoși ai aortei ascendente produc complicațiile menționate, deoarece ei conțin structuri nervoase, care sunt responsabile de controlul autonom al funcției cordului [4-6].

Până în prezent, nu au fost efectuate cercetări morfologice detaliate ale corpilor adipoși ai aortei. Respectiv, scopul studiului a fost de a descrie particularitățile macro și microstructurale ale aortei ascendente (componentele ei intrin-

secare, deoarece conțin structuri nervoase, care sunt responsabile de monitorizarea funcției cardiace autonome. Până în prezent, nu au fost efectuate cercetări morfologice detaliate ale corpilor adipoși ai aortei.

Material and methods. Material of investigation included 354 human aortas of both genders and ages, ranged from 16 weeks of intrauterine development up to the age of 93 years. Anatomical pieces were taken in a maximum time of 24 hours after death, and were prepared using injecting and staining with Schiff's reagent; histological methods (coloration by van Gieson staining, with hematoxylin-eosin and methylene blue) and immunohistochemical methods.

Results. There were specified macro and micro peculiarities of the ascending aorta, particularly those relating to the parietal vascularization, lymphatic drainage and innervation. The functional role of Rindfleisch adipose body was also stressed. The obtained evidence explain the enigma of postoperative bleeding and atrial fibrillation, more frequently met in surgical interventions on the ascending aortic segment.

Conclusions. The increased density of blood vessels, nerves, lymph nodes in the ascending aorta adventitia suggests that it is a functional structure. Taking into account the particularities of vascularization and correlations between Rindfleisch adipose body and heart lymph collectors, we might reduce the frequency of cardiovascular postoperative complications. It is recommended to prevent intraoperative injuries of the ascending aorta and, in particular, CAR, by performing surgical procedures distally from the adipose body. The distance of incision cite from anterior aorto-pulmonary groove depends on the location of this adipose structure.

Keywords: ascending aorta, fat body, postoperative atrial fibrillation, bleeding, reflexogenic area.

Introduction

As the number and types of surgical interventions on heart and major vessels performed in patients which get older, as well as comorbidities tend to rise, the range and frequency of postoperative complications also multiply. It has been found that the frequency of post-operative bleeding is higher, after interventions, involving the ascending aorta as compared with other aortic areas involvement. Also, in many cases, postoperative atrial fibrillation occurrence does not present any plausible explanation [1-3]. The preventive administration of beta-blockers has not shown the desired effect; on the contrary, it has been associated with certain side effects.

In recent years, cardiac surgeons began to suspect that, the injury of the ascending aortic fat bodies might produce the above mentioned complications, since they contain nerve structures, which are responsible for monitoring cardiac autonomic function [4-6].

So far, there have not been performed a detailed morphological research of the fat bodies of the aorta. Respectively, the purpose of the study was to describe the macro and micro peculiarities of ascending aorta (its vascular, nervous and

seci vasculare, nervoase și limfatice), care, eventual, ar putea determina elementul tactic chirurgical și reduce riscul de complicații postoperatorii specifice severe.

Material și metode

Materialul de investigație a inclus 354 de aorte umane, provenite de la persoane de ambele sexe și de vârstă diferită, începând cu 16 săptămâni de dezvoltare intrauterină și până la 93 de ani. Piese anatomice au fost prelevate într-un răstimp de maxim 24 de ore după deces, care au fost preparate prin injectare și colorare cu reactivul Schiff; de asemenea, au fost utilizate metode histologice (colorația după van Gieson, cu hematoxilină eozină și albastru de metilen) și imunohistochimice. Prin intermediul colorării cu reactivul Schiff, s-a examinat aspectul macro-microscopic al *vasa vasorum* și *nervi vasorum*. Densitatea distribuirii vaselor intramurale aortale a fost cercetată pe histograme colorate cu hematoxilină-eozină sau după van Gieson. Sursele de vascularizare și căile de drenaj venos au fost studiate prin aplicarea metodei de injectare a vaselor. Căile drenajului limfatic au fost examinate prin injectarea interstițială, iar pentru precizarea datelor obținute au fost aplicate metode imunohistochimice.

Rezultate

La examinarea vizuală a aortei ascendente (AAs), în toate cazurile, pe linia de contact a aortei cu auriculul atrului drept, s-a observat prezența acumulării adipoase. În literatură, această acumulare este denumită de fiecare investigator în modul său (plica, pernuța, creastă ș.a.), dar, în opinia noastră, nicio denumire menționată nu este adecvată, deoarece nu reflectă în sine nici forma, nici funcția, nici localizarea [7]. Utilizarea numeroaselor denumiri ale uneia și aceleiași structuri: „*plica semilunaris*”, „*vincula*”, „*creasta aortei ascendente*”, „*plica transversală a aortei*”, „*creasta sino-tubulară*” ș.a., demonstrează un nivel insuficient de cunoaștere, precum și pomenirea formațiunii în contexte diferite.

Noi propunem spre utilizare termenul de „*corpul adipos Rindfleisch*” (CAR), termen, care include și un omagiu adus morfologului german, care a descris, pentru prima dată, în anul 1884, o structură adipoasă subepicardică, asociată cu aorta ascendentă.

De obicei, CAR începe de la nivelul șanțului aorto-pulmonar anterior, se îndreaptă în jos și spre dreapta. În cazul dimensiunilor mari, el continuă pe fața convexă a aortei, deseori – și pe cea posterioară. Dimensiunile cele mai mari, observate de noi au fost de 7 cm în lungime și de 1 cm în lățime. Uneori, corpii adipoși Rindfleisch sunt amplasați pe fața dreapta a aortei ascendente, adesea având forma unui oval orizontal sau vertical. Cei localizați pe fața posterioară, de regulă, au forma unei plici agățate (Figura 1). Orientarea spațială poate fi orizontală, oblică, verticală, iar când dimensiunile sunt mari – combinată (orizontal-ascendentă, orizontal-descendentă, ramificată).

Au fost identificate și forme, care nu au fost descrise până acum în literatură de alți autori. S-a constatat, că forma CAR prezintă o variabilitate interindividuală importantă: bandetă, cilindru, cilindru ramificat, creastă, plică, corp oval, corp

lymphatic intrinsic components), which eventually might describe a surgical tactical approach and reduce the risk of specific severe postoperative complications.

Material and methods

Material of investigation included 354 human aortas of both genders and ages, ranged from 16 weeks of intrauterine development up to the age of 93 years. Anatomical pieces were taken in a maximum time of 24 hours after death, and were prepared by injecting and staining with Schiff's reagent; also there were used immunohistochemical and histological methods (van Gieson staining, coloration with hematoxylin eosin and methylene blue). By means of Schiff staining reagent, there were examined the macro- and microscopic appearance of *vasa vasorum* and *nervi vasorum*. The density distribution of intramural aortic vessels was investigated on hematoxylin-eosin stained histograms or by van Gieson. Sources of vascular and venous drainage pathways were studied by the method of injecting the vessels. Lymphatic drainage pathways were examined by interstitial injecting, whereas immunohistochemical methods were applied for the accuracy of the obtained data.

Results

Visual examination of the ascending aorta (AsA), in all cases, where the aorta comes into contact with auricle of the right atrium, showed presence of adipose accumulation. In specialized literature, this accumulation is called differently by each investigator (plica, pad, crest etc.), but, in our opinion, these namings do not appropriately describe the form, function or location [7]. The use of many namings of one and the same structure: „*plica semilunaris*”, „*vincula*”, „*ascending aortic crest*”, „*transversal aortic plica*”, „*sino-tubular crest*” etc., proves an insufficient level of knowledge as well their use in different contexts.

We suggest to use the term „*Rindfleisch fat body*” (RFB), a term that shows appreciation towards the German morphologist, who described for the first time, in 1884, a subepicardic adipose structure associated with ascending aorta.

Commonly, RFB runs anteriorly of the aortopulmonary groove, then curves downward and to the right. In cases of larger sizes, it continues on the convex side of the aorta, often – and on the posterior part. The largest recorded sizes were of 7 cm long and 1 cm wide. Sometimes Rindfleisch fat bodies are located on the right side of the ascending aorta, often in the shape of a horizontal or vertical oval. Those located on posterior side are, commonly, in the shape of a loll (Figure 1). Spatial orientation can be horizontal, diagonal, vertical, and in larger sizes – combined (horizontally-ascending, horizontally-descending, branched).

Certain forms have been identified, which have not hitherto been described in the literature by other authors. It was found that the RFB form shows a significant variability: strip, cylinder, branched cylinder, crest, fold, oval body, round body, strip passing into plica, cylinder or crest ending into fat pad etc.

Even with the naked eye, there can be often observed blood vessels running towards RFB. The artery branches, related to

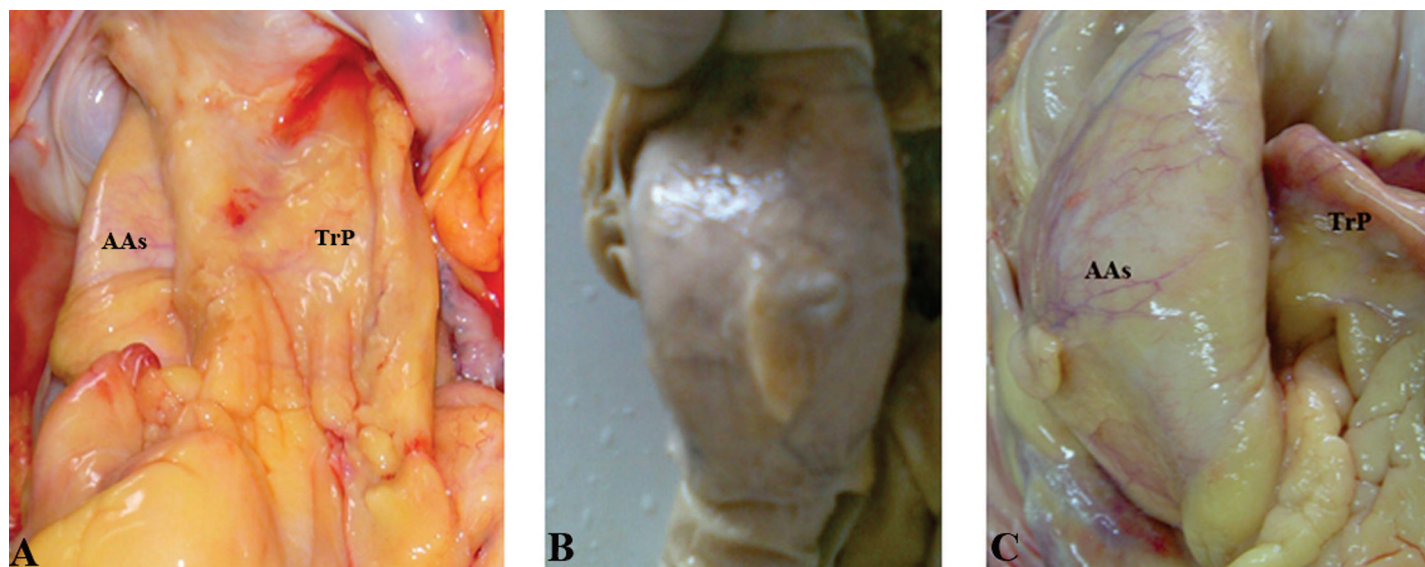


Fig. 1 Corpzii adipoși ai aortei ascendente: A – variantă tipică; B – localizată pe fața dreaptă convexă; C – plasată pe fața posterioară a aortei ascendente.

Fig. 1 Fat bodies of the ascending aorta: A – typical variation; B – located on the right convex part; C – placed on the posterior side of the ascending aorta.

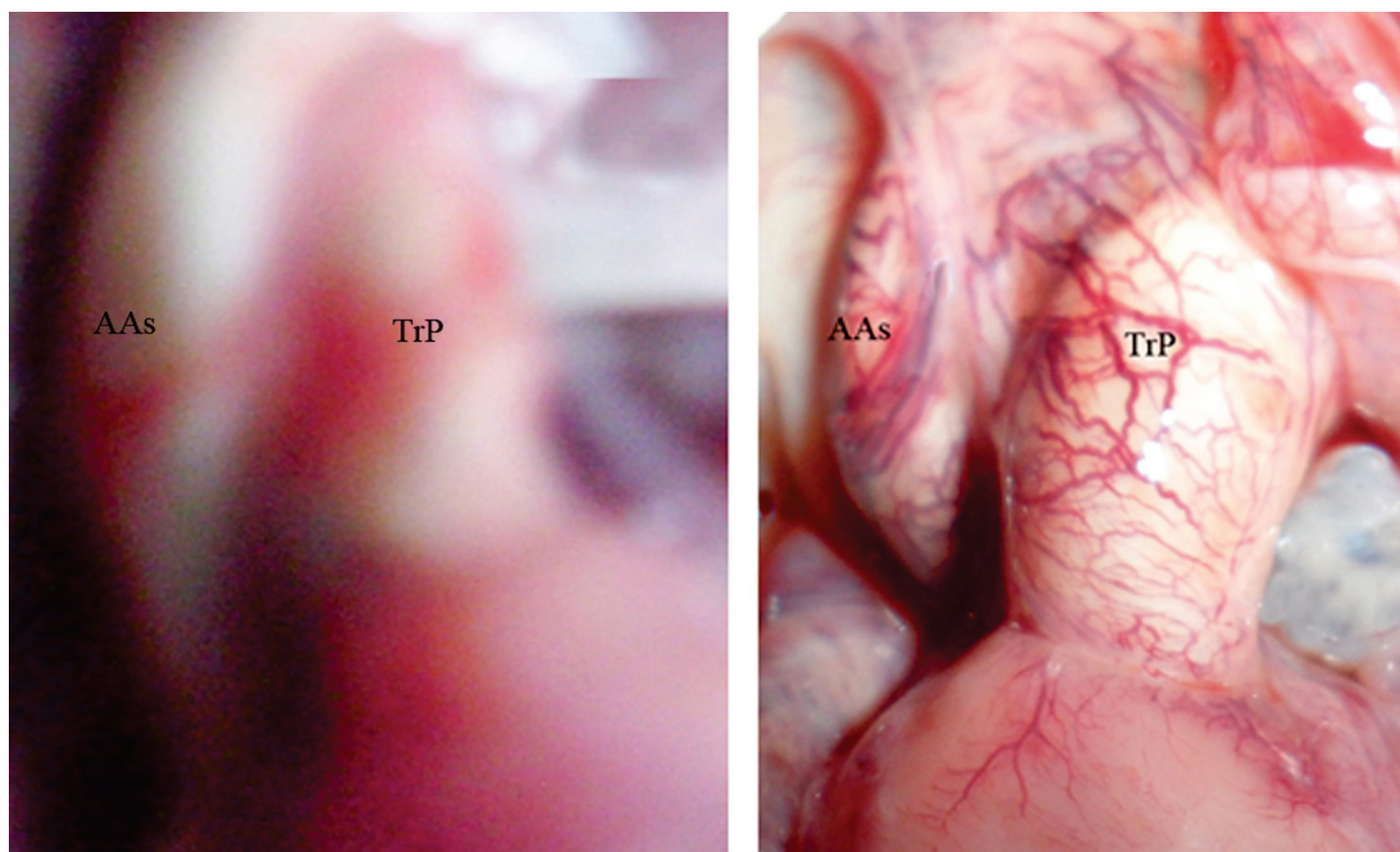


Fig. 2 *Vasa vasorum* ale aortei ascendente la fetești de 20 și de 37 de săptămâni.

Fig. 2 *Vasa vasorum* of the ascending aorta in foetuses at 20 and 37 weeks.

rotund, bandeletă ce trece în plică, cilindru sau creastă, ce se termină cu pernuță ș.a.

Deseori, chiar cu ochiul liber, pot fi observate vase san-

the right *vagus*, run towards this area from the posterior side of the ascending aorta. There are ascending vessels (coronary artery branches) and descending (branches of mediastinal

guine, ce se îndreaptă spre CAR. De pe fața posterioară a aortei ascendente, spre aceasta zonă, vin ramurile arterei asociate nervului vag drept. Sunt vase ascendente (ramurile arterelor coronare) și descendente (ramurile arterelor mediastinale, bronhiale și care au fost depistate, fiind din categoria *vasa vasorum internae*). Ultimele, pornesc de pe fața AAs adiacentă trunchiului pulmonar, mai sus de joncțiunea bulbo-tubulară a aortei. Toate vasele menționate, formează o rețea de anastomoze în interiorul corpului adipos. Histotopografia surselor de vascularizare ale aortei ascendente depinde de forma și localizarea corpului adipos Rindfleisch. Trebuie menționat faptul, că la fete, începând cu vârsta de 16 săptămâni a dezvoltării intrauterine, când acumulările adipoase subepicardice încă lipsesc, sursele de vascularizare prezentate de *vasa vasorum internae* aici se observă mai timpuriu decât în alte localizări și au aspectul unei dungii de culoarea roșietică sau roză (Figura 2).

Elementele nervoase ale AAs sunt reprezentate de trunchiuri, fascicule și fibre nervoase, ganglioni nervoși, celule nervoase solitare, terminațiuni nervoase. Ultimele, se localizează predominant în adventice, mai puțin – în media aortei; predomină terminațiunile nervoase libere și cele cu component glial.

Studiind toate zonele ale aortei toracice, doar în componența CAR au fost depistate complexe vasculo-nervoase fuziforme. În câmpul mesoscopic (obiectivul 1 și 2), ele se aseamănă cu terminațiunile nervoase butonate, iar cu cel de-al 4 obiectiv, se vede o fibră nervoasă înconjurată de numeroase vase sanguine. În literatură de specialitate accesibilă, nu a fost găsită nicio informație despre complexe în cauză.

Prin studiu histologic, a fost observat un aspect deosebit – pe traiectul *vasa vasorum internae* s-au identificat diverși corpusculi, asemănători cu cel carotid, ceea ce nu fusese cazul pentru alte surse de vascularizare ale acestui segment al aortei. Era evidentă variabilitatea lor privind forma, localizarea, dimensiunile. Forma cel mai frecvent întâlnită – ovală, de dimensiuni maxime de 2 mm lungime, s-a atestat în straturile superficiale ale adventice; în stratul ei profund, se adăpostesc corpusculi de dimensiuni mai mici și celulele glomice dispersate. Corpusculii erau străpunși, de obicei, longitudinal, de-a lungul axei corpului adipos, de ramurile *vasa vasorum internae*. Cei din profunzimea adventice, erau localizați în contact cu vasele limfatice, iar celulele glomice – dispersate în spațiile intercelulare.

Spre deosebire de formațiunile glomice ale arcului aortic, plasate lângă locul fixării ligamentului arterial și în șanțul aorto-pulmonar (identificate la copii și tineri), cele ale aortei ascendente s-au identificat la adulți de vârstă diferită, inclusiv, senilă. Odată cu înaintarea în vârstă, numărul celulelor de suport crește, devine mai evidentă pseudocapsula (Figura 3).

Traiectul căilor de drenaj limfatic al cordului în zona dată are un anumit rol clinic. Sunt doi colectori constanți ai cordului: cel drept și cel stâng, plasați în șanțurile aorto-pulmonare, anterior și posterior. În 46% din cazuri, a fost identificat încă unul – cel al atrului drept, deci și al zonei nodului sinuzal. Ultimul, are un traiect oblic: pe partea proximală a AAs, apare sub epicard, la limita circumferințelor aortei drepte și stângi,

arteries, bronchial and those detected from the category of *vasa vasorum internae*). The latter ones start from the AAs adjacent side of pulmonary trunk, above the bulbo-tubular junction of the aorta. All the above mentioned vessels form a network of anastomoses within the adipose body. The histotopography of vascular sources of ascending aorta depends on the shape and location of Rindfleisch fat body. It should be noted that in fetuses, starting with 16 weeks of intrauterine development, when the accumulation of subepicardic fat is still missing, the vascularization sources of the *vasa vasorum internae* are observed earlier than in other areas and have the appearance of a reddish or pink coloured strip (Figure 2).

The AsA nerve elements are shown as trunks, bundles and nerve fibers, nerve ganglia, solitary nerve cells and nerve endings. The latter are located predominantly in adventitia, less – in the aortic media; free nerve endings and those with glial component have a high prevalence.

Based on studies of various parts of the thoracic aorta, fusiform neurovascular complexes were detected only in RFP composition. In the mesoscopic field (objective 1 and 2), they resemble encapsulated nerve endings, and the 4th objective, we can notice a nerve fiber surrounded by numerous blood vessels. There was not found any information about these complexes in any available specialized literature.

A particular aspect was observed by means of histological study, where various corpuscles, along the *vasa vasorum internae*, were identified, similar to the carotid one, which was not the case for other sources of vascularization of this aortic segment. Their diversity regarding the shape, location and size was obvious. The most frequently met form was the oval shaped one, 2 mm long maximum size, recorded in the superficial layers of adventitia; smaller sized corpuscles and dispersed glomus cells were located in its deep layer. Corpuscles were commonly pierced through longitudinally along the axis of the adipose body by the branches of *vasa vasorum internae*. Those from deep adventitia, were located in contact with lymphatic vessels and glomus cells, being dispersed in the intercellular spaces.

Unlike glomus formations in the aortic arch, which are placed near the site of arterial ligament fixation and aorto-pulmonary groove (identified in children and young people), those from the ascending aorta were identified in adults of different ages, including the senile age. Along with age, the number of supporting cells increases and the pseudocapsule becomes more obvious (Figure 3).

The lymphatic drainage pathways of the heart in this area plays a definite clinical role. There are two constant collectors of the heart: the right and the left one, situated in the aorto-pulmonary grooves anteriorly and posteriorly. In 46% of cases, another one was identified – that of the right atrium and hence pertaining to sinus node area. The latter has an oblique pathway: on the proximal part of AsA; it occurs under the epicardium at the boundary surface of right and left aortic circumferences, then it passes upwards, to the left and intersects the boundary line of the AsA with the auricle of the

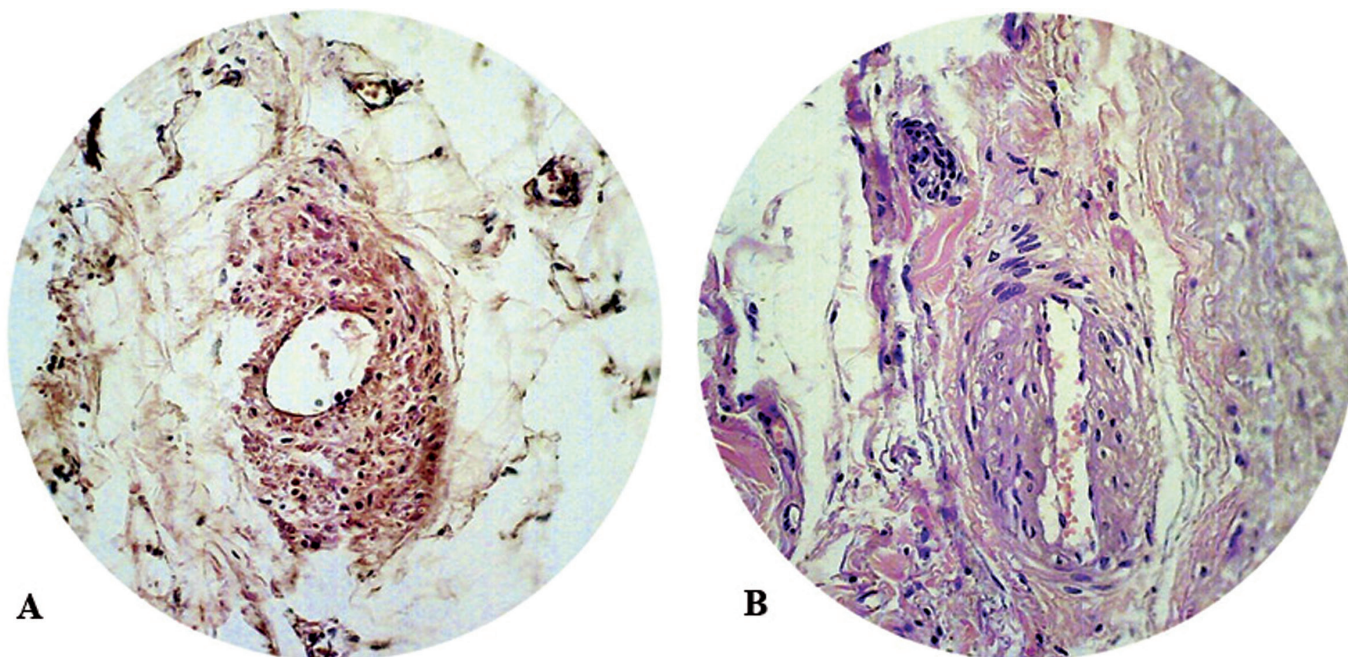


Fig. 3 Glomușii aortei ascendente la 60 (A) și la 72 (B) de ani.
Fig. 3 Glomus of the ascending aorta at 60 (A) and 72 (B) years old.

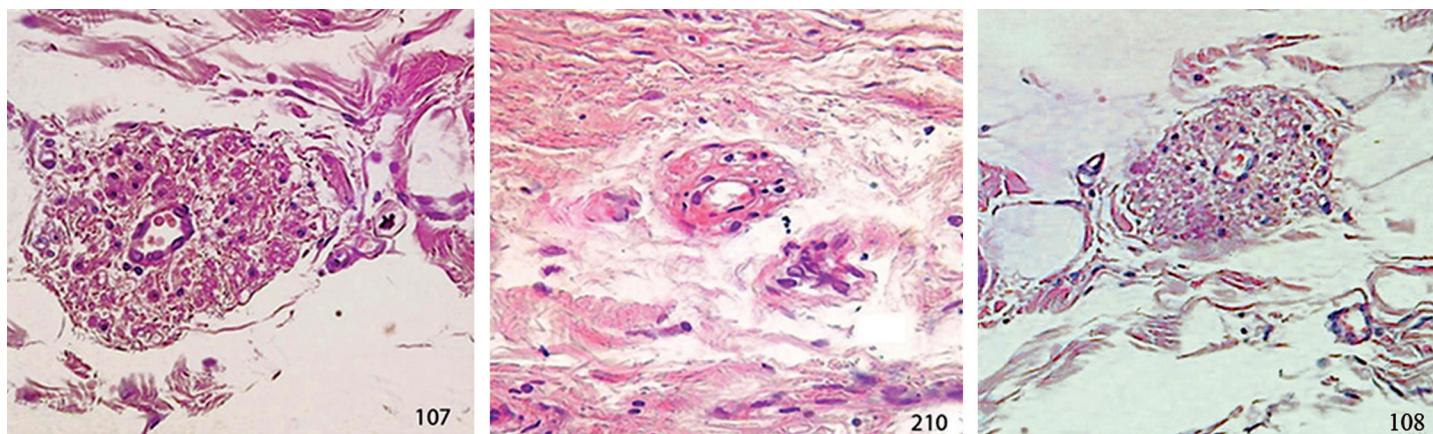


Fig. 4 Corpusculi similari celui carotid din componența corpului adipos Rindfleisch la una și aceeași persoană.
Fig. 4 Corpuscles similar to the carotid contained in the Rindfleisch adipose body in same person.

apoi – trece în sus, spre stânga, intersectând linia de contact a AAs cu auriculul atrului drept (prin urmare, și CAR, dacă el este dezvoltat în această arie) și se varsă în colectorul limfatic drept. În 54% din cazuri, căile de drenaj al atrului drept sunt reprezentate de o rețea de vase limfatice.

Discuții

În primul deceniu al secolului XXI, a sporit interesul specialiștilor din domeniul chirurgiei cardiovasculare față de corpii adipoși subepicardici, în special, față de cel al aortei ascendente, deoarece ei nu au fost descriși suficient de detaliat în literatura de specialitate. În consecință, au apărut un șir de articole, care conțineau cuvântul „*enigma*” în titlu [3, 5, 6,

right atrium (hence, the RFB as well, if it is developed in this area) and pours into the right lymphatic collector. In 54% of cases, the right atrium drainage pathways are described as a network of lymphatic vessels.

Discussion

During the first decade of the XXI century, a specific interest arose among the specialists in the field of cardiovascular surgery regarding the subepicardic adipose bodies, especially compared to that of the ascending aorta because they were not properly described in the specialized literature. Consequently, there were a number of articles containing the word “*enigma*” within the titles [3, 5, 6, 8-10]. Usually, the fat body

8-10]. De obicei, corpul adipos al aortei se extirpă în cadrul operațiilor chirurgicale. Însă, s-a constatat că frecvența fibrilației atriale postoperatorii (FAPO) este mai rară, dacă CAR a fost menținut integru. În consecință, s-a presupus că în CAR sunt localizate anumite structuri reglatoare ale ritmului cardiac, de aceea lezarea sau extirparea lui poate induce fibrilație atrială [11, 12]. Domină opinia precum că traumatizarea acestei formațiuni anatomice conduce la pierderea efectului vagal asupra nodului sinusal în cazul disecării CAR, fibrilația atrială are o frecvență de 27% vs. 7%, în cazul rămânerii lui intacte [13].

Considerăm, că nu există suficiente dovezi, care să explice producerea FAPO prin simpla lezare a structurilor nervoase din componența CAR, deoarece nu se oferă răspunsul la câteva întrebări:

- de ce FAPO nu se produce la toți pacienții, la care li s-a înlăturat CAR?
- de ce frecvența FAPO este proporțională cu vârsta pacientului?
- de ce fibrilația atrială se manifestă în zilele 2-4 postoperatoriu și nu imediat după intervenție?
- de ce după transplantul de cord, riscul producerii FAPO este mai redus decât după intervențiile chirurgicale pe cord deschis, dar care implică AAs [14]?

O altă problemă care trebuie abordată, este frecvența mai înaltă a hemoragiei postoperatorii după abordarea chirurgicală a aortei ascendente, comparativ cu celelalte segmente. Noi explicăm apariția acestei complicații prin originea directă a *vasa vasorum internae* din aortă (respectiv, presiunea sângelui în aceste vase este mai înaltă) și prin existența anastomozelor multiple cu alte surse de vascularizare.

Totuși, cea mai frecventă și misterioasă complicație postoperatorie în intervențiile chirurgicale pe cord, care implică și aorta ascendentă, este FAPO. Numărul cazurilor de fibrilație atrială postoperatorie este în continuă creștere [15]. Astfel, 20-40% dintre pacienții care au beneficiat de intervenții chirurgicale pe aorta ascendentă, au avut disritmii postoperatorii, dintre care, în 7-20% din cazuri a urmat decesul.

Lupinski B. R. (2007, 2009), presupunea că vasele limfatice intracardiace pot avea un rol în declanșarea proceselor patofiziologice, care implică sistemul de conducere al cordului. Opiniile cercetătorilor cu privire la limfaticele aortei variază: unii descriu prezența lor în adventice (Novikova T. P., 1965; Johnson R. A., 1969; Takacs E., Jellinek H., 1986), alții raportează localizarea lor numai în țesutul para-aortal (Bocearov V., 1965). Golab B. (1977), a descris doi colectori limfatici cardiaci (drept și stâng), localizați în șanțurile aorto-pulmonare [16]. Servelle M. și coaut. (1967), au remarcat existența unui colector suplimentar, de la atriul drept, care se varsă în cel cardiac drept [17]. Doar în lucrarea lui Johnson R. (1969) a fost descrisă prezența nodulilor limfatici în adventicea aortală, deși nu a fost precizată localizarea lor exactă [18].

În studiul nostru, a fost demonstrată existența vaselor și nodulilor limfatici în adventicea aortei ascendente. Datele noastre confirmă cele relatate de Servelle M. și coaut. (1967)

of the ascending aorta is eradicated during surgical intervention. However, it has been found that the frequency of postoperative atrial fibrillation (POAF) is rare, if the RFB was maintained intact. Therefore, it was also thought that RFB contains certain structures that regulate the heart rate, and therefore its damage or removal might induce atrial fibrillation [11, 12]. There is a dominating opinion that the trauma of this anatomical formation leads to the loss of vagal effect on sinus, if RFB is cut, whereas atrial fibrillation has a frequency of 27% vs. 7% in case it remains intact [13].

We believe that there is little evidence to explain POAF, induced by a simple injury of nerve structures contained in the CAR, since it does not provide the answers to the following questions:

- why POAF does not occur in all patients to whom RFB was removed?
- why POAF frequency is proportional to the patient's age?
- why atrial fibrillation occurs in 2-4 days postoperatively rather than immediately after surgery?
- why after a heart transplantation, POAF risk is lower than after an open heart surgery, but which involves AAs [14]?

Another issue to be considered is the highest frequency of postoperative hemorrhage after using the surgical approach to ascending aorta compared to other segments. We may explain the occurrence of this complication by its direct origin of *vasa vasorum internae* from the aorta (respectively, the blood pressure is higher in these vessels) and by the presence of multiple anastomoses with other sources of vascularization.

However, the most common and mysterious postoperative complication in heart surgery is POAF, which involves the ascending aorta. The number of cases of postoperative atrial fibrillation is constantly growing [15]. Thus, 20-40% of patients who underwent surgical interventions on the ascending aorta showed postoperative dysrhythmia, whereas 7-20% of cases resulted in the patient's death.

Lupinski B. N. (2007, 2009), assumed that intracardiac lymphatic vessels might trigger the pathophysiological processes and therefore involve the control system of the heart. The researchers' opinions on aortic lymphatics vary: some describe their presence in adventitia (Novikova T. P., 1965; Johnson R. A., 1969; Takacs E., Jellinek H., 1986), others report their location only in the para-aortal tissue (Bocearov V., 1965). Golab B. (1977) described two cardiac lymphatic collectors (right and left), located in the aorto-pulmonary grooves [16]. Servelle M. *et al.* (1967) noted the presence of an additional collector, from the right atrium, which flows into the right heart collector [17]. Only the work of Johnson R. (1969) described the occurrence of lymph nodes in the aortic adventitia, although their exact location was not clearly specified [18].

During our study, it was demonstrated the presence of lymph nodes and vessels in the adventitia of the ascending aorta. Our data confirm those reported by Servelle M. *et al.* (1967) regarding the presence, in many cases, of the lymphatic collector in the right atrium, which is responsible for

referitor la existența, în multe cazuri, a colectorului limfatic de la atriu drept, care efectuează drenajul limfatic al regiunii nodului sinuzal și care traversează CAR.

Nakata Y., Shionoya S. (1979), au descris leziuni vasculare, cauzate de perturbarea limfaticelor vasculare intraparietale [19]. Symbas P. și coaut. (1963), au raportat despre efectul întreruperii experimentale a limfaticelor [20]. Considerăm că anume prin lezarea colectorilor limfatici în timpul intervențiilor chirurgicale putem răspunde la întrebările formulate anterior. În lipsa colectorului limfatic din atriu drept, traumatizarea rețelei limfatice nu prezintă pericolul declanșării FAPO: drenajul are loc prin colateralele menținute. Staza limfatică se formează timp de 2-4 zile, de aici și explicația, de ce anume în aceste segmente de timp se manifestă tulburările ritmului cardiac.

La vârstnici, rețeaua limfatică este redusă și nu este în stare să compenseze funcția vaselor limfatice sau a colectorului limfatic, lezate intraoperatoriu. Restabilirea circulației sangvine adecvate a cordului după transplantare și formarea limfei durează câteva săptămâni, deseori – luni de zile. În conformitate cu datele lui Nakano T. și coaut. (2005), regenerarea vaselor limfatice durează de la două până la patru săptămâni [21]. Această informație ne ajută să explicăm frecvența mai redusă a FAPO în transplantul de cord; firește, lezarea căilor de drenaj limfatic ale cordului nu este unica cauză a acestei complicații.

Noi am confruntat datele obținute cu rezultatele investigațiilor de laborator ale lui Comroe J. (1939) [22]. La introducerea lobelinei prin canulă, în diverse zone ale aortei, autorul menționat a constatat un rezultat pozitiv, atunci când substanța se introducea proximal de zona de trecere a AAs în arc. Astfel, cercetătorul a conchis că zona chemosenzitivă ar putea fi localizată ori în aorta ascendentă, ori în porțiunea incipientă a arcului aortic. Anume aici se află originea *vasa vasorum internae* depistate de noi, care vascularizează structurile glomice. Prin urmare, zona chemoreceptoare a aortei este localizată la nivelul corpului adipos Rindfleisch, deși toți autorii, vorbind despre zonele reflexogene vasculare, le consideră a fi arcul aortei și sinusul carotid.

Ce reprezintă corpul adipos al AAs? În interpretarea lui Rindfleisch (1884), această formațiune este necesară în timpul sistolei cardiace, deoarece ea fortifică pereții aortei. Gross (1921), a observat o asociere dintre starea vaselor sangvine a CAR și insuficiența coronariană. Davis (1927), Smetana (1930), Robertson (1930), Parke și Michels (1966) au explicat existența CAR prin contracțiile auriculului drept, care contactează cu aorta. În viziunea noastră, corpul adipos Rindfleisch este o zonă de monitorizare a compoziției sângelui, a limfei și a lichidului tisular, o structură de amortizare, necesară în condițiile hemodinamice existente în aorta ascendentă.

Concluzii

- 1) Aorta ascendentă are un rol cu mult mai mare în fiziologia sistemului vascular decât se considera până acum. Densitatea sporită a vaselor sangvine, a nervilor, pre-

the lymphatic drainage in the region of sinus node and passes through RFB.

Nakata Y., Shionoya S. (1979) described vascular injuries caused by the damage of intraparietal vascular lymphatics [19]. Symbas P. and *et al.* (1963) reported on the experimental disruption effect of the lymphatics [20]. We consider that, namely, by damaging certain lymphatic collectors during surgical manipulations, we can answer to the questions above. In the absence of lymphatic collector in the right atrium, the trauma of the lymphatic network does not pose threat upon triggering POAF: the drainage occurs via maintained collaterals. Lymphatic stasis is formed within 2-4 days, hence explaining why the heart rate disorders occur exactly during this time period.

In elderly, the lymphatic network is reduced and is not able to compensate proper functioning of the lymphatic vessels or collector after an intraoperative injury. The restore of an adequate blood flow to the heart after transplantation and formation of lymph takes several weeks, often even months. According to the data of T. Nakano and *et al.* (2005), regeneration of the lymphatic vessels takes from two to four weeks [21]. This information helps to explain the lower frequency of POAF in heart transplantation; naturally, the damage of lymphatic drainage pathways of the heart is not the only cause of this complication.

We have compared the obtained data with the results of laboratory investigations of Comroe J. (1939) [22]. During the introduction of the lobeline through cannula, in various parts of the aorta, the author recorded a positive result, when the substance was introduced proximally to the crossing area of the AsA in the arch. Thus, the investigator concluded that the chemosensitive zone may be located either in the ascending aorta or in the incipient portion of the aortic arch. Our studies determined that namely here the origin of *vasa vasorum internae* is, which vascularize the glomus structures. Therefore, the aortic chemoreceptor zone is located on the level of the Rindfleisch fat body, although all the authors, when describing the vascular reflex zones, consider them to be the aortic arch and carotid sinus.

What is the AsA fat body? According to Rindfleisch (1884), this formation is required during cardiac systole, because it strengthens the walls of the aorta. Gross (1921), observed an association between the blood vessel condition of RFB and coronary insufficiency. Davis (1927), Smetana (1930), Robertson (1930), Parke and Michels (1966) explained the RFB presence by contractions of the right auricle, which come into contact with the aorta. In our opinion, the Rindfleisch fat body is a monitoring zone for blood, lymph and fluid tissue composition, a buffering structure required under the existing hemodynamics of the ascending aorta.

Conclusions

- 1) The ascending aorta plays a greater role in the physiology of the vascular system than it was considered before. The increased density of blood vessels, nerves, pres-

zența nodulilor limfatici și structurilor glomice în componența corpului adipos al AAs sugerează ideea despre caracterul multifuncțional al acestuia.

- 2) Luarea în calcul a particularităților vascularizării și corelațiilor corpului adipos Rindfleisch cu colectorii limfatici ai cordului, va reduce din frecvența complicațiilor după chirurgia cardiovasculară.
- 3) Se recomandă protejarea intraoperatorie de leziuni ale aortei ascendente și, în special, a CAR, mutând locul manipulațiilor chirurgicale mai distal de corpul adipos al AAs. Distanța locului de incizie de la șanțul aortopulmonar anterior se determină în funcție de localizarea acestei structuri anatomice.

Declarația de conflict de interes

Nimic de declarat.

ence of lymph nodes and glomus structures in zone of fat body of ascending aorta suggests its multifunctional character.

- 2) Considerations upon the peculiarities of vascularization and correlations between the Rindfleisch fat body and lymphatic collectors of the heart may reduce the frequency of cardiovascular complications after surgery.
- 3) It is recommended to protect the ascending aorta against intraoperative injuries and, in particular, RFB, by performing surgical manipulations distally of the AsA fat body. The distance of incision site from anterior aorto-pulmonary groove depends on the location of this adipose structure.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

Referințe / references

1. Steinberg J. Postoperative atrial fibrillation: a billion dollar problem (Editorial comment). *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43 (6): 1001-3.
2. Levy D, Kannel W. Postoperative atrial fibrillation and mortality: do the risks merit changes in clinical practice? (Editorial comment). *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43(5): 749-51.
3. Nair S. Atrial fibrillation after cardiac surgery. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, 2010; 13 (3): 196-205.
4. Verrier R, Zhao S. The enigmatic cardiac fat pads: critical but underappreciated neural regulatory sites. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2002; 13(9): 902-3.
5. Criado F. The mystery of aortic dissection: a 250-year evolution. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*, 2010; 51 (5): 601-8.
6. John L. Crista aortae ascendentes, ascending aortic fold or Rindfleisch's fold – an enigma. *Clin. Anat.*, 2004; 17 (2): 159-60.
7. Unger F, Rainer W. The plica transversa aortae: an addendum to the anatomic nomenclature of the heart. *Ann. Thoracic Surg.*, 1999; 68: 2391.
8. Lindsay J. Crista aortae ascendentes, ascending aortic fold or Rindeich's fold – an enigma. *Clinical anatomy*, 2004; 17: 159-160.
9. Unger F. Reply to Crista aortae ascendentes, ascending aortic fold or Rindeich's fold – an enigma. *Clinical anatomy*, 2005, 18: 396.
10. Morrison J, Codispoti M, Campanella C. Reply to: Crista aortae ascendentes, ascending aortic fold or Rindfleisch's fold – an enigma. *Clinical anatomy*, 2004, 17: 161-162.
11. Morrison J, Codispoti M, Campanella C. Surgically relevant structure on the ascending aorta. *Clinical anatomy*, 2003; 16 (3): 253-5.
12. Parke W. Surgically relevant structure on the ascending aorta. *Clinical anatomy*, 2004; 17: 159-160.
13. Davis Z, Jacobs H, Bonilla J. *et al.* Retaining the Aortic Fat Pad during cardiac surgery decreases postoperative atrial fibrillation. *Heart Surg. Forum*, 2000; 3: 108-112.
14. Compostella L, Russo N. *et al.* Abnormal heart rate variability and atrial fibrillation after aortic surgery. *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.*, 2015; 30 (1): 55-62.
15. Steinberg J. Postoperative atrial fibrillation: a billion-dollar problem. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43: 1001-1003.
16. Golab B. Lymphatic vessels of the conducting system of human heart. *Folia morphologica*, 1977; 35 (4): 317-322.
17. Servelle M, Andrieux J. *et al.* The lymphatics of the heart (peroperative injections). *Arch. Mal. Coeur Vaiss.*, 1967; 60: 89-106.
18. Johnson R. Lymphatics of blood vessels. *Lymphology*, 1969; 2 (2): 44-56.
19. Nakata Y, Shionoya S. Structure of lymphatics in the aorta and the periaortic tissues, and vascular lesions caused by disturbance of the lymphatics. *Lymphology*, 1979; 12 (1): 18-9.
20. Symbas P, Cooper T, Gantner G, Willman V. Lymphatic drainage of the heart: effects of experimental interruption of lymphatics. *Surg. Forum*, 1963; 14: 254.
21. Nakano T, Nakashima Y. *et al.* Angiogenesis and lymphangiogenesis and expression of lymphangiogenic factors in the atherosclerotic intima of human coronary arteries. *Human Pathology*, 2005; 36: 330-340.
22. Comroe J. The location and function of the chemoreceptors of the aorta. *Am. J. Physiol.*, 1939; 123: 176-191.

ARTICOL ORIGINAL

Rolul factorului ciliar neurotrofic în dezvoltarea tulburărilor reziduale la copii cu leziuni cerebrale perinatale: studiu prospectiv, de cohortă

Svetlana Hadjiu^{1*}

¹Departamentul de pediatrie, Clinica de neuropediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

Svetlana Hadjiu, dr. șt. med., conf. univ.

Departamentul de pediatrie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: svetlana.hadjiu@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Se presupune că factorul ciliar neurotrofic (CNTF), parte a unei subfamilii a citokinelor, ar fi esențial pentru dezvoltarea normală a SNC și supraviețuirea celulelor nervoase (în special, a motoneuronilor) și celor musculare după leziuni. Actualmente, se studiază intensiv perspectivele farmacologice ale CNTF în tratarea unor afecțiuni neurologice.

Ipoteza de cercetare

Nivelul seric al CNTF la copiii cu leziuni cerebrale perinatale posedă un rol important în dezvoltarea afecțiunilor reziduale ale sistemului nervos central.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

S-a demonstrat că nivelele de CNTF sunt reduse semnificativ la copii cu leziuni cerebrale perinatale (LCP) și corelează cu modificările neurofiziologice și neuroimagistice. S-a constatat, că CNTF manifestă efect neuroprotectiv și ar putea avea atât o perspectivă terapeutică în LCP, cât și de biomarker.

Rezumat

Introducere. Modificările biochimice și fiziopatologice care au loc în creierul neonatal în leziunile cerebrale perinatale sunt complexe. În ultimii ani, se fac cercetări importante asupra factorilor neurotrofici, deoarece procesele cerebrale fundamentale sunt legate de neuroregenerare (neurotroficitate, neuroprotecție, neuroplasticitate și neurogeneză).

Material și metode. Studiu prospectiv, de cohortă. Au fost cercetați 75 de copii cu encefalopatie neonatală de genăză hipoxico-ischemică, repartizați în 3 loturi a câte 25 de copii, în

ARTICOL ORIGINAL

The role of the ciliary neurotrophic factor in the development of residual disorders in children with perinatal cerebral lesions: a cohort, prospective study

Svetlana Hadjiu^{1*}

¹Department of pediatrics, Neuropediatrics Clinic, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

Svetlana Hadjiu, PhD, associate profesor

Department of pediatrics

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: svetlana.hadjiu@usmf.md

What is not known yet, about the topic

It is supposed that the ciliary neurotrophic factor (CNTF), which is a part of a subfamily of cytokines, is essential for normal development of the CNS, neuronal cell survival (especially of motor neurons) and muscular cell survival after lesions. Today, pharmacologic perspectives of CNTF in treating neurologic diseases is being studied intensely.

Research hypothesis

Seric level of CNTF in children with perinatal cerebral lesions plays an important role in the development of residual disorders of the CNS.

Article's added novelty on this scientific topic

It has been demonstrated that CNTF levels are significantly reduced in children with perinatal cerebral lesions (PCL) and correlates with neurophysiological and neuro-imagistic modifications. It has been established that CNTF manifests a neuroprotective effect and could have both therapeutic perspective in PCL and biomarker perspective as well.

Abstract

Introduction. Biochemical and physiopathological modifications that occur in the neonatal brain in perinatal cerebral lesions are complex. In the past few years, important research are being held regarding neurotrophic factors because fundamental cerebral processes are related to neuroregeneration (neurotrophicity, neuroprotection, neuroplasticity and neurogenesis).

Material and methods. Cohort, prospective study. Seventy-five children with neonatal encephalopathy of ischemic-

funcție de gradul de severitate a bolii; referința – 25 de copii practic sănătoși. Examinările au cuprins: aprecierea CNTF seric la vârsta de 1-3 luni și de 12 luni, EEG și imagistica cerebrală. Studiată corelația dintre CNTF seric și gradele de leziuni cerebrale perinatale, precum și cu tulburările reziduale după aceste leziuni vs. copiii sănătoși.

Rezultate. Au fost constatate concentrații serice scăzute de CNTF la copiii cu vârsta de 3 luni care, ulterior, au dezvoltat tulburări reziduale (TR) ale SNC: TR majore (3,04 [95CI: 2,2-3,88] pg/mL) și minore (5,15 [95CI: 4,6-5,7] pg/mL), comparativ cu cei practic sănătoși (8,1 [95CI: 7,5-8,7] pg/mL), $p < 0,001$. Valorile absolute de CNTF corelează negativ cu gradul de severitate al LCP ($r_{xy} = -0,921$), cu traseele epileptice pe EEG ($r_{xy} = -0,74$; $p < 0,01$), cu modificările structurale ale țesutului cerebral ($r_{xy} = -0,71$, $p < 0,01$). La vârsta de 12 luni, s-a observat o creștere semnificativă a nivelurilor de CNTF (cu 25,9%) la copiii cu LCP severe, superioară în valori relative, în comparație cu copiii sănătoși (15,6%). Cu toate acestea, nivelurile serice de CNTF în valori absolute rămăneau scăzute ($r_{xy} = 0,875$, $p < 0,001$).

Concluzii. Concentrațiile serice de CNTF sunt scăzute semnificativ la copiii cu LCP, cu vârsta între 1-3 și 12 luni, comparativ cu copiii practic sănătoși și corelează cu modificările neurofiziologice și neuroimagistice. Odată cu creșterea copilului, cresc concentrațiile serice de CNTF, notificând implicarea sa în procesele de neurodezvoltare atât la copilul practic sănătos, cât și la cel cu LCP. Creșterea semnificativă a nivelurilor de CNTF la copiii cu paralizie cerebrală notifică importanța sa în procesele de neuroregenerare, iar la cei cu epilepsie – implicarea în procesele de epileptogeneză. Aceste rezultate sugerează necesitatea terapiei neuroprotectoare (administrarea de CNTF) la etapele precoce ale leziunii.

Cuvinte cheie: encefalopatie neonatală, leziuni cerebrale perinatale, hipoxie-ischemie cerebrală, tulburări reziduale, factori neurotrofici, factor ciliar neurotrofic, CNTF.

Introducere

În lucrarea lui D. Mureșanu, se constată următoarele: „Descoperirea factorilor neurotrofici (FN) a oferit o dimensiune în plus capacității de înțelegere a proceselor de proliferare, creștere, diferențiere și transformare a celulelor din SNC în cursul ontogenezei și în cursul diverselor procese patologice” [1].

Concluziile unui șir de studii biomedicale experimentale proiectează efectele factorului ciliar neurotrofic (CNTF) asupra neurogenezei și implicarea lui în diferențierea celulelor stem-neuronale (NSCs), neuronilor și neurogliei, argumentând importanța CNTF în tratarea diferitor boli ale sistemului nervos central și periferic [2-4].

Rezultatele unor studii experimentale sugerează că CNTF și receptorul său (CNTFR), ar putea avea mai multe efecte asupra SNC. Studiul, realizat de Wagener E. *et al.* (2014) pe CNTF uman, a consemnat că CNTF poate forma legături cu mai mulți receptori, având un potențial terapeutic mare în bolile neurodegenerative și în obezitate [2]. Astfel, CNTF acționează ca și o citokină de protecție împotriva mai multor leziuni neurona-

le. Dacă hipoxia și ischemia cerebrală la copii cu leziuni cerebrale hipoxice au fost studiate, au fost divizate în 3 grupuri de 25 de copii, în funcție de severitatea bolii; grupul control a fost format din 25 de copii practic sănătoși. Examinările au cuprins: aprecierea CNTF seric la vârsta de 1-3 luni și de 12 luni, EEG și imagistica cerebrală. Studiată corelația dintre CNTF seric și gradele de leziuni cerebrale perinatale, precum și cu tulburările reziduale după aceste leziuni vs. copiii sănătoși.

Rezultate. Au fost constatate concentrații serice scăzute de CNTF la copiii cu vârsta de 3 luni care, ulterior, au dezvoltat tulburări reziduale (TR) ale SNC: TR majore (3,04 [95CI: 2,2-3,88] pg/mL) și minore (5,15 [95CI: 4,6-5,7] pg/mL), comparativ cu cei practic sănătoși (8,1 [95CI: 7,5-8,7] pg/mL), $p < 0,001$. Valorile absolute de CNTF corelează negativ cu gradul de severitate al LCP ($r_{xy} = -0,921$), cu traseele epileptice pe EEG ($r_{xy} = -0,74$; $p < 0,01$), cu modificările structurale ale țesutului cerebral ($r_{xy} = -0,71$, $p < 0,01$). La vârsta de 12 luni, s-a observat o creștere semnificativă a nivelurilor de CNTF (cu 25,9%) la copiii cu LCP severe, superioară în valori relative, în comparație cu copiii sănătoși (15,6%). Cu toate acestea, nivelurile serice de CNTF în valori absolute rămăneau scăzute ($r_{xy} = 0,875$, $p < 0,001$).

Concluzii. Concentrațiile serice de CNTF sunt scăzute semnificativ la copiii cu LCP, cu vârsta între 1-3 și 12 luni, comparativ cu copiii practic sănătoși și corelează cu modificările neurofiziologice și neuroimagistice. Odată cu creșterea copilului, cresc concentrațiile serice de CNTF, notificând implicarea sa în procesele de neurodezvoltare atât la copilul practic sănătos, cât și la cel cu LCP. Creșterea semnificativă a nivelurilor de CNTF la copiii cu paralizie cerebrală notifică importanța sa în procesele de neuroregenerare, iar la cei cu epilepsie – implicarea în procesele de epileptogeneză. Aceste rezultate sugerează necesitatea terapiei neuroprotectoare (administrarea de CNTF) la etapele precoce ale leziunii.

Cuvinte cheie: encefalopatie neonatală, leziuni cerebrale perinatale, hipoxie-ischemie cerebrală, tulburări reziduale, factori neurotrofici, factor ciliar neurotrofic, CNTF.

Introduction

In the work of D. Muresanu, the following is stated: “The discovering of the neurotrophic factors (NF) offered a plus dimension in our capacity of understanding of proliferative, growing, differentiation and transformation processes of cells in the CNS during ontogenesis and during various pathological processes” [1].

Conclusions of many biomedical experimental studies show the effects of the ciliary neurotrophic factor (CNTF) on neurogenesis and its implication in differentiation of neuronal stem-cells (NSCs), neurons and neuroglia, underlining the importance of CNTF in treating different diseases of central and peripheral nervous systems [2-4].

Results of certain experimental studies suggest that CNTF and its receptor (CNTFR) could have more effects on CNS. The study made by Wagener E. *et al.* (2014) on human CNTF showed that CNTF can bind to several receptors, thus having a great therapeutic potential in treating neurodegenerative diseases and obesity [2]. Thereby, CNTF acts like a protec-

le și își exercită efectele sale asupra mușchilor și neuronilor, protejând mușchii scheletici împotriva leziunilor, ameliorând supraviețuirea neuronilor după leziuni (fosforilează tirozina); la fel, reduce atrofia indusă de denervare a mușchilor scheletici [5]. De asemenea, promovează diferențierea celulelor bipolare și celulelor gliale [6], îmbunătățește oligodendrogeneza (prin favorizarea celulelor precursorale ale oligodendrocitelor), supraviețuirea și diferențierea *in vivo* [7], promovează proliferarea și diferențierea celulelor stem-neuronale (NSCs) [8].

Scharfman H. *et al.* (2002) [9]; Brigadski T., Lebmann V. (2014) [10], au remarcat faptul că leziunile celulelor nervoase ale mamiferelor induc urmări ireversibile, deoarece aceste celule nu sunt capabile să regenereze. Perturbarea funcțiilor axonilor sau neuronilor, corelate cu severitatea leziunii, realizează întreruperea conexiunilor pentru transmiterea informației de la celulă la celulă. Cu toate acestea, conform unor studii, sporește numărul dovezilor în favoarea mecanismului de regenerare și de restabilire a conexiunilor interneuronale la adult în urma leziunilor provocate în anumite condiții experimentale [9, 10]. Astfel de rezultate admit posibilitatea de regenerare a conexiunilor sinaptice în anumite zone ale SNC în urma unor leziuni cerebrale.

Mai multe studii relatează beneficiile tratamentului cu CNTF în salvarea numărului și funcției motoneuronilor [11, 12]. Un studiu, realizat pe șoareci cu ischemie cerebrală focală, sugerează că CNTF mediază accidentul vascular cerebral. Stimularea farmacologică continuă cu CNTF ar putea fi o strategie terapeutică bună pentru înlocuirea celulelor după AVC [12].

Deși, în ultimii ani, mai multe descoperiri importante au fost obținute cu privire la epidemiologia, diagnosticul și mecanismul LCP cauzate de EN [13, 14], fiziopatologia și managementul acestora rămân, în cea mai mare parte, controversate [15]. În pofida numărului mic de cercetări experimentale și date clinice pe modele de animale și umane, care sprijină terapiile neuroprotectoare în variate boli ale SNC, calea finală comună de prevenție a distrucțiilor neuronale în LCP rămâne, deocamdată, neclară.

Scopul principal al studiului a fost aprecierea nivelului seric al CNTF la copiii cu leziuni cerebrale perinatale pentru estimarea rolului său în dezvoltarea tulburărilor reziduale ale SNC.

Material și metode

Protocolul și design-ul cercetării

Studiu de tip prospectiv, nerandomizat, de cohortă, a fost realizat la Clinica de neuropediatrie a Departamentului de pediatrie al USMF „Nicolae Testemițanu”, în perioada 2005-2010.

Având în vedere că studiul a fost efectuat asupra minorilor, acordul informat scris a fost obținut de la unul dintre părinții.

Au fost înrolați în studiu 100 de copii cu vârsta cuprinsă între 1-3 luni și 48±12 luni; 25 dintre ei au fost „practic sănătoși” (LPS), 75 – au suportat LCP hipoxic-ischemice de diferit grad de severitate în perioada perinatală (25 – gradul I / LCPH I, 25 – gradul II / LCPH II, 25 – gradul III / LCPH III).

Antecedentele perinatale au fost apreciate în cadrul unui studiu retrospectiv al fișelor medicale și datele de la aparținători, care a vizat starea copiilor la naștere (scorul Apgar: gradul I – 5-7 puncte, gradul II – 4-6 puncte, gradul III

tive cytokine against many neuronal lesions and has effects on neurons and muscles, protecting skeletal muscles against lesions, improving survival of neurons after lesions (through tyrosine phosphorylation); also, it reduces atrophy induced by denervation of skeletal muscles [5]. It also promotes bipolar cells and glial cells differentiation [6], improves oligodendrogenesis (by favorising precursor cells of oligodendrocytes), survival and differentiation *in vivo* [7], and promotes proliferation and differentiation of neuronal stem-cells (NSCs) [8].

Sharfman H. *et al.* (2002) [9]; Brigadski T., Lebmann V. (2014) [10], remarked that lesions of nervous cell of mammals induce irreversible consequences, due to the fact that these cells are not capable to regenerate. Disturbances of axons' or neurons' functions, correlated to the severity of the disease, discontinue connections for informational passage from cell to cell. Nevertheless, according to some studies, there are a rising number of proofs that support the mechanism of regeneration and restoration of interneuronal connections in adults after lesions made under experimental conditions [9, 10]. Such results admit the possibility of regeneration of synaptic connections in certain zones of CNS after some cerebral lesions.

Many studies relate the benefits of the treatment with CNTF in saving the number and function of motor neurons [11, 12]. A study made on rats with focal cerebral ischemia, suggests that CNTF mediates the cerebral vascular accident. Continuous pharmacologic stimulation with CNTF could become a therapeutic strategy for cell replacement after strokes [12].

Although, in the last few years, many discoveries have been made regarding the epidemiology, diagnosis and the mechanism of PCL caused by EN [13, 14], their physiopathology and management remain mostly controversial [15]. Despite the small number of experimental researches and clinical data from human and animal models that support neuroprotective therapies in various diseases of CNS, the final common path of prevention of neuronal destruction in PCL remains unclear.

The main aim of the study was appreciation of the seric level of CNTF in children with perinatal cerebral lesions in order to estimate its role in the development of residual disorders of the CNS.

Material and methods

The protocol and design of the study

The prospective, nonrandomized, cohort study was held at the Neuropediatric Clinic of the Pediatric Department of *Nicolae Testemițanu* State University of Medicine and Pharmacy during 2005-2010.

Considering that the study was performed on minor patients, the written informed consent was obtained from their parents.

One hundred children were enrolled in the study, with ages ranging from 1-3 months and 48±12 months; 25 of them were almost healthy children (AHC), and 75 suffered from hypoxic-ischemic PCL of different level of severity (25 children – of 1st degree / PCLH I, 25 children – of 2nd degree / PCLH II, and 25 children – of 3rd degree / PCLH III).

Perinatal antecedents were appreciated in a previous retrospective study of medical records and data obtained from

– 0-3 puncte) [16] și volumul tratamentului suportiv în secția de terapie intensivă: ventilație adecvată, menținerea unei perfuzii optime, menținerea glicemiei în limite normale, controlul convulsiilor, evitarea supraîncărcării cu fluide, reducerea hipertensiunii intracraniene, antibioticoterapie în caz de coexistență a unei infecții, în caz de stop cardiac – resuscitare cardio-respiratorie.

Design-ul studiului este redat în Figura 1.

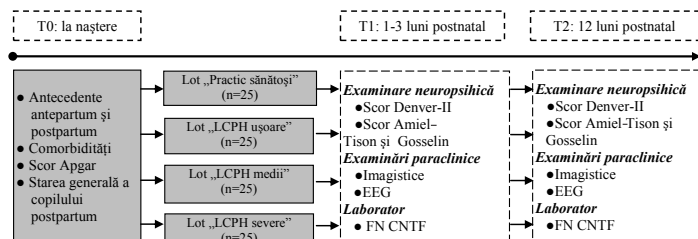


Fig. 1 Design-ul studiului.

Criterii de includere

- Copii care au suportat encefalopatie neonatală (EN) de genă hipoxic-iscemică (cu 3 grade de severitate), confirmate prin examene clinice.

Criterii de excludere din studiu

- infecții intrauterine;
- erori înnăscute de metabolism;
- sindroame genetice și cromosomiale;
- boli inflamatorii curente;
- viciu cardiac congenital;
- istoric de malignitate.

Parametrul principal de rezultat, înregistrat în cadrul studiului – concentrația serică a CNTF (pg/mL).

Parametrii secundari de rezultat, înregistrați în cadrul studiului:

- scorul DENVER II;
- examenul-screening Amiel-Tison și Gosselin;
- rezultatele examinărilor imagistice;
- rezultatele EEG.

Eșantionul de studiu a fost format din 100 de copii: 3 grupe a câte 25 de copii (cu gradul I, gradul II și gradul III al LCP) și 25 de copii sănătoși, cu vârsta cuprinsă între 1-3 și 48±12 luni.

Definiția entităților clinice studiate

Encefalopatia neonatală reprezintă o varietate de entități clinice care au în comun o scădere a livrării oxigenului destinat creierului, secundară hipoperfuziei cerebrale și se definește prin leziuni cerebrale apărute la nou-născut ca urmare a hipoxiei și ischemiei cerebrale, secundare suferinței fetale cronice sau acute, urmată de consecințe în neurodezvoltare. Este un sindrom clinic definit de afectarea neurologică majoră în primele zile ale vieții la un nou-născut la termen, manifestat prin dificultatea de a iniția și a-și menține respirația, depresia tonusului muscular și reflexelor, nivel redus de conștiință și, frecvent, convulsii. LCP hipoxic-iscemică ușoară (gradul I) se caracterizează prin următoarele manifestări clinice: agitație,

relatives, that regarded their children' state at birth (Apgar score: first degree – 5-7 points, second degree – 4-6 points, third degree – 0-3 points) [16] and the volume of the supportive treatment in the ICU: adequate ventilation, maintenance of an optimal perfusion, maintenance of normal levels of glycaemia, seizures control, avoidance of fluid overfill, reduction of cerebral hypertension, treatment with antibiotics in case of an existing infection, cardio-pulmonary resuscitation in cases of cardiac arrest. The study design is shown in Figure 1.

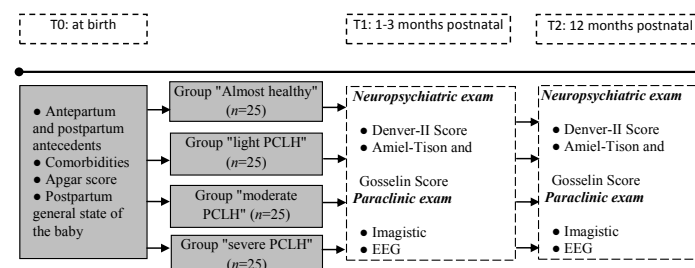


Fig. 1 Study design.

Inclusion criteria

- Children that suffered from neonatal encephalopathy (NE) of hypoxic-ischemic genesis (with 3 severity degrees), confirmed by clinical examination.

Exclusion criteria

- intrauterine infections;
- congenital metabolism errors;
- genetic and chromosome syndromes;
- current inflammatory diseases;
- congenital heart malformations;
- malignancy history.

The main result parameter that has been recorded in the study was the seric concentration of CNTF (pg/mL).

Secondary result parameters, recorded in the study:

- DENVER II Score;
- Amiel-Tison and Gosselin screening exam;
- results of imagistic examinations;
- EEG results.

One hundred children were enrolled in the study, divided into 3 groups, 25 children each (with first, second and third degree of PCL) and 25 healthy children with ages ranging from 1-3 months and 48±12 months.

Definition of studied clinical entities

Neonatal encephalopathy represents a variety of clinical entities that have in common lesser delivery of oxygen designated for the brain, secondary to cerebral hypoperfusion and is defined by cerebral lesions appeared in the new-born baby after hypoxia and ischemia of the brain, secondary to acute or chronic fetal suffering, followed by consequences in neurological development. It is a clinical syndrome defined by the major neurological impact in the first days of life of an in-term new-born baby, characterized by difficulty in initiating and maintaining of breathing, depression of muscular tonus and reflexes, reduced level of consciousness, and frequently seizures. Light hypoxic-ischemic PCL (1st degree) are charac-

hiperexcitabilitate, tonus normal, supt slab, reflex Moro diminuat, midriază, tahicardie, absența convulsiilor, EEG normală, durată manifestărilor clinice 1-3 zile; *moderate* (gradul II) prin: letargie / obnubilare, hipotonie moderată, supt slab sau absent, reflex Moro slab, mioză, bradicardie, convulsii focale sau multifocale, acidoză tranzitorie, EEG cu microvoltaj delta și theta, durată manifestărilor clinice 2-14 zile; *severe* (grad III): stupor ce răspunde doar la stimuli puternici, placiditate, decerebrare intermitentă, supt absent, ritmul cardiac variabil, Moro absent, reflex pupilar la lumină diminuat, convulsii, acidoză persistentă, EEG cu supresie electrică cerebrală, durată manifestărilor clinice – ore până la săptămâni, cu sechele neurologice severe.

Patologiile reziduale ale SNC, în special PC, constituie sechele ale unei boli a SNC, sau reprezintă o afecțiune curentă, cauzată de o afecțiune apărută anterior. „Tulburările reziduale minore” includ dereglările funcționale ale creierului, exprimate prin tulburări comportamentale, de vorbire și limbaj, de atenție, de adaptare socială etc.; „tulburările reziduale majore” includ tulburările organice cerebrale, exprimate prin epilepsie, paralizie cerebrală și retard mental.

Dinamica evolutivă a LCP a fost apreciată timp de 48 ± 12 luni.

Studiul clinico-imunoenzimatic prospectiv, realizat pe cei 100 de copii, a vizat statusul neurodevelopmental, apreciat prin testările neuropsihologice DENVER II [17] și examenul neurologic Amiel-Tison și Gosseline [18], examenul imagistic (ETF și RMN cerebrală) și electroencefalografice. Testul DENVER II s-a efectuat la vârsta de 1-3 luni și a permis formarea grupurilor de risc pentru probleme neurologice, prin aprecierea performanțelor profesional-sociale (25 itemi), motor fin-adaptiv (29 itemi), limbaj (39 itemi), motor-grosier (motricitate generală) (32 itemi), comportament – 5 itemi. Pentru a facilita calculele matematice, testul s-a punctat în felul următor: „0” – rezultat normal, „1” – suspect, „2” – ușor anormal; „3” – moderat; „4” – sever anormal; „5” – instabil.

Efectuarea examenului screening Amiel-Tison și Gosselin în evoluția creșterii, a permis aprecierea performanțelor neurodevelopmentale și confirmarea diagnozelor evolutive. Datele obținute s-au codificat pentru a ușura calculele matematice: „0” indică un rezultat tipic, în limitele normalului, „1” – un rezultat ușor anormal, „1+” – un rezultat patologic moderat, „2” – indică un rezultat clar patologic (sever), „X” – permite culegerea de date atunci, când rezultatul normal sau anormal al unei observații nu poate fi definit cu certitudine.

Examenul imunoenzimatic a constatat în aprecierea concentrațiilor serice ale CNTF în perioada postacută a LCP (1-3 luni) și în cea de recuperare (12 luni), la analizatorul imunologic STAT FAX-303 (SUA, 2005), prin metoda de analiză imuno-enzimatică (ELIZAKit Cat. No. CYT306, care a măsurat forma matură de CNTF).

Calculul și testele statistice, utilizate în studiu: media aritmetică; dispersia; eroarea standard; frecvența relativă; intervalul de încredere; coeficientul de corelare Pearson; testul χ^2 (chi pătrat) al lui Pearson; testul ANOVA; testul Mann-Whitney; regresia liniară, sensibilitatea, specificitatea, curba ROC (l. engl. *Receiver Operator Characteristic curve*).

terized by the following clinical manifestations: agitation, hyperexcitability, normal tonus, weak suck, diminished Moro reflex, mydriasis, tachycardia, absence of seizures, normal EEG, manifestations last for 1-3 days. Moderate hypoxic-ischemic PCL (2nd degree) are characterized by: lethargy / obnubilation, moderate hypotonus, weak or absent suck, weak Moro reflex, miosis, bradycardia, focal or multifocal seizures, transitory acidosis, EEG with delta and theta slow wave activity, manifestations last for 2-14 days. Severe hypoxic-ischemic PCL (3rd degree) are characterized by: stupor that responds only to strong stimulus, paleness, intermittent decerebration, absent suck, variable cardiac rhythm, absent Moro reflex, diminished pupillary reflex on light, seizures, persistent acidosis, EEG with cerebral electrical suppression, manifestations last from hours to weeks, with severe neurological sequelae.

Residual pathologies of the CNS, especially cerebral palsy (CP), are sequelae of CNS diseases, or represent a current pathology, caused by a previous disease. “Minor residual disorders” include functional disturbances of the brain, expressed by behavior / language / speaking / attention / social adaptation disorders. “Major residual disorders” include organic cerebral disturbances, expressed by epilepsy, cerebral palsy and mental retardation.

Evolution dynamics of PCL was evaluated for 48 ± 12 months.

The prospective clinical immune-enzymatic study, made on 100 children, aimed to evaluate the neuro-developmental status, and was appreciated by neuro-psychological tests (DENVER II) [17], neurologic exam Amiel-Tison and Grosselin [18], imagistic exams (TFU – transfontanellar ultrasound, MRI and EEG). DENVER II test was made at the age of 1-3 months and made it possible to form risk groups for neurological problems, by evaluating the following performances: professional-social (25 items), fine motor-adaptive (29 items), language (39 items), gross motor (32 items), behavior (5 items). In order to simplify the mathematical calculation, the test was scored the following way: “0” – normal result, “1” – suspect, “2” – slightly abnormal, “3” – moderate, “4” – severely abnormal, “5” – instable.

Screening Amiel-Tison and Gosselin tests made during child growth, made it possible to evaluate neurodevelopmental performances and confirmation of diagnoses in evolution. For simplification of mathematical calculations, obtained data was codified: “0” indicates a typical result in normal ranges, “1” – slightly abnormal result, “1+” – moderate pathological result, “2” – severe pathological result, “X” – permits data collection when normal or abnormal results of observations can not be defined for sure.

The immune-enzymatic test consisted of seric appreciation of CNTF in the postacute period of PCL (1-3 months) and in the recovery period (12 months), held on the immunologic analyzer STAT FAX-303 (USA, 2005), using the immune-enzymatic method (ELIZAKit Cat. No. CYT306, that measured mature forms of CNTF).

Calculations and statistical tests used in this study: arithmetical mean values; dispersion; standard error; relative frequency; confidence interval; Pearson coefficient; Pearson's χ^2

Rezultate

Diagrama de flux CONSORT a pacienților studiați este redată în Figura 2.

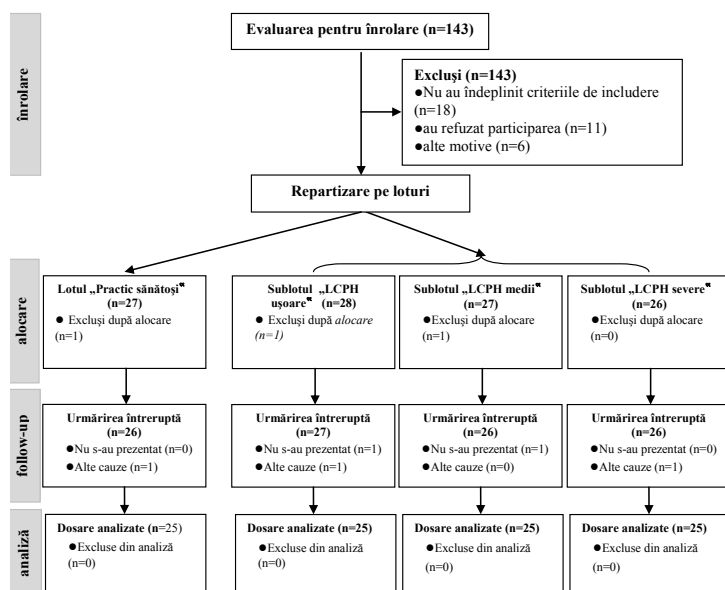


Fig. 2 Diagrama CONSORT al fluxului de pacienți.

Notă: LCPH – leziuni cerebrale peripartum hipoxico-ischemice.

Caracterizarea generală a loturilor de studiu este prezentată în Tabelul 1. Rezultatele investigațiilor sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 1. Prezentarea generală a loturilor de studiu.

Parametri	Lot Practic sănătos	Lot LCH ușoare	Lot LCH medii	Lot LCH severe	p / r _{xy}
Vârsta de gestație, săptămâni	40 (95CI: 39–41)	39 (95CI: 38–40)	39 (95CI: 37–41)	38 (95CI: 36–40)	p<0,001
Masa corporală, kg	3,6 (95CI: 3,0–4,3)	3,8 (95CI: 2,9–4,6)	3,3 (95CI: 2,8–3,8)	3,1 (95CI: 2,4–3,8)	p<0,05
Apgar la naștere, puncte	9 (95CI: 8–10)	6 (95CI: 5–7)	5 (95CI: 4–6)	2 (95CI: 1–4)	p<0,001 r _{xy} -0,74
Hipoxie intrauterină cronică, %	–	12 (95CI: 5,5–17,5)	68 (95CI: 58,7–77,3)	92 (95CI: 86,6–97,4)	p<0,001 r _{xy} -0,85
Asfixiere la naștere, %	–	32 (95CI: 22,7–41,3)	48 (95CI: 38,0–58,0)	68 (95CI: 58,7–77,3)	p<0,001 r _{xy} -0,74
Prematuritate, %	–	–	–	9,3 (95CI: 5,9–12,7)	p>0,05 r _{xy} -0,22
Patologii ale placentei, %	–	12 (95CI: 5,5–18,5)	24 (95CI: 15,5–32,5)	44 (95CI: 34,1–53,9)	p<0,05 r _{xy} -0,39
Ruperea prematură a membranelor, %	–	8 (95CI: 2,6–13,4)	20 (95CI: 12,0–28,0)	36 (95CI: 26,4–45,6)	p>0,05 r _{xy} -0,24
Patologia cordonului ombilical, %	4 (95CI: 0,1–7,9)	8 (95CI: 2,6–13,4)	12 (95CI: 5,5–17,5)	20 (95CI: 12,0–28,0)	p<0,05 r _{xy} -0,51

test; ANOVA test; Mann-Whitney test; liniar regression; sensibilitate; specificitate; ROC curve.

Results

CONSORT diagram of the patient flow enrolled in the study is shown in Figure 2.

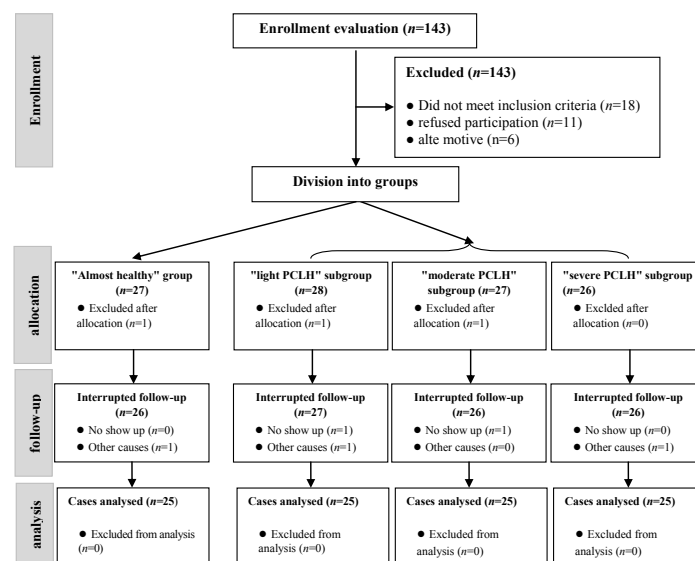


Fig. 2 CONSORT diagram of patients' flow.

Note: PCLH – peripartum cerebral lesions of ischemic-hypoxic genesis.

General characteristics of study groups are presented in Table 1. Main results are presented in Table 2.

Tablelul 2. Rezultatele investigațiilor loturilor de studiu.

Parametri	Lot Practic sănătos	Lot LCPH ușoare	Lot LCPH medii	Lot LCPH severe	p
<i>Scoruri</i>					
Denver II, puncte	0,3 (95CI: 0,0-0,6)	1,8 (95CI: 0,9-2,7)	2,9 (95CI: 2,3-3,5)	4,3 (95CI: 3,8-4,8)	p<0,05
Amiel-Tison și Gosselin, puncte	0,2 (95CI: 0,0-0,4)	0,5 (95CI: 0,2-0,8)	1,2 (95CI: 0,8-1,6)	1,7 (95CI: 1,4-2,0)	p<0,05
tulburări reziduale minore, %	0	76,0 (95CI: 67,5-84,5)	60,0 (95CI: 50,2-69,8)	12,0 (95CI: 5,5-18,5)	p<0,01 (mY=0,002)
tulburări reziduale majore, %	0	0	40,0 (95CI: 30,2-49,8)	88,0 (95CI: 81,5-94,5)	p<0,01 (mY=0,002)
<i>Concluzie EEG</i>					
aspect EEG normal, %	76,0 (95CI: 67,5-84,5)	24,0 (95CI: 15,5-32,5)	0	0	p>0,05
unde ascuțite sau spike, %	24,0 (95CI: 15,5-32,5)	28,0 (95CI: 19,0-37,0)	0	0	p<0,05
unde lente, preponderent theta deformatate și intricate cu delta, %	0	48,0 (95CI: 38,0-58,0)	60,0 (95CI: 50,2-69,8)	12,0 (95CI: 5,5-18,5)	p<0,01
vârfuri grupate, periodic generalizate, %	0	0	12,0 (95CI: 5,5-18,5)	40,0 (95CI: 30,2-49,8)	p<0,05
vârf undă lentă, spike undă lentă, %	0	0	28,0 (95CI: 19,2-37,0)	48,0 (95CI: 38,0-58,0)	p<0,01
<i>Concluzie imagistică</i>					
aspect normal,%	100,0	32,0 (95CI: 22,7-41,3)	-	-	p>0,05
semne de mielinizare incompletă,%	-	68,0 (95CI: 58,7-77,3)	60,0 (95CI: 50,2-69,8)	-	p<0,05
ușor, %	-	-	28 (95CI: 19,0-37,0)	-	p>0,05
dilatarea ventriculilor cerebrale, grad					
mediu, %	-	-	20,0 (95CI: 12,0-28,0)	20,0 (95CI: 12,0-28,0)	p<0,05
sever, %	-	-	-	20,0 (95CI: 12,0-28,0)	p>0,05
atrofie corticală, %	-	-	16,0 (95CI: 8,7-23,3)	68,0 (95CI: 58,7-77,3)	p<0,05
atrofie hipocampală, %	-	-	12,0 (95CI: 5,5-18,5)	24,0 (95CI: 15,5-32,5)	p<0,05
chisturi glio-ependimale, %	-	-	20,0 (95CI: 12,0-28,0)	36,0 (95CI: 26,4-45,6)	p<0,01
chisturi atrofile intracerebrale, %	-	-	-	20,0 (95CI: 12,0-28,0)	p>0,05
cavități porencefalice, %	-	-	-	12,0 (95CI: 5,5-18,5)	p>0,05
porencefalie difuză, %	-	-	-	8,0 (95CI: 2,6-13,4)	p>0,05
encefalomalacie multichistică, %	-	-	-	4,0 (95CI: 0,1-7,9)	p>0,05

Table 1. General presentation of study groups.

Parameters	Group Almost healthy	Group Light PCLH	Group Moderate PCLH	Group Severe PCLH	p / r _{xy}
Age of gestation, weeks	40 (95CI: 39–41)	39 (95CI: 38–40)	39 (95CI: 37–41)	38 (95CI: 36–40)	p<0.001
Body weight, kg	3.6 (95CI: 3.0–4.3)	3.8 (95CI: 2.9–4.6)	3.3 (95CI: 2.8–3.8)	3.1 (95CI: 2.4–3.8)	p<0.05
Apgar at birth, points	9 (95CI: 8–10)	6 (95CI: 5–7)	5 (95CI: 4–6)	2 (95CI: 1–4)	p<0.001 r _{xy} -0.74
Chronic intrauterine hypoxia, %	-	12 (95CI: 5.5–17.5)	68 (95CI: 58.7–77.3)	92 (95CI: 86.6–97.4)	p<0.001 r _{xy} -0.85
Asphyxia at birth, %	-	32 (95CI: 22.7–41.3)	48 (95CI: 38.0–58.0)	68 (95CI: 58.7–77.3)	p<0.001 r _{xy} -0.74
Prematurity, %	-	-	-	9.3 (95CI: 5.9–12.7)	p>0.05 r _{xy} -0.22
Placenta pathology, %	-	12 (95CI: 5.5–18.5)	24 (95CI: 15.5–32.5)	44 (95CI: 34.1–53.9)	p<0.05 r _{xy} -0.39
Premature rupture of membranes, %	-	8 (95CI: 2.6–13.4)	20 (95CI: 12–28)	36 (95CI: 26.4–45.6)	p>0.05 r _{xy} -0.24
Ombilical cord pathology, %	4 (95CI: 0.1–7.9)	8 (95CI: 2.6–13.4)	12 (95CI: 5.5–17.5)	20 (95CI: 12–28)	p<0.05 r _{xy} -0.51

La vârsta de sugar și copil mic, diagnosticul neurologic este evolutiv, grație proceselor mai intense de maturare cerebrală la această vârstă. Astfel, până la vârsta de 2 ani, s-au stabilit diagnoze sindromologice (exprimate prin tulburări de dezvoltare): tulburări cognitive ușoare – 21 (95CI: 16,93–25,07%) de cazuri, tulburări de dezvoltare motorie – 16 (95CI: 12,33–19,67%) cazuri, tulburări mixte de dezvoltare – 13 (95CI: 9,64–16,36%) cazuri, tulburări globale de dezvoltare – 10 (95CI: 7,0–13,0%) cazuri, sindrom epileptic – 19 (95CI: 15,08–22,92%) cazuri.

După vârsta de 2 ani, s-au confirmat diagnozele fixe: sănătos – 31 (95CI: 26,38–35,62%) de cazuri: (25 de cazuri, sau 80,6% [95CI: 73,5–87,7] – din LPS și 6 cazuri, sau 19,4% [95CI: 12,3–26,5] – din LCPH ușoare); TR minore – 37 (95CI: 32,17–41,83%) de cazuri: (19 cazuri, sau 51,4% [95CI: 43,18–59,62] – din LCPH ușoare; 15 cazuri, sau 40,5% [95CI: 32,43–48,57] – din LCPH medii; 3 cazuri, sau 8,1% [95CI: 3,61–12,59] – din LCPH severe); TR majore – 32% (95CI: 27,34–36,66) de cazuri (10 cazuri, sau 31,3% [95CI: 23,1–39,49] – din LCPH medii și 22 de cazuri, sau 68,8% [95CI: 60,61–76,99] – din LCPH severe).

TR minore au fost reprezentate de tulburări de conduită – 7 cazuri (18,9% [95CI: 12,46–25,34]), tulburări de atenție și hiperchinetice – 12 cazuri (32,4% [95CI: 24,7–40,1]), balbism tonico-clonic – 3 cazuri (8,1% [95CI: 3,61–12,59]), tulburări de ticuri – 3 cazuri (8,1% [95CI: 3,61–12,59]), tulburări de limbaj și comunicare – 5 cazuri (13,5% [95CI: 7,88–19,12]), tulburări motorii ușoare – 7 cazuri (18,9% [95CI: 12,46–25,34]).

TR majore au fost reprezentate de paralizie cerebrală – 13 cazuri (40,6% [95CI: 31,92–49,28]), epilepsie simptomatică – 9 cazuri (28,1% [95CI: 20,15–36,05]) și paralizie cerebrală cu epilepsie simptomatică – 10 cazuri (31,3% [95CI: 23,11–39,49]).

Diagnozele stabilite după vârsta de 2 ani, au corelat cu se-

At the age of infants and toddlers, neurologic diagnosis is evolutionary, thanks to intense cerebral maturation processes occurring at this age. Thereby, until the age of 2 y.o., syndromological diagnosis have been established (expressed by development disorders): mild cognitive disorders – 21 (95CI: 16.93–25.07%) cases, motor development disorders – 16 (95CI: 12.33–19.67%) cases, mixed development disorders – 13 (95CI: 9.64–16.36%) cases, global development disorders – 10 (95CI: 7.0–13.0%) cases, epileptic syndrome – 19 (95CI: 15.08–22.92%) cases.

After the age of 2 y.o., fixed diagnoses were confirmed: healthy – 31 (95CI: 26.38–35.62) cases: (25 cases, or 80.6% [95CI: 73.5–87.5] – from HC and 6 cases, or 19.4% [95CI: 12.3–26.5] – from light PCLH); minor RD – 37 (95CI: 32.17–41.83) cases: (19 cases, or 51.4% [95CI: 43.18–59.62] – from light PCLH; 15 cases, or 40.5% [95CI: 32.43–48.57] – from moderate PCLH; 3 cases, or 8.1% [95CI: 3.61–12.59] – from severe PCLH); major RD – 32% (95CI: 27.34–36.66) cases (10 cases, or 31.3% [95CI: 23.1–39.49] from moderate PCLH and 22 cases, or 68.8% [95CI: 60.61–76.99] – from severe PCLH).

Minor DR were characterized by behavior disorders – 7 cases (18.9% [95CI: 12.46–25.34]), attention and hyperkinetic disorders – 12 cases (32.4% [95CI: 24.7–40.1]), tonic clonic stutter – 3 cases (8.1% [95CI: 3.61–12.59]), tic disorders – 3 cases (8.1% [95CI: 3.61–12.59]), language and communication disorders – 5 cases (13.5% [95CI: 7.88–19.12]), mild motor skills disorders – 7 cases (18.9% [95CI: 12.46–25.34]).

Major DR were characterized by cerebral palsy – 13 cases (40.6% [95CI: 31.92–49.28]), symptomatic epilepsy – 9 cases (28.1% [95CI: 20.15–36.05]) and cerebral palsy with symptomatic epilepsy – 10 cases (31.3% [95CI: 23.11–39.49]).

Diagnoses set after the age of 2 y.o. correlated with the

Table 2. Main investigations results of study groups.

Parameters	Group Almost healthy	Group Light PCLH	Group Moderate PCLH	Group Severe PCLH	p
<i>Scores</i>					
Denver II, points	0.3 (95CI: 0.0–0.6)	1.8 (95CI: 0.9–2.7)	2.9 (95CI: 2.3–3.5)	4.3 (95CI: 3.8–4.8)	p<0.05
Amiel-Tison and Gosselin, points	0.2 (95CI: 0.0–0.4)	0.5 (95CI: 0.2–0.8)	1.2 (95CI: 0.8–1.6)	1.7 (95CI: 1.4–2.0)	p<0.05
minor residual disorders, %	0	76.0 (95CI: 67.5–84.5)	60.0 (95CI: 50.2–69.8)	12.0 (95CI: 5.5–18.5)	p<0.01 (mY=0.002)
major residual disorders, %	0	0	40.0 (95CI: 30.2–49.8)	88.0 (95CI: 81.5–94.5)	p<0.01 (mY=0.002)
<i>EEG conclusion</i>					
normal EEG aspect, %	76.0 (95CI: 67.5–84.5)	24.0 (95CI: 15.5–32.5)	0	0	p>0.05
spike or sharp waves, %	24.0 (95CI: 15.5–32.5)	28.0 (95CI: 19.0–37.0)	0	0	p<0.05
slow waves, prevalent deformed theta and intricated with delta, %	0	48.0 (95CI: 38.0–58.0)	60.0 (95CI: 50.2–69.8)	12.0 (95CI: 5.5–18.5)	p<0.01
grouped peaks, periodically generalised, %	0	0	12.0 (95CI: 5.5–18.5)	40.0 (95CI: 30.2–49.8)	p<0.05
slow wave peak, spike slow wave, %	0	0	28.0 (95CI: 19.2–37.0)	48.0 (95CI: 38.0–58.0)	p<0.01
<i>Imagistic conclusion</i>					
normal aspect,%	100.0	32.0 (95CI: 22.7–41.3)	–	–	p>0.05
signs of incomplete myelination,%	–	68.0 (95CI: 58.7–77.3)	60.0 (95CI: 50.2–69.8)	–	p<0.05
light, %	–	–	28 (95CI: 19.0–37.0)	–	p>0.05
dilatation of cerebral ventricles, grade	–	–	20.0 (95CI: 12.0–28.0)	20.0 (95CI: 12.0–28.0)	p<0.05
severe, %	–	–	–	20.0 (95CI: 12.0–28.0)	p>0.05
cortex atrophy, %	–	–	16.0 (95CI: 8.7–23.3)	68.0 (95CI: 58.7–77.3)	p<0.05
hipocampus atrophy, %	–	–	12.0 (95CI: 5.5–18.5)	24.0 (95CI: 15.5–32.5)	p<0.05
glial ependymal cysts, %	–	–	20.0 (95CI: 12.0–28.0)	36.0 (95CI: 26.4–45.6)	p<0.01
atrophy intracerebral cysts, %	–	–	–	20.0 (95CI: 12.0–28.0)	p>0.05
porous encephalic cavities, %	–	–	–	12.0 (95CI: 5.5–18.5)	p>0.05
diffuse porous encephaly, %	–	–	–	8.0 (95CI: 2.6–13.4)	p>0.05
multicystic encephalomalacia, %	–	–	–	4.0 (95CI: 0.1–7.9)	p>0.05

veritatea EN, diagnosticate la naștere; cu cât mai sever a fost gradul de severitate al LCP, cu atât mai sever a fost diagnosticul confirmat după vârsta de 2 ani ($r_{xy}=0,74$, $mY=0,002$) (Tabelul 2).

Modificările electrofiziologice au arătat un exces de unde

severity of NE, diagnosed at birth; the more severe was the degree of PCL, the more severe was the diagnose confirmed at the age >2 y.o. ($r_{xy}=0.74$, $mY=0.002$) (Table 2).

Electrophysiological modifications showed excessive sharp waves or spikes of high frequency at 28% (95CI: 23.51–

ascuțite sau spike-uri de frecvență înaltă la 28% (95CI: 23,51–32,49) din cazuri, ceea ce semnifică prezența unei activități iritative la copiii cu tulburări de conduită. Hărțile EEG dominate de unde lente de activitate medie, preponderent theta, de frecvență crescută, la 30% (95CI: 25,42–34,48) din cazuri, indică la semne de imaturitate cerebrală, comună copiilor cu TR minore. Traseele dominate de vârfuri grupate, periodic generalizate, la 13% (95CI: 9,64–16,36) din cazuri, semnifică prezența pragului convulsivant scăzut, iar cele dominate de vârf-undă lentă și spike-undă lentă, la 19% (95CI: 15,08–22,92), denotă activitate epileptiformă (Tabelul 2), comune copiilor cu TR majore.

Modificările imagistice, exprimate prin semne de mielinizare incompletă, ceea ce notifică întârzierea maturației cerebrale, au fost depistate la 17 copii din grupul LCPH ușoare și la 15 copii din cel cu LCPH medii. La 7 din ei (LCPH medii) s-a depistat dilatarea ventriculilor cerebrali de grad ușor. Toți acești copii au fost diagnosticați după vârsta de 2 ani cu TR minore. La 7 copii cu epilepsie din lotul LCPH medii, tablourile imagistice au fost dominate de atrofie hipocampală (3 cazuri), atrofie corticală (2 cazuri), atrofie corticală cu dilatarea ventriculilor cerebrali de grad mediu și chisturi gliopendimale minore (2 cazuri). La copiii cu paralizie cerebrală din acest lot (3 cazuri), modificările imagistice s-au prezentat sub formă de dilatare a ventriculilor cerebrali de grad mediu și chisturi gliopendimale.

La copiii din LCPH severe, modificările imagistice s-au prezentat cu următoarele tablouri: dilatarea ventriculilor cerebrali de grad mediu (3 cazuri) – copii cu TR minore; chist atrofie intracerebral, asociat cu atrofie hipocampală (2 cazuri) – copii cu epilepsie. În paralizile cerebrale: atrofie corticală, chisturi gliopendimale, dilatarea ventriculilor de grad mediu (2 cazuri); atrofie corticală și dilatarea ventriculilor de grad sever (5 cazuri); atrofie corticală și chisturi gliopendimale (3 cazuri). În paralizia cerebrală și epilepsie: chisturi gliopendimale, atrofie corticală și atrofie hipocampală (4 cazuri); atrofie corticală și chisturi atrofice intracerebrale (3 cazuri); cavități porencefalice (3 cazuri); porencefalie difuză (2 cazuri); encefalomalacie multicistică (1 caz).

Concentrațiile serice de CNTF la vârsta de 1-3 luni și la cea de 12 luni, sunt prezentate în Tabelul 3.

Tabelul 3. Concentrațiile serice medii ale CNTF (pg/mL).

Vârsta	Lot Practic sănătos (n=25)	Lot LCPH ușoare (n=25)	Lot LCPH medii (n=25)	Lot LCPH severe (n=25)
1-3 luni	8,1 (95CI: 8,02–8,18)	6,2* (95CI: 6,18–6,22)	4,9* (95CI: 4,85–4,95)	2,9* (95CI: 2,82–2,98)
12 luni	9,6 (95CI: 9,54–9,66)	6,7* (95CI: 6,68–6,72)	5,8* (95CI: 5,78–5,82)	4,3* (95CI: 4,21–4,39)

Notă: * – $p < 0,001$

Variabilitatea valorilor absolute ale CNTF este mare în funcție de vârstă și de gradul de severitate al LCP. Cele mai înalte valori absolute ale CNTF s-a observat în lotul „practic să-

32.49) of cases, that signifies the presence of irritative activity in children with behavior disorders. EEG maps dominated by slow waves of medium activity, predominantly theta, of elevated frequency, in 30% of cases (95CI: 25.42–34.48), indicate signs of cerebral immaturity, common in children with minor RD. Tracks dominated by group peaks, periodically generalized, in 13% of cases (95CI: 9.64–16.36), signify a low threshold from seizures, and those dominated by peak-slow wave and spike-slow wave, in 19% of cases (95CI: 15.08–22.92), signify epileptiform activity (Table 2), common in children with major RD.

Imagistic modifications, expressed by signs of incomplete myelination, which notifies a delay in cerebral maturation, were found in 17 children from the light PCLH group and in 15 children from the moderate PCLH group. Dilatation of cerebral ventricles of light degree was found in 7 children from the moderate PCLH group. All these children were diagnosed after the age of 2 y.o. with minor RD. In 7 children with epilepsy from the moderate PCLH group, the imagistic pictures were dominated by hippocampus atrophy (3 cases), cortex atrophy (2 cases), cortex atrophy with dilatation of cerebral ventricles of moderate degree and minor gliopendymal cysts (2 cases). In children with cerebral palsy from this group (3 cases), imagistic modifications were presented as dilatation of cerebral ventricles of moderate degree and gliopendymal cysts.

In children with severe PCLH, imagistic modifications presented the following scenarios: dilatation of cerebral ventricles of moderate degree (3 cases) – children with mild RD; intracerebral atrophic cyst associated with hippocampus atrophy (2 cases) – children with epilepsy. In cerebral palsy: cortex atrophy, gliopendymal cysts, dilatation of ventricles of moderate degree (2 cases); cortex atrophy and dilatation of ventricles of severe degree (5 cases); cortex atrophy and gliopendymal cysts (3 cases). In cerebral palsy and epilepsy: gliopendymal cysts, cortex atrophy and hippocampus atrophy (4 cases); cortex atrophy and intracerebral atrophic cysts (3 cases); porous encephalic cavities (3 cases); diffuse porous encephaly (2 cases), multicystic encephalomalacia (1 case).

Seric concentrations of CNTF at the age of 1-3 months and at 12 months, are presented in Table 3.

Table 3. Seric mean concentrations of CNTF (pg/mL).

Age	Almost healthy group (n=25)	Light PCLH group (n=25)	Moderate PCLH group (n=25)	Severe PCLH group (n=25)
1-3 months	8.1 (95CI: 8.02–8.18)	6.2* (95CI: 6.18–6.22)	4.9* (95CI: 4.85–4.95)	2.9* (95CI: 2.82–2.98)
12 months	9.6 (95CI: 9.54–9.66)	6.7* (95CI: 6.68–6.72)	5.8* (95CI: 5.78–5.82)	4.3* (95CI: 4.21–4.39)

Note: * – $p < 0,001$

The variability of absolute values of CNTF is high depending on age and severity degree of PCL. Highest absolute values of CNTF were observed in the “almost healthy” group, at

nătos”, la vârsta de 12 luni, iar cele mai scăzute – în LCPH severe, la vârsta de 1-3 luni (Figurile 3, 4). Nivelele serice de CNTF au corelat negativ cu gradul de severitate al LCP ($p < 0,001$, $r_{xy} = -0,921$) la vârsta de 3 luni; la fel, s-a stabilit o corelație directă ($r_{xy} = 0,857$) dintre vârsta copilului și valorile CNTF.

Concentrațiile CNTF au variat în funcție de severitatea LCP. Nivelele medii de CNTF la copiii cu grad ușor de afectare (LCPH ușoare) erau mai scăzute, comparativ cu lotul „practic sănătos” cu 1,9 pg/mL (sau, 23,5% [95CI: 8,61–38,39]) la 1-3 luni și cu 2,9 pg/mL (sau, 30,2% [95CI: 15,38–45,02]) – la 12 luni.

În grupul cu LCPH medii, nivelele medii de CNTF erau scăzute, comparativ cu lotul „practic sănătos”, cu 3,2 pg/mL (sau, 39,5% [95CI: 22,32–56,68]) la 1-3 luni și cu 3,8 pg/mL (sau, 39,6% [95CI: 23,82–55,38]). Nivelele CNTF, în valori relative, au crescut cu 15,5% la 12 luni, comparativ cu 1-3 luni ($p < 0,001$), rămânând, totuși, scăzute față de lotul „practic sănătos”.

Subiecții din lotul LCPH severe, au înregistrat cele mai scă-

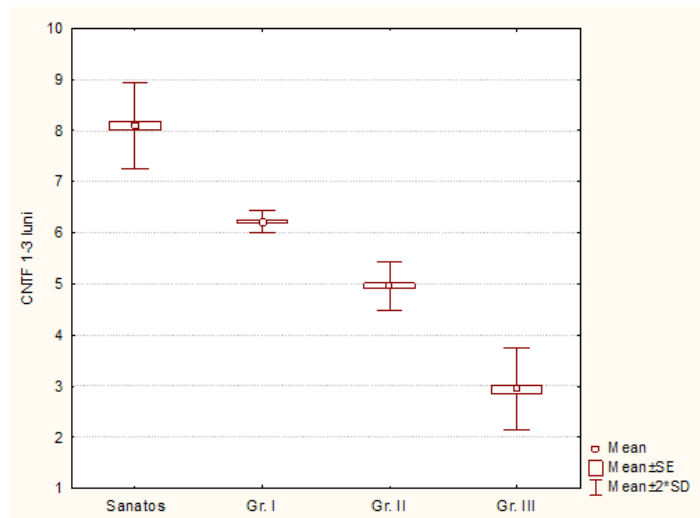


Fig. 3 Concentrațiile serice ale CNTF (pg/mL) la vârsta de 1-3 luni: sănătos – LPS, Gr. I – LCPH ușoare; Gr. II – LCPH medii, Gr. III – LCPH severe.

Fig. 3 Seric concentrations of CNTF (pg/mL) at the age of 1-3 months: healthy – HC, Gr. I – light PCLH; Gr. II – moderate PCLH, Gr. III – severe PCLH.

zute valori circulante de CNTF. La 1-3 luni, nivelele medii erau cu 5,2 pg/mL (sau, 64,2% [95CI: 47,35–81,05]), iar la 12 luni – cu 5,3 pg/mL (sau, 55,2% [95CI: 39,15–71,25]) mai scăzute, în comparație cu grupul „practic sănătos”. Nivele joase de CNTF au fost depistate la prematurii (2,5 pg/mL [95CI: 2,1–2,9]) la 3 luni și (3,7 pg/mL [95CI: 3,2–4,2], $p < 0,001$) – la 12 luni. Concentrațiile de CNTF, în acest grup, au crescut odată cu vârsta în valori relative (32,6% [95CI: 10,0–55,2]), rămânând, totuși, scăzute în valori absolute, comparativ cu lotul „practic sănătos”.

Astfel, la vârsta de 12 luni, în lotul general cu LCP s-a apreciat o creștere a nivelelor circulante de CNTF, comparativ cu vârsta de 1-3 luni (18,5%) – superioară, în valori relative, în comparație cu copiii sănătoși (15,6%). O creștere mai mare s-a depistat în LCPH severe (32,6%). Cu toate acestea, nivelele se-

the age of 12 months, and lowest – in severe PCLH, at the age of 1-3 months (Figures 2 and 4). Seric levels of CNTG negatively correlated with the severity degree of PCL ($p < 0,001$, $r_{xy} = -0,921$) at the age of 3 months; also, a direct relation was established between the age of the child and CNTF values ($r_{xy} = 0,857$).

CNTF concentrations differed depending on the severity of PCL. Comparatively with the “almost healthy” group, mean levels of CNTF in children with light PCLH were lower by 1.9 pg/mL at the age of 1-3 months (or 23.5% [95CI: 8.61–38.39]) and by 2.9 pg/mL at the age of 12 months (or 30.2% [95CI: 15.38–45.02]).

Comparatively with the “almost healthy” group, mean levels of CNTF in children with moderate PCLH were lower by 3.2 pg/mL at the age of 1-3 months (or 39.5% [95CI: 22.32–56.68]) and by 3.8 pg/mL at the age of 12 months (or 39.6% [95CI: 23.82–55.38]). In relative values, the levels of CNTF increased

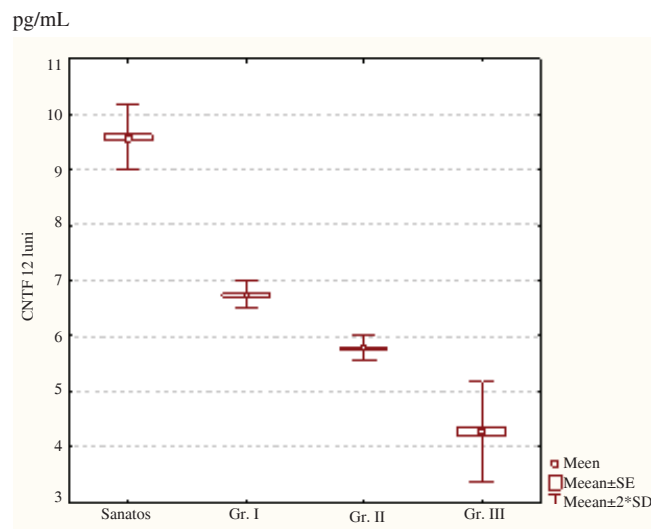


Fig. 4 Concentrațiile serice ale CNTF (pg/mL) la vârsta de 12 luni: sănătos – LPS, Gr. I – LCPH ușoare; Gr. II – LCPH medii, Gr. III – LCPH severe.

Fig. 4 Seric concentrations of CNTF (pg/mL) at the age of 12 months: healthy – HC, Gr. I – light PCLH; Gr. II – moderate PCLH, Gr. III – severe PCLH.

with 15.5% at the age of 12 months comparatively with levels at the age of 1-3 months ($p < 0,001$), but however, remaining lower comparatively with the “almost healthy” group.

Subjects from the group of severe PCLH, had the lowest values of CNTF. At the age of 1-3 months, mean values were lower by 5.2 pg/mL (or 64.2% [95CI: 47.35–81.05]) at the age of 1-3 months, and by 5.3 pg/mL (or 55.2% [95CI: 39.15–71.25]) at the age of 12 months comparatively with the “almost healthy” group. Low levels of CNTF were found in premature newborns (2.5 pg/mL [95CI: 2.1–2.9]) at the age of 1-3 months and (3.7 pg/mL [95CI: 3.2–4.2], $p < 0,001$) at the age of 12 months. Concentrations of CNTF in this group, raised together with age in relative values (32.6% [95CI: 10.0–55.2]), but remaining lower in absolute values compared with the “almost

rice de CNTF în valori absolute rămăneau scăzute față de copiii sănătoși.

Nivelele serice scăzute ale CNTF, de comun cu anomaliile electroencefalografice și cele imagistice, depistate la copiii cu LCP, au avut semnificație importantă pentru un diagnostic corect și prognosticul bolii. La copiii cu vârsta de 1-3 luni din grupul cu LCPH ușoare, valorile CNTF (6,2 [95CI: 6,18-6,22] pg/mL) au corelat cu tablourile EEG ($r_{xy} = -0,22$) și cele imagistice ($r_{xy} = -0,29$), $p < 0,05$, ce semnifică întârzierea maturității cerebrale și deficit de neuroplasticitate; la aceștea a fost notificată o evoluție favorabilă a bolii și un risc relativ minor de probabilitate a bolii (RR=1,2-1,6).

La cei din cu LCPH medii, valorile CNTF la vârsta de 1-3 luni (4,9 [95CI: 4,85-4,95] pg/mL), au fost în corelație cu anomaliile EEG ($r_{xy} = -0,39$) și cele imagistice ($r_{xy} = -0,34$, $p < 0,01$); s-a notat un risc relativ mediu de probabilitate a bolii (RR=1,7-2,5). Iar la copiii cu LCPH severe, corelațiile dintre CNTF (2,9 [95CI: 2,82-2,98] pg/mL) cu modificările EEG ($r_{xy} = -0,74$) și cele imagistice ($r_{xy} = -0,71$, $p < 0,01$) au fost strânse și au semnatificat un risc major (RR=2,5-3,5) de dezvoltare a TR majore (paralizie cerebrală și epilepsie).

Au fost interesante, de asemenea, corelațiile dintre formele epilepsiei, modificările EEG și nivelele CNTF. În epilepsia rezolvată, valorile CNTF (4,68 [95CI: 4,48-4,88] pg/mL) au avut o corelație slabă cu forma bolii ($r_{xy} = -0,22$, $p > 0,05$); în epilepsia controlată medicamentos, CNTF (3,13 [95CI: 2,89-3,37] pg/mL) – o corelație medie ($r_{xy} = -0,39$, $p < 0,01$); iar în epilepsia farmacorezistentă, CNTF (2,28 [95CI: 2,0-2,56] pg/mL) – o corelație strânsă ($r_{xy} = -0,74$, $p < 0,01$). Valorile extrem de scăzute ale CNTF ($< 2,9$ pg/mL, la 1-3 luni), au corelat cu anomalii structurale cerebrale severe: atrofie corticală, chisturi intracerebrale, cavități porencefalice, porencefalie difuză ($r_{xy} = -0,68$, $p < 0,01$) (Figura 5).

În funcție de gradul de severitate al LCP și nivelele circulante ale CNTF la vârsta de 1-3 luni, putem prezice riscul de dezvoltare al TR (sechelele neurologice, asociate cu retard neuropsihic și motor important) după vârsta de 2 ani. S-a stabilit o variație statistică semnificativă dintre nivelele CNTF și sechele neurologice grave la vârsta de 1 an. La fel, s-a stabilit o corelație puternică negativă dintre nivelele CNTF și severitatea declinului neurologic. Astfel, copiii cu LCPH severe, vor dezvolta sechele neurologice severe, cum sunt epilepsia și paralizia cerebrală. În Figura 5, observăm variația nivelului seric ale CNTF la 1-3 luni, relaționate cu diagnosticul stabilit după vârsta de 2 ani. S-a stabilit o corelație negativă puternică: cu cât nivelele CNTF au fost mai joase, cu atât diagnosticul a fost mai sever și funcțiile neurodevelopmentale – mai afectate ($r_{xy} = -0,934$, $p < 0,001$). Astfel, copiii care au dezvoltat paralizie cerebrală, au avut valorile medii cele mai scăzute de CNTF (3,8 pg/mL) la 1-3 luni, acestea crescând semnificativ la 12 luni, cu 22,4% (95CI: 3,55-40,9). S-a observat că la copiii cu risc sporit de dezvoltare a epilepsiei, valorile medii de CNTF la 1-3 luni erau scăzute semnificativ (3,8 pg/mL), dar la vârsta de 12 luni, au crescut cu 26% (95CI: 6,38-45,62) (Figura 5). Deasemenea, valorile medii de CNTF, înregistrate la 1-3 luni la copiii cu paralizie cerebrală și epilepsie, erau cele mai scăzute

healthy” group.

Thus, at the age of 12 months, in the general group of PCL, a rise of circulating levels of CNTF was observed, comparatively with the age of 1-3 months (18.5%) – superior in relative values compared to healthy children (15.6%). A bigger rise was observed in severe PCLH (32.6%). Nevertheless, seric levels of CNTF in absolute values remained lower compared to healthy children.

Low seric levels of CNTF, together with EEG and imagistic anomalies, found in children with PCL, had an important significance for correct diagnosis and prognosis. In children of 1-3 months from the light PCLH group, CNTF values (6.2 [95CI: 6.18-6.22] pg/mL) correlated with the EEG picture ($r_{xy} = -0.22$) and with imagistic picture ($r_{xy} = -0.29$), $p < 0.05$, which signifies a delay in cerebral maturation and neuroplasticity deficit; in these children a favorable evolution of the disease was observed, with a minor relative risk of disease probability (RR=1.2-1.6).

Among those with moderate PCLH, CNTF values at the age of 1-3 months (4.9 [95CI: 4.85-4.95] pg/mL) correlated with EEG ($r_{xy} = -0.39$) and imagistic abnormalities ($r_{xy} = -0.34$, $p < 0.01$); a medium relative risk of disease probability was noted (RR=1.7-2.5). In children with severe PCLH, correlations between CNTF (2.9 [95CI: 2.82-2.98] pg/mL) with EEG modifications ($r_{xy} = -0.74$) and imagistic abnormalities ($r_{xy} = -0.71$, $p < 0.01$) were strong and signified a major risk (RR=2.55-5.5) of developing major RD (cerebral palsy and epilepsy).

Also, interesting correlations were noted between epilepsy forms, EEG modifications and CNTF levels. In solved epilepsy, CNTF values (4.68 [95CI: 4.48-4.88] pg/mL) had a weak correlation with the disease form ($r_{xy} = -0.22$, $p > 0.05$); in medically controlled epilepsy, CNTF (3.13 [95CI: 2.89-3.37] pg/mL) – medium correlations were observed ($r_{xy} = -0.39$, $p < 0.01$); and in drug resistant epilepsy, CNTF (2.28 [95CI: 2.0-2.56] pg/mL) – a strong correlation was observed ($r_{xy} = -0.74$, $p < 0.01$). Extremely low values of CNTF (< 2.9 pg/mL at 1-3 months) correlated with severe cerebral structural abnormalities: cortex atrophy, intracerebral cysts, porous encephalic cavities, diffuse porous encephaly ($r_{xy} = -0.68$, $p < 0.01$) (Figure 5).

Depending on the severity degree of HC and circulating levels of CNTF at the age of 1-3 months, we can predict the risk of RD development (neurological sequelae, associated with neuropsychiatric and important motor delay) after the age of 2 y.o. A significant statistic variation was established between CNTF levels and severe neurological sequelae at the age of 1 y.o. Also, a strong negative correlation was established between CNTF levels and the severity of neurologic decline. Thus, children with severe PCLH will develop severe neurologic sequelae, such as epilepsy and cerebral palsy. In figure 5 we observe the variation of seric levels of CNTF at 1-3 months, related to diagnosis established at the age of 2 y.o. A strong negative correlation was established: the lower CNTF levels, the more severe was the diagnosis and affected neurodevelopmental functions ($r_{xy} = -0.934$, $p < 0.001$). Thereby, children that developed cerebral palsy, had lowest mean values of CNTF levels (3.8 pg/mL) at 1-3 months, which significantly rose at 12 months with 22.4% (95CI: 3.55-40.9). It was no-

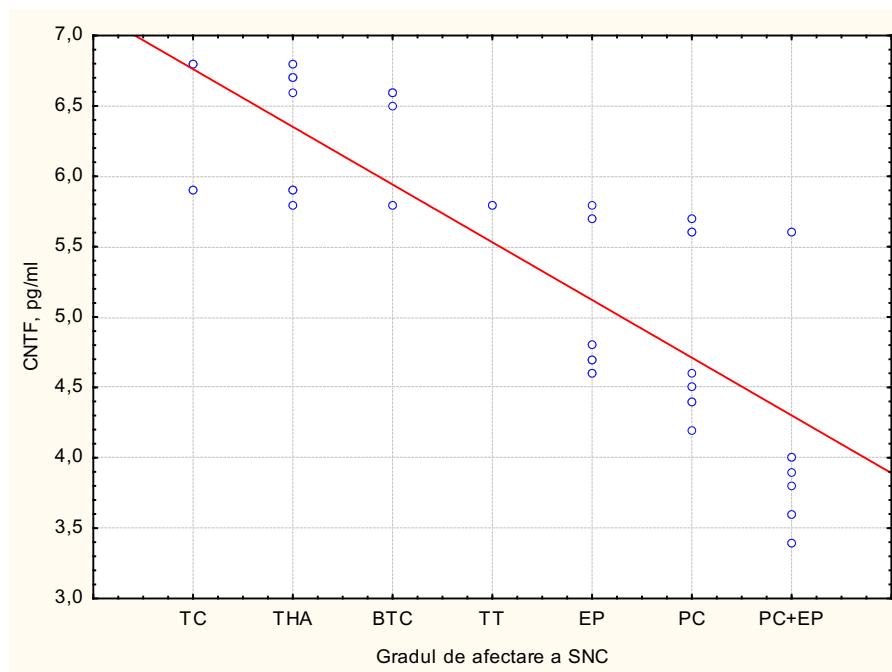


Fig. 5 Nivelele serice de CNTF, în funcție de entitățile încadrate în noțiunea de „tulburări reziduale”.

Notă: TC – tulburări de conduită și comportamentale; THA – tulburări de atenție și hiperkinetice; BTC – balbism tonico-clonic; TT – tulburări de ticuri; PC – paralizie cerebrală; EP – epilepsie, PC+EP – paralizie cerebrală cu epilepsie.

Fig. 5 Seric levels of CNTF, depending on entities included in the „residual disorders” category.

Note: TC – behavior disorders; THA – attention and hiperkinetic disorder; BTC – tonic clonic stuttering; TT – tic disorders; PC – cerebral palsy; EP – epilepsy; PC+EP – cerebral palsy with epilepsy.

(2,9 pg/mL), dar au crescut cel mai mult în valori relative – cu 29,3% (95CI: 6,83–51,77). Idem, unii copii care au suportat LCP, au dezvoltat TR minime după vârsta de 2 ani: CNTF <8,1 pg/mL ($p < 0,001$, $r_{xy} = -0,739-0,987$) (Figura 5).

ticed that at children with high risk of epilepsy development, mean values of CNTF at 1-3 months were significantly low (3.8 pg/mL), and at 12 months, rose with 26% (95CI: 6.38–45.62) (Figure 5). Also, mean values of CNTF, registered at 1-3 months

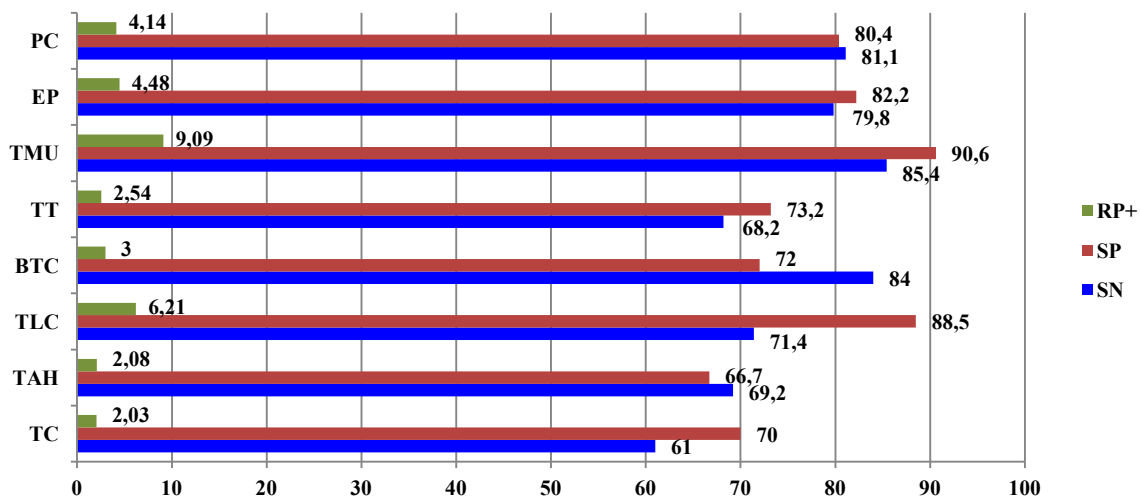


Fig. 6 Sensibilitatea, specificitatea și raportul de probabilitate al nivelului CNTF pentru entitățile încadrate în noțiunea de „tulburări reziduale”.

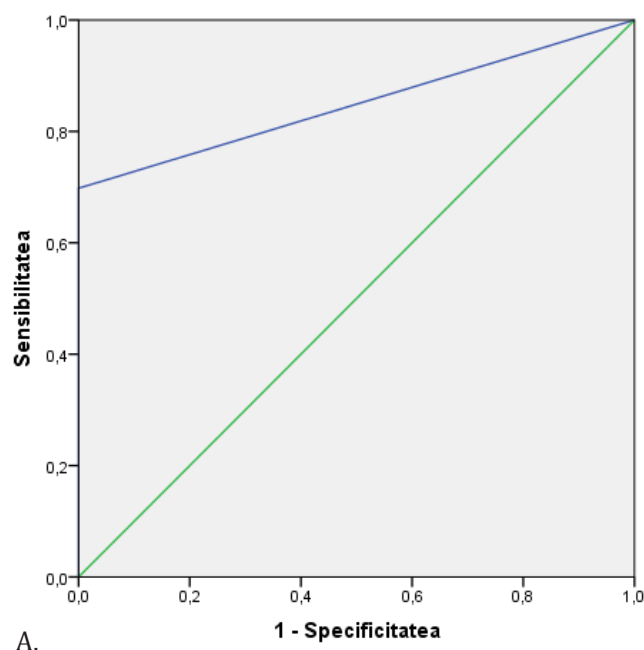
Notă: TC – tulburări comportamentale; TAH – tulburări de atenție și hiperchinetice; TLC – tulburări de limbaj și comunicare; TMU – tulburări motorii ușoare; BTC – balbism tonico-clonic; TT – tulburări de ticuri; PC – paralizie cerebrală; EP – epilepsie.

Fig. 6 Sensibility, specificity and probability ratio of CNTF levels was for entities included in „residual disorders”.

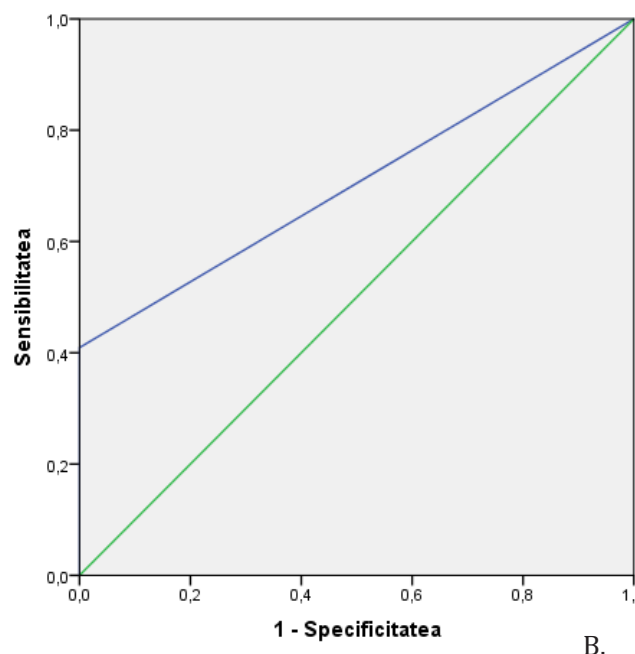
Note: TC – behavior disorders; TAH – attention and hiperkinetic disorder; TLC – language and communication disorder; TMU – light motor disorders; BTC – tonic clonic stuttering; TT – tic disorders; PC – cerebral palsy; EP – epilepsy. Thus, based on statistical calculations described, we observe a strong correlation between seric values of CNTF ($r_{xy} = 0.844$, $p < 0.001$) and the level of CNS affection.

S-a calculat sensibilitatea, specificitatea și raportul de probabilitate al nivelului CNTF pentru entitățile încadrate în noțiunea de „tulburări reziduale” (Figura 6), precum și curba ROC pentru modelul de prognozare a TR în LCP relaționate cu CNTF la 1-3 luni și la 12 luni (Figura 7).

Astfel, în baza calculelor statistice descrise, constatăm o corelație puternică dintre valorile serice de CNTF ($r_{xy}=0,844$, $p<0,001$) și gradul de afectare al SNC.



A.



B.

Fig. 7 Curba ROC pentru modelul de prognozare al TR în LCP, relaționate cu CNTF la 1-3 luni (A) (AUC=0,849; 95CI: 0,830–0,868, $p<0,014$) și la 12 luni (B) (AUC=0,705; 95CI: 0,677–0,732, $p<0,013$).

Fig. 7 ROC curve for the model of prediction of RD in PCL, in relation with CNTF at 1-3 months (A) (AUC=0.849; 95CI: 0.830–0.868, $p<0.014$) and at 12 months (B) (AUC=0.705; 95CI: 0.677–0.732, $p<0.013$).

Discuții

Mai multe studii, în special experimentale, sunt inițiate pentru a cerceta rolul CNTF și efectele lui asupra celulelor nervoase. În unul din studiile experimentale, realizat pe șobolani cu vârsta de 30-40 de zile, s-a observat că nivelurile proteinei CNTF și receptorilor ei cresc în absența unui prejudiciu neuronal. S-a constatat că CNTF crește posibilitățile de supraviețuire a fotoreceptorilor, susține supraviețuirea celulelor ganglionare retiniene și promovează creșterea axonală. Autorii au sugerat că CNTF acționează printr-un mecanism autocrin pentru a spori, în mod indirect, supraviețuirea neuronală și germinarea axonală a neuronilor [19].

Un alt studiu preclinic complex, realizat pe șobolani prin utilizarea mai multor metode imagistice, a constatat scăderea semnificativă a nivelurilor de metaboliți neuronali (N-acetil-aspartat, N-acetil-aspartil-glutamat și glutamat) după expresia CNTF. Aceste rezultate au determinat influența CNTF asupra remodelării metabolismului creierului și au sugerat scăderea concentrațiilor de metaboliți neuronali în absența disfuncțiilor neuronale [20].

in children with cerebral palsy and epilepsy, were lower (2.9 pg/mL), but mostly rose in relative values – with 29.3% (95CI: 6.83–51.77). Identically, some children that suffered from HC, developed minimal RD after the age of 2 y.o.: CNTF <9.1 pg/mL ($p<0.001$, $r_{xy}=-0.739-0,987$) (Figure 5).

Sensitivity, specificity and probability ratio of CNTF levels was calculated for entities included in „residual disorders” (Figure 6), as well as ROC curve for the prognosis model of RD in PCL in relation with CNTF at 1-3 months and 12 months (Figure 7).

Discussion

Several studies, especially experimental studies, are initiated in order to research the role of CNTF and its effects on the nervous cell. In one of the experimental researches, held on rats with age ranging between 30 and 40 days, it was observed that levels of CNTF and its receptors rise in absence of neuronal damage. It was established that CNTF enhances the survival possibilities of photoreceptors, maintains survival or retina ganglion cells and promotes axonal growth. Authors suggested that CNTF has an apocrine mechanism of action that indirectly promotes neuronal survival and axonal germination of neurons [19].

Another pre-clinic complex study, held on rats, using many imagistic methods, established a significant drop in the level of neuronal metabolites (N-acetyl-aspartate, N-acetyl-aspartate-glutamate and glutamate) after CNTF expression. These results determined the influence of CNTF on remodeling of brain metabolism and suggested a decline of neuronal metabolites concentrations in the absence of neuronal dysfunction [20].

Creșterea nivelurilor de CNTF cu 15,6% la 12 luni, în comparație cu 1-3 luni la copiii „practic sănătoși” din studiu, dar și la cei cu LCP (cu 18,5%), confirmă implicarea acestui FN în procesele de maturare și de neurodezvoltare în perioada de creștere. Aceste rezultate confirmă implicarea CNTF în procesele de neurodezvoltare și de susținere a proceselor metabolice cerebrale.

În unul din studiile realizate pe șoareci de un grup de cercetători, s-au apreciat efectele CNTF și ale Peptidei 6. Aceasta din urmă, este compusă din resturi de aminoacizi și corespunde ca și structură CNTF-ului. Ambele au capacitatea de regenerare a creierului și de îmbunătățire a neurogenezei [6].

În studiul realizat de noi, a fost observată creșterea nivelurilor de CNTF la 12 luni, în comparație cu 1-3 luni, în valori absolute, la copiii cu LCP, în paralel cu ameliorarea funcțiilor neuropsihologice. Aceste rezultate confirmă implicarea activă a CNTF în procesele de neurodezvoltare și de susținere a neurogenezei, dar și în procesele de neuroregenerare la copiii cu LCP.

Variațiile mari ale CNTF în valori relative odată cu vârsta (la 12 luni comparativ cu 1-3 luni) în lotul cu LCP (18,5%), în special la cei cu LCPH severă (32,6%), semnifică implicarea acestei citochine nu numai în procesele de maturare și de regenerare ale țesutului nervos, dar și confirmă rezultatele obținute în alte cercetări. Totodată, aceste rezultate sugerează intensitatea mare a metabolismului cerebral la copiii cu LCP. Oricum, concentrațiile serice de CNTF în acest grup de pacienți au crescut odată cu vârsta, dar erau mai mici în valori absolute, comparativ cu grupul de copii sănătoși.

Din datele obținute de noi, se proiectează clar legătura dintre concentrațiile serice ale CNTF și gradul tulburărilor neurodevelopmentale la sugari și copiii de vârstă mică. Nivelurile serice ale CNTF erau cu atât mai scăzute, cu cât severitatea afectării SNC era mai mare. Astfel că, la copiii cu LCP severe, nivelurile CNTF erau cele mai scăzute. Analizând datele expuse anterior, sugerăm existența unei interrelații dintre nivelurile CNTF și creșterea probabilității bolii; autenticitatea și disponibilitatea testului este mare pentru toate TR diagnosticate. Probabilitatea aprecierii sechelelor neurologice minore și majore se mărește semnificativ, odată cu dozarea nivelului de CNTF.

Concentrațiile înalte ale CNTF, la 3 luni, la copiii din lotul „practic sănătos”, semnifică un indiciu de „sănătate cerebrală”; în schimb, nivelurile scăzute ale CNTF, în valori absolute față de lotul de control, rezultă în tulburări reziduale minore (<7,76 pg/mL), exprimate prin: tulburări de atenție, comportamentale, de vorbire și limbaj etc., sau majore (<5,37 pg/mL): paralizie cerebrală și epilepsie. Valorile circulante scăzute ale CNTF (în special, în formele severe) denotă un risc crescut de dezvoltare a PC. În acest context, CNTF se prezintă drept un biomarker lezional al SCN, având influență nu numai asupra proceselor de neurodezvoltare, dar și asupra dezvoltării fizice (troficitatea musculară și dezvoltarea scheletului).

Un alt studiu, realizat pe șoarecii adulți, confirmă că CNTF exogen reduce cu 50% depresia sinaptică în timpul stimulării repetate (40 Hz, 2 min). Acest studiu notifică că CNTF exogen nu modulează eliberarea acută locală a transmițătorilor la nivelul sinapsei neuromusculare mamifere, dar poate proteja plăcile terminale mature din activitatea indusă de depresia sinaptică [12]. Iar studiul realizat de Seong Su Kang *et al.*

Elevation of CNTF levels by 15.6% at 12 months, comparatively with almost healthy children from our study at the age of 1-3 months, and in those with PCL (by 18.5%), confirm the influence of this neuronal factor in such processes like maturation and neurodevelopment during growing period. These results confirm the implication of CNTF in processes of neurodevelopment and support of cerebral metabolic processes.

In one of the studies held on mice, effects of CNTF and peptide 6 were appreciated. The last, is composed of amino acid remnants and structurally corresponds to CNTF. Both of them have the capacity to regenerate the brain and enhance neurogenesis [21].

In our study, we observed the rise of CNTF levels at 12 months, comparatively with 1-3 months, in absolute values, in children with PCL, with improvement of neuropsychological functions as well. These results confirm the active implication of CNTF in processes of neurodevelopment and sustaining of neurogenesis, neuroregeneration in children with PCL.

Large variations of CNTF in relative values with age (12 months compared to 1-3 months) in the PCL group (18.5%), especially in children with severe PCLH (32.6%) signifies the implication of this cytokine not only in processes like maturation, regeneration but also confirms the obtained results of other authors. Meantime, this results suggest the big intensity of the cerebral metabolism in children with PCL. However, seric concentrations of CNTF in this group of patients elevated with age, but were reduced in absolute values, comparatively with the group of healthy children.

From data obtained by us, we can underline the connection between seric concentrations of CNTF and the degree of neurodevelopmental disorders in newborns and infants. Lowest seric levels of CNTF corresponded with higher severity of CNS affectation. Thus, children with severe PCL had the lowest levels of CNTF. Analyzing data previously displayed, we suggest an interrelation between CNTF levels and the rise of disease probability; authenticity and availability if the test are large for all diagnosed RD. The probability of minor and major sequelae appreciation significantly increases once the level of CNTF is appreciated.

High concentrations of CNTS at 3 months, in children from the “almost healthy” group signifies an indicator of “cerebral health”, instead, low levels of CNTF, in absolute levels compared to the control group, results in minor residual disorders (<7.76 pg/mL), expressed by: attention / behavior /language disorders etc., or major (<5.37 pg/mL): cerebral palsy and epilepsy. Low circulating levels of CNTF (especially in severe forms) denote an elevated risk of CP development. In this context, CNTF represents a lesional biomarker of the CNS, influencing both neurodevelopmental processes and physical development as well (muscular trophicity and skeleton development).

Another study, held on adult mice, confirms that exogenous CNTF reduces by 50% synaptic depression during repetitive stimulus (40 Hz, 2 min). This study shows that exogenous CNTF does not modulate acute local release of transmitters in the neuromuscular synapse in mammals, but can protect mature terminal plates from induced activity of synaptic depression [22]. The study made by Seong Su Kang *et al.* (2013), sug-

(2013), sugerează că CNTF endogen mediază accidentul vascular cerebral la șoarecii adulți prin ameliorarea neurogenezei. CNTF, fiind exprimat aproape exclusiv în sistemul nervos, reglementează structurile normale în neurogeneză. Astfel că, stimularea farmacologică cu CNTF endogen ar putea fi o strategie terapeutică bună pentru înlocuirea de celule după accidentul vascular cerebral [12]. Un alt studiu promovează o strategie terapeutică împotriva tulburărilor cognitive și regenerarea creierului prin administrarea Peptidei 6, luând în vedere unele efecte ale CNTF [21].

În unele abordări, efectuate pe celulele retiniene cocultivate în ser fetal bovin de 1%, care conținea diferite concentrații de CNTF uman recombinant, s-au rezumat caracteristicile generale ale CNTF și funcțiile sale asupra NSCs în perspectiva elaborării unor strategii terapeutice importante de tratare a tulburărilor neurologice [6].

Într-un studiu, realizat pe șobolani cu prejudicii neuronale, s-a observat că transplantul de celule stem-neuronale are rezultat terapeutic limitat, cu o slabă supraviețuire a acestor celule. Iar adăugarea zilnică de CNTF solubil pe transplantul de celule stem-neuronale în zona lezată a SNC, a facilitat supraviețuirea, migrația, proliferarea și diferențierea acestor celule. Se consideră că CNTF poate fi folosit pentru a ameliora mediul în zona lezată a SNC [23]. Un alt studiu, argumentează efectele CNTF asupra miokinelor, influențând legătura bidirecțională dintre mușchi și oase [24].

În studiul nostru, majorarea nivelurilor serice de CNTF, odată cu creșterea copiilor sănătoși, dar mai mult – la copiii cu LCP, certifică această teorie și explică faptul că procesele intense de mielinizare la copiii sănătoși, dar, în special, la cei cu LCP, necesită administrare exogenă de CNTF pentru a grăbi maturarea cerebrală și a ameliora metabolismul cerebral al proteinelor.

Nivelurile scăzute de CNTF, după cum s-a constatat în studiu, evocă necesitatea administrării acestui FN la copiii cu LCP și argumentează importanța terapiei neuroprotectoare la etape precoce la cei care au suportat EN, cu scop de reducere a handicapului neuropsihic și motor.

Prin urmare, găsirea unei relații dintre compartimentele studiate: LCP precoce, apărute drept consecință a EN, TR tardive și nivelurile scăzute ale CNTF, permit înțelegerea mai promptă a polimorfismului clinic al acestora, dar și unele aspecte patogenetice și terapeutice ale LCP.

Punctul forte al studiului nostru este că acesta a permis înțelegerea laturilor patogenetice ale LCP induse de EN, identificarea precoce a copiilor cu risc de dezvoltare a TR ale SNC și susținerea practicării terapiei neuroprotectoare. Însă, sunt necesare studii clinice de amploare, în special, pe nou-născuți, care vor permite consolidarea concluziilor cu privire la mecanismele de intervenție, referitoare la plasticitatea creierului.

Concluzii

- 1) Concentrațiile serice de CNTF sunt scăzute semnificativ la copiii cu LCP, cu vârsta între 1-3 și 12 luni, comparativ cu copiii practic sănătoși și corelează cu modificările neurofiziologice și neuroimagistice.
- 2) Odată cu creșterea copilului, cresc concentrațiile serice de CNTF, notificând implicarea sa în procesele de neurodezvoltare atât la copilul practic sănătos, cât și la cel cu LCP.

gests that endogenous CNTF mediates stroke in adult mice by ameliorating neurogenesis. Being expressed exclusively in the CNS, CNTF regulates normal structures in neurogenesis. Thus, pharmacologic stimulation with endogenous CNTF could become a good therapeutic strategy for cell replacement after strokes [12]. Another study promotes a therapeutic strategy against cognitive disorders and brain regeneration by administering peptide 6, taking into consideration some effects of CNTF [21].

In some approaches, mad on retinal cells co-cultivated in 1% fetal bovine serum, that contained different amounts of human recombinant CNTF, general characteristics of CNTF and its effects on NSCs were summarized in the perspective of elaboration of new important therapeutic strategies in treating neurologic disorders [6].

In a study held on mice with neurological damage, it was noticed that neuronal stem cell transplant has limited therapeutic effect, with weak survival of the cells. Daily adding of soluble CNTF on NSCs in the damaged zone of the CNS, facilitated survival, migration, proliferation and differentiation of the cells. It is considered that CNTF can be used for ameliorating the micro-environment in the damaged zone of the CNS [23]. Another study supports the effects of CNTF on myokines, influencing the bi-directional bond between muscles and bones [24].

In our study, most of the seric levels of CNTF, together with healthy children growth and even more in children with PCL, certifies this theory and explains the fact that intense myelination processes in healthy children and especially in children with PCL, require exogenous administration of CNTF in order to enhance cerebral maturation and ameliorate cerebral and protein metabolism.

Low CNTF levels, as it was found in the study, recalls the necessity of administration of this NF in children with PCL and underlines the importance of neuro-protective therapies at early stages in patients that suffered from NE, in order to reduce neuropsychic and motor disabilities.

Therefore, finding a relation between studied compartments (early PCL, appeared as a consequence from NE, late RD and low levels of CNTF) allow us to better understand PCL clinical polymorphism and some therapeutical and pathogenetic aspects of PCL.

The strong points of our study is the fact that it allowed us to better understand pathogenetic aspect of PCL in NE, early identify children with risk of RD development and support neuroprotective therapies. But, further greater studies are required, especially held on newborns that will allow to consolidate conclusions regarding mechanisms of brain's plasticity.

Conclusions

- 1) Seric concentrations of CNTF are significantly low in children with PCL, with ages of 1-3 months and 12 months, compared to healthy children and correlates with neurophysiological and neuroimaging modifications.
- 2) Together with children's growth, seric concentrations of CNTF rise, notifying it's implication in processes of neurodevelopment both in healthy children and in children with PCL.

3) Creșterea semnificativă a nivelurilor de CNTF la copiii cu paralizie cerebrală notifică importanța sa în procesele de neuroregenerare, iar la cei cu epilepsie – implicarea în procesele de epileptogeneză. Aceste rezultate sugerează necesitatea terapiei neuroprotectoare (administrarea de CNTF) la etapele precoce ale leziunii.

Mulțumiri

Cercetarea dată a fost posibilă datorită unui grant individual de cercetare, oferit de compania „HOMEOFARM” SRL, care a asigurat logistica necesară pentru dozarea CNTF a 100 de copii.

Declarația de conflict de interese

Autorul declară lipsa conflictului de interese financiare în legătură cu această cercetare. Compania „HOMEOFARM” SRL a asigurat logistica necesară pentru dozarea CNTF în loturile de studiu.

Referințe / references

1. Amiel-Tison C., Gosselin J. Neurological development from birth to six years. *Guide for Examination and Evaluation*, 2001, 126.
2. Appgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr. Res. Anesthesiol.*, 1953; 32: 360.
3. Askvig J., Leiphon L., Watt J. Neuronal activity and axonal sprouting differentially regulate CNTF and CNTF receptor complex in the rat supraoptic nucleus. *Exp. Neurol.*, 2012; 233: 243-252.
4. Badr Zahr L., Purdy I. Brain injury in the infant: the old, the new, and the uncertain. *J. Perinat. Neonatal. Nurs.*, 2006; 20: 163-177.
5. Bhattacharya S., Das A., Mallya K., Ahmad I. Ciliary neurotrophic factor-mediated signaling regulates neuronal versus glial differentiation of retinal stem cells/progenitors by concentration-dependent recruitment of mitogen-activated protein kinase and Janus Kinase-Signal transducer and activator of transcription pathways in conjunction with notch signaling. *Stem Cells*, 2008; 26 (10): 2611-2624.
6. Blanchard J., Chohan M., Li B. *et al.* Beneficial effect of a CNTF tetrapeptide on adult hippocampal neurogenesis, neuronal plasticity, and spatial memory in mice. *J. Alzheimers Dis.*, 2010; 21: 1185-1195.
7. Brigadski T., Lebmann V. BDNF: a regulator of learning and memory processes with clinical potential. *e-Neuroforum*, 2014; 5(1): 1-11.
8. Carrillo-de-Sauvage M., Flament J., Bramouille Y. *et al.* The neuroprotective agent CNTF decreases neuronal metabolites in the rat striatum: an *in vivo* multimodal magnetic resonance imaging study. *J. Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2015; 35: 917-921.
9. Ding J. *et al.* Role of ciliary neurotrophic factor in the proliferation and differentiation of neural stem cells. *J. Alzheimer's disease*, 2013; 37: 587-592.
10. Eerden P., Bernstein P. Summary of the publication „*Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy: Defining the Pathogenesis and Pathophysiology*” by the ACOG Task Force on Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy, 2003.
11. Frankenburg W. *et al.* The Denver II: a major revision and standardization of the Denver Developmental Screening test. *Pediatrics*, 1992; 89: 91.
12. Garcia N., Santafe M., Toma's M. *et al.* Exogenous ciliary neurotrophic factor (CNTF) reduces synaptic depression during repetitive stimulation. *J. Peripheral Nerv. System*, 2012; 17 (3): 312-323.

3) Significant raise of the levels of CNTF in children with cerebral palsy, underlines its importance in neurogenesis processes, and in children with epilepsy – its involvement in epileptogenesis. These results suggest the necessity of neuroprotective therapies (administration of CNTF) in early stages of the lesion.

Acknowledgement

The present study was possible due to the individual research grant, offered by the “HOMEOFARM” LTD that provided with necessary logistics for CNTF dosing in 100 children.

Declaration of conflicting interests

The author declares no conflict of interest regarding this research. “HOMEOFARM” LTD provided with necessary logistics for CNTF dosing in the study groups.

13. Hamrick M., McNeil P., Patterson S. Role of muscle-derived growth factors in bone formation. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.*, 2010; 10: 64-70.
14. Helgren M., Squinto S., Davis H. *et al.* Trophic effect of ciliary neurotrophic factor on denervated skeletal muscle. *Cell*, 1996; 76: 493-504.
15. Hossmann A. *et al.* Effect of BDNF and CNTF treatment on infarct volume after middle cerebral artery occlusion of rat: relationship to apoptotic cell injury. *J. Kriegelstein (Ed): Pharmacology of Cerebral Ischemia*, 1998; 361-370.
16. Su K., Keasey M., Arnold S. *et al.* Endogenous CNTF mediates stroke-induced adult CNS neurogenesis in mice. *Neurobiol.*, 2013; 49: 68-78.
17. Mineyko A., Kirton A. The black box of perinatal ischemic stroke pathogenesis. *J. Child. Neurol.*, 2011; 26: 1154-1162.
18. Mureșanu D. Factorii neurotrofici. *Libripress, București*, 2002, 85-113, 131-151, 163-168, 223-299.
19. Rachelle W. *et al.* Myokines (muscle-derived cytokines and chemokines) including ciliary neurotrophic factor (CNTF) inhibit osteoblast differentiation. *Bone*, 2014; 64: 1-10.
20. Rockenstein E., Ubhi K., Doppler E. *et al.* Regional comparison of the neurogenic effects of CNTF-derived peptides and cerebrolysin in AβPP transgenic mice. *J. Alzheimers Dis.*, 2011; 27 (4): 743-52.
21. Scharfman H., Goodman J. *et al.* Spontaneous limbic seizures after intrahippocampal infusion of brain-derived neurotrophic factor. *Exp. Neurol.*, 2002; 174 (2): 201-14.
22. Talbott J., Cao Q., Bertram J. *et al.* CNTF promotes the survival and differentiation of adult spinal cord-derived oligodendrocyte precursor cells *in vitro* but fails to promote remyelination *in vivo*. *Exp. Neurol.*, 2007; 204: 485-489.
23. Vasiljevic B., Maglajlic-Djukic S., Gojnic M. *et al.* New insights into the pathogenesis of perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr. Int.*, 2011; 53: 454-62.
24. Wagener E., Matthias A., Samadhi A. *et al.* The amino acid exchange R28E in Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF) abrogates interleukin-6 receptor-dependent but retains CNTF receptor-dependent signaling via Glycoprotein 130 (gp130)/Leukemia Inhibitory Factor Receptor (LIFR). *J Biological Chemistry*, 2014; 289 (26): 18442-50. Yang Z., Qiao H., Li X. Effects of the CNTF-collagen gel-controlled delivery system on rat neural stem/progenitor cells behavior. *Sci. China Life Sci.*, 2010; 53: 504-10.

ARTICOL DE CERCETARE

Răspunsul imuno-umoral în infecții bronhopulmonare acute inferioare cu *Mycoplasma pneumoniae* la copii: studiu prospectiv, observațional, pe serie de cazuri

Liuba Neamțu*^{1,2}, Rodica Selevestru^{†1}, Svetlana Șciuca^{†1}

[†]Departamentul de pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

Liuba Neamțu, medic-pediatru

Secția de boli respiratorii acute

Spitalul Clinic Municipal de Copii nr. 1

str. Serghei Lazo 7, Chișinău, Republica Moldova

e-mail: liubanea@yahoo.com

RESEARCH ARTICLE

The humoral immune response in acute lower bronhopulmonary affection in children caused by *Mycoplasma pneumoniae*: a prospective, case-series study

Liuba Neamtu*^{1,2}, Rodica Selevestru^{†1}, Svetlana Sciuca^{†1}

[†]Department of pediatrics, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Institute of Mother and Child, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

Liuba Neamtu, pediatrician

Unit of acute respiratory diseases

Pediatric Hospital nr. 1

7, Serghei Lazo street, Chisinau, Republic of Moldova

e-mail: liubanea@yahoo.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Interacțiunile dintre componentele imunității umorale sistemice cu fenomenele reaginice în infecția bronhopulmonară cu *Mycoplasma pneumoniae* la copii nu sunt, deocamdată, suficient studiate.

Ipoteza de cercetare

Deoarece tabloul clinic și modificările radiologice în infecțiile respiratorii dau un diagnostic orientativ, aprecierea nivelurilor plasmatiche de anticorpi antimicoplasmatici specifici IgM, IgG permit stabilirea exactă a diagnosticului etiologic.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Articolul prezintă date despre reacțiile imunoglobulinelor A, M, G în infecțiile respiratorii cu *M. pneumoniae* la copii în diferite perioade de vârstă, precum și reflectată intensitatea fenomenelor reaginice.

Rezumat

Introducere. *Mycoplasma pneumoniae* este agentul patogen al infecțiilor căilor respiratorii superioare (rinite, faringite, laringotraheite) și a căilor respiratorii inferioare (bronșite, pneumonii). Agentul infecțios, acționând direct asupra epitelului bronșic prin mecanisme nonimune (afectarea difuză inflamatorie și distrofică a bronhiilor, traheobronșita inflamatorie), induce la persoane anterior sănătoase o hiperreactivitate

What is not known yet, about the topic

Interactions between components of humoral immunity and reagenic phenomena in bronchopulmonary infection with *Mycoplasma pneumoniae* in children are not yet sufficiently studied.

Research hypothesis

Because clinical and radiologic changes in respiratory infection give indicative diagnosis, assessment levels of IgM, IgG antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* infection allow us to establish etiological diagnosis.

Article's added novelty on this scientific topic

The article presents data about immunoglobulin A, M, G in *M. pneumoniae* infection in children in different age periods and reflects the intensity of reagenic phenomena.

Abstract

Introduction. *Mycoplasma pneumoniae* is an important etiological agent of upper acute respiratory infection (rhinitis, pharyngitis, laryngitis) and lower airways (bronchitis, pneumonia). Direct action on bronchial epithelium by non-immune mechanisms (diffuse inflammatory and dystrophic affection of bronchi, inflammatory tracheobronchitis) induces bronchial hyperactivity in healthy children. Early detection of infection

bronșică. Depistarea precoce a infecției cu agenți patogeni atipici este necesară pentru prevenirea dezvoltării complicațiilor tardive la copil.

Material și metode. În studiu au fost incluși 278 de copii cu afecțiuni bronhopulmonare acute, cu vârsta de la 5 luni până la 7 ani. Prezența infecției cu *M. pneumoniae* a fost confirmată prin diagnostic serologic specific. Statutul imun umoral a fost apreciat prin determinarea nivelului de IgA, IgM, IgG, iar mecanismele reaginice au fost apreciate prin nivelul seric al IgE. Testele serologice au fost efectuate prin tehnica imunoenzimatică ELISA. Rezultatele au fost comparate între loturile *M. pneumoniae* [+] și *M. pneumoniae* [-].

Rezultate. Infecția respiratorie cu *Mycoplasma pneumoniae* a fost confirmată serologic în 110 cazuri (lotul *M. pneumoniae* [+]); ceilalți 168 de copii au fost incluși, respectiv, în lotul *M. pneumoniae* [-]. Respectiv, în lotul *M. pneumoniae* [+], comparativ cu lotul *M. pneumoniae* [-], rezultatele au fost: IgA $0,76 \pm 0,06$ g/L vs. $0,71 \pm 0,034$ g/L; IgM $1,61 \pm 0,082$ g/L vs. $1,52 \pm 0,07$ g/L; IgG $8,95 \pm 0,4$ g/L vs. $8,69 \pm 0,3$ g/L. Nivelul de IgE a fost de 2,3 ori mai mare în lotul *M. pneumoniae* [+], comparativ cu lotul *M. pneumoniae* [-] ($102,6 \pm 23,66$ UE/mL vs. $43,9 \pm 8,56$ UE/mL).

Concluzii. Acest articol reflectă rolul etiologic important al infecției micoplasmice la copii de diferite vârste cu maladii bronhopulmonare și interrelațiile proceselor imunumorale cu implicarea imunoglobulinelor A, M, G și a sintezei majorate a IgE, care determină instalarea simptomelor respiratorii polimorfe.

Cuvinte cheie: *Mycoplasma pneumoniae*, afecțiuni bronhopulmonare, copii, imunoglobuline.

Introducere

Infecțiile acute ale tractului respirator inferior prezintă o cauză importantă în structura morbidității la copii, printre care pneumonia comunitară este una din cele mai răspândite și grave forme ale infecțiilor bronhopulmonare acute la copii [1]. Pe parcursul ultimelor decade, morbiditatea prin infecția cu *M. pneumoniae* la copii este în creștere. Studiile recente demonstrează că rata spitalizării copiilor cu pneumonii este invers proporțională vârstei copilului: 57% dintre copiii spitalizați sunt de vârsta sub 4 ani, 5% dintre copii au vârsta cuprinsă între 5 și 9 ani, iar 9% – între 10 și 14 ani [2]. Rolul etiologic al *M. pneumoniae* în structura pneumoniilor comunitare constituie de la 5-20% până 40-50% [3, 4], iar 85% dintre copiii cu bronșite obstructive recurente sunt infectați cu *Mycoplasma pneumoniae* [5].

Prin structura sa unică (genomul mic, persistența atât intra-, cât și extracelulară, modificări produse la nivelul celulelor epiteliale bronhiale) *M. pneumoniae* influențează răspunsul imun al copilului și procesele inflamatorii din sistemul respirator, condiționând instalarea hiperreactivității bronșice, cu dezvoltarea ulterioară a bronhospasmului, wheezing-ului [6, 7]. Pentru eliminarea din organism a *M. pneumoniae* este necesară activarea compensatorie a imunității umorale. Răspunsul IgE-mediat este o parte din răspunsul imun la agenții infecțioși [8, 5], inclusiv pentru *M. pneumoniae*, în contextul

in children caused by atypical pathogens is necessary to prevent later complications.

Material and methods. Two hundred seventy eight children aged 5 months to 7 years old suffering from acute bronchopulmonary affection were included in our study. The presence of *M. pneumoniae* infection was confirmed by specific serologic diagnosis. Humoral immunity development after acute *Mycoplasma pneumoniae* infection, serum levels of immunoglobulin's A, M, G and reaginic mechanisms which were assessed by serum level of IgE were determined. Serological tests were performed by enzyme immunoassay technique. Results were compared to *M. pneumoniae* positive group and *M. pneumoniae* negative group.

Results. *M. pneumoniae* positive infection was confirmed in 110 children (*M. pneumoniae* [+] group) and 168 children from *M. pneumoniae* negative group (*M. pneumoniae* [-]). In *M. pneumoniae* [+] in comparison with *M. pneumoniae* [-] results were: IgA $0,76 \pm 0,06$ g/L vs. $0,71 \pm 0,034$ g/L; IgM $1,61 \pm 0,082$ g/L vs. $1,52 \pm 0,07$ g/L; IgG $8,95 \pm 0,4$ g/L vs. $8,69 \pm 0,3$ g/L, respectively. The level of IgE was 2-3 times higher in *M. pneumoniae* [+] group in comparison with *M. pneumoniae* [-] ($102,6 \pm 23,66$ UE/mL vs. $43,9 \pm 8,56$ UE/mL).

Conclusions. This article reflects an important etiologic role of mycoplasma infection in children of different ages with bronchopulmonary disease and interrelation with immune processes with involvement of immunoglobulin's A, M, G and hyper production of IgE which determines polymorphic respiratory symptoms.

Keywords: *Mycoplasma pneumoniae*, bronchopulmonary affection, immunoglobulins.

Introduction

Acute respiratory tract infections are an important cause of morbidity in children. Community-acquired pneumonia is one of the most common and serious forms of acute lung affection in children [1]. Over the past decade, the incidence of *M. pneumoniae* in children is increasing. Recent studies demonstrate that hospitalization rate of children with pneumonia is inversely proportional to the age of the child: 57% of hospitalized children were under 4 years, 5% of children aged between 5 and 9 years and 9% – between 10-14 years old [2]. *M. pneumoniae* pneumonia that has been reported ranges from 5-20% to 40-50% of community-acquired pneumonia cases [3, 4]; 85% of children's with recurrent obstructive bronchitis were diagnosed with *M. pneumoniae* infection [5].

M. pneumoniae affects the child's immune response due the unique structure (intra- and extracellular persistence, small genome, changes produced on the bronchial epithelial cells) and inflammatory processes in respiratory system. Bronchial hyper-reactivity is established with the further development of wheezing [6, 7]. It is necessary to compensatory activate humoral immunity in order to eliminate *M. pneumoniae*. The IgE-mediated immune response is the part of immune response to infection agents [8, 5], including *M. pneumoniae* in bronchopulmonary infection in children. Mycoplasma respiratory infection through its clinical manifestation is highly variable.

infecțiilor bronhopulmonare la copii. Infecția micoplasmică respiratorie prin manifestările sale clinice este foarte variabilă, iar pentru confirmare necesită efectuarea unui diagnostic de laborator exact, fapt ce dă posibilitatea inițierii tratamentului antimicrobian adecvat.

Scopul studiului nostru a fost evaluarea nivelului seric al IgA, IgM, IgG și IgE în maladii bronhopulmonare acute de etiologie *Mycoplasma pneumoniae* la copii, comparativ cu cele de altă etiologie.

Material și metode

Studiul, de tip prospectiv, a inclus 278 de copii cu vârste sub 7 ani, diagnosticați cu pneumonie, cu sau fără asociere de wheezing. Studiul a fost realizat în perioada anilor 2011 – 2012 și a inclus copiii internați în Clinica Pneumologie, IMSP Institutul Mamei și Copilului. Au fost respectate regulile de internare cu deschiderea fișei medicale a bolnavului de staționar. Părinții copiilor au dat acord informat în scris pentru înrolarea lor în studiu.

Criterii de includere în studiu au fost:

- vârsta copiilor sub 7 ani;
- pacienți cu pneumonie comunitară, bronșită acută obstructivă.

Criteriile de excludere ale pacienților din cercetare au fost:

- refuzul părinților de a fi copilul înrolat în studiu;
- malformație congenitală a sistemului bronhopulmonar, cardiovascular sau nervos central;
- vârsta ≥ 7 ani;
- pneumonie cu evoluție trenantă (mai mult de 3 săptămâni);
- pneumonie asociată proceselor cronice bronhopulmonare (fibroză chistică, alveolită fibrozantă, boală bronșiectatică, displazie bronhopulmonară).

Entități nozologice respiratorii acute diagnosticate la copii din studiu: faringite, rinite acute și asocierea lor, laringo-tracheite acute care au fost stabilite în baza prezenței semnelor clinice caracteristice ca rinoree, dificultăți la deglutiție, tusea lătrătoare, glas răgușit. Diagnosticul de pneumonie a fost confirmat în baza sindroamelor clinice și semnelor concludente radiologice; bronșita acută obstructivă a fost marcată prin date stetoacustice specifice (raluri uscate sibilante, dispnee expiratorie, wheezing).

Toți copiii din studiu au fost testați la prezența infecției *M. pneumoniae* prin determinarea în serul sanguin a anticorpilor specifici de clasa IgM, IgG prin metoda ELISA (*Mycoplasma pneumoniae* IgM – ELISA, NovaLisa, or. Dietzenbach, Germania).

Nivelul seric al IgA, IgM, IgG a fost dozat prin metoda imunoenzimatică (seturile „IgM total”, „IgG total”, „IgA total”, IFA BEST, or. Novosibirsk, Rusia).

Pentru aprecierea gradului de sensibilizare cu IgE al organismului, s-a determinat nivelul seric al IgE prin utilizarea metodei imunoenzimatică („Decebal-impex”, or. Saronno, Italia) – ELISA de tip „sandwich”.

Matinal, à jeun, la fiecare pacient, în primele zile ale internării în staționar, din vena periferică se colecta în eprubetă

To confirm diagnosis is necessary to perform exact laboratory diagnosis and to allow initiation of appropriate antimicrobial therapy.

The aim of our study was to evaluate serum levels of IgA, IgM, IgG and IgE in acute bronchopulmonary affection in children caused by *M. pneumoniae* in comparison with another etiology.

Material and methods

The prospective study included 278 children under 7 years with pneumonia associated or not associated with wheezing. The study participants included children hospitalized in Institute of Mother and Child from 2011 to 2012. Admission rules have been complied with the performance of inpatient hospital medical records. The children's parents gave written informed consent for their enrollment in the study.

Inclusions criteria were:

- children under 7 years;
- patients with community-acquired pneumonia, obstructive bronchitis;

Exclusion criteria of patient in the research were:

- refusal of parents for their child to be enrolled in the study;
- malformation of bronchopulmonary, cardiovascular or central nervous system;
- age ≥ 7 years;
- pneumonia with evolution of more than 3 weeks;
- pneumonia associated with chronic bronchopulmonary process (cystic fibrosis, bronchopulmonary dysplasia, idiopathic fibrosis).

Acute respiratory entities diagnosed in children in study were pharyngitis, acute rhinitis, laryngo-tracheitis, which has been established based on the presence of characteristic clinical signs.

Diagnosis of pneumonia was based on conclusiveness of clinical symptoms, physical examination findings and radiologic signs. Obstructive bronchitis was diagnosed on basis of physical findings.

Determination of specific antibodies of *M. pneumoniae* (IgM, IgG) was performed by using ELISA test in all children (*Mycoplasma pneumoniae* IgM – ELISA, NovaLisa, Dietzenbach, Germany).

Serum level of immunoglobulin's A, M, G and IgE were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in all children (IgM total, IgA total, IgG total, IFA BEST, Novosibirsk, Russia, and for IgE – Decebal-impex, Saronno, Italy).

Blood samples (5 mL) were obtained from each patient and were collected into sterile tubes. Upon their receipt, serum samples were serologically investigated.

Based on the outcome of laboratory results, 278 children completed the study: 110 children with confirmed *M. pneumoniae* infection (*Mycoplasma pneumoniae* [+]), and 168 – without *M. pneumoniae* infection (*Mycoplasma pneumoniae* [-]).

To assess interrelationships of *Mycoplasma* infection in children with community-acquired pneumonia, patients in

sterilă 5 mL de sânge, care, ulterior, era expus cercetărilor imunologice în laboratorul imunologic prin metoda imunoenzimatică.

În funcție de rezultatul de laborator obținut, eșantionul de studiu (n=278) a fost divizat în lotul *Mycoplasma pneumoniae* [+] (n=110) și lotul *Mycoplasma pneumoniae* [-] (n=168).

Pentru evaluarea interrelațiilor infecției micoplasmice la copiii cu pneumonie comunitară, pacienții din ambele loturi au fost repartizați în grupe de vârstă, conform perioadelor copilăriei [9]: primul an (sugar), 1-3 ani (antepreșcolari), 3-7 ani (preșcolari).

Datele colectate în studiu au fost introduse în tabelul electronic prin intermediul programului Microsoft Office Excel 2007. Rezultatele obținute au fost prelucrate cu ajutorul programelor EXCEL, EPI-Info 2007. Pentru compararea diferențelor dintre loturi, au fost aplicate testul Fisher, criteriului (chi-patrat) χ^2 , p – proporția sau cea mai bună estimare despre valoarea proporției cercetate. Pragul de semnificație a fost considerat un $p < 0,05$.

Rezultate

Caracteristica generală a loturilor de studiu este redată în Tabelul 1. În ambele loturi de studiu, a prevalat sexul masculin. Analiza corelațională în aceste subloturi, în funcție de serotipul micoplasmiei, raportând la grupele de vârstă și gender-ul copiilor, nu a evidențiat legături interrelaționale ($\chi^2=1,04$, $p > 0,05$) la copiii cu *Mycoplasma pneumoniae*; din contră, sunt evidențiate interrelațiile dintre grupele de vârstă și sex la copiii cu afecțiuni bronhopulmonare acute, fără infecție micoplasmică ($\chi^2=14,01$, $p < 0,001$), Tabelul 1.

Tabelul 1. Caracteristica generală a loturilor de studiu.

Parametru	Lot <i>M. pneumo-</i> <i>niae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumo-</i> <i>niae</i> [-] (n=168)	p
Vârsta copiilor, ani			
sugari	0,72±0,06 (n=23)	0,64±0,05 (n=73)	F=2,2; p<0,02
1-3 ani	2,12±0,02 (n=56)	2,14±0,02 (n=72)	F=0,0001; ns
3-7 ani	4,80±0,01 (n=31)	4,53±0,20 (n=23)	F=3,1; ns
Dintre care, băieți			
sugari, n=71 (73,9%)	n=16 (69,6%)	n=55 (75,3%)	$\chi^2=0,3$; ns
1-3 ani, n=68 (53,1%)	n=31 (55,4%)	n=37 (51,4%)	$\chi^2=0,2$; ns
3-7 ani, n=22 (40,7%)	n=13 (41,9%)	n=9 (39,1%)	$\chi^2=0,04$; ns

Repartizarea entităților nozologice în funcție de loturile de studiu este redată în Tabelul 2.

În urma efectuării diagnosticului specific, au fost obținute următoarele rezultate. În lotul copiilor sugari M [+], nivelul anticorpilor clasa IgM a constituit 0,30±0,03 g/L și IgG 0,88±0,14 g/L, iar în lotul M [-], IgM specific a fost scăzut semnificativ

both groups were divided into age groups according to their childhood: infants, toddlers (1-3 years), and preschoolers (3-7 years).

The results were introduced and analyzed using with EPI-Info 2007, EXCEL. To compare differences between groups at baseline, the Fisher test and χ^2 were used when appropriate. Results were considered significant at value of $p < 0.05$.

Results

The characteristics of the patients are presented in Table 1. In both groups prevail male patients. Correlation analysis in subgroups in dependence of type of infection and age and gender does not show relation in group with *M. pneumoniae* ($\chi^2=1.04$, $p > 0.05$). But in group without mycoplasma infection shows relation between age and gender ($\chi^2=14.01$, $p < 0.001$), Table 1.

Table 1. General characteristics of children evaluated in the study.

Variables	<i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	<i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Age groups, years			
infants	0.72±0.06 (n=23)	0.64±0.05 (n=73)	F=2.2; p<0.02
1-3 years	2.12±0.02 (n=56)	2.14±0.02 (n=72)	F=0.0001; ns
3-7 years	4.80±0.01 (n=31)	4.53±0.20 (n=23)	F=3.1; ns
Male sex			
infants, n=71 (73.9%)	n=16 (69.6%)	n=55 (75.3%)	$\chi^2=0.3$; ns
1-3 years, n=68 (53.1%)	n=31 (55.4%)	n=37 (51.4%)	$\chi^2=0.2$; ns
3-7 years, n=22 (40.7%)	n=13 (41.9%)	n=9 (39.1%)	$\chi^2=0.04$; ns

Distribution of diagnosis in dependence of etiologic pathogen is presented in Table 2.

After serologic examination the following results were obtained. In infants with M [+] level of specific IgM antibodies was 0.30±0.03 g/L and IgG 0.88±0.14 g/L. In group M [-] level of IgM specific was decreased significantly ($p < 0.05$): 0.21±0.02 g/L and IgG 0.24±0.02 g/L, respectively. In 1-3 year olds M [+] group, levels of specific antibodies was significantly higher in comparison with M [-] (0.57±0.07 g/L vs. 0.21±0.1 g/L and 1.02±0.1 g/L vs. 0.22±0.02 g/L, respectively).

In children aged 3-7 years in M [-] group levels of specific antibodies do not present diagnostic concentration for *Mycoplasma* infection (0.26±0.03 g/L – IgM and 0.25±0.03 g/L – IgG), but in children in the same age-group in M [+] group levels of specific antibodies were 0.66±0.08 g/L and 0.94±0.12 g/L, respectively for IgM and IgG.

So, in children with M [+], specifically in group of infants, *M. pneumoniae* was identified in 23 cases (20.9%; 95CI: 13.7–29.7), in toddlers it was confirmed in 56 children (50.9%;

Tabelul 2. Repartizarea entităților nozologice în funcție de loturile de studiu.

Entitate nozologică	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Pneumonie comunitară, n=52 (18,7%; 95CI: 14,3–23,8)			
sugari, n=21 (40,4%)	19,05%; 95CI: 5,5–41,9	23,3%; 95CI: 58,1–94,5	$\chi^2=5,2$ p>0,05
1-3 ani, n=21 (40,4%)	33,3%; 95CI: 14,6–56,9	66,7%; 95CI: 43,03–85,4	
3-7 ani, n=10 (19,2%)	32,7%; 95CI: 26,2–87,8	40,0%; 95CI: 12,2–73,8	
Pneumonie + bronșită obstructivă, n=226 (81,3%; 95CI: 76,2–85,7)			
sugari, n=75 (33,2%)	25,3%; 95CI: 15,9–36,7	74,7%; 95CI: 63,3–84	$\chi^2=13,2$ p<0,001
1-3 ani, n=107 (47,4%)	45,8%; 95CI: 36,1–55,7	54,2%; 95CI: 44,3–63,9	
3-7 ani, n=44 (19,5%)	56,8%; 95CI: 41–71,7	43,2%; 95CI: 28,4–58,9	

(p<0,05): 0,21±0,02 g/L și IgG 0,24±0,02 g/L, respectiv. În grupul M [+] al copiilor antepreșcolari, nivelele anticorpilor specifici IgM și IgG au fost semnificativ majorate, comparativ grupului M [-] de aceeași vârstă (0,57±0,07 g/L versus 0,21±0,1 g/L și 1,02±0,1 g/L versus 0,22±0,02 g/L, respectiv).

În lotul M [-], la copii de vârstă 3-7 ani, nivelul anticorpilor specifici nu a prezentat concentrații diagnostice pentru infecția micoplasmică (0,26±0,03 g/L – IgM și 0,25±0,03 g/L – IgG), iar la copii de aceeași vârstă M [+], nivelul anticorpilor specifici a constituit 0,66±0,08 g/L și 0,94±0,12 g/L, respectiv pentru IgM și IgG.

Astfel, din lotul M [+] cu vârsta sugară, infecția *M. pneumoniae* a fost apreciată la 23 de copii (20,9%; 95CI: 13,7–29,7); la antepreșcolari – a fost confirmată la 56 de copii (50,9%; 95CI: 41,2–60,6). La copiii preșcolari, infecția cu *M. pneumoniae* a fost diagnosticată la 31 de copii (28,2%; 95CI: 20,0–37,6).

În lotul M [-], la 73 de copii sugari (43,5%; 95CI: 35,8–51,3), testele serologice au fost negative pentru această infecție; copiii antepreșcolari – la 72 de copii (42,9%; 95CI: 35,3–50,7); și la preșcolari – doar 23 de copii (13,7%; 95CI: 8,9–19,8).

Pentru aprecierea funcționalității statutului imun și al mecanismelor reaginice produse de infecția *M. pneumoniae*, au fost evaluate imunoglobulinele A, M, G și IgE totală.

În lotul de copii cu infecția respiratorie *M. pneumoniae*, IgA a constituit 0,76±0,06 g/L, iar la copii din grupul M [-], nivelul IgA a fost de 0,71±0,034 g/L (p>0,05).

În funcție de prezentarea clinică (pneumonie sau afecțiuni asociate), în Tabelul 3 este prezentat nivelul seric al IgA la copii în diferite perioade de vârstă.

Table 2. Distribution of entities according to the study group.

Diagnosis	<i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	<i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Community-acquired pneumonia, n=52 (18,7%; 95CI: 14,3–23,8)			
infants, n=21 (40,4%)	19,05%; 95CI: 5,5–41,9	23,3%; 95CI: 58,1–94,5	$\chi^2=5,2$ p>0,05
1-3 years, n=21 (40,4%)	33,3%; 95CI: 14,6–56,9	66,7%; 95CI: 43,03–85,4	
3-7 years, n=10 (19,2%)	32,7%; 95CI: 26,2–87,8	40,0%; 95CI: 12,2–73,8	
Pneumonia + obstructive bronchitis, n=226 (81,3%; 95CI: 76,2–85,7)			
infants, n=75 (33,2%)	25,3%; 95CI: 15,9–36,7	74,7%; 95CI: 63,3–84	$\chi^2=13,2$ p<0,001
1-3 years, n=107 (47,4%)	45,8%; 95CI: 36,1–55,7	54,2%; 95CI: 44,3–63,9	
3-7 years, n=44 (19,5%)	56,8%; 95CI: 41,0–71,7	43,2%; 95CI: 28,4–58,9	

95CI: 41,2–60,6). In group of preschoolers, *M. pneumoniae* infection was identified in 31 children (28,2%; 95CI: 20,0–37,6).

In M [-] group, serologic tests for *Mycoplasma* infection were negative in 73 infants (43,5%; 95CI: 35,8–51,3); in 72 children aged 1-3 years (42,9%; 95CI: 35,3–50,7) and only in 23 cases of preschoolers (13,7%; 95CI: 8,9–19,8).

In assessing the immune status and functioning of mechanisms induced by IgE in *M. pneumoniae* infection serum levels of immunoglobulin's A, M, G and E were evaluated.

In children with *M. pneumoniae* positive infection, level of IgA was 0,76±0,06 g/L and in children M [-] level of IgE was 0,71±0,034 g/L (p>0,05).

Table 3 summarizes average serum level of IgA in children of different age groups in dependence of diagnosis (pneumonia or associated pathology).

In group with pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* immune reaction mediated by IgG was 8,95±0,4 g/L, but in *Mycoplasma*-negative group it was slightly lower and was 8,69±0,3 g/L; p>0,05. The serum levels of immunoglobulin G in pneumonia and obstructive bronchitis caused by *Mycoplasma* infection are presented in Table 4.

Serum level of immunoglobulin M in bronchopulmonary infection caused by *M. pneumoniae* was significantly increased (p<0,05) and reached values of 1,61±0,082 g/L in comparison with serum level of IgM in bronchopulmonary pathology caused by another pathogen agent (1,52±0,07 g/L).

Evaluation of humoral immunity in dependence of age group and diagnosis found the following results that are summarized in Table 5.

Tabelul 3. Nivelele serice ale IgA în funcție de entitatea nosologică și grupul de vârstă.

Entitate nosologică	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Pneumonie comunitară, n=38 (20,3%)			
sugari, g/L	0,60±0,07	0,59±0,02	F=0,1; p>0,05
1-3 ani, g/L	1,57±0,40	0,61±0,18	F=6,9; p<0,02
3-7 ani, g/L	0,72±0,22	0,90±0,10	F=0,3; p>0,05
Pneumonie + bronșită obstructivă, n=149 (79,7%)			
sugari, g/L	0,68±0,03	0,70±0,06	F=0,05; p>0,05
1-3 ani, g/L	0,68±0,07	0,70±0,05	F=0,09; p>0,05
3-7 ani, g/L	0,82±0,11	0,95±0,08	F=0,75; p>0,05

Reacțiile imune, mediate de IgG, în grupul copiilor cu pneumonii de etiologie *Mycoplasma pneumoniae*, a constituit $8,95 \pm 0,4$ g/L, iar în grupul copiilor micoplasma-negativi, s-a determinat o sinteză puțin mai redusă a IgG ($8,69 \pm 0,3$ g/L; $p > 0,05$). Valorile serice ale IgG la copiii cu infecție micoplastică în pneumonie și bronșită obstructivă, este reflectat în Tabelul 4.

Nivelul seric al imunoglobulinei M în infecția bronho-pulmonară cu *M. pneumoniae* a fost majorat semnificativ ($p < 0,05$) și a atins valori de $1,61 \pm 0,082$ g/L, comparativ cu nivelul de IgM la copiii cu infecție bronho-pulmonară de altă etiologie ($1,52 \pm 0,07$ g/L).

Evaluarea statutului imuno-umoral conform grupelor de vârstă și entitatea nosologică, a constatat următoarele rezultate, care sunt redată în Tabelul 5.

Rezultatele dozării IgG în serul sanguin, în funcție de vârstă și entitățile nosologice studiate, sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 4. Nivelele serice ale IgG, în funcție de entitatea nosologică și grupul de vârstă.

Entitate nosologică	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Pneumonie comunitară, n= 38 (20,3%)			
sugari, g/L	12,4±0,20	9,14±0,27	F=0,01; p>0,05
1-3 ani, g/L	10,15±2,98	8,26±0,92	F=0,82; p>0,05
3-7 ani, g/L	7,66±1,79	8,95±1,86	F=0,20; p>0,05
Pneumonie + bronșită obstructivă, n=149 (79,7%)			
sugari, g/L	9,63±0,65	8,14±0,46	F=2,85; p>0,05
1-3 ani, g/L	8,37±0,60	8,94±0,55	F=0,49; p>0,05
3-7 ani, g/L	9,52±0,89	9,15±1,10	F=0,07; p>0,05

Rezultatele dozării IgM în serul sanguin, în funcție de vârstă și entitățile nosologice studiate, sunt prezentate în Tabelul 5.

Table 3. Serum levels of IgA in dependence of age group and diagnosis.

Diagnosis	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Community-acquired pneumonia, n=38 (20.3%)			
infants, g/L	0.60±0.07	0.59±0.02	F=0.1; p>0.05
1-3 years, g/L	1.57±0.40	0.61±0.18	F=6.9; p<0.02
3-7 years, g/L	0.72±0.22	0.90±0.10	F=0.3; p>0.05
Pneumonia + obstructive bronchitis, n=149 (79.7%)			
infants, g/L	0.68±0.03	0.70±0.06	F=0.05; p>0.05
1-3 years, g/L	0.68±0.07	0.70±0.05	F=0.09; p>0.05
3-7 years, g/L	0.82±0.11	0.95±0.08	F=0.75; p>0.05

Serum levels of total IgG in dependence of age group and nosological entities studied are summarized in Table 4.

Table 4. Serum levels of IgG in dependence of age group and diagnosis.

Diagnosis	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Community-acquired pneumonia, n= 38 (20.3%)			
infants, g/L	12.4±0.20	9.14±0.27	F=0.01; p>0.05
1-3 years, g/L	10.15±2.98	8.26±0.92	F=0.82; p>0.05
3-7 years, g/L	7.66±1.79	8.95±1.86	F=0.20; p>0.05
Pneumonia + obstructive bronchitis, n=149 (79.7%)			
infants, g/L	9.63±0.65	8.14±0.46	F=2.85; p>0.05
1-3 years, g/L	8.37±0.60	8.94±0.55	F=0.49; p>0.05
3-7 years, g/L	9.52±0.89	9.15±1.10	F=0.07; p>0.05

Serum levels of total IgM in dependence of age group and nosological entities studied are summarized in Table 5.

Table 5. Serum levels of IgM in dependence of age group and diagnosis.

Diagnosis	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Community-acquired pneumonia, n=38 (20.2%)			
infants, g/L	2.40±0.43	1.32±0.01	F=0.02; p>0.05
1-3 years, g/L	2.10±0.39	1.84±0.56	F=0.08; p>0.05
3-7 years, g/L	2.08±0.31	1.0±0.29	F=4.90; p<0.04
Pneumonia + obstructive bronchitis, n=150 (79.8%)			
infants, g/L	1.30±0.13	1.69±0.05	F=0.01; p>0.05
1-3 years, g/L	1.44±0.11	1.59±0.10	F=0.90; p>0.05
3-7 years, g/L	1.85±0.19	1.51±0.14	F=1.61; p>0.05

Table 5. Nivelele serice ale IgM, în funcție de entitatea nosologică și grupul de vârstă.

Entitate nosologică	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Pneumonie comunitară, n=38 (20,2%)			
sugari, g/L	2,40±0,43	1,32±0,01	F=0,02; p>0,05
1-3 ani, g/L	2,10±0,39	1,84±0,56	F=0,08; p>0,05
3-7 ani, g/L	2,08±0,31	1,0±0,29	F=4,90; p<0,04
Pneumonie + bronșită obstructivă, n=150 (79,8%)			
sugari, g/L	1,30±0,13	1,69±0,05	F=0,01; p>0,05
1-3 ani, g/L	1,44±0,11	1,59±0,10	F=0,90; p>0,05
3-7 ani, g/L	1,85±0,19	1,51±0,14	F=1,61; p>0,05

Rezultatele dozării IgE în serul sanguin, în funcție de vârstă și entitățile nosologice studiate, sunt prezentate în Tabelul 6.

Table 6. Nivelele serice ale IgE, în funcție de entitatea nosologică și grupul de vârstă.

Entitate nosologică	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Pneumonie comunitară, n=39 (18,0%)			
sugari, UE/mL	33,70±2,98	18,70±2,70	F=0,03; p>0,05
1-3 ani, UE/mL	87,19±2,91	26,27±10,17	F=6,49; p<0,02
3-7 ani, UE/mL	9,20±2,39	63,17±3,83	F=1,89; p>0,05
Pneumonie + bronșită obstructivă, n=178 (82,0%)			
sugari, UE/mL	67,60±9,60	17,10±0,50	F=5,92; p<0,02
1-3 ani, UE/mL	135,12±51,08	52,11±11,70	F=3,06; p>0,05
3-7 ani, UE/mL	92,79±22,9	127,0±63,30	F=0,36; p>0,05

La baza particularităților imunopatologice ale proceselor alergice se află producerea imunoglobulinelor serice, cu un rol aparte implicând IgE. Nivelul seric al IgE totale în faza manifestărilor clinice pentru copiii cu afecțiuni bronhopulmonare acute micoplasma-pozitiv, a constituit 102,6±23,66 UE/mL, comparativ cu concentrația de IgE în ser la copiii cu pneumonii de altă etiologie, decât *Mycoplasma* (43,9±8,56 UE/mL, F=5,8; p<0,02).

Pentru evidențierea caracteristicilor fenomenelor imun-reaginice în diferite perioade de maturare, a fost argumentată realizarea unei analize diferențiate a nivelului de IgE în funcție de vârsta copiilor din acest studiu. La pacienții cu afecțiuni bronhopulmonare asociate cu infecția micoplasmică, au fost constatate cele mai crescute concentrații ale IgE la copiii antepreșcolari – 107,98±32,5 UE/mL (valoarea maximă înregistrată a fost de 1461,8 UE/mL și minimă – de 1,4 UE/mL). Acestea au fost majorate de 3 ori în cadrul infecției micoplasmice, față de acest parametru la copiii cu afecțiuni bronhopulmonare acute de altă etiologie.

Au fost apreciate valori crescute ale IgE serice totale la copiii sugari cu infecții bronhopulmonare cu *M. pneumoniae* –

Serum levels of total IgE in dependence of age group and nosological entities are summarized in Table 6.

Table 6. Serum levels of IgE in dependence of age group and diagnosis.

Diagnosis	Lot <i>M. pneumoniae</i> [+] (n=110)	Lot <i>M. pneumoniae</i> [-] (n=168)	p
Community-acquired pneumonia, n=39 (18.0%)			
infants, UE/mL	33.70±2.98	18.70±2.70	F=0.03; p>0.05
1-3 years, UE/mL	87.19±2.91	26.27±10.17	F=6.49; p<0.02
3-7 years, UE/mL	9.20±2.39	63.17±3.83	F=1.89; p>0.05
Pneumonia + obstructive bronchitis, n=178 (82.0%)			
infants, UE/mL	67.60±9.60	17.10±0.50	F=5.92; p<0.02
1-3 years, UE/mL	135.12±51.08	52.11±11.70	F=3.06; p>0.05
3-7 years, UE/mL	92.79±22.9	127.0±63.30	F=0.36; p>0.05

Underlying immune-pathological features of allergic processes is the production of serum immunoglobulin with a special role involving IgE. In children with bronchopulmonary affection caused by *Mycoplasma* infection serum level of total IgE was 102.6±23.66 UE/mL, comparison with serum level of IgE in control group (43.9±8.56 UE/mL, F=5.8; p<0.02).

For evidence of immune phenomenon at different periods of aging it argues differenced analyses of production of IgE in dependence of age group in this study. In group of toddlers with acute bronchopulmonary *Mycoplasma* infection the highest levels of IgE 107.98±32.5 UE/mL (the maximum value was 1461.8 UE/mL and minimum – 1.4 UE/mL) were recorded. It was three times higher in *Mycoplasma* infection than the same parameter in children with acute bronchopulmonary disease due to other etiological agent.

In our study levels of total IgE in infants with acute bronchopulmonary infection caused by *M. pneumoniae* considered elevated – 55.3±18.9 UE/mL (maximum concentration – 389.4 UE/mL and minimum – 0.5 UE/mL). At the same time high values were obtain in preschoolers from M [+] group – 84.5±18.43 UE/mL (maximum concentration – 434.9 UE/mL and minimum – 2.3UE/mL), but it was reduced in comparison with values in toddlers (107.98±32.5 UE/mL, with maximum values 1461.8 UE/mL and minim – 1.4 UE/mL, F=0.8; p>0.05), Table 6.

In children with acute bronchopulmonary affection *Mycoplasma* [-] high values of IgE were obtained in preschoolers (Table 6) (113.6±50.5 UE/mL, maximum values – 942.3 UE/mL and minimum – 0.2 UE/mL). In infants M [-] average values of IgE were within age norm – 17.4±3.3 UE/mL (maximum values – 102.0 UE/mL and minimum values – 0.1 UE/mL); as in toddlers – 46.7±9.5 UE/mL, with maximum values of 371.6 UE/mL and minimum – de 0.1 UE/mL, but significantly lower in comparison with preschoolers, F=7.6; p<0.001.

55,3±18,9 UE/mL (concentrația maximă – 389,4 UE/mL și cea minimă – 0,5 UE/mL). Similar, la preșcolari – 84,5±18,43 UE/mL (concentrația maximă – 434,9 UE/mL și minimă – 2,3UE/mL) din lotul M [+], dar comparativ mai reduse decât la copiii antepreșcolari (107,98±32,5 UE/mL, cu valoarea maximă de 1461,8 UE/mL și minimă – de 1,4 UE/mL, F=0,8; p>0,05), Tabelul 6.

La copiii lotului *Mycoplasma* [-], cu afecțiuni bronhopulmonare acute, concentrații majorate ale IgE au fost constatate (Tabelul 6) la cei preșcolari (113,6±50,5 UE/mL, valoarea maximă – 942,3 UE/mL și minimă – 0,2 UE/mL). La copiii sugari din lotul M [-], valorile medii ale IgE erau în limitele normativelor de vârstă – 17,4±3,3 UE/mL (concentrația maximă – 102,0 UE/mL și minimă – 0,1 UE/mL); idem – la antepreșcolari – 46,7±9,5 UE/mL, cu valoarea maximă de 371,6UE/mL și minimă – de 0,1 UE/mL, în ambele cazuri – semnificativ mai reduse, comparativ cu copiii preșcolari, F=7,6; p<0,001.

Discuții

Particularitățile diferențelor anatomo-funcționale ale arborelui bronșic și țesutului pulmonar determină prevalența pneumoniilor la băieți, îndeosebi în segmentul de vârstă mică [10, 11], din care motive, studiul nostru a preconizat evaluarea diferențiată a afecțiunilor bronhopulmonare în funcție de sexe.

Infecțiile căilor respiratorii inferioare rămân cauza principală a morbidității în practica pediatrică. Creșterea la copii a frecvenței infecției cu *Mycoplasma pneumoniae* în pneumonii indică necesitatea studierii acestui microorganism. În majoritatea cazurilor de pneumonii provocate de *Mycoplasma pneumoniae*, diagnosticul prezumptiv este stabilit prin complexul manifestărilor clinice, radiologice și paraclinice, însă care sunt orientative, nespecifice, necesitând pentru confirmarea diagnosticului final efectuarea explorărilor etiologice [13]. Determinarea corectă a factorului etiologic în pneumonii la copii reduce prescripția inadecvată a tratamentului antibacterian, cu evitarea complicațiilor evolutive și dezvoltarea polirezistenței antibacteriene. Una dintre cele mai pe larg utilizate metode de diagnostic este reacția imunoenzimatică prin determinarea titrului de anticorpi specifici antimicoplasmici de clasa IgM, IgG [2, 7].

Conform rezultatelor obținute, s-a demonstrat activarea imunității umorale în grupul copiilor sugari, antepreșcolari, prin majorarea producției serice a IgA, iar nivelul IgG a fost majorat în grupul copiilor sugari și preșcolari. În infecția respiratorie cu *Mycoplasma pneumoniae* la preșcolari a fost demonstrată o hiperproducție a IgM, ceea ce corespunde rezultatelor din alte studii [4]. La preșcolarii cu patologie bronhopulmonară de etiologie *M. pneumoniae*, răspunsul umoral al imunității nu este exprimat, comparativ cu reacțiile imunoglobulinelor IgA și IgG la copiii cu afecțiuni bronhopulmonare de altă etiologie, ceea ce, posibil, este condiționat de inițierea întârziată a fenomenelor de maturare a răspunsului imun.

Infecția pulmonară cu *Mycoplasma pneumoniae* produce suprasolicitarea imunității umorale, exprimată prin hiperproducție de IgM la copiii de vârstă preșcolară.

Conform unor publicații [8], infecția micoplasmică poate induce o anergie imună tranzitorie în stadiul acut al infecției,

Discussion

Anatomical and functional differences and peculiarities of bronchial tree and lung tissue determine the prevalence of pneumonia in male, especially at early age [10, 11]. For this reason our study evaluated the expected lung disease in dependence of sex.

Lower respiratory tract infection remains the leading cause of morbidity in pediatric practice. Increased rate of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children promotes further study of this organism. In most cases presumptive diagnosis of pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* established due to complexity of clinical, radiological manifestations and laboratory findings, but these results are non-specific, requiring etiological confirmation [13].

The determination of the correct etiologic factor in pneumonia in children reduces inappropriate prescription of antibacterial therapy, avoiding complications and development of antibacterial resistance. One of the most popular methods of diagnosis is the enzyme-linked immunosorbent assay. The *ELISA* test is capable to determine *Mycoplasma*-specific immunoglobulin IgM and IgG antibodies [2, 7].

According to our results, study demonstrated activation of humoral immunity in infants and toddlers by increasing of serum level of IgA, but IgG was increased in group of infants and preschoolers. In *Mycoplasma pneumoniae* respiratory infection in preschoolers was demonstrated by high levels of IgM, which corresponds to the results of other studies [4].

In preschoolers with bronchopulmonary pathology caused by *M. pneumoniae* humoral response was not expressed in comparison with levels of immunoglobulin's A and G in children from the control group. It is possibly due to delayed initiation of maturation of the immune response.

Mycoplasma pneumoniae is a cause of respiratory infection induced by overuse of humoral immunity which expressed by high levels of IgM in preschoolers.

According to some publications [8], *Mycoplasma* infection can induce a transient immune energy in the acute stage of infection. It has become a cause for reactivation of immunopathology processes.

Previous studies support hypothesis, that children can have persistent abnormalities in the development of cellular and humoral immunity in co morbidity with *M. pneumoniae* infection. However, there were differences depending on a health level of children in different studies [8, 12]. In our study we selected children younger 7 years with acute bronchopulmonary infection to evaluate these features.

In all study groups with different age groups levels of IgE was elevated in children with associated disorders (pneumonia, obstructive bronchitis) in comparison with those affected only by pneumonia.

IgE hyper production is characteristic for *Mycoplasma* respiratory infection in comparison with minor synthesis of IgE in pulmonary infection with another etiology [5, 8].

According to recent studies, Musalimova G. (2003) communicated an activation of humoral immune response by the increased synthesis of IgM, but in comparison with children with bacterial etiology of pneumonia level of IgM was lower

astfel fiind cauză pentru reactivarea proceselor imunopatologice mediate reaginice.

Studiile anterioare susțin ipoteza, precum copiii pot avea anomalii persistente în dezvoltarea imunității celulare și umorale în comorbiditatea cu infecția acută *M. pneumoniae*. Cu toate acestea, au existat diferențe conform stării de sănătate a copiilor din diferite studii [8, 12]. În studiul nostru, au fost selectați copiii cu afecțiuni bronhopulmonare acute din segmentul de vârstă până la 7 ani, pentru a evalua aceste particularități. În toate loturile de studiu, la diferite perioade de vârstă, nivelul imunoglobulinelor E totale a fost crescut la copiii cu afecțiuni respiratorii acute asociate (pneumonie, bronșită obstructivă acută), comparativ cu cei afectați numai de pneumonie.

Hiperproducția de IgE este caracteristică pentru afecțiunile micoplasmice respiratorii, comparativ cu reacțiile reaginice de o intensitate minoră pentru infecțiile pulmonare de altă etiologie [5, 8].

Conform studiilor recente, Musalimova G. (2003) a comunicat o activare a răspunsului imun umoral prin hiperproducția de IgM, dar, comparativ copiilor cu pneumonii de etiologie bacteriană cu nivele de IgM scăzute, o valoare identică a sintezei IgA, IgG, comparativ cu indicii imunologici la copiii sănătoși [4]. Dar, Stelmach I. (2005), relatează o disbalanță în sistemul imun umoral la copii după suportarea infecției cu *M. pneumoniae*. Sinteza majorată a IgE serice totale constatată în același studiu, a demonstrat că în faza acută nivelurile de IgE totale au fost mai mari și apoi, treptat, au scăzut [8]. Și studiul nostru confirmă o hiperproducție de IgE pe fundal de infecție bronhopulmonară cu *M. pneumoniae* la copii în toate grupele de vârstă. O anergie tranzitorie în perioada manifestărilor clinice, indusă de *M. pneumoniae*, rămâne a fi elucidată [8]. De aceea, persistă actualitatea studierii modificărilor imunopatologice dezvoltate după suportarea infecției micoplasmice la vârsta pediatrică.

Limitarea studiului nostru constă în faptul că diagnosticul definitiv al infecției respiratorii cu *Mycoplasma pneumoniae* a fost confirmat prin utilizarea metodei imunoenzimatică cu aprecierea titrelor specifice antimicoplasmice și a semnelor clinice sugestive, fără suplimentarea metodei de cercetare a genomului microorganismului – reacția de polimerizare în lanț. În schimb, au fost cercetați parametrii imunității umorale la copii de diferite segmente de vârstă în infecția bronhopulmonară cu *Mycoplasma pneumoniae*.

În perspectivă, este binevenită studierea imunității celulare în infecțiile respiratorii cu *Mycoplasma pneumoniae* și aprecierea ulterioară a eficacității monoterapiei cu macrolide *versus* macrolide în combinație cu imunomodulatoare.

Concluzii

- 1) Infecția cu *M. pneumoniae* a fost diagnosticată, mai frecvent, la antepreșcolari, cu predominarea afectării copiilor de genul masculin.
- 2) Nivelele semnificativ crescute de anticorpi specifici antimicoplasmici de tip IgM, IgG, a permis stabilirea certă a diagnosticului de infecție micoplasmică la copiii cu pneumonie.

and identical production of IgA, IgG in comparison with immunologic indices in healthy children [4].

But Stelmach I. (2005), reports discrepancies in humoral immune system in children after *M. pneumoniae* infection. Increased total IgE synthesis in the same study showed that in acute phase levels of total IgE are higher and gradually decreasing [8]. And our study confirms hyper production of IgE in bronchopulmonary *M. pneumoniae* infection in all age groups.

A transient energy developed in period of clinical manifestation of *M. pneumoniae* infection remains to be elucidated [8]. Therefore, it is relevant to further study immune disorders after *Mycoplasma* infection in pediatric population.

Our study does have some limitation. Definitive diagnosis of *M. pneumoniae* respiratory infection was confirmed by using only enzyme immune-assay method of assessing titers of specific antibodies and clinical suggestive signs without supplementation *Mycoplasma* genome research method – polymerase chain reaction. In contrast, humoral immunity parameters were examined in children of different age groups with *Mycoplasma pneumoniae* lung infection.

In perspective it's welcome advisable to study cellular immunity in *Mycoplasma pneumoniae* respiratory infection and subsequent assessment of the effectiveness of antibiotic therapy with macrolides against macrolides treatment with immunomodulators.

Conclusions

- 1) *M. pneumoniae* infection was diagnosed more frequently in toddlers, with predominate males.
- 2) Significant elevated values of specific antibodies IgM and IgG allowed establishing a definitive diagnosis of *Mycoplasma* infection in children with pneumonia.
- 3) In preschoolers *M. pneumoniae* infection evolves with stimulating humoral immunity expressed by increasing the production of IgG and IgM; IgA dynamics is less pronounced.
- 4) *Mycoplasma* respiratory infection evolves with hyper production of IgE with maximum values in toddlers with bronchopulmonary *M. pneumoniae* infection.

Authors' contribution

All authors have equally participated in study *design*, statistical analysis of data. SS conducted significant reevaluation of the manuscript, involving with personal intellectual implication. Final variant of manuscript was approved by all authors.

Declaration of conflicting interests

The authors declare no conflict of interest.

- 3) La preșcolari, infecția respiratorie cu *M. pneumoniae* evoluează cu stimularea imunității umorale, exprimată prin majorarea producerii de IgG și IgM; dinamica IgA fiind mai inertă.
- 4) Infecția micoplasmică respiratorie evoluează cu o hiperproducție de IgE, care atinge valori maxime la anteprescolari, cu maladii bronhopulmonare de etiologie *M. pneumoniae*.

Contribuția autorilor

Toți autorii în mod egal au participat la conceperea studiului, *design*-ul lucrării, analiza statistică a datelor. SȘ a efectuat revizuirea semnificativă a manuscrisului, cu implicarea intelectuală personală importantă. Varianta finală a manuscrisului a fost aprobată de toți autorii.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interese.

Referințe /references

1. Вишнякова Л., Никитина М., Петрова С. Роль *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamidia pneumoniae* при внебольничной пневмонии у детей [Vishnyakova L., Nikitina M., Petrova S. The role of *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamidia pneumoniae* in community acquired pneumonia]. *Пульмонология*, 2005; 3: 43-47.
2. Korppi M., Heiskanen-Kosma T., Kleemola M. Incidence of community-acquired pneumonia in children caused by *Mycoplasma pneumoniae*: serological results of a prospective, population-based study in primary health care. *Respirology*, 2004; 9:109-14.
3. Youn You-Sook, Lee K-I. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *Korean J. Pediatr.*, 2012; 55 (2): 42-47.
4. Мусалимова Г. Г., Саперов В. Н., Карзакова Л. М. Микоплазменные и хламидийные пневмонии (этиопатогенез, клинико-иммунологические особенности, диагностика, лечение и иммунотерапия Ронколейкином). *Методические рекомендации*. Чебоксары, 2003; с. 52. [Musalimova G. G., Saperov V. N., Karzacova L. *Mycoplasma* and *Chlamydia* pneumonia (etiopathogenesis, clinical and immunological peculiarities, treatment and immunotherapy with Roncoleukin. Cheboxary, 2003; 52 p.]
5. Овсянников Д. Ю. Бронхиальная астма, обструктивные бронхиты и кашель, ассоциированные с микоплазменной и хламидийной инфекцией у детей. Первый Конгресс педиатров-инфекционистов России. Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей. Материалы. М., 2002; с. 141-142. [Ovseannikov D. Bronchial asthma, obstructive bronchitis and cough associated with *Mycoplasma* and *Chlamydia* infection in children. The first Congress of pediatric infectious disease in Russia. Materials. Moscow, 2002; p. 141-142.]
6. Waites K., Talkington D. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 2004; 697-728
7. Waites K., Mitchell B., Prescott T. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Future Microbiol.*, 2008; 3 (6): 635-648
8. Stelmach I. et al. Humoral and cellular immunity in children with *Mycoplasma pneumoniae* infection: 1-year prospective study. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005; 12 (10): 1246-50.
9. Ciofu E., Ciofu C. Esențialul în Pediatrie. *Ediția a 2-a, Amaltea*, București, 2002, p. 594.
10. Carey M. et al. It's all about sex: male-female differences in lung development and disease. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2007; 18 (8): 308-313.
11. Thurlbeck W. Postnatal human lung growth. *Thorax*, 1982; 37: 564-571.
12. Koh Y. et al. Levels of interleukin-2, interferon-3 and interleukin-4 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with *Mycoplasma pneumoniae*: implication of tendency toward increased immunoglobulin E production. *Pediatrics*, ch 2001; 107(3): p.1-7.
13. Medjo B. et al. *Mycoplasma pneumoniae* as a causative agent of community-acquired pneumonia in children: clinical features and laboratory diagnosis. *Italian Journal of Pediatrics*, 2014; 40(1): 1-7.

ARTICOL DE CERCETARE

Caracteristicile comparative ale metodelor de administrare a chimioterapeuticelor pentru tratamentul pacientelor cu cancer de sân local-avansat: studiu prospectiv, pe serie de cazuri

Igor Yevghenievich Sedakov¹, Vladlena Gennadiyevna Dubinina², Oleksandr Vadimovich Bondar^{2*}, Oleg Valerievich Lukyanchuk², Oleksandr Vasilievich Zavoloka²

¹Centrul Oncologic Regional din Donetsk, Donetsk, Ucraina;

²Clinica Universitară din Odessa, Odessa, Ucraina.

Autor corespondent:

Oleksandr Vadimovich Bondar, dr. șt. med.

Clinica Universitară din Odessa

str. Tenistaya, 8; Odessa, Ucraina

e-mail: bondar86@mail.ru

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Cancerul de sân local-avansat inoperabil necesită un tratament complex, bazat pe polichimioterapie neoadjuvantă sistemică, radioterapie și hormonoterapie, urmat de intervenție chirurgicală radicală. Efectele polichimioterapiei neoadjuvante intra-arteriale selective și a celei endolimfatice sunt, deocamdată, insuficient studiate.

Ipoteza de cercetare

Administrarea intra-arterială (prin a. toracică internă) selectivă a chimioterapeuticelor, precum și administrarea lor endolimfatică, permit creșterea ratei de supraviețuire a pacientelor cu cancer de sân local-avansat inoperabil.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Metodele de polichimioterapie selectivă, propuse de autori, permit creșterea ratei de supraviețuire la 3 și la 5 ani a pacientelor cu cancer de sân local-avansat inoperabil, comparativ cu cea sistemică.

Rezumat

Introducere. Tratamentul persoanelor cu cancer de sân local-avansat este complex și constă din polichimioterapie sistemică, radioterapie, hormonoterapie și intervenție chirurgicală radicală sau paliativă. Administrarea selectivă a chimioterapeuticelor – intra-arterial, prin artera toracică internă și endolimfatic, în combinație cu cea sistemică, permite

RESEARCH ARTICLE

Comparative characteristics of the methods of delivery of chemotherapy drugs in the treatment of patients with locally advanced breast cancer: a prospective, case-series study

Igor Yevghenievich Sedakov¹, Vladlena Gennadiyevna Dubinina², Oleksandr Vadimovich Bondar², Oleg Valerievich Lukyanchuk², Oleksandr Vasilievich Zavoloka²

¹Donetsk Regional Antitumoral Center, Donetsk, Ukraine;

²University Clinic of Odessa, Odessa, Ukraine.

Corresponding author:

Oleksandr Vadimovich Bondar, MD, PhD

University Clinic of Odessa, Odessa, Ukraine

8, Tenistaya street, Odessa, Ukraine

e-mail: bondar86@mail.ru

What is not known yet, about the topic

Locally advanced breast cancer required a complex treatment, based on systemic neoadjuvant poly-chemotherapy, radiotherapy and hormonal therapy, followed by radical surgery. The effects of systemic neoadjuvant poly-chemotherapy administered selectively intra-arterially and endo-lymphatic, are insufficiently studied yet.

Research hypothesis

Selective intra-arterial administration (through internal thoracic artery) of chemotherapy drugs, as well as their endo-lymphatic administration, offer a higher survival rate of patients with inoperable locally advanced breast cancer.

Article's added novelty on this scientific topic

Methods of selective poly-chemotherapy, proposed by the authors, offer better survival rates at 3 and 5 years of patients with locally advanced inoperable breast cancer, compared with systemic administration.

Abstract

Introduction. The methods of treatment of patients with locally advanced breast cancer are complex and consist of: systemic poly-chemotherapy, radiotherapy, hormonal therapy and radical or palliative surgery. Selective administration of chemotherapy drugs – intra-arterially (through internal thoracic artery) or endo-lymphatic, in combination with systemic

creșterea eficienței tratamentului și crește speranța la viață la 3 și la 5 ani.

Material și metode. Studiu prospectiv, pe serie de cazuri, efectuat asupra la 285 de paciente cu cancer de sân local-avansat, subtipurile *HER/2-neu pozitiv și basal-like*, aflat în stadiile T4N0-2M0 de evoluție. Studiul a fost efectuat la Centrul Oncologic Regional din Donetsk și la Clinica Universitară din Odessa în perioada 2000-2014. Primul grup, format din 221 de paciente, a beneficiat de polichimioterapie intra-arterială (CMF, CAF, CAMF), combinată cu intravenoasă; cel de-al doilea grup, de control – de polichimioterapie endolimfatică (CMF, CAF, CAMF). Suplimentar, pacientele au primit radioterapie și terapie hormonală, la indicații, după care au fost operate. Rezultatele imediate sunt prezentate în baza criteriilor RECIST. Rezultatele tardive sunt prezentate sub formă de speranță medie la viață, precum și drept rată de supraviețuire la la 3 și la 5 ani.

Rezultate. Speranța medie la viață la pacientele din lotul de cercetare a fost de 3,4 ani, iar la cele din lotul de control – de 2,8 ani. Rata de supraviețuire la 3 ani a fost de 59,9% la pacientele lotului de studiu și de 43,1% – la pacientele din lotul de control. Rata de supraviețuire la 5 ani a fost de 37,8% – la pacientele lotului de studiu și de 25,2% – la pacientele din lotul de control.

Concluzii. Rezultatele tratamentului pacientelor cu cancer de sân local-avansat, cu pronostic nefavorabil al creșterii tumorale, care constă din asocierea metodei propuse de polichimioterapie selectivă intra-arterială prin artera toracică internă cu cea intravenoasă, împreună cu radioterapia și hormonoterapia, oferă rezultate mai favorabile, comparativ cu tratamentul convențional, care constă din mastectomie și polichimioterapie.

Cuvinte cheie: cancer de sân local-avansat, tratament complex, chimioterapie intra-arterială, chimioterapie endolimfatică.

Introducere

Problema cancerului de sân (CS) devine din an în an tot mai stringentă și se caracterizează prin tendință de întinerire și creștere continuă a morbidității anuale. CS ocupă un loc de frunte în structura morbidității, solicitând de urgență elaborarea de noi metode de tratament. Evidențele statistice indică la o creștere continuă a incidenței cancerului de sân în ultimii 20 de ani, fără tendință de stabilizare [1, 2]. Morbiditatea a reprezentat 70,1 de cazuri la 100.000 de populație feminină în anul 2013, cu o rată a mortalității de 32,0%. Două tehnici de administrare selectivă a chimioterapeuticilor, elaborate la Centrul Oncologic Regional din Donetsk – polichimioterapia selectivă intra-arterială (PCTSIA) și polichimioterapia endolimfatică (PCTEL) – au demonstrat o eficiență destul de înaltă, atât în cazul focarelor primare, cât și celor metastatice de cancer, și care au permis obținerea unui răspuns parțial sau complet al tumorii la un procent înalt de pacienți urmăriți în timp [4, 8]. O atenție particulară este acordată dezvoltării noilor metode de tratament a pacientelor cu cancer de sân (în special, a formelor local-avansate), care au un pronostic rezervat pentru creșterea tumorală [2, 7].

administration, offers a better efficiency of the treatment and rises survival rate at 3 and 5 years.

Material and methods. The present study is prospective, case series based on the data of 285 patients with locally advanced forms of breast cancer *HER/2-neu positive* and *basal-like* biological subtypes, with the stages T4N0-2M0. The study was performed in Donetsk Regional Antitumoral Center and University Clinic of Odessa between 2000-2014. The first investigated group included 221 patients, that underwent intra-arterial poly-chemotherapy (CMF, CAF, CAMF), combined with intravenous administration; and the second, control group – endo-lymphatic poly-chemotherapy (CMF, CAF, CAMF). Additionally, patients underwent hormonal and radio therapy, upon indications, and surgery after that. Early results are presented under RECIST criteria. Late results are resented under mean life span, and survival rate at 3 and 5 years.

Results. The average life expectancy of patients of the investigated group was 3.4 years, while in the control group – 2.8. Survival rate at 3 years was 59.9% in patients from the study group, and 43.1% – in patients from the control group. Survival rate at 5 years was 37.8% in patients from the study group, and 25.2% – in patients from the control group.

Conclusions. Results of complex treatment of locally advanced breast cancer with unfavorable prognostic factors of tumor growth that consist of using a combination of selective intra-arterial injection and intravenous chemotherapy though the internal thoracic artery, in combination with radiation and hormonal therapy exceed the results of conventional treatment that consists of mastectomy and systemic poly-chemotherapy.

Keywords: locally advanced breast cancer, complex treatment, intra-arterial chemotherapy, endo-lymphatic chemotherapy.

Introduction

The problem of breast cancer (BC) becomes more urgent every year, which is characterized by an increase in the annual morbidity with this disease and rejuvenation of this pathology. BC is a leader in the structure of morbidity, so it is a very urgent task to develop new methods of treatment of this disease. Statistical data show a steady increase in the incidence of breast cancer in the past 20 years, with no tendency to stabilization [1, 2]. The morbidity is 70.1 cases per 100,000 of female population in 2013, and the mortality rate is 32.0%. The technique of selective intra-arterial poly-chemotherapy (SIAPCT) and the technique of endolymphatic poly-chemotherapy (ELPCT) developed in Donetsk Regional Antitumoral Center demonstrated its high efficacy for both primary and metastatic tumor foci, which allowed to achieve complete or partial response of the tumor in a large percentage of the follow-up patients [4, 8]. Particular attention is paid to the development of new methods of treatment of the patients with breast cancer (especially locally advanced forms) with unfavorable prognostic factors of tumor growth [2, 7].

The aim of the study was to compare the immediate and

Scopul studiului a fost de a compara rezultatele imediate și la distanță a metodelor de administrare selectivă intra-arterială vs. endolimfatică a polichimioterapeuticelor la pacientele suferinde de cancer de sân local-avansat.

Material și metode

Prezentul studiu se bazează pe datele a 285 de paciente cu cancer de sân local-avansat, subtipurile biologice *HER/2-neu pozitiv* și *basal-like*, aflat în stadiul T4N0-2M0 de dezvoltare, și care s-au tratat la Centrul Oncologic Regional din Donetsk și la Clinica Universitară din Odessa în perioada anilor 2000-2014.

Pentru o analiză mai adecvată a rezultatelor tratamentelor, pacienții au fost împărțiți în grupuri. Primul grup, de studiu, a inclus 221 de paciente, dintre care, 168 au fost diagnosticate cu forma biologică *HER/2-neu pozitivă*, iar 53 de paciente – cu forma *basal-like*, conform rezultatelor imunohistochimiei.

Grupul de control a inclus 64 de paciente, dintre care 45 – au avut forma *HER/2-neu pozitivă*, iar 19 – forma *basal-like*.

Programul de tratament comprehensiv în grupul de studiu a constat din cateterizarea arterei toracice interne prin artera epigastrică superioară (metodă brevetată, brevetul nr. 29318 din 01.07.2000 al Ucrainei și nr. 2169014 din 20.06.2001 – al Federației Ruse), din două sau trei cure de PCTSIA, combinate cu una intravenoasă, la un interval de 21 de zile, urmată de evaluarea efectelor radioterapiei (RT), aplicate în zona sânelui și cea de drenare limfatică, în regim static SFD – 2,0-2,5 Gy, CFD – 40 Gy. În lotul de cercetare, s-a recurs la mastectomie doar dacă a fost obținut un răspuns complet sau parțial din partea tumorii (au fost efectuate un total de 136 de intervenții radicale). Curele de PCTSIA au constat în perfuzare continuă, lentă (timp de 4 ore), aplicând schemele CMF, CAF sau CAMF. Luând în considerație posibilitatea complicațiilor locale, asociate cu perfuzarea chimioterapeuticelor (în special, a doxorubicinei), o jumătate din doză a fost administrată intravenos.

Cura CMF din cadrul PCTSIA a constat din administrarea:

- Ciclofosfamidei, zilele I, IV și VII – 150 mg/oră (600 mg);
- Methotrexatului, zilele II, V – intra-arterial, 10 mg/oră (40 mg); ziua VIII – 40 mg intravenos;
- Fluorouracilului, ziua III – 200 mg/oră (800 mg), zilele VI, IX – 150 mg/oră (600 mg).

Protocolul CAF din cadrul PCTSIA a constat din administrarea:

- Ciclofosfamidei, zilele I, IV și VII – 150 mg/oră (600 mg);
- Doxorubicinei, zilele II, V – 5 mg/oră; ziua VIII – 40 mg intravenos;
- Fluorouracilului, ziua III – 200 mg/oră (800 mg), zilele VI, IX – 150 mg/oră (600 mg).

Cura CAMF din cadrul PCTSIA a constat din administrarea:

- Ciclofosfamidei, zilele I, IV, VII – 150 mg/oră (600 mg);
- Methotrexatului, zilele II, V, VIII – 10 mg/oră;
- Doxorubicinei, ziua IX – 80 mg intravenos;
- Fluorouracilului, ziua III – 200 mg/oră (800 mg), zilele VI, IX – 150 mg/oră (600 mg).

Dozele totale pentru fiecare cură de polichimioterapie au fost calculate conform indexului masei corporale. Numărul curilor de chimioterapie au fost stabilite în funcție de eficiența tratamentului, care a fost cotate pe scorul RESIST (l. engl. *Res-*

long-term results of selective intra-arterial vs. endo-lymphatic administration of poly-chemotherapy drugs in patients with locally advanced breast cancer.

Material and methods

The present study was based on the data of 285 patients with locally advanced forms of breast cancer *HER/2-neu positive* and *basal-like* biological subtypes, with the stages T4N0-2M0, treated in Donetsk Regional Antitumoral Center and University Clinic of Odessa in 2000-2014.

For an adequate analysis of the results, two groups of patients were formed. The first group included 221 patients, out of them 168 patients were diagnosed *HER/2-neu positive*, and 53 patients had *basal-like* biological subtype of the tumor, according to the immune-histochemical results.

The control group included 64 patients, out of which 45 patients were diagnosed with *HER/2-neu positive*, and 19 patients – *basal like* form.

The program of the comprehensive treatment of patients in this group included the internal thoracic artery catheterization through the upper epigastric artery (a patent No. 29318 of Ukraine from 01.07.2000, a patent No. 2169014 of the Russian Federation from 20.06.2001), and administration of two or three cycles of SIAPCT in combination with intravenous one with an interval of 21 days, followed by evaluation of the effect of radiation therapy (RT) on the breast and zone of the regional lymph outflow in the static mode SFD – 2-2.5 Gy, CFD – 40 Gy. Mastectomy in patients from the investigated group was performed only when there was a complete or partial tumor response (136 radical surgeries were performed). Courses of intra-arterial PCTSIA were given in continuous long-term infusion (4 hours) by the scheme CMF, CAF or CAMF. Taking into account the possibility of local complications from intra-arterial administration of chemotherapy drugs (most often – doxorubicin), half of the drug dose was administered intravenously.

CMF administration from PCTSIA consisted of:

- Cyclophosphamide: day I, IV, and VII – 150 mg/hour (600 mg);
- Methotrexate: day II, V – i/a 10 mg/hour (40 mg), day VIII i/v – 40 mg;
- Fluorouracil: day III – 200 mg/hour (800 mg), day VI, IX – 150 mg/hour (600 mg).

CAF protocol scheme from PCTSIA consisted of:

- Cyclophosphamide: day I, IV, VII – 150 mg/hour (600 mg);
- Doxorubicin: day II, V – i/a 5 mg/hour, day VIII i/v – 40 mg;
- Fluorouracil: day III – 200 mg/hour (800 mg), day VI, IX – 150 mg/hour (600 mg).

CAMF administration from PCTSIA consisted of:

- Cyclophosphamide: day I, IV, VII – 150 mg/hour (600 mg);
- Methotrexate: day II, V, VII i/a – 10 mg/hour;
- Doxorubicin: day IX i/v – 80 mg;
- Fluorouracil: day III – 200 mg/hour (800 mg), day VI, IX – 150 mg/hour (600 mg).

The total course doses of chemotherapy drugs were calculated according to BMI (Body Mass Index). The number of cycles of chemotherapy was determined based on the evaluation of treatment effectiveness by the RESIST scale (Response Eva-

ponse Evaluation Criteria in Solid Tumors – Criteriile de Evaluare a Răspunsului Tumorilor Solide), luând în considerație starea generală a pacienților, prezența și severitatea complicațiilor locale și sistemice. În medie, pacientele au beneficiat de 2-3 cure tip CMF în regim neoadjuvant; în cazul ineficienței tratamentului, la schema dată se adăugau antraciclone (1-2 cure) [3, 4, 5]. În toate cazurile tratate, tumorile au fost considerate ca și măsurabile. Au fost determinate dimensiunile maxime ale tuturor focarelor identificate; cele de până la tratament au fost luate drept referință.

La urmărirea în dinamică a pacienților, au fost luate în considerație, inclusiv, datele de laborator, rezultatele trepan-biopsiei (utilizată pentru evaluarea gradului de patomorfism al tumorii după polichimioterapie).

Evaluarea rezultatelor la distanță

Evaluarea la distanță a rezultatelor s-a bazat pe aprecierea următorilor parametri:

- speranța la viață fără recurențe sau noi metastaze;
- frecvența metastazelor limfogene sau hematogene;
- rata ajustată de supraviețuire la 5 ani.

Indicatorii menționați au fost înregistrați pentru toate pacientele studiate, din ambele loturi, inclusiv, pentru cele tratate paliativ. Calcularea duratelor s-a efectuat, luând drept punct de pornire începutul tratamentului.

Programul de tratament complex pentru pacientele grupului de control a inclus terapie endolimfatică, conform metodologiei elaborate la Centrul Oncologic Regional din Donetsk (brevet al Ucrainei nr. 33909 din 25.07.2008, buletinul nr. 14 „Metodă de chimioterapie la pacienții cu tumori maligne”). Metoda dată constă în cateterizarea unui vas limfatic profund al coapsei. Principala metodă de administrare a chimioterapeuticilor în sistemul limfatic a fost perfuzarea continuă cu un perfuzor electric cu o viteză de 0,3-0,5 mL/min, pentru a evita extravazarea soluției. Doza sumară a curei de chimioterapie a fost administrată endolimfatic în răstimp de 5-7 zile; au fost efectuate 2-3 cure, efectuate la un interval de 21 de zile între ele, după care, a urmat administrarea intravenoasă de antraciclone. După fiecare cură de chimioterapie, cateterul endolimfatic era retras; inserarea lui era făcută repetat, pentru efectuarea următoarei cure. Eficiența tratamentului era evaluată, ulterior, în baza criteriilor RECIST. Un curs static de radioterapie, focalizată pe regiunea sânelui și a ariei de reflux limfatic, a fost asigurat într-o doză de 2,0-2,5 Gy (pentru modul SFD) și de 40 Gy, CFD.

Mastectomia la pacientele grupului de control a fost efectuată doar după constatarea unui efect complet sau parțial al chimioterapiei neoadjuvante; în total, la acest lot au fost efectuate 36 de intervenții chirurgicale radicale.

Curele de PCTEL au fost administrate prin perfuzare continuă cu o durată de până la 8 ore, aplicând schemele CMF, CAF sau CAMF. Ținând cont de riscul efectelor adverse locale, manifestate la administrarea chimioterapeuticilor, intercalatorul doxorubicina a fost administrat intravenos, pe când antimetabolitii și agenții alkilanți (methotrexatul, 5-fluorouracil și ciclofosfamida), în toate schemele, au fost administrați endolimfatic.

luation Criteria in Solid Tumors), taking into consideration general condition of the patients, presence and severity of local and systemic complications. On an average, the patients received 2-3 cycles of CMF to achieve the effect in the neoadjuvant mode. If there was no effect, anthracyclines (1-2 cycles) were included in the chemotherapy regimen [3, 4, 5]. In all cases, tumors were evaluated as measurable. There was determined the maximum size of all identified foci, the size before treatment was considered as the baseline.

In dynamic evaluation of the patients, lab results and results of trephine biopsy (used in order to evaluate the stage of pathomorphology after poly-chemotherapy) were taken into consideration.

Evaluation of long-term results

The clinical course of the disease and long-term results of treatment were evaluated by the following parameters:

- life expectancy without recurrences and new metastases;
- frequency of lymphatic and hematogenous metastasis;
- adjusted five-year survival rate.

These indicators are calculated in all investigated patients from the control and investigated groups, including those who underwent palliative treatment. Calculation of long-term results was made from the beginning of treatment.

The program of the complex treatment of the patients in control group included endo-lymphatic chemotherapy according to the method developed by Donetsk Regional Antitumoral Center (A patent of Ukraine No. 33909 from 25.07.2008, bull. No. 14 “A method of chemotherapy in patients with malignant tumors”). This method consisted of catheterization of the deep lymphatic vessel of the thigh. As the main method of administration of chemotherapy drugs in the lymphatic system there was through an electric syringe at continuous infusion rate of 0.3-0.5 mL/min, in order to exclude extravasation of the chemotherapy solution. The total course dose of the drug was administered endo-lymphatic within 5-7 days. At the interval of 21 days, two or three courses were given followed by intravenous administration of anthracyclines. At the end of each cycle, the catheter was removed, the catheterization was performed repeatedly. The effectiveness of the treatment was evaluated by the RECIST criteria RECIST. Radiation therapy (RT) to the breast and area of the regional lymph outflow was given in a static mode SFD – 2-2.5 Gy, CFD – 40 G.

Mastectomy in the patients of the control group was performed only when a complete or partial tumor response (36 radical surgeries).

Courses of PCTEL were given by the continuous long-term infusion (up to 8 hours), according to CMF, CAF or CAMF schemes. Taking into account the possibility of local complications of some chemotherapeutic agents, intercalator doxorubicin was administered intravenously, and antimetabolites and alkylating agents (methotrexate, 5-fluorouracil and cyclophosphamide) in all schemes were introduced endo-lymphatic.

Endo-lymphatic administration of PCT in CMF scheme consisted of:

- Cyclophosphamide: day II, III, IV – 400 mg/m²;
- Methotrexate: day I, V – 30 mg/m²;

Administrarea endolimfatică a chimioterapeuticelor în schema CMF a constat din:

- Ciclofosamidă, zilele II, III, IV – 400 mg/m²;
- Metotrexat, zilele I și V – 30 mg/m²;
- 5-Fluorouracil, zilele II, III, IV – 500 mg/m².

Administrarea endolimfatică a chimioterapeuticelor în schema CAF a constat din:

- Ciclofosamidă, zilele II, III, IV – 400 mg/m²;
- 5-Fluorouracil, zilele II, III, IV – 500 mg/m²;
- Doxorubicină, în ziua I, 50 mg/m² intravenos.

Administrarea endolimfatică a chimioterapeuticelor în schema CAMF a constat în:

- Ciclofosamidă, zilele II, III, IV – 400 mg/m²;
- Methotrexat, zilele I și V – 30 mg/m²;
- 5-Fluorouracil, zilele II, III, IV – 500 mg/m²;
- Doxorubicină, în ziua I, 50 mg/m² intravenos.

Toate dozările pentru toate schemele chimioterapeutice au fost calculate la suprafața corporală – metodă, care astăzi este una standardizată.

Numărul de cure de chimioterapie a fost stabilit în funcție de eficiența tratamentului, condiția generală a pacienților și magnitudinea efectelor adverse toxice. În medie, paciențele au beneficiat de 2-3 cure de PCT pentru a obține efectul în modul neoadjuvant. Dacă, însă, nu era obținut niciun efect, în schema PCTEL erau incluse antraciclilinele (1-2 cure) [3, 4, 5].

La vizita primară, la nicio pacientă din loturile de studiu nu au fost diagnosticate metastaze.

La examinarea histologică a pieselor chirurgicale, la paciențe au fost determinate tumori cu următoarea morfologie:

- carcinom infiltrativ, stadiul 3 de malignitate – 32 (23,5%) de cazuri;
- carcinom infiltrativ, stadiul 2 de malignitate – 23 (16,9%) de cazuri;
- cancer ductal invaziv – 18 (13,2%) cazuri.

Paciențele în premenopauză și tumori hormonal-dependente au beneficiat de tubovarectomie bilaterală simultană sau de tratament cu agoniști de releasing-hormoni. Paciențele în postmenopauză au beneficiat de terapie hormonală conservativă, prescrisă în baza rezultatelor imunohistochemice.

În grupul de control, rezultatele examenului histologic al pieselor operatorii au scos în evidență următoarea structură morfologică a tumorilor:

- carcinom infiltrativ, stadiul 3 de malignizare – 11 (30,6%) cazuri;
- carcinom infiltrativ, stadiul 2 de malignizare – 4 (11,1%) cazuri;
- cancer ductal invaziv – 1 (2,8%) caz.

Astfel, nu au fost constatate diferențe statistic semnificative între loturi atât din punctul de vedere al structurii morfologice identificate ($p=0,87$), cât și al stadiului maladiei ($p=0,06$). De asemenea, loturile au fost omogene din punctul de vedere al vârstei, prevalenței tumorilor și a comorbidităților.

Toate paciențele au fost informate despre scopul studiului, procedurile diagnostice și protocoalele terapeutice, pentru care au semnat un acord informat scris.

Conform protocolului de cercetare, schema de tratament,

- 5-fluorouracil: day II, III, IV – 500 mg/m².

Endo-lymphatic administration of PCT in CAF scheme consisted of:

- Cyclophosphamide: day II, III, IV – 400 mg/m²;
- Fluorouracil: day II, III, IV – 500 mg/m²;
- Doxorubicin: day I, i/v – 50 mg/m².

Endo-lymphatic administration of PCT in CAMF scheme consisted of:

- Cyclophosphamide: day II, III, IV – 400 mg/m²;
- Methotrexate: day I, V – 30 mg/m²;
- 5-fluorouracil: day II, III, IV – 500 mg/m²;
- Doxorubicin: day I, i/v – 30 mg/m².

The total course doses of chemotherapy drugs for each chemotherapy scheme were calculated according to the criteria of BSA – method that is a standard today.

The number of cycles of chemotherapy was determined based on the effectiveness of treatment, general condition of the patients, the presence and severity of toxic complications. On average, the patients received 2-3 cycles of PCT to achieve the effect in the neoadjuvant mode. If there was no effect, anthracyclines were included in the PCTEL scheme (1-2 cycles) [3, 4, 5].

On primary examination of the patients, none of the patients from the control group had metastasis.

Histological examination of the operating materials in the investigated group of the patients had the following morphological structure:

- infiltrating carcinoma, 3rd stage of malignancy – 32 (23.5%) cases;
- infiltrating carcinoma, 2nd stage of malignancy – 23 (16.9%) cases;
- ductal invasive cancer – 18 (13.2%) cases.

Patients in pre-menopause with hormone-dependent tumors underwent bilateral salpingo-oophorectomy simultaneously or were given agonists of releasing hormones. Post-menopausal patients were administered conservative hormonal therapy, prescribed based on immune-histochemical results.

Histological examination of the operating materials in the control group of the patients had the following morphological structure:

- infiltrating carcinoma, 3rd stage of malignancy – 11 (30.6%) cases;
- infiltrating carcinoma, 2nd stage of malignancy – 4 (11.1%) cases;
- ductal invasive cancer – 1 (2.8%) case.

No statistically significant differences were found between groups according to the identified morphological structure ($p=0.87$) or the stage of the disease ($p=0.06$). Also, the groups were homogenous regarding age, tumor prevalence and comorbidities.

All patients were informed about the objectives of the study, the programs of therapeutic and diagnostic procedures and gave their written informed consent for this type of treatment.

In accordance with the protocol of this study, the scheme of complex treatment of all patients included radiation therapy,

precum și realizarea radioterapiei, a fost propusă și asigurată de departamentul de radiologie al Centrului Oncologic Regional din Donetsk. Iradierea focarului primar și a regiunilor adiacente a fost efectuată cu ajutorul gamma-camerelor "Rokus" (JSK „Rawenstvo”, Sankt Petersburg, Federația Rusă) și "Agat" (JSK „NIITFA”, Saransk, Federația Rusă), respectând secvențele clasice de dozare.

Terapia hormonală a fost asigurată conform conceptelor contemporane.

Ablația farmacologică sau chirurgicală a fost efectuată pacienților cu funcția menstruală păstrată, atunci când la tumoare au fost identificați receptori hormonal. În acest scop, ele au beneficiat de terapie cu antiestrogeni timp de 2-3 ani, urmată de administrarea inhibitorilor de aromatază sau continuarea terapiei cu antiestrogeni timp de până la 5 ani.

Antiestrogenii sau inhibitorii de aromatază au fost prescriși tuturor pacienților în postmenopauză, la care nu li s-a cercetat profilul hormonal al tumorii, sau la care statutul hormonal al tumorii a fost pozitiv. În cazul demonstrării lipsei receptorilor hormonal la tumoare, terapia hormonală nu a fost efectuată.

Rezultate

Rezultatele imediate ale tratamentului pacienților

Efectele tratamentului au fost evaluate după efectuarea chimioterapiei neoadjuvante. Tradițional, pentru evaluarea obiectivă a efectelor chimioterapiei, au fost utilizate binecunoscutele criterii ale Comitetului de Experți ai OMS. Dimensiunea tumorii și a metastazelor a fost apreciată prin măsurarea a două cele mai extinse extreme perpendiculare; toate măsurările au fost efectuate în Centrul Oncologic Regional din Donetsk, respectând principiul continuității (același dispozitiv și același specialist). Dimensiunile liniare au fost măsurate cu ajutorul șublerului (McGhan Medical Corporation, CA, SUA), care are diviziuni de 0,1 mm.

După terapia neoadjuvantă, leucopenia în grupul de studiu a fost înregistrată în 3,6% din cazuri vs. 3,1%, în lotul de control.

În grupul de studiu, au fost efectuate 130 (95,6%) de intervenții tip Madden și 6 (4,4%) intervenții tip Halstead. În acest lot, 18 (13,2%) pacienți au fost diagnosticați cu gradul 1 de patomorfism; 33 (24,3%) de pacienți – cu gradul 2; 41 (30,2%) de pacienți – cu gradul 3 și 39 (28,7%) – cu gradul 4 (Figura 1).

În grupul de control, au fost efectuate 33 (91,7%) de intervenții tip Madden și 3 (8,3%) – modificate după Halstead. Primul grad de patomorfism a fost detectat la 4 (11,1%) pacienți, gradul 2 – la 9 (25%), gradul 3 – la 10 (27,8%). Patru pacienți (11,1%) au avut gradul 0 de patomorfism (Figura 1).

Complicații postoperatorii au avut 5,2% din lotul de studiu și 8,3% – din lotul de control. Limforeea la pacienții din grupul de investigație a fost observată în 3,7% din cazuri, vs. 2,8%, la grupul de control; cicatrizare secundară – 1,5% vs. 2,8%, respectiv, lot de studiu vs. lot control. De asemenea, în lotul de control a fost constatată o necroză regională a țesuturilor în 2,8% din cazuri.

care a fost dată în departamentul de radiologie al Centrului Oncologic Regional din Donetsk. Iradierea leziunii primare și a regiunilor adiacente a fost efectuată cu dispozitive gamma-terapeutice "Rokus" (JSK "Rawenstvo", Sankt Petersburg, Federația Rusă) și "Agat" (JSK "NIITFA", Saransk, Federația Rusă) în modurile clasice de fracționare a dozei.

Terapia hormonală a fost dată în conformanță cu conceptele moderne.

Ablația farmacologică sau chirurgicală a fost efectuată pacienților cu conservarea funcției menstruale și prezența receptorilor hormonali în tumoră, după care au fost administrate antiestrogenii timp de 2-3 ani, urmată de administrarea inhibitorilor de aromatază sau extinderea terapiei cu antiestrogenii până la 5 ani.

Antiestrogenii sau inhibitorii de aromatază au fost prescriși tuturor pacienților în postmenopauză care nu au fost evaluate pentru statutul hormonal al tumorii, sau la care statutul hormonal al tumorii a fost pozitiv. În absența receptorului hormonal în tumoră, terapia hormonală nu a fost efectuată.

Rezultate

Rezultatele imediate ale tratamentului pacienților

Evaluarea efectului tratamentului a fost efectuată în perioada după chimioterapia neoadjuvantă. Tradițional, în scopul evaluării obiective a efectului chimioterapiei, au fost utilizate criteriile cunoscute ale Comitetului de Experți ai OMS. Pentru evaluarea dimensiunii tumorii și a metastazelor a fost utilizată măsurarea a două cele mai extinse extreme perpendiculare; toate măsurările au fost efectuate în Centrul Oncologic Regional din Donetsk, respectând principiul continuității (un aparat și aceiași specialiști). Pentru măsurările liniare ale tumorilor au fost utilizate șublerul (McGhan Medical Corporation, CA, SUA) cu diviziuni de 0,1 mm.

În grupul de studiu, după chimioterapia neoadjuvantă, leucopenia a fost înregistrată în 3,6% din cazuri vs. 3,1% în grupul de control.

În grupul de studiu, au fost efectuate 130 (95,6%) de intervenții tip Madden și 6 (4,4%) de intervenții tip Halstead. În acest lot, 18 (13,2%) pacienți au fost diagnosticați cu patomorfism de gradul 1, 33 (24,3%) pacienți – cu patomorfism de gradul 2, 41 (30,2%) pacienți – cu patomorfism de gradul 3 și 39 (28,7%) pacienți – cu patomorfism de gradul 4 (Figura 1).

În grupul de control, au fost efectuate 33 (91,67%) de intervenții tip Madden și 3 (8,33%) de intervenții tip Halstead. În acest lot, 4 (11,1%) pacienți au fost diagnosticați cu patomorfism de gradul 1, 9 (25%) pacienți – cu patomorfism de gradul 2, 10 (27,8%) pacienți – cu patomorfism de gradul 3, 4 (11,1%) pacienți – cu patomorfism de gradul 0 (Figura 1).

Complicații postoperatorii au avut 5,2% în grupul de studiu și 8,3% în grupul de control. Limfocite în sânge în pacienții din grupul de investigație au fost observate în 3,7% din cazuri, vs. 2,8% în grupul de control; cicatrizare secundară – 1,5% vs. 2,8%, respectiv, grup de studiu vs. grup control. De asemenea, în grupul de control a fost constatată o necroză regională a țesuturilor în 2,8% din cazuri.

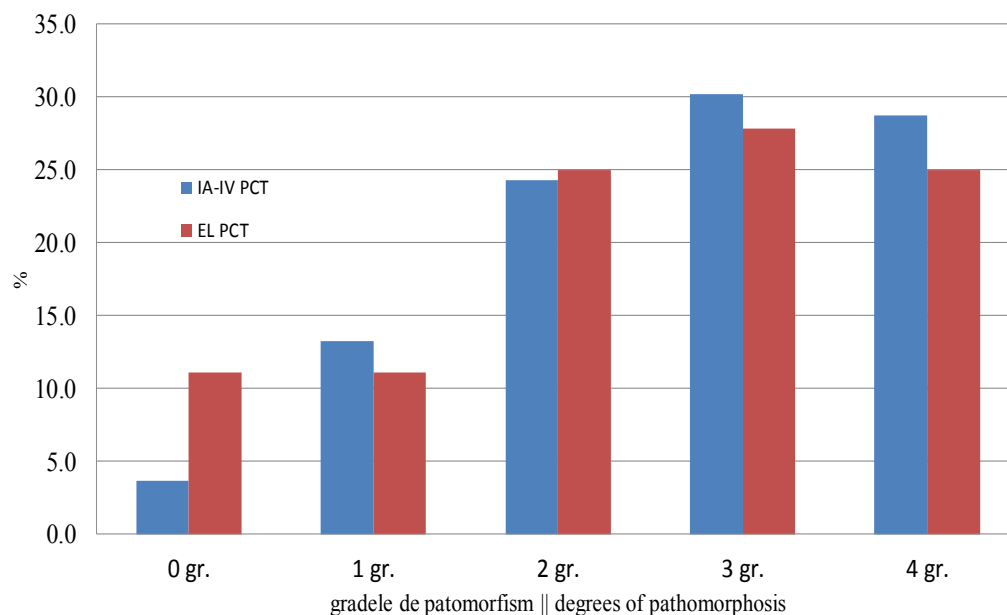


Fig. 1 Gradele de patomorfism al tumorilor în lotul tratat cu polichimioterapie intra-arterială, combinată cu cea sistemică (IA-IV PCT) vs. lotul tratat cu polichimioterapie endolimfatică (EL PCT).

Fig. 1 Degrees of tumour pathomorphosis in group, treated by combined intra-arterial and intravenous polichemotherapy (IA-IV PCT) vs. treated by endolymphatic polichemotherapy (EL PCT).

La compararea parametrilor, ce reprezintă eficiența tratamentului conform criteriilor RECIST, au fost identificate diferențe semnificative între loturile cercetate ($p=0,02$).

Significant differences were found after comparing parameters of treatment efficiency according to RECIST criteria ($p=0.02$).

Table 1. Eficiența tratamentului pacienților prin prisma criteriilor RECIST.

Eficiența tratamentului	Lotul PCTIA, n (%)	Lotul PCTEL, n (%)
Totală	11 (8,1)	2 (5,6)
Parțială	107 (78,7)	17 (47,2)
Stabilizare	17 (12,5)	15 (41,7)
Progresare	1 (0,7)	2 (5,6)

Table 1. The effectiveness of treatment of the patients according to RECIST criteria.

Treatment efficiency	PCTIA group, n (%)	PCTEL group, n (%)
Total	11 (8.1)	2 (5.6)
Partial	107 (78.7)	17 (47.2)
Stabilization	17 (12.5)	15 (41.7)
Progression	1 (0.7)	2 (5.6)

Eficiența tratamentului a fost evaluată prin mamografie, cu măsurarea celor două dimensiuni ale tumorii primare în proiecția frontală și laterală.

Rezultatele la distanță ale tratamentului pacienților

În timpul urmăririi la distanță, la pacientele grupului de studiu au fost constatate următoarele variante de evoluție a bolii după tratament: progresare – 35 (15,8%) de cazuri, dintre care la 10 (4,5%) paciente au fost depistate metastaze osoase. Metastaze pulmonare au fost găsite la 7 (3,2%) paciente într-un interval de 14,2 luni.

Focare hepatice au fost depistate la examenul de control în 4 (1,8%) cazuri, după 13,4 luni de supraveghere; pleurezia metastatică – în 4 (1,8%) cazuri, după 12,6 luni de supraveghere. Leziunea cerebrală constatată în 2 (0,9%) cazuri, în medie, la 7,8 luni de supraveghere; metastaze intradermale – tot în 2 (0,9%) cazuri, după 7,3 luni. Recurența maladiei în regiunea cicatricii chirurgicale – într-un singur caz (0,5%), la o

The effectiveness of the treatment was evaluated by mammography, measuring two sizes of the primary tumor in the frontal and lateral projections.

Long-term results of palliative treatment of patients

During the follow-up of patients from the control group, the following types of evolution were observed: progression of the disease in 35 (15.8%) patients, of whom 10 (4.5%) patients had metastatic bone disease. Pulmonary metastases were found in 7 (3.2%) patients in a 14.2 months interval.

Liver metastases were diagnosed at the control examination in 4 (1.8%) patients after 13.4 months, metastatic pleurisy was found in 4 (1.8%) patients after 12.6 months. Brain damage was found in 2 (0.9%) patients on an average after 7.8 months; intradermal metastases were detected in 2 (0.9%) patients, after the average interval of 7.3 months. Recurrence in the postoperative scar was found in 1 (0.5%) patient, after the average interval of 19.5 months. The supraclavicular lym-

distanță de 19,5 luni. Leziune metastatică a limfonodurilor supraclaviculare – de asemenea, a fost înregistrată într-un singur caz (0,5%), după 3,2 luni de supraveghere. Metastaze în nodulii limfatici axilari controlaterali au fost detectați în 3 (1,4%) cazuri, la 15 luni de la sfârșitul tratamentului. Metastaze în mușchiul pectoral mare au fost constatate într-un singur caz (0,5%), după 11,7 luni de la chimio-radioterapie și intervenția chirurgicală.

Rezultatele supravegherii la distanță a pacienților din grupul de control au fost, după cum urmează: la 14 (21,5%) paciente, boala a progresat; 1 pacientă (1,5%) a fost diagnosticată cu pleurită metastatică după 11,4 luni de supraveghere. Metastaze osoase au fost constatate la 7 (10,8%) paciente la un interval mediu de 13,8 luni; pulmonare – 4 (6,2%) paciente, după 10,6 luni, în medie. Metastaze intradermale au fost constatate în 1 (1,5%) caz, la 14,2 luni distanță, în medie. Recurența în cicatricea chirurgicală a fost detectată la 2 (3,0%) paciente, după 11,9 luni. Metastaze în nodulii limfatici mediastinali au fost constatate la o singură pacientă (1,5%), peste 33,1 luni după tratament.

Toate pacientele, la care s-a constatat progresarea bolii, au beneficiat de îngrijiri paliative.

Referitor la cazurile de infiltrare tumorală a cicatricii postoperatorii, durata medie de diagnosticare a metastazelor a fost de 14,2 luni în lotul de control vs. 19,5 luni – în cel de studiu.

Mediana duratei de supraviețuire în grupul de studiu a fost de 14,7 luni, pe când în lotul experimental – 10,7 luni.

Discuții

La compararea curbelor de supraviețuire a ambelor loturi, s-a constatat o diferență statistic semnificativă între ele ($p < 0,001$; utilizat testul log-rank, cu corecția Yates).

S-a stabilit, că pacientele care au avut un efect complet sau

ph node metastatic lesion was found in 1 (0.5%) case, after the average interval of 3.2 months. Metastases in the contralateral axillary lymph nodes were detected in 3 (1.4%) patients after 15 months after completion of treatment. Metastasis in the *pectoralis major* muscle was found in 1 (0.5%) case after 11.7 months after radio chemotherapy and surgery.

The results of the dynamic observation in the patients of the control group were the following: 14 (21.5%) patients showed progression of the disease; 1 (1.5%) patient was diagnosed metastatic pleuritis, after 11.4 months of follow-up. Bone metastases were revealed in 7 (10.8 %) patients after 13.8 months, lung metastases – in 4 (6.2%) patients, after the average period of time of 11.4 months; intradermal metastases – in 1 (1.5%) patient on an average in 14.2 months. Recurrence into the surgical scar was detected in 2 (3.0%) patients, on an average in 11.9 months, metastasis in the mediastinal lymph nodes – 1 (1.5%) patient in a 33.14 months mean interval after completion of treatment.

All patients diagnosed with progression of the disease have received palliative symptomatic treatment.

Regarding cases of infiltration in the postoperative scar the average time of metastasis diagnose was: in the control group the average period was 14.2 months; while in the investigated group the average period was 19.5 months.

Mean survival rate for patients of the investigated group was 14.7 months, while for the patients in the control group it was 10.7 months.

Discussion

When comparing the survival curves, both groups of patients showed a statistically significant difference ($p < 0.001$ when using log-rank test with Yates correction).

It was found that the patients who achieved a complete or

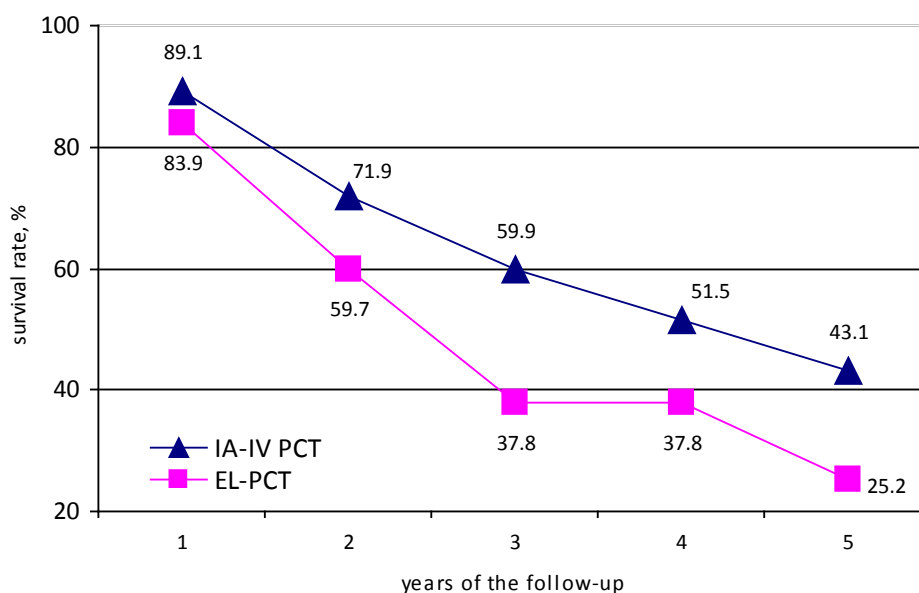


Fig. 2 Supraviețuirea pacienților, în funcție de loturile investigate.

Fig. 2 Patient's survival rate, depending on study group.

parțial, conform criteriilor RECIST, au trăit mai mult după chimioterapia intra-arterială selectivă. Un răspuns complet sau parțial, conform criteriilor RECIST, au înregistrat pacientele lotului de studiu, care au avut și o rată de supraviețuire mai bună.

Speranța medie la viață la pacientele din grupul de studiu a fost de $3,4 \pm 0,2$ ani, în timp ce în lotul de control – de $2,8 \pm 0,3$ ani; speranța la viață, obținută de noi, o depășește pe cea raportată de autorii ucrainieni sau cei străini.

Supraviețuirea la 3 ani în lotul de studiu a fost de 59,9%, la 5 ani – de 43,1%. În lotul de control, parametrii menționați au fost de 37,8% și 25,2%, respectiv, la 3 și la 5 ani (Figura 2).

Concluzii

Rezultatele tratamentului pacientelor cu cancer de sân local-avansat, cu pronostic nefavorabil al creșterii tumorale, care constă din asocierea metodei propuse de polichimioterapie selectivă intra-arterială prin artera toracică internă cu cea intravenoasă, împreună cu radioterapia și hormonoterapia, oferă rezultate mai favorabile, comparativ cu tratamentul convențional, care constă din mastectomie și polichimioterapie.

Metodele de chimioterapie, propuse de autori, pot fi recomandate pentru utilizare pe larg la aceste paciente.

Contribuția autorilor

I. S., V. D. au formulat ipoteza de studiu și au participat la elaborarea designului cercetării, colectarea datelor primare și la scrierea manuscrisului. O. B. a realizat analiza statistică. Versiunea finală a manuscrisului a fost citită și aprobată de toți autorii.

Declarația de conflict de interes

Autorii declară lipsa conflictului de interese financiare sau nonfinanciare.

Referințe / references

1. Aksel E. M. Malignant neoplasm of the breast: state of oncologic care, morbidity and mortality. *Mammalogy*, 2006; 1: 9-13.
2. Shalimova S. O. Cancer in Ukraine, 2010-2011. Morbidity, mortality, indices of activity of the oncologic service. *Bulletin of the National Cancer Register of Ukraine*. Kiev, 2012; 13: 51.
3. Sedakov I. E. Morphologic criteria of diagnosis, evaluation of efficacy and prognosis in combined treatment of locally-advanced primary-inoperable breast cancer. *Ukr. Med. Almanach*, 2004; 7 (3): 33-137.
4. Sedakov I. E. Selective intra-arterial polychemotherapy in complex treatment of primary-inoperable breast cancer. *Abstract of the thesis for getting a scientific degree of Doctor of medical sciences, specialty 14.01.07 – Oncology*. Donetsk, 2004; 42 p.
5. Bondar G. V., Sedakov I. E., Shlopov V. G. Primary-inoperable breast cancer. Donetsk, Ed. Kashtan, 2005; 348 p.
6. Garin A. M. Principles and possibilities of modern endocrine therapy of tumors. M., 2000; 207 p.

partial effect of treatment by the RECIST scale, live longer after selective intra-arterial chemotherapy. Full or partial response by RECIST scale was often reported in patients in the investigated group, having better survival rates.

The average life expectancy of patients of the investigated group was 3.4 ± 0.2 years, while in the control group it was 2.8 ± 0.3 years, which significantly exceeded the statistical data of domestic and foreign authors.

Three year survival rates of patients of the investigated group was 59.9% and 5 year survival rate was 43.1%. In the control group the same parameters were 37.8% and 25.2% at 3 and 5 years, respectively (Figure 2).

Conclusion

Results of complex treatment of locally advanced breast cancer with unfavorable prognostic factors of tumor growth that consist of using a combination of selective intra-arterial injection and intravenous chemotherapy through the internal thoracic artery, in combination with radiation and hormonal therapy exceed the results of conventional treatment that consists of mastectomy and systemic poly-chemotherapy.

The method developed by the authors can be recommended for widespread use in these patients.

Authors' contribution

I.S., V.D. conceived the study hypothesis and participated in drafting of the research design, clinical data collection and contributed to writing the manuscript. O.B. performed statistical analysis. Final manuscript was read and approved by all authors.

Declaration of conflicting interests

Authors declare no financial or nonfinancial conflict of interest.

7. Semikoz N. G., Sedakov I. E., Truhin D. V., Alexandrov A. I., Boloban G. V., Khlopushin E. Yu. Tactics of treatment of patients with locally-advanced breast cancer. *Zaporozhye Medical Journal*, 2004; 3: 115-117.
8. Sedakov I. E. Locally-advanced, primary inoperable breast cancer: pathomorphologic evaluation of efficacy of the comprehensive treatment. *Medical and Social Problems of the Family*, 2003; 8 (4): 55-61.
9. Miller W., Ingle J. Endocrine therapy in breast cancer. New York, 2002; 378 p.
10. Merrick H., Hager E., Dobelbower R. Intraoperative radiation therapy for breast cancer. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.*, 2003; 12 (4): 1065-78.
11. Meric-Bernstam F. Breast conservation in breast cancer: surgical and adjuvant considerations. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2004; 16 (1): 31-6.

ARTICOL DE CERCETARE

Prostatectomia radicală ca metodă de tratament în cancerul de prostată local-avansat: studiu bicentric, retrospectiv, descriptiv

Vladimir Leonidovich Medvedev^{1†}, Viktoriia Vladimirovna Lysenko^{2†*}, Alexander Vladimirovich Medvedev^{1†}, Igor Valerievich Mykhailov^{1†}, Alexander Ivanovich Strelyaev^{1†}, Larisa Grigorievna Rosha^{2†}

¹Catedra de urologie, Universitatea de Stat de Medicină din Kuban, Krasnodar, Federația Rusă;

²Catedra de oncologie, Centrul de Medicină Reconstructivă al Clinicii Universitare, Universitatea Națională de Medicină din Odessa, Odessa, Ucraina.

Autor corespondent:

Victoriia Vladimirovna Lysenko
Clinica Universitară din Odessa
str. Tenistaya, 8, Odessa, Ucraina, 65009
e-mail: victorya_lisenko@mail.ru

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Până în anul 2009, prostatectomia radicală era rareori utilizată ca metodă de bază al tratamentului cancerului de prostată local-avansat, cu factori de pronostic negativ în sensul progresării tumorii. Prezentarea rezultatelor prostatectomiei radicale, efectuate pe un lot impunător de pacienți cu această patologie, ar putea servi drept temelie pentru o nouă tactică de tratament.

Ipoteza de cercetare

Cercetare retrospectivă a rezultatelor prostatectomiei radicale, efectuate la pacienții cu cancer de prostată local-avansat.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Prostatectomia radicală oferă un control sigur al tumorii la majoritatea pacienților cu cancer de prostată local-avansat și permite evaluarea mai exactă a extinderii procesului neoplazic.

Rezumat

Introducere. Actualmente, există numeroase criterii ce vizează depistarea cancerului de prostată (PCa) cu risc înalt de progresie. Prostatectomia radicală (RPE) poate fi efectuată și la pacienții cu PCa local-avansat, fără riscul creșterii numărului de complicații.

Material și metode. Studiu retrospectiv, descriptiv, bicentric, efectuat pe un eșantion total de 276 de pacienți (91

RESEARCH ARTICLE

Radical prostatectomy in the treatment of locally advanced prostate cancer: a retrospective, bicentric, descriptive study

Vladimir Leonidovich Medvedev^{1†}, Viktoriia Vladimirovna Lysenko^{2†*}, Alexander Vladimirovich Medvedev^{1†}, Igor Valerievich Mykhailov^{1†}, Alexander Ivanovich Strelyaev^{1†}, Larisa Grigorievna Rosha^{2†}

¹Chair of Urology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation;

²Chair of Oncology, Center of Reconstructive Medicine of the University Clinic of Odessa, Odessa National University of Medicine, Ukraine.

Corresponding author:

Victoriia Vladimirovna Lysenko
University Clinic of Odessa
8, Tenistaya str., Odessa, Ukraine, 65009
e-mail: victorya_lisenko@mail.ru

What is not known yet, about the topic

Until 2009, radical prostatectomy was rarely used as a basic method of locally advanced prostate cancer treatment, with negative prognostic factors regarding the tumour progression. Case presentation of radical prostatectomy, made on a large number of patients with this pathology, could serve as a base for new treatment tactics.

Research hypothesis

Retrospective research of results of radical prostatectomy, made on patients with locally advanced prostate cancer.

Article's added novelty on this scientific topic

Radical prostatectomy offers a reliable control of tumours in most of the patients with locally advanced prostate cancer and allows better evaluation of the tumour extension.

Abstract

Introduction. There are a lot of criteria characterizing high-risk of progression prostate cancer (PCa) nowadays. Radical prostatectomy (RPE) being used for years makes it possible to perform this surgery in patients with locally advanced PCa without the risk of increasing the number of complications.

Material and methods. Retrospective, descriptive, bicentric study, made on a total number of 276 patients (91 – locally

– PCa local-avansat și 185 – PCa local). Descrișă evoluția post-operatorie a pacienților pe o durată de până la 36 luni.

Rezultate. Prostatectomia radicală permite un control fiabil al procesului neoplazic la 75% dintre pacienții cu PCa avansat local, aprecierea gradului de extindere al tumorii fiind mai exactă. Progresia biochimică a fost semnificativ mai des întâlnită la pacienții cu stadiul pT3 la PCa; cu toate acestea, doar la 5,6% dintre ei nivelul postoperatoriu de PSA a fost peste 0,2 mg/mL. Doar 35,2% dintre acești pacienți au necesitat tratament multimodal pe parcursul primelor 12 luni de monitorizare postoperatorie. Dintre aceștia, doar 18,9% au necesitat radioterapie adjuvantă (RT), 3,2% – tratament hormonal adjuvant (HT) și 13,1% – RT și HT, în combinație, luând în considerare factorii de pronostic negativ.

Concluzii. Prostatectomia radicală oferă un control sigur al tumorii la majoritatea pacienților cu cancer de prostată local-avansat și permite evaluarea mai exactă a extinderii procesului neoplazic. Pacienții cu stadiu pT3 necesită un control mai riguros al nivelului de PSA în primele 12 luni după intervenție, cu scopul unei eventuale inițieri precoce al altor tratamente adjuvante. Este argumentată și instituirea unui control programat al pacienților după prostatectomie radicală începând cu 24 luni postoperatoriu, în scopul identificării precoce a progresării tumorii din micrometastazele preexistente în ganglionii limfatici retroperitoneali și structurile osoase, care sunt nedetectabile preoperatoriu.

Cuvinte cheie: cancer de prostată local-avansat, prostatectomie radicală, margini chirurgicale pozitive, progresie biochimică.

Introducere

Conform datelor statistice internaționale, cancerul de prostată (PCa) ocupă un loc de frunte după frecvența diagnostică și rata decesului în Europa, America de Nord, America de Sud și în țările CSI. *Screening*-ul activ identifică un număr mare de pacienți cu PCa asimptomatic, în special în categoria de vârstă de peste 75 de ani, fapt ce permite aplicarea unor programe de monitorizare activă a acestor pacienți. Contrar acestui fapt, medicii urologi se întâlnesc din ce în ce mai des cu tumori cu creștere agresivă, care sunt local avansate sau prezintă metastaze regionale [1].

De obicei, aceste tipuri de cancer de prostată răspund pentru scurt timp la terapia hormonală, cu stoparea temporară a dezvoltării procesului, însă, ameliorarea este rapid urmată de o generalizare dramatică a tumorii, cu metastazare la distanță. Formele rapid progresive de CaP prevalează la pacienții în vârstă sub 65 de ani; în lipsa altor comorbidități severe, cancerul devine cauza primordială de deces la această categorie de pacienți [2].

Actualmente, există numeroase criterii care identifică cancerul de prostată cu risc înalt. Drept criterii principale ale agresivității tumorii sunt considerate gradul de diferențiere după Gleason ≥ 8 puncte, nivelul seric al antigenului prostatic specific (PSA) >20 ng/mL în momentul diagnosticării, stadiul clinic al tumorii T3 și mai mare.

Până în anul 2009, prezența acestor caracteristici exclu-

advanced PCa, and 185 – local PCa). The evolution of 36 months of follow-up was described.

Results. Radical prostatectomy provided reliable control of the tumor in 75% of patients with locally advanced PCa, allowed to assess more accurately the extent of the tumor process. Biochemical progression was significantly more frequently found in patients with pT3 stage of PCa; however, only in 5.6% of them, postoperative levels of PSA were over 0.2 mg/mL. Only 32.5% of these patients required multimodal treatment within the first 12 months of postoperative follow-up. Out of them, 18.9% required adjuvant radiotherapy (RT), 3.2% – adjuvant hormonal therapy (HT) and 13.1% – RT and HT taking in consideration negative prognostic factors.

Conclusions. Radical prostatectomy offers a reliable control of tumours in the majority of patients with locally advanced prostate cancer and allows better evaluation of the extension of the neoplastic process. Patients with pT3 stage of cancer need a more rigorous control of PSA levels in the first 12 months after the surgery, in order to early initiate other adjuvant therapies. It is also reasonable to initiate a protocol of programmed control of patients that underwent radical prostatectomy in the first 24 months after the surgery, in order to early identify tumour progression from pre-existent micrometastasis in retroperitoneal lymphatic nodes and bones that are undetectable preoperatively.

Keywords: locally advanced prostate cancer, radical prostatectomy, positive surgical margins, biochemical progression.

Introduction

Prostate cancer (PCa), as evidenced by the world statistics, keeps the leading position in Europe, North and South America and the CIS in the frequency of diagnosis and causes of death. Active screening allows to identify a large number of asymptomatic PCa, especially at the age of over 75 years, allowing to implement a strategy of active follow-up to these patients. In contrast to this category of patients, urologists increasingly face with very aggressive tumors with aggressive progression that are locally advanced or had regional metastases [1].

Typically, these prostate cancers give only a short-term response to usual hormonal treatment with temporary slowdown of their development, followed by a dramatic rapid generalization of the tumor with distant metastasis. Such rapidly progressing PCa is more common in patients under the age of 65 years, even without severe comorbidities, and therefore cancer represents the main cause of death in this category of patients [2].

There are a lot of criteria characterizing high-risk prostate cancer nowadays. The main criteria of the aggressiveness of the tumor are differentiation by Gleason (≥ 8 points), the level of serum prostate-specific antigen (PSA) >20 ng/mL at the moment of diagnosis, a clinical stage of the tumor T3 and more.

Until 2009, these clinical characteristics excluded the possibility of prostate cancer radical prostatectomy (RPE) as the

deau posibilitatea efectuării prostatectomiei radicale (RPE) ca metodă de bază al tratamentului cancerului de prostată. Dar, concluziile morfologice postoperatorii la pacienții cu cancer de prostată cu risc înalt au constatat un procent înalt de discordanțe în stabilirea stadiului exact al maladiei, când se confruntau datele preoperatorii cu cele postoperatorii; așadar, doar 35,5% dintre pacienții operați au prezentat PCa localizat, iar numărul complicațiilor postoperatorii severe nu au avut legătură cu pT [3, 4]. Prin urmare, tehnica RPE utilizată de mai mulți ani face posibilă efectuarea acestei intervenții chirurgicale și la pacienții cu forme locale avansate de cancer de prostată, fără riscul creșterii numărului de complicații [5, 6, 7, 8]. În acest context, rămâne importantă precizarea rezultatelor tratamentului chirurgical la această categorie de pacienți, pentru a evalua mai exact utilitatea acestei metode de tratament.

Așadar, scopul studiului a fost evaluarea rezultatelor prostatectomiei radicale, efectuate pacienților cu cancer de prostată local-avansat și compararea rezultatelor obținute cu cele raportate în publicațiile științifice recente din ultimii 6 ani.

Material și metode

A fost efectuată o analiză retrospectivă a rezultatelor RPE la 91 de pacienți cu PCa local-avansat, care au fost operați în Departamentul de oncologie al Centrului de Medicină Reconstructivă (Clinica Universitară Multidisciplinară a Universității Naționale de Medicină din Odessa, Ucraina) și în Spitalul Clinic „Ochapovsky S. V.” al Ținutului Krasnodar (Universitatea de Medicină din Kuban, Federația Rusă). Datele acestora au fost comparate cu cele ale 185 de pacienți operați de cancer local de prostată.

Apoi, rezultatele noastre au fost comparate cu cele publicate recent, în ultimii 6 ani, care provin din Centre Europene de referință în domeniu.

Au fost evaluate frecvența și localizarea marginilor chirurgicale pozitive (PSM) și procentul pacienților fără recidive biochimice ale maladiei până la o durată postoperatorie de urmărire de 36 de luni; de asemenea, a fost evaluată și necesitatea terapiei adjuvante, prescrise conform Ghidurilor EAU pacienților cu cancer de prostată local-avansat.

Rezultate

Caracteristica comparativă a loturilor de studiu este prezentată în Tabelul 1.

Tabelul 1. Caracteristica comparativă a loturilor de studiu.

Parametri	Lot PCa pT3 (n=91)	Lot PCa pT2 (n=185)	p
Vârsta, ani	61,0±7,1	62,5±6,5	0,105 [#]
Scor Gleason, puncte	6,7±1,5	5,1±1,5	<0,001 ^{&}
Nivelul PSA [†] , ng/mL	32,6±8,4	9,2±4,9	<0,001 [#]
Rata depistării PSM [‡] , %	29,6	12,9	<0,001 ^{&}

Notă: [†] – antigen specific de prostată; [‡] – margini chirurgicale pozitive. Datele sunt prezentate drept medie și deviere standard sau sub formă de valori relative (%). Teste statistice: [#] – t-Student și [&] – Fisher exact.

Particularitățile localizării PSM în funcție de extinderea tumorii, este prezentată în Tabelul 2.

main method of treatment. However, when analyzing the data of postoperative morphological studies in patients with high-risk PCa there was noted a large percentage of non-coincidence of the preoperative and postoperative tumor stage, and only 35.5% of the operated patients had localized PCa, and the number of serious postoperative complications did not depend on the stage of pT [3, 4]. Thus, the RPE technique being used for years makes it possible to perform this operation in patients with locally advanced prostate cancer without the risk of increasing the number of complications [5, 6, 7, 8]. It is still important to study the results of surgical treatment of such patients to assess its usefulness.

The objective of the study was to assess the results of RPE in patients with locally advanced PCa, and to compare our results with results from scientific publications for the last 6 years.

Material and methods

There was made a retrospective analysis of the results of RPE in 91 patients with locally advanced PCa who were operated on in two centers: at the Department of Oncology from Center of the Reconstructive Medicine (Multidisciplinary University Clinic of the Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine) and Clinical Hospital “Ochapovsky S.V.”, Krasnodar (Kuban State Medical University, Russian Federation). Results were compared with the results of 185 patients operated due to local prostate cancer.

Results were also compared with recent publications of the leading European centers on this issue in the last 6 years.

Frequency and positive surgical margins (PSM) were evaluated, as well as the percentage of patients with no biochemical relapse of the disease for 36 months of postoperative follow-up; also the necessity of adjuvant therapy was evaluated, prescribed by the EAU Guidelines regarding patients with locally advanced prostate cancer.

Results

Comparative characteristics of the study groups are shown in Table 1.

Table 1. Comparative characteristics of the study groups.

Parameters	PCa pT3 Group (n=91)	PCa pT2 Group (n=185)	p
Age, years	61.0±7.1	62.5±6.5	0.105 [#]
Gleason score, points	6.7±1.5	5.1±1.5	<0.001 ^{&}
PSA [†] levels, ng/mL	32.6±8.4	9.2±4.9	<0.001 [#]
Detection rate PSM [‡] , %	29.6	12.9	<0.001 ^{&}

Note: [†] – prostate specific antigen; [‡] – positive surgical margins. Data is presented as mean values and standard deviation as relative values (%). Statistic tests: [#] – t-Student and [&] – Fisher exact test.

Particularities of PSM localisation in relation with tumour extension are presented in Table 2.

Table 2. Localizarea marginilor chirurgicale pozitive în funcție de stadiul pT la rezecția radicală de prostată.

Parametri PSM [‡]	pT3	pT2	p
Apexul prostatei (uretra), %	7,8	6,5	<0,05
Baza prostatei (colul vezicii urinare), %	15,4	3,8	<0,001
Două și mai multe PSM, %	6,5	-	<0,001
Rata generală a PSM	29,7	10,3	<0,001

Notă: Teste statistice – Fisher exact.

Prin urmare, la pacienții cu PCa local-avansat, PSM sunt frecvent detectate în zona adiacentă colului vezicii urinare, spre deosebire de pacienții cu PCa localizat, la care zona parauretrală de situare este mai tipică. Aceste aspecte devin importante pentru realizarea unei disecții economice a țesuturilor, cu scopul de a păstra continența urinară și funcția erectilă. În plus, doar la pacienții cu cancer local-avansat au fost determinate ambele localizări ale PSM, care cu siguranță, reprezintă un factor de pronostic negativ.

La compararea supraviețuirii fără progresie biochimică s-au depistat următoarele tendințe (Figura 1).

Table 2. Localisation of positive surgical margins in relation to pT stage in radical prostatectomy.

PSM [‡] parameters	pT3	pT2	p
Prostate apex (urethra), %	7.8	6.5	<0.05
Prostate base (bladder neck), %	15.4	3.8	<0.001
Two and more PSM, %	6.5	-	<0.001
General rate of PSM	29.7	10.3	<0.001

Note: Statistical test – Fisher exact test.

Therefore, in patients with locally advanced PCa, PSM are more often detected close to the neck of the bladder, comparing to patients with localized PCa, in which the typical localization was the paraurethral region. These aspects become important for economic dissection of tissues in order to preserve urinary continence and erectile function. In addition, only in patients with locally advanced cancer both localizations of PSM were detected, that represent a negative prognostic factor.

The following tendencies were noted when comparing survival with no biochemical progression (Figure 1).

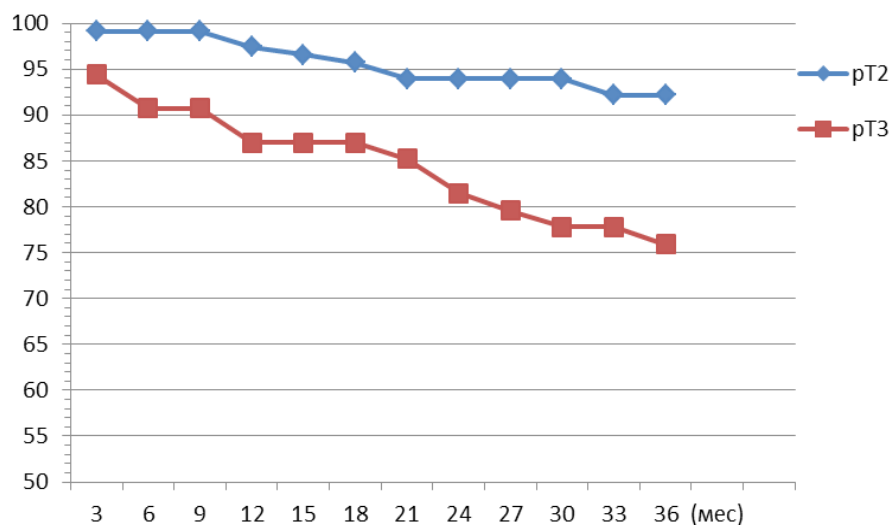


Fig. 1 Rata fără progresie biochimică pe durata urmării pacienților, pT2 vs. pT3 ($p < 0,01$).

Fig. 1 Rate of no biochemical progression during follow-up of the patients, pT2 vs. pT3 ($p < 0,01$).

Discuții

Rata depistării marginilor chirurgicale pozitive în studiul nostru este destul de comparabilă cu cele raportate de Schatloff O. *et al.*, în cazul prostatectomiei radicale robotizate (26,1%).

După cum și era de așteptat, progresia biochimică a fost semnificativ mai des întâlnită la pacienții cu stadiul pT3 la PCa; cu toate acestea, doar la 5,6% dintre ei nivelul postoperatoriu de PSA a fost peste 0,2 mg/mL. Doar 35,2% dintre acești pacienți au necesitat tratament multimodal pe parcursul primelor 12 luni de monitorizare postoperatorie. Dintre aceștia, doar 18,9% au necesitat radioterapie adjuvantă (RT), 3,2%

Discussion

The rate of detection of PSM is comparable with data published by Schatloff O. *et al.*, regarding radical robotized prostatectomy (26.1%).

As it was expected, biochemical progression was significantly higher in patients with pT3 PCa; however, only 5.6% of patients had postoperative PSA levels 0.2 ng/mL. Only 35.2% of these patients required further multimodal treatment during the first 12 months of postoperative follow-up. Out of these, only 18.9% required adjuvant radiation therapy (RT), 3.2% required adjuvant hormonal therapy (HT), and 13.1%

– tratament hormonal adjuvant (HT) și 13,1% – RT și HT, în combinație, luând în considerare factorii de pronostic negativ. Terapia multimodală a permis un control eficient al procesului tumoral la toți acești pacienți (Figura 1).

Diferențele semnificative dintre ratele fără progresie biochimică pe durata urmăririi pacienților cu CaP, aflat în stadiul pT2 vs. pT3 pot fi explicate prin faptul că la ultimii, intervenția a fost mai curând, una de „salvare”, deoarece unii pacienți au avut, chiar de la început, un pronostic foarte rezervat.

O tendință similară a fost constatată și după 2 ani de la începutul monitorizării postoperatorii, atunci când progresarea procesului tumoral a fost, probabil, consecința prezenței micro-metastazelor preexistente în nodulii limfatici retroperitoneali, care sunt foarte dificil de depistat preoperatoriu, chiar și prin metodele cele mai contemporane de diagnostic. În pofida acestui fapt, 64,8% dintre pacienții cu PCa local-avansat, nu au necesitat tratament adițional în primii 3 ani după prostatectomia radicală și nu au prezentat niciun semn de progresare a bolii.

Concluzii

Prostatectomia radicală oferă un control sigur al tumorii la majoritatea pacienților cu cancer de prostată local-avansat și permite evaluarea mai exactă a extinderii procesului neoplazic.

Pacienții cu stadiu pT3 necesită un control mai riguros al nivelului de PSA în primele 12 luni după intervenție, cu scopul unei eventuale inițieri precoce al altor tratamente adjuvante.

Este argumentată și instituirea unui control programat al pacienților după prostatectomie radicală începând cu 24 luni postoperatoriu, în scopul identificării precoce a progresării tumorii din micrometastazele preexistente în ganglionii limfatici retroperitoneali și structurile osoase, care sunt nedetectabile preoperatoriu.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la realizarea acestei lucrări. Versiunea finală a manuscrisului a fost aprobată de toți autorii.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interese financiare sau non financiare.

Referințe / references

1. Karnes J., Briganti A., Gontero P. *et al.* Risk stratification among men undergoing radical prostatectomy for high-risk prostate cancer in a U.S. cohort: an EMPACT validation study. *Eur. Urol. Suppl.*, 2013; 12 (4): 471-476.
2. Bastian P., Boorjian S., Bossi A., Briganti A., Heidenreich A., Freedland S. *et al.* High risk prostate cancer: from definition to contemporary management. *Eur. Urol.*, 2012; 61 (6): 1096-1106.
3. Ploussard G., Salomon L., Sallory Y. *et al.* Pathological findings and PSA outcomes after laparoscopic radical prostatectomy for high risk prostate cancer. *Eur. Urol. Suppl.*, 2010; 9 (2): 226.
4. Hsu C-Y., Joniau S., Lerut E., Oyen R., Roskams T., Van Poppel H. Outcomes for clinical T3b prostate cancer: a single institution experience. *Eur. Urol. Suppl.*, 2008; 7 (3): 102-108.

required RT and HT, taking into account negative prognostic factors. Multimodal therapy allowed effective control of the tumoral process in all of these patients (Figure 1).

Significant differences between the rate of no biochemical progression during the follow-up of patients with PCa, in stages pT2 vs. pT3, can be explained by the fact that in the latter, was rather a “salvage surgery”, due to weak prognostic from the beginning.

A similar tendency was observed after 2 years of the follow-up, when progression of the tumoral process was more likely to occur at the expense of development of previously latent micro-metastases in the retroperitoneal lymph nodes, which is difficult to diagnose preoperatively, even using modern radiation methods.

Despite this fact, 64.8% of patients with locally advanced PCa did not required additional treatment in the first 3 years after radical prostatectomy and did not show any signs of progression of the disease.

Conclusions

Radical prostatectomy provides reliable control of the tumor in most of patients with locally advanced prostate cancer and allows to accurately assess the extent of the tumoral process.

Patients with the stage pT3 require a more careful control of the PSA levels in the first 12 months after surgery in order to early initiate other adjuvant therapies.

It is also reasonable to initiate a protocol of programmed control of patients that underwent radical prostatectomy in the first 24 months after the surgery, in order to early identify tumour progression from pre-existent micrometastasis in retroperitoneal lymphatic nodes and bones that are undetectable preoperatively.

Authors' contribution

All authors contributed equally in this study. The final version of the manuscript was approved by all authors.

Declaration of conflicting interests

Authors declare no financial or non-financial conflict of interests.

5. Becker A., Tennstedt P., Steuber T., Graefen M., Heinzer H. Risk-factors for biochemical recurrence and clinical metastasis – free survival in D'Amico high-risk patients after radical prostatectomy. *Eur. Urol. Suppl.*, 2013; 12: e685.
6. Dahan M., Larré S., Vordos D., De La Taille A., Hoznek A., Yiu R., Al-lory Y., Abbou C.C., Salomon L. Invasion of bladder neck after radical prostatectomy (pt4): one definition for different prognosis. *Eur. Urol. Suppl.*, 2007; 6 (2): 56-60.
7. Sooriakumaran P., Srivastava A., Shariat-Shahrokh F. *et al.* A multinational, multi-institutional study comparing positive surgical margin rates among 22,393 open, laparoscopic, and robot-assisted radical prostatectomy patients. *Eur. Urol. Suppl.*, 2014; 66 (3): 450-456.
8. Van Oort I., Kok D., Kiemeny L., Knipscheer B., Mulders P., Hulsbergen-Van de Kaa C., Witjes J. Biochemical outcome of pT3 prostate cancer after radical prostatectomy. *Eur. Urol. Suppl.*, 2007; 6 (2): 53-56.

ARTICOL DE CERCETARE

Impactul imunogenetic asupra evoluției și tacticii de tratament la pacienții cu amigdalită cronică decompensată asociată sindromului articular: studiu prospectiv, pe serie de cazuri

Cezara Andronachi^{1*}

¹*Catedra de otorinolaringologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Autor corespondent:

Cezara Andronachi, doctorand

Catedra de otorinolaringologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: cezglav@gmail.com

RESEARCH ARTICLE

Immunogenetics impact on the evolution and treatment strategy in patients with decompensated chronic tonsillitis associated with articular syndrome: a prospective, case-series study

Cezara Andronachi^{1*}

¹*Chair of otorhinolaryngology, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Corresponding author:

Cezara Andronachi, PhD fellow

Chair of otorhinolaryngology

Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: cezglav@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Studierea nivelului de corelare între dereglările imunologice locale și procesele imune sistemice este importantă din motivul că se completează viziunea patogeniei amigdalitei cronice asociate cu sindromul articular de origine streptococică și se dă un impuls nou tratamentului patogenetic și formării unui prognostic just.

Ipoteza de cercetare

Valorificarea indicațiilor tratamentului conservativ și chirurgical în baza statutului clinico-paraclinic și imunogenetic (antigenii leucocitari de histocompatibilitate clasa IA, IB) la pacienții cu amigdalită cronică și sindrom articular.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Au fost identificate frecvențele alelelor HLA-A și HLA-B pentru pacienții tratați conservativ vs. tratați medicamentos. Diferențe statistice semnificative au fost constatate doar pentru HLA-B31 și HLA-B45, care au predominat în grupul tratat conservativ.

Rezumat

Introducere. Eficiența redusă a măsurilor de tratament a amigdalitei cronice este condiționată, într-o anumită măsură, de subaprecierea influenței imunogenetice asupra aspectului etiopatogenic. În ultimele decenii, au fost obținute rezultate evidente în studierea corelației dintre amigdalita cronică și antigenii leucocitari de histocompatibilitate.

What is not known yet, about the topic

Studying the level of correlation between local immunological disorders and systemic immune processes is important, because the results complement the pathogenesis vision of chronic tonsillitis, associated with the articular syndrome of streptococcal origin, and give new impulse to the pathogenic treatment and formation of a fair prognosis.

Research hypothesis

Highlighting of conservative and surgical treatment indications based on the clinical-laboratory and immunogenetic status (antigens HLA class IA, IB) in patients with chronic tonsillitis and articular syndrome.

Article's added novelty on this scientific topic

There have been identified frequencies of HLA-A and HLA-B alleles in patients treated conservatively vs. those treated medically. Statistically significant differences were found for the HLA-B31 and HLA-B45 only, which predominated in the group treated conservatively.

Abstract

Introduction. The low efficiency of chronic tonsillitis (CT) treatment measures is, to some extent, condition to the underestimation of the immunogenetics impact of the etiopathogenic aspect. In recent decades there were obtained obvious results in studying the correlation between CT and histocompatibility leukocyte antigens (HLA).

Material și metode. Studiu prospectiv consecutiv, pe serie de cazuri, ce a inclus 101 de pacienți adulți, în vârstă de 18-50 de ani, cu diagnosticul de amigdalită cronică decompensată; 50 de pacienți au beneficiat de tratament conservativ, iar 51 de pacienți au fost tratați chirurgical. Examinare clinică și paraclinică, specifică domeniului ORL; identificarea alelelor HLA-A și HLA-B. Teste statistice aplicate: t-Student și testul exact Fisher.

Rezultate. La pacienții cu amigdalite cronice și sindrom articular, tratați chirurgical, au fost diagnosticați următorii antigeni de histocompatibilitate: din clasa A [HLA-A2 – 45 (44,6%), HLA-A28 – 42 (41,6%), HLA-A24 – 24 (23,8%), HLA-AX – 10 (20,0%)] și din clasa B [HLA-B35 – 32 (31,7%), HLA-B44 – 18 (17,8%), HLA-BY – 15 (14,9%), HLA-B18 – 13 (12,9%)]. În lotul pacienților tratați medicamentos, cel mai frecvent au fost diagnosticați următorii antigeni HLA: din clasa A [HLA-A2 – 24 (48,0%), HLA-A28 – 22 (44,0%), HLA-A1 – 10 (20,0%), HLA-AX – 10 (20,0%)] și HLA din clasa B [HLA-B44 – 12 (24,0%), HLA-B35 – 11 (22,0%), HLA-B31 – 10 (20,0%), HLA-B18 – 8 (16,0%), HLA-BY – 8 (16,0%)].

Concluzii. Pentru optimizarea diagnosticului clinic și a prognosticului amigdalitei cronice cu sindrom articular, se recomandă aprecierea atât a variantei clinice a bolii, cât și analiza imunogenetică a patologiei (tipizarea HLA). Diferențe statistice semnificative între loturile de tratament conservativ și cel chirurgical al amigdalitei cronice cu sindrom articular s-au constatat doar pentru HLA-B31 și HLA-B45, care au predominat în grupul cu tratament conservativ.

Cuvinte cheie: amigdalită cronică, sindrom articular, artrită reactivă poststreptococică, febră reumatismală acută, antigeni leucocitari de histocompatibilitate.

Introducere

Inflamația cronică a amigdalelor palatine constituie una dintre cele mai frecvente afecțiuni ORL. Circa 10-50% din populație suferă de amigdalită cronică [1].

Amigdalita cronică (AC) determină numeroase complicații locale și/sau la distanță (cardiovasculare, articulare, renale etc.), care duc la pierderea de lungă durată a capacității de muncă, invaliditate și costuri semnificative de asistență medicală [2].

Complicațiile infecției cu Streptococul β -hemolitic din clasa A ($S\beta$ HA) sunt clasificate în nonsupurative și supurative. Febra reumatismală acută (FRA), artrita reactivă poststreptococică (ARPS) și glomerulonefrita acută reprezintă complicațiile nonsupurative majore care apar, în general, după 1-3 săptămâni de la debutul infecției cu $S\beta$ HA.

Procesele autoimune, prezente în țesutul limfatic al amigdalelor, favorizează dezvoltarea afecțiunilor sistemice în organism. Conform datelor OMS, amigdalita este cauza a peste 120 de afecțiuni ale organismului [13]. Așadar, AC, prin consecințele sale asupra sănătății populației, reprezintă nu numai o problemă medico-biologică, dar și una socială [13].

Patogenia AC este complicată și diversă. Legăturile etiopatogenice dintre AC și alte boli intercurente nu sunt bine stabili-

Material and methods. Consecutive prospective study, on series of cases, which included 101 adult patients, aged 18-50 years, diagnosed with decompensated chronic tonsillitis; 50 patients received conservative treatment and 51 patients were treated surgically. Clinical and laboratory examination, relevant to ENT domain; identifying HLA-A and HLA-B alleles. Applied statistical tests: t-Student and Fisher exact test.

Results. In patients with chronic tonsillitis and articular syndrome, treated surgically, were diagnosed following histocompatibility antigens: from class A [HLA-A2 – 45 (44.6%), HLA-A28 – 42 (41.6%), HLA-A24 – 24 (23.8%), HLA-AX – 10 (20.0%)] and from class B [HLA-B35 – 32 (31.7%), HLA-B44 – 18 (17.8%), HLA-BY – 15 (14.9%), HLA-B18 – 13 (12.9%)]. In the group of patients treated conservatively, the most commonly were diagnosed following HLA antigens: from class A [HLA-A2 – 24 (48.0%), HLA-A28 – 22 (44.0%), HLA-A1 – 10 (20.0%), HLA-AX – 10 (20.0%)] and from class B [HLA-B44 – 12 (24.0%), HLA-B35 – 11 (22.0%), HLA-B31 – 10 (20.0%), HLA-B18 – 8 (16.0%), HLA-BY – 8 (16.0%)].

Conclusion. To optimize the clinical diagnosis and the prognosis of chronic tonsillitis with articular syndrome is recommended assessing both clinical variant of the disease and immunogenetics analysis of the pathology (HLA typing). Statistically significant differences between the conservative treatment group and the surgical treatment group of chronic tonsillitis with articular syndrome were found for HLA-B31 and HLA-B45 only, which prevailed in the conservative treatment group.

Keywords: chronic tonsillitis, articular syndrome, post-streptococcal reactive arthritis, acute rheumatic fever, histocompatibility leukocyte antigens.

Introduction

The chronic inflammation of the tonsils is one of the most common ENT disease. About 10-50% of the population accuses chronic tonsillitis [1].

Chronic tonsillitis (CT) causes numerous local and/or remote complications (cardiovascular, joints, kidney etc.), leading to loss of long-term work abilities, disability and significant healthcare costs [2].

Streptococcus B-hemolytic class A ($S\beta$ HA) infection complications are classified in non-weeping and weeping. Acute rheumatic fever (ARF), post-streptococcal reactive arthritis (PSRA) and acute glomerulonephritis are non-suppurative major complications occurring in general after 1-3 weeks from the onset of the infection with $S\beta$ HA.

Autoimmune processes, present in the tonsillar lymph tissue, favors the development of systemic diseases in the body. According to WHO, tonsillitis causes more than 120 diseases of the body [13]. Therefore, CT, through its consequences on human health, is not only a medico-biological problem, but a social one also [13].

The CT pathogenesis is complex and diverse. The etiopathogenic links between CT and other diseases are not established. Studying the correlation level between local immunological disorders and systemic immune processes, phenomena

te. Estimarea gradului de corelare între dereglările imunologice locale, procesele imune sistemice și fenomenele care stau la baza reacției imune în zona dezvoltării unui proces inflamator izolat este importantă, cel puțin, din două puncte de vedere. Pe de o parte, aceste rezultate vor completa cunoștințele despre patogenia AC, iar pe de altă parte, ar da un impuls nou tratamentului patogen, fiind utile, totodată, la formarea unui prognostic [3].

Sunt propuse numeroase metode de tratament al AC, dar, în majoritatea cazurilor, nu se obține efectul dorit. Eficiența redusă a măsurilor de tratament este condiționată, într-o anumită măsură, de subaprecierea rolului imunogenetic al aspectului etiopatogenic al AC [16]. În ultimele decenii, au fost obținute rezultate evidente în studierea corelației dintre AC și antigenii complexului major de histocompatibilitate (CMH) – antigenii leucocitari de histocompatibilitate (HLA) [14, 15].

Funcția primară a CMH este de a permite sistemului imunitar identificarea și eliminarea agenților patogeni infecțioși [14]. Moleculele CMH reprezintă cel mai polimorf sistem genetic al omului. Moleculele CMH I reprezintă adevărate „certIFICATE de identitate” biochimică și genetică pentru fiecare organism, datorită polimorfismului lor biochimic foarte accentuat, în cazul în care fiecare antigen HLA are mai multe alele în cadrul unei populații [15]. Antigenii HLA contribuie la păstrarea homeostaziei biochimice a organismului și devin ținta sistemului imunitar în următoarele situații: după grefarea țesuturilor și organelor care poartă molecule incompatibile; după asocierea cu antigenii virali, tumorali sau induși de agenți chimici; după modificarea biochimică printr-un proces mutațional [16, 17].

Antigenii HLA sunt situați pe suprafața celulelor umane: antigenii HLA de clasa I – pe celulele nucleate, iar HLA de clasa II – pe celulele activate T, B și macrofage [15, 16].

Diversitatea biochimică la nivel individual, actualizarea și creșterea anuală a numărului de alele HLA identificate *de novo* stau la baza caracteristicii biochimice unice a fiecărui individ uman și este determinată de polimorfismul genetic. Din aceste considerente, genotiparea HLA a unei persoane este complicată și rămâne un obiectiv îndepărtat [16].

Dat fiind implicarea majoră a sistemului HLA în patogenia bolii, prin codificarea evoluției, prognosticului și efectelor tratamentului, prezența anumitor variante de gene ale complexului HLA ar putea orienta spre un tratament mai agresiv și cât mai precoce.

Astfel, scopul studiului respectiv a fost aprecierea impactului determinantelor antigenice HLA de clasa I (HLA-A și HLA-B) asupra tabloului clinic, evoluției și tacticii de tratament la pacienții cu AC decompensată, asociată cu sindrom articular.

Material și metode

Studiul dat este unul de tip prospectiv, consecutiv, pe serie de cazuri, care a inclus 101 de pacienți adulți, cu vârsta cuprinsă între 18-50 de ani, diagnosticați clinic și instrumental cu AC decompensată și sindrom articular. Toți pacienții au dat acord informat în scris pentru înrolarea în studiu, care s-a derulat în secțiile ORL și Reumatologie ale IMSP Spitalul Clinic Municipal

underlying the immune response in the development of an isolated inflammatory process is important, at least from two points of view. On one hand, these results will complement the vision of AC pathogenesis, on the other hand, would give new impetus to pathogenic treatment, serving also as a basis to form a correct prognosis [3].

There are proposed various treatment methods of the CT, but in most cases, the desired effect is not achieved. The low efficiency of treatment measures is conditioned, to some extent, by underestimating the immunogenetics role of the etiopathogenic appearance of CT. In recent decades there were obtained obvious results in studying the correlation between CT and major histocompatibility complex antigens (MHC) – histocompatibility leukocyte antigens (HLA) [14, 15].

The primary function of MHC is to allow the immune system to identify and eliminate infectious pathogens [14]. MHC molecules represent the most polymorphic human genetic system. MHC I molecules are true biochemical and genetic „ID certificates” for each body due to a very pronounced biochemical polymorphism, in case each HLA antigen has more than one alleles in a population [15]. HLA antigens contribute to maintain the biochemical homeostasis of the body and become targets of the immune system in the following situations: after grafting the tissue and organs carrying incompatible molecules; after pairing with viral, tumor or induced by chemical agents antigens; after biochemical changes through a mutation process [16, 17].

HLA antigens are antigens, located on the surface of human cells: HLA class I antigen on the nucleated cells and HLA class II antigens on activated T, B cells and macrophages [15, 16].

The biochemical diversity at individual level, the update and annual growth in the number of newly identified *by novo* HLA stay at the bottom of the unique biochemical characteristic of each human being and is determined by genetic polymorphisms. Therefore, HLA genotyping of a person is complicated and it remains a distant objective [16].

Given the major implication of HLA system in the pathogenesis of the disease by encoding the treatment evolution, prognosis and effect, the presence of certain gene variants of HLA complex could turn to a more aggressive and quick treatment.

Thus, the purpose of this study was to evaluate the impact of antigenic determinants of HLA class I (HLA-A and HLA-B) on the clinical features, evolution and treatment strategy in patients with decompensated CT associated with articular syndrome.

Material and methods

This is a prospective, consecutive study on series of cases that included 101 adult patients, aged 18-50 years, diagnosed clinically and instrumental with decompensated CT and articular syndrome. All patients gave written informed consent for enrollment in the study, which was conducted in ENT and Rheumatology wards of the Municipal Clinical Hospital „Sfânta Treime” in Chisinau and in the preventoria of the Technical University of Moldova, during the years 2008-2011.

Patients were divided into two groups: 50 patients who

„Sfânta Treime” din Chişinău și preventoriul Universității Tehnice din Moldova, pe parcursul anilor 2008-2011.

Pacienții au fost împărțiți în două grupuri: 50 de pacienți, care au fost tratați în mod conservativ (lotul conservativ) și 51 de pacienți, care au fost tratați prin metode chirurgicale (lotul chirurgical).

Pacienții au beneficiat de o examinare clinică și paraclinică primară complexă, repetată la 6 luni și la 12 luni după tratament.

Calcularea volumului eșantionului reprezentativ a fost efectuată în baza următoarei formule:

$$\text{unde: } n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2}$$

n – volumul eșantionului reprezentativ de cercetare pentru fiecare lot;

f – proporția probabilă a persoanelor, care ar putea abandona studiul (estimată la 10%, sau $f=0,1$);

P_0 – proporția persoanelor cu cardiopatie, cu vârsta eligibilă pentru studiu (18-50 ani) în Republica Moldova constituie 69% sau $P_0=0,69$;

P_1 – proporția persoanelor cu cardiopatie în lotul de cercetare ($P_1=2,07$).

$$P=(P_0+P_1)/2=(0,69+2,07)/2=1,38 \\ 1-P=1-1,38=-0,38$$

Z_{α} – valoare tabelară, când „ α ” – pragul de semnificație, este de 5%, respectiv, coeficientul $Z_{\alpha}=1,96$;

Z_{β} – valoare tabelară, când „ β ” – puterea statistică a comparației, este de 10,0%, respectiv, coeficientul $Z_{\beta}=1,28$.

Introducând datele în formulă, s-a obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0,1)} \times \frac{2(1,96 + 1,28)^2 1,38(-0,38)}{(0,69-2,07)^2} = 45$$

Astfel, numărul necesar de pacienți pentru testarea ipotezei de cercetare a fost de 45 pentru fiecare lot cercetat, însă pentru siguranța veridicității, au fost înrolați câte 50 de pacienți pentru fiecare grup.

Criteriile de includere în studiu au fost:

- diagnostic cert de AC, forma decompensată, asociată cu sindrom articular inflamator;
- dovezi ale genezei streptococice în afecțiunea cardiacă (valvulopatie) sau renală (glomerulopatie);
- vârsta de 18-50 de ani (vârsta maximală a fost limitată în baza Ghidului Internațional de conduită al pacienților cu infecție streptococică cronică, WHO, 2011, revizia 5);
- acordul confirmat în scris al pacienților pentru participare în studiu.

Criterii de excludere din studiu au fost:

- pacienți cu amigdalectomie în antecedente;
- diagnostic alternativ de spondiloză seronegativă sau maladii difuze ale țesutului conjunctiv;
- lipsa datelor microbiologice care ar confirma infecția streptococică;
- administrarea tratamentului antibacterian pe parcursul ultimelor 6 luni;

were treated conservatively (conservative group) and 51 patients who were treated surgically (surgical group).

Patients received a complex clinical and laboratory primary examination, repeated at 6 months and 12 months after treatment.

Calculation of the representative sample size was performed using the following formula:

$$\text{where: } n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2}$$

n – size of the research representative sample for each lot;
 f – probable proportion of people who could abandon the study (estimated at 10%, or, $f=0.1$);

P_0 – proportion of people with heart disease, with eligible age for the study (18-50 years) in Moldova is 69% or $P_0=0.69$.

P_1 – proportion of people with coronary heart in the research group ($P_1=2.07$).

$$P=(P_0+P_1)/2=(0.69+2.07)/2=1.38 \\ 1-P=1-1.38=-0.38$$

Z_{α} – tabular value, when „ α ” – materiality, is of 5%, accordingly, coefficient $Z_{\alpha}=1.96$.

Z_{β} – tabular value, when „ β ” – statistical power of the comparison, is of 10.0%, accordingly, coefficient $Z_{\beta}=1.28$.

Entering data in the formulation, there was obtained:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 1.28)^2 1.38(-0.38)}{(0.69-2.07)^2} = 45$$

Thus, the required number of patients to test the research hypothesis was 45 per researched lot, but for the safety of truthfulness, were enrolled 50 patients per group.

Inclusion criteria for the study were:

- certain diagnosis of CT, decompensated form, associated with inflammatory articular syndrome;
- evidence of streptococcal genesis in heart disease (valvular heart disease) or renal (glomerulopathy);
- aged 18-50 years (maximum age was limited by the International Guide of Conduct patients with chronic streptococcal infection, WHO, 2011 revision 5).
- written informed consent of patients for participation in the study.

Exclusion criteria from the study were:

- patients with tonsillectomy with a history;
- alternative diagnosis of seronegative spondylarthrosis or diffuse diseases of connective tissue;
- lack of microbiological data that would confirm streptococcal infection;
- administration of antibacterial therapy during the last six months;
- decompensated comorbidities: diabetes, viral hepatitis, cirrhosis, hematological diseases, nephrology (other than those caused by streptococcal infection), cancer or heart (other than those caused by streptococcal infection) etc.

- comorbidități decompensate: diabet zaharat, hepatite virale, ciroză hepatică, maladii hematologice, nefrologice (altele decât cele cauzate de infecția streptococică), oncologice sau cardiace (altele decât cele cauzate de infecția streptococică) etc.

Toți pacienții au beneficiat de următoarele examinări:

- examinare specializată ORL (identificarea AC decompensate cu sindrom articular; evaluarea afectării funcției articulare);
- examenul general al sângelui și urinei;
- explorări imunologice: proteina C-reactivă (PCR), antistreptolizina O (ASLO), complecși imuni circulanți (CIC);
- analiza bacteriologică a frotiului superficial din faringe/amigdale, pentru determinarea florei și sensibilității la antibiotice;
- tipizarea antigenilor HLA de clasa I (HLA-A și HLA-B) cu utilizarea antiserurilor standard;
- investigații instrumentale: ECG, EcoCG Doppler, scintigrafia scheletică, USG renală.

Hemoleucograma și VSH au fost determinate cu analizatorul hematologic PCE-210 (*AGD Biomedicals*, Mumbai, India). Analiza generală a urinei a fost efectuată conform metodei standard. Proteina C reactivă (PCR), factorul reumatoid și complexe imune circulante (CIC) au fost apreciate prin metoda de aglutinare calitativă și semicantitativă de detectare a PCR în serul uman. ASLO a fost determinată prin metoda standard de diluție consecutivă.

Culturile amigdalene superficiale au fost luate cu tampoane sterile de pe ambele amigdale și plasate în tuburi sterile. Specimenele după amigdalectomie au fost transmise pentru investigație histopatologică de rutină.

Identificarea configurației antigenice a HLA de clasa I (HLA-A și HLA-B) a fost efectuată prin tehnica standard în două etape de microlimfocitotoxicitate, propusă în 1973 și modificată în 1988 de către Terasaki. Au fost folosite plăci de microtitrare de godeuri, ce conțineau 180 de antiseruri standard pentru HLA clasa I (HLA-A și HLA-B). Principiul testului este bazat pe faptul că serurile anti-HLA reacționează cu antigenii limfocitari corespunzători. Adăugarea complementului modifică membrana celulară a limfocitelor astfel, încât eozina poate pătrunde în celule, modificându-le culoarea (reacție pozitivă).

Examenul scintigrafic scheletic s-a realizat în regim de corp integru, fiind injectat preparatul radiofarmaceutic Technetiu (Tc) 99 m (doza uzuală – 600,0 MBq, doza de iradiere – 60,0 mSv) în gamma-camera „Diacam-Siemens”.

Pacienții din grupul cu tratament conservativ au beneficiat de tratament local și sistemic.

Tratamentul local a constat în:

- înlăturarea focarului de infecție din amigdalele palatine prin spălarea criptelor cu soluții antiseptice (sol. NaCl 0,9%, sol. Dioxidină 1%, sol. Clorhexidină 0,2%);
- badionarea mucoasei amigdalelor palatine cu soluții antiseptice (Lugol, Iodinol);
- aplicarea locală a aerosolilor (Streptocid, Benzidamină);

All patients received the following examinations:

- ENT specialist examination (identification of decompensated CT with articular syndrome, evaluation of impaired joint function);
- general examination of blood and urine;
- immunological explorations: C-Reactive protein (CRP), Antistreptolysine O (ASO), circulating immune complexes (CIC);
- smear bacteriological analysis of superficial throat / tonsils to determine flora and antibiotic susceptibility;
- typing of antigens HLA class I (HLA-A and HLA B) using standard antisera;
- instrumental investigations: ECG, Doppler EcoCG, skeletal scintigraphy, renal ultrasound.

Blood count and erythrocyte sedimentation rate were determined by hematology analyzer PCE-210 (*AGD Biomedicals*, Mumbai, India). General urine analysis was performed according to standard method. C-reactive protein (CRP), rheumatoid factor and circulating immune complexes (CIC) were assessed by semi-quantitative and qualitative agglutination method for the detection of CRP in human serum. ASO was determined by standard consecutive dilution method.

Tonsil surface cultures were taken with sterile pads from both tonsils and placed in sterile tubes. After tonsillectomy specimens were sent for histopathological routine investigation.

Identification of the antigenic configuration of HLA class I (HLA-A and HLA-B) was performed by standard two-step microlymphocytotoxicity technique proposed in 1973, and amended in 1988 by Terasaki. There have been used microtiter wells plates that contained 180 standard antisera for HLA class I (HLA-A and HLA-B). The main test is based on the fact that the anti-sera HLA react with the corresponding lymphocyte antigens. By adding the complement, it modifies the lymphocyte cell membrane so that eosin can penetrate into cells, changing their color (positive reaction).

Skeletal scintigraphy examination was performed in whole body mode, by injecting the radiopharmaceutical resource of Technetium (Tc) 99m (the usual dose – 600.0 MBq dose of radiation – 60.0 mSv) in gamma-camera „Diacam-Siemens”.

The patients in the conservative treatment received local and systemic treatment.

Local treatment consisted of:

- removal of infected crypts from palatine tonsils by washing with antiseptic solutions (sol. NaCl 0.9%, sol. Dioxidin 1% ground, Chlorhexidine 0.2%);
- sprinkling lining tonsils with antiseptic solutions (Lugol, Iodinol);
- local application of aerosols (Streptocid, Benzidamine);
- physio-procedures (ultrasound projection on the tonsils – 10-15 meetings, ultraviolet exposure – 10-15 meetings).

Systemic treatment consisted of:

- antibiotics according to antibiogram results;
- administration of antihistamines: Diphenhydramine, Promethazine, Clorpiramine, Mebidrolin;

- fizioproceduri (ultrasunet pe proiecția amigdalelor palatine – 10-15 ședințe, expunerea la raze ultraviolete – 10-15 ședințe).

Tratamentul sistemic a constat în:

- antibioterapie, conform rezultatelor antibiogrammei;
- administrare de antihistaminice: Difenhidramină, Prometazină, Cloropinamină, Mebhidrolină;
- administrare de imunostimulatoare: Imupret, Timolin, Timogen, Tactivin, Ribomunil, Bronhomunal, Prodigiozan, IRS-19, Levamizol, Imudon;
- vitaminoterapie.

Tratamentul chirurgical a constat în următoarele: ambele amigdale palatine au fost îndepărtate prin metoda ansei la rece, prin decolarea totală, capsulară, a amigdalei și secționarea pediculului amigdalian inferior cu ajutorul ansei. Metoda constă din 4 timpi operatori: tracțiunea amigdalei spre linia mediană, deschiderea lojii amigdaliene prin incizia mucoasei stâlpului anterior, introducerea ansei și secționarea hilului amigdalian, verificarea lojii amigdaliene și hemostaza mecanică.

Procesarea datelor primare a fost efectuată cu ajutorul programului SPSS, versiunea 21.0 pentru Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, 2012) la calculatorul personal prin proceduri statistice descriptive și inferențiale. Statistic semnificative am considerat diferențele, când valoarea bilaterală a fost $p < 0,05$.

Rezultate

Loturile de studiu erau similare în funcție de repartizarea pe sexe și vârstă (Tabelul 1).

Tabelul 1. Caracterizarea generală a loturilor de studiu.

Parametru	Lot „tratament conservativ” (n=50)	Lot „tratament chirurgical” (n=51)	p
Repartizare pe sexe, n (%)			
Bărbați	8 (16,0%)	17 (33,3%)	>0,05 [†]
Vârsta, medie (ani ± ds)	30,9±1,8	28,1±1,5	>0,05 [‡]

Note: Test statistic efectuat: [†]- testul exact Fisher; [‡]- t-Student.

Caracterizarea loturilor de studiu, conform parametrilor clinici și paraclinici, este prezentată în Tabelul 2.

Tabelul 2. Caracterizarea loturilor de studiu conform parametrilor clinici și paraclinici.

Parametru	Lot „tratament conservativ” (n=50)	Lot „tratament chirurgical” (n=51)	p
Intensitatea durerii articulare, puncte SVA [#]	53,5	62,5	>0,05
Recidive de angină, %	33	0	NA [*]
Diametrul telesistolic al ventricolului stâng, mm	31,8	34,0	>0,05
ASLO [‡] , IU/mL	275,1	346,6	>0,05
PCR [§] , mg/dL	6,95	16,5	>0,05

Note: [#]- scor vizual-analitic (0-100 puncte); ^{*}- testare statistică neaplicabilă; [†]- antistreptolizina O; [‡]- proteina C-reactivă. Test statistic efectuat: t-Student.

- administration of immuno-stimulatory: Imupret, Timolin, Timogen, Tactivin, Ribomunil, Bronhomunal, Prodigiozan, IRS-19, Levamisole, Imudon;
- vitamin therapy.

The surgical treatment consisted of the following: both palatine tonsils were removed by cold loop method, with total, capsular takeoff of amygdala and severing the inferior tonsillar pedicle using a loop. The method consists of 4-stroke operators: traction of the amygdala to the midline incision, tonsil lodge opening through mucosal incision of the anterior column, introduction of loop and cutting the tonsillar hilum, checking the tonsil lodge and mechanical hemostasis.

Primary data processing was performed using SPSS program, version 21.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, 2012) at the personal computer through descriptive and inferential statistical procedures. I considered statistically significant the differences when the bilateral value was $p < 0.05$.

Results

Study groups were similar across age and the sex ratio (Table1).

Table 1. General characterization of study groups.

Parameter	Group "conservative treatment" (n=50)	Group "surgical treatment" (n=51)	p
Distribution by sex, n (%)			
Men	8 (16.0%)	17 (33.3%)	>0.05 [†]
Age, average (years ± sd)	30.9±1.8	28.1±1.5	>0.05 [‡]

Note: Performed statistical tests: [†]- Fisher exact test; [‡]- t-Student.

Characterization of study groups according to clinical and laboratory parameters is shown in Table 2.

Table 2. Characterization of study groups according to clinical and laboratory parameters.

Parameter	Group "conservative treatment" (n=50)	Group "surgical treatment" (n=51)	p
Joint pain intensity, points VAS [#]	53.5	62.5	>0.05
Recurrent angina, %	33	0	NA [*]
End-diastolic diameter of left ventricular, mm	31.8	34.0	>0.05
ASLO [‡] , IU/mL	275.1	346.6	>0.05
PCR [§] , mg/dL	6.95	16.5	>0.05

Note: [#]- visual analogue score (0-100 points); ^{*}- statistical testing is not applicable; [†]- antistreptolysine O; [‡]- C-reactive protein. Performed statistical test: t-Student.

Afectarea monoarticulară la debutul bolii a fost relevantă statistic semnificativ mai frecvent la pacienții din lotul de tratament conservativ, comparativ cu pacienții din lotul de tratament chirurgical – 24 [54,0%] și, respectiv, 16 [31,4%], $p < 0,05$), iar afectarea oligoarticulară – statistic semnificativ mai frecvent la pacienții din lotul de tratament chirurgical (30 [58,8%]) vs. (17 [34,0%], $p < 0,05$).

În ambele loturi de studiu, după tratament, a fost relevată o reducere semnificativă a frecvenței acuzelor; totuși, la vizita a treia, rata disconfortului/durerilor în gât și rata durerilor articulare erau statistic semnificativ mai mici în lotul pacienților cu tratament chirurgical (Tabelul 3).

Tabelul 3. Caracterizarea loturilor de studiu la vizita inițială, peste 6 luni și peste 12 luni după tratament.

Parametru	Lot „trata- ment con- servativ” (n=50)	Lot „trata- ment chirurgical” (n=51)	p
Acuze (durere/disconfort în gât) la evaluarea inițială, %	38	47	>0.05
Acuze (durere/disconfort în gât) la evaluarea peste 6 luni, %	27	31	>0.05
Acuze (durere/disconfort în gât) peste 12 luni, %	44	18	>0.05
Dureri articulare la evaluarea inițială, %	50	51	>0.05
Dureri articulare peste 6 luni, %	41	45	>0.05
Dureri articulare peste 12 luni, %	44	36	>0.05

Notă: Test statistic efectuat: testul exact Fisher.

Concomitent cu tendința de reducere în dinamică a valorilor medii ale ASLO și PCR s-a redus statistic semnificativ la pacienții din lotul de tratament conservativ. În lotul pacienților cu tratament chirurgical, valorile medii ale indicatorilor imunologici (ASLO, PCR) au relevat o reducere statistic semnificativă la vizita a treia, comparativ cu vizita inițială și cu vizita a doua (Tabelul 4).

Tabelul 4. Evoluția parametrilor biochimici la pacienții din loturile de studiu.

Parametru	Lot „trata- ment conser- vativ” (n=50)	Lot „trata- ment chirur- gical” (n=51)	p
ASLO [‡] la evaluarea inițială, IU/mL	275,1	346,6	>0.05
ASLO peste 6 luni, IU/mL	220,0	282,3	>0.05
ASLO peste 12 luni, IU/mL	213,9	212,6	>0.05
PCR [§] la evaluarea inițială, mg/dL	6,95	16,5	>0.05
PCR peste 6 luni, mg/dL	2,8	12,9	>0.05
PCR peste 12 luni, mg/dL	3,6	4,4	>0.05

Notă: [‡]- antistreptolizina O; [§]- proteina C-reactivă. Test statistic efectuat: t-Student.

Mono articular impairment at the disease onset was revealed statistically significantly more frequently in patients in the conservative treatment group compared with patients in the surgical group – 24 [54.0%] and respectively, 16 [31.4%], $p < 0.05$) and impaired oligo articular – statistically significantly more frequently in patients in the surgical treatment group (30 [58.8%]) vs. (17 [34.0%], $p < 0.05$).

In both study groups, after treatment, it has been revealed a significant reduction in the frequency of complaints; however, at the third visit, the rate of discomfort / pain in the neck and joint pain rates were statistically significantly lower in the group of patients with surgical treatment (Table 3).

Table 3. Characterization of study groups at baseline, 6 months and 12 months after treatment.

Parameter	Group “con- servative treatment” (n=50)	Group “surgical treatment” (n=51)	p
Complaints (pain / discomfort in the throat) at initial evaluation, %	38	47	>0.05
Complaints (pain / discomfort in the throat) in the evaluation in 6 months, %	27	31	>0.05
Causes (pain / discomfort in the throat) in 12 months, %	44	18	>0.05
Joint pain at initial assessment, %	50	51	>0.05
Joint pain in 6 months, %	41	45	>0.05
Joint pain in 12 months, %	44	36	>0.05

Note: Performed statistical test: Fisher exact test.

Simultaneously with the dynamic trend of reduction in average values of ASLO, and CRP was statistically significantly reduced in patients in the conservative treatment group. In the group of patients with surgical treatment, mean immunological indicators (ASLO, PCR) revealed a statistically significant reduction from the third visit, compared to baseline and the second visit (Table 4).

Table 4. Evolution of biochemical parameters of patients in the study groups.

Parameters	Group “con- servative treatment” (n=50)	Group “surgi- cal treat- ment” (n=51)	p
ASLO [‡] at initial assesment, IU/mL	275.1	346.6	>0.05
ASLO in 6 months, IU/mL	220.0	282.3	>0.05
ASLO in 12 months, IU/mL	213.9	212.6	>0.05
PCR [§] at initial assesment, mg/dL	6.95	16.5	>0.05
PCR in 6 months, mg/dL	2.8	12.9	>0.05
PCR in 12 months, mg/dL	3.6	4.4	>0.05

Note: [‡]- antistreptolysine O; [§]- C-reactive protein. Performed statistical test: t-Student.

Analiza bacteriologică a frotiului faringian a constatat o tendință similară în ambele loturi de studiu: reducerea depistării *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* și *Streptococcus viridans* și, totodată, creșterea depistării *Staphylococcus aureus* la vizita a doua și la vizita a treia, comparativ cu vizita inițială, însă aceste tendințe nu au atins certitudine statistică.

La pacienții cu amigdalite cronice și sindrom articular din lotul cu tratament chirurgical, cel mai frecvent, au fost diagnosticați următorii antigeni de histocompatibilitate din clasa A și din clasa B (Tabelul 5).

Tabelul 5. Frecvența depistării alelelor complexului HLA-A și HLA-B în lotul pacienților tratați chirurgical.

Alele HLA	Frecvența depistării
HLA-A2	44,6%
HLA-A28	41,6%
HLA-A24	23,8%
HLA-AX	20,0%
HLA-B44	17,8%
HLA-B35	31,7%
HLA-B18	12,9%
HLA-BY	14,9 %

În lotul pacienților cu tratament conservativ al amigdalitei cronice și sindrom articular, cel mai frecvent au fost diagnosticați următorii antigeni HLA din clasa A și din clasa B (Tabelul 6).

Tabelul 6. Frecvența depistării alelelor complexului HLA-A și HLA-B în lotul pacienților tratați conservativ.

Alele HLA	Frecvența depistării
HLA-A2	48,0%
HLA-A28	44,0%
HLA-A1	20,0%
HLA-AX	20,0%
HLA-B44	24,0%
HLA-B35	22,0%
HLA-B31	20,0%
HLA-B18	16,0%
HLA-BY	16,0%

Discuții

Există numeroase metode de tratament a AC, conservativ (local, general, profilactic) și chirurgical (amigdalectomia), însă, în majoritatea cazurilor, nu se atinge efectul dorit [1, 2]. În plus, la etapa actuală, medicii demonstrează o prudență ex-

The bacteriological analysis of pharyngeal smear found a similar trend in both study groups: reduced detection of *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus viridans*, and also increased detection of *Staphylococcus aureus* at the second and third visit compared to baseline, but these trends did not reach statistical certainty.

In the group of patients with surgical treatment of chronic tonsillitis with articular syndrome, the most common HLA antigens were diagnosed following Class A and Class B (Table 5).

Table 5. Detection frequency of complex alleles HLA-A and HLA-B in the group of patients treated surgically.

Alleles HLA	Detection frequency
HLA-A2	44.6%
HLA-A28	41.6%
HLA-A24	23.8%
HLA-AX	20.0%
HLA-B44	17.8%
HLA-B35	31.7%
HLA-B18	12.9%
HLA-BY	14.9%

In the group of patients with conservative treatment of chronic tonsillitis with articular syndrome, the most common HLA antigens were diagnosed following Class A and Class B (Table 6).

Table 6. Detection frequency of complex alleles HLA-A and HLA-B in the group of patients treated conservatively.

Alleles HLA	Detection frequency
HLA-A2	48.0%
HLA-A28	44.0%
HLA-A1	20.0%
HLA-AX	20.0%
HLA-B44	24.0%
HLA-B35	22.0%
HLA-B31	20.0%
HLA-B18	16.0%
HLA-BY	16.0%

Discussion

There are proposed various methods of treatment of CT: conservative treatment (local, general, prophylactic) and surgery (tonsillectomy), but in most cases the desired effect is not achieved [1, 2]. In addition, at this stage doctors demonstrate an explained prudence regarding tonsillectomy, especially in

plicabilă *vis-a-vis* de amigdalectomie, mai ales la copii, când funcția fiziologică a acestor organe limfoide este maximală [5].

Eficiența redusă a măsurilor de tratament este condiționată, într-o anumită măsură, de subaprecierea rolului imunogenetic al aspectului etiopatogenic al AC. În ultimele decenii, au fost obținute rezultate evidente în studierea corelației dintre AC și antigenii CMH – HLA [14, 15].

Diagnosticul de AC uneori este dificil de stabilit, deoarece atât debutul, cât și evoluția bolii nu prezintă semne clinice specifice. Cele mai frecvente manifestări clinice ale AC sunt hipertrofia amigdaliană obstructivă și/sau AR. Simptomele AC (senzații dureroase și discrete în gât, odinofagia nepronunțată, disfagia, tuse uscată, halena, disconfort faringian, senzație de corp străin și jenă în gât, arsură și uscăciune în gât, subfebrilitate, dureri ale nodulilor limfatici submandibulari, dureri în articulații) se întâlnesc și în alte afecțiuni (faringite, laringite, esofagite, gastrite, sinuzite etc.) [3, 4].

Mai mulți cercetători au încercat să stabilească predispoziția genetică și răspunsurile imunitare de protecție pentru artrita reactivă poststreptococică (ARPS) și febra reumatică acută (FRA) [6, 7].

Validarea asociațiilor HLA, observate în diferite populații ale lumii, poate contribui la dezvoltarea unei strategii rentabile de prevenire primară a acestor leziuni [9]. A fost constatată o eterogenitate în ceea ce privește alelele HLA de clasa I și II de susceptibilitate și/sau de protecție în diverse studii, din diferite regiuni geografice și diferite grupuri etnice, deși au fost raportate și asociații cu anumite antigene [8, 10].

Mai mulți cercetători au încercat să stabilească predispoziția genetică și răspunsurile imunitare de protecție pentru ARPS și FRA [12, 13]. Discrepanțele privind frecvența antigenelor HLA de clasa I și HLA de clasa II la pacienții cu FRA și ACR în diferite studii sunt, probabil, legate de diferențele geografice sau rasiale în populații, paternelle variate de reactivitate la alo-antiser, diversele tulpini de SGA implicate în dezvoltarea FRA/ACR în diferite țări [15].

Din aceste considerente, genotiparea HLA a unei persoane este complicată și rămâne un obiectiv îndepărtat. Cercetări suplimentare, consacrate studierii rolului sistemului HLA în apariția, diagnosticul, evoluția și tratamentul AC sunt necesare a fi efectuate în viitor.

Concluzii

Pentru optimizarea diagnosticului clinic și a prognosticului amigdalitei cronice cu sindrom articular, se recomandă aprecierea atât a variantei clinice a bolii, cât și analiza imunogenetică a patologiei (tipizarea HLA). Diferențe statistice semnificative între loturile de tratament conservativ și lotul de tratament chirurgical al amigdalitei cronice cu sindrom articular s-au constatat doar pentru HLA-B31 și HLA-B45, care au predominat în grupul cu tratament conservativ.

Declarația de conflict de interese

Autorul declară lipsa conflictului de interese.

children, when the physiological function of these lymphoid organs is maximal [5].

The low efficiency of treatment measures is conditioned, to some extent, by underestimating the immunogenetics role of the Etiopathogenic appearance of CT. In recent decades there were obtained obvious results in studying the correlation between CT and MHC – HLA antigens [14, 15].

It is extremely difficult to establish the CT diagnosis because both the onset and progression of the disease do not show specific clinical signs. The most common clinical manifestations of CT are obstructive tonsillar hypertrophy and / or AR. CT symptoms (painful and discrete sensations in the throat, light sore throat, dysphagia, dry cough, bad breath, uncomfortable feeling in the throat, foreign body sensation and discomfort in the throat, burning and dryness in the throat, low grade fever, pain in the submandibular lymph nodes, pain in the joints) are met in other conditions too (pharyngitis, laryngitis, esophagitis, gastritis, sinusitis etc.) [3, 4].

More researchers have tried to determine the genetic susceptibility and protective immune responses to post-streptococcal reactive arthritis (PSRA) and acute rheumatic fever (ARF) [6, 7].

Validation of HLA associations, observed in various populations of the world, can contribute to the development of cost-effective primary prevention strategies of these lesions [9]. It was observed a heterogeneity in terms of HLA class I and II alleles of susceptibility and / or of protection in different studies in several geographical regions and ethnic groups, although associations with specific antigens have been reported [8, 10].

Several researchers have tried to determine the genetic susceptibility and protective immune responses to PSRA and ARF. The discrepancies in the frequency of HLA class I and HLA class II antigens at patients with ARF and reactive chronic tonsillitis (RCT), in different studies, are probably related to geographical or racial differences of population, the varied reactivity patterns aloantiser, various strains of SGA involved in the development of ARF/RCT in different countries [15].

Therefore, HLA genotyping of a person is complicated and it remains a distant goal. Further research devoted to studying the role of HLA system in the development, diagnosis, evolution and treatment of CT are required to be made in the future.

Conclusions

To optimize the clinical diagnosis and the prognosis of chronic tonsillitis with articular syndrome is recommended assessing both clinical variant of the disease and immunogenetics analysis of the pathology (HLA typing). Statistically significant differences between the conservative treatment group and the surgical treatment group of chronic tonsillitis with articular syndrome were found for HLA-B31 and HLA-B45 only, which prevailed in the conservative treatment group.

Declaration of conflicting interests

The author declares no conflict of interest.

Referințe /references

1. Girbea Ș., Otorinolaringologie. București, 2000, p. 13.
2. Плужников М. С., Лавренова Г. В., Левин М. Я., Назаров П. Г., Никитин К. А. Хронический тонзилит. Клиника и иммунологические аспекты. СПб, «Диалог»; 2005, 222 с.
3. Bathala S., Eccles R. A review on the mechanism of sore throat in tonsillitis. *J. Laryngol. Otol.*, 2013; 127 (3): 227-232.
4. Popescu V. Indicațiile amigdalectomiei în infecțiile cavității bucale la copil. *Revista Română de Pediatrie*, 2007; vol. LVI, nr. 4, p. 341-349.
5. Brook I. Diagnosis and management of pharyngotonsillitis. *Israel. J. Emer. Med.*, 2008; 8 (2): 26-34.
6. Haydardedeoglu F., Tutkak H., Kose K. *et al.* Genetic susceptibility to rheumatic heart disease and streptococcal pharyngitis: association with HLA-DR alleles. *J. Compil.*, 2006; 68: 293-296.
7. Rajapakse C., Halim K., Al-Orainey I. *et al.* A genetic marker for rheumatic heart disease. *Br. Heart. J.*, 1987; 58 (6): 659-662.
8. Stanevicha V., Eglite J., Zavadzka D. *et al.* HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic fever among a clinically homogeneous patient population of Latvian children. *Arthritis. Res. Ther.*, 2007; 9 (3): R58.
9. El-Hagrassy N., El-Chennawi F., Zaki Mel S. *et al.* HLA class I and class II HLA DRB profiles in Egyptian children with rheumatic valvular disease. *Pediatr. Cardiol.*, 2010; 31 (5): 650-656.
10. Kijak G., Walsh A., Koehler R. *et al.* HLA class I allele and haplotype diversity in Ugandans supports the presence of a major east African genetic cluster. *Tissue. Antigens*, 2009; 73 (3): 262-269.
11. Guilherme L., Kalil J. Rheumatic fever: from innate to acquired immune response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2007; 1107: 426-433.
12. Seckeler M., Hoke T. The worldwide epidemiology of acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Clin. Epidemiol.*, 2011, 3: 67-84.
13. Popescu C., Zainea V. Otorinolaringologie. Manual universitar. București, Editura Universitară Carol Davila, 2010.
14. Jeffery K. Bangham C. Do infectious diseases drive MHC diversity? *Microbes. Infect.*, 2000; 2 (11): 1335-1341.
15. Mehra N. Histocompatibility antigens. *Encyclop. Life. Sci.*, 2001; 5: 1-5.
16. Ahmed A., Aliyu I., Kolo E. Indications for tonsillectomy and adenoidectomy: our experience. *Niger. J. Clin. Pract.*, 2014; 17 (1): 90-94.
17. Shankarkumar U. The human leukocyte antigen (HLA) system. *Int. J. Hum. Genet.*, 2004; 4 (2): 91-103.

ARTICOL DE CERCETARE

Corelația indicilor cantitativi ale membranei Schneider, indentației și manifestărilor clinice ale parodontitei cronice generalizate

Valeriu Fala^{1*}

¹*Catedra de stomatologie terapeutică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova.*

Autor corespondent:

Valeriu Fala, șef catedră, dr. hab. șt. med., conf. univ.

Catedra de stomatologie terapeutică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: valeriu.fala@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Actualmente, în medicina parodontală, algoritmul diagnosticului parodontitei cronice generalizate este insuficient studiat. Pentru optimizarea diagnosticului parodontitei cronice generalizate și monitorizării pacienților, este de perspectivă evidențierea semnelor clinice ale parodontitei cronice generalizate în asociere cu evaluarea indentației și grosimii membranei Schneider.

Ipoteza de cercetare

Ipoteza noastră presupune că monitorizarea în dinamică a parametrilor cantitativi ale membranei Schneider în corelație cu manifestările clinice ale parodontitei cronice generalizate și gradul de indentație, pot conduce la optimizarea diagnosticului complex al pacienților cu parodontită cronică generalizată.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

În cadrul studiului prospectiv, în premieră s-au evidențiat unele particularități ale corelațiilor dintre gravitatea parodontitei cronice generalizate cu gradul de indentație uni- și bilaterală și cu dinamica modificărilor cantitative a membranei Schneider.

Rezumat

Introducere. Pentru optimizarea procesului diagnostic la pacienții cu parodontită cronică generalizată, se studiază implicarea țesuturilor și structurilor adiacente parodontiului în realizarea și menținerea procesului patologic. În acest aspect, un interes deosebit prezintă studierea interrelațiilor

RESEARCH ARTICLE

Correlations between the quantitative indices of the Schneiderian membrane, the indentation degree and the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis

Valeriu Fala^{1*}

¹*Chair of therapeutic stomatology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Corresponding author:

Valeriu Fala, șef catedră, dr. hab. med. sci., assoc. prof.

Chair of therapeutic stomatology

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: valeriu.fala@usmf.md

What is not known, about the topic

Currently, the diagnostic algorithm for chronic generalized periodontitis is insufficiently studied in periodontal medicine. In order to optimize the diagnosis of chronic generalized periodontitis and monitoring the patients, it is promising to highlight the clinical signs of chronic generalized periodontitis in conjunction with the evaluation of the indentation degree and the thickness of the Schneiderian membrane.

Research hypothesis

Our hypothesis assumes that monitoring of the quantitative parameters of the Schneiderian membrane, correlates with the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis and with the degree of indentation, that can lead to the optimization of the complex diagnosis of patients with chronic generalized periodontitis.

Article's added novelty on the scientific topic

In this prospective study, for the first time, there were revealed the peculiarities of the correlations between the severity of chronic generalized periodontitis with unilateral and bilateral indentation and with the quantitative changes of the Schneiderian membrane.

Abstract

Introduction. In order to optimize the diagnostic process for patients with chronic generalized periodontitis, there are studied the involvement of tissues and structures, adjacent to the periodontium, in the initiating and maintaining the periodontal disease process. In this regard, of special interest is

dintre semnele parodontitei cronice generalizate, gradul de indentație și grosimea membranei Schneider.

Material și metode. A fost realizat un studiu prospectiv, pe serie de cazuri (48 de pacienți, ambele sexe, vârsta între 18 și 65 de ani). Pacienții au fost examinați clinic și paraclinic (tomografia computerizată cu fascicul conic)

Rezultate. La pacienții cu parodontită cronică generalizată gravă, în 78,6% cazuri, este prezentă sinuzita preclinică, confirmată prin îngroșarea membranei Schneider mai mult de 2 mm. Frecvența de indentație este aproximativ egală la pacienții cu parodontită cronică generalizată ușoară (55%), medie (57,1%) și gravă (64,3%); odată cu creșterea frecvenței indentației bilaterale crește și gravitatea parodontitei cronice generalizate. Premolarul II, molarul II și III au dinamica de creștere a gradului de indentație în paralel cu creșterea gravității parodontitei; gradul de indentație a molarului I nu se deosebește statistic semnificativ în dependență de gravitatea parodontitei cronice generalizate. Gradul de indentație în sinusul maxilar a rădăcinilor dentare corelează cu grosimea membranei Schneider – valori maxime ($R_{xy}=0,891$, $p<0,001$) pentru molarul II și minime ($R_{xy}=0,179$, $p>0,05$) pentru premolarul II. La pacienții cu parodontită cronică generalizată, durata maladiei are corelații mai puternice cu procesul inflamator ($R_{xy}=0,58$, $p<0,001$), comparativ cu vârsta pacienților ($R_{xy}=0,31$, $p<0,001$).

Concluzii. La pacienții cu parodontită cronică generalizată, durata maladiei are corelații mai puternice cu procesul inflamator, comparativ cu vârsta pacienților. Frecvența de indentație este aproximativ egală la pacienții cu parodontită cronică generalizată ușoară, medie și gravă. Gravitatea parodontitei cronice generalizate se asociază cu anumite particularități a gradului de indentație a premolarul II, molarul I, II și III. La pacienții cu parodontită cronică generalizată gravă, în 78,6% cazuri, este prezentă sinuzita preclinică, confirmată prin îngroșarea membranei Schneider. Gradul de indentație în sinusul maxilar a rădăcinilor dentare corelează cu grosimea membranei Schneider. Monitorizarea în dinamică a parametrilor cantitativi ale membranei Schneider în corelație cu manifestările clinice ale parodontitei cronice generalizate și gradul de indentație, conduce la optimizarea diagnosticului complex al pacienților cu parodontită cronică generalizată.

Cuvinte cheie: parodontită cronică generalizată, diagnostic, membrana Schneider, indentație, sinuzita preclinică.

Introducere

Conform datelor publicate de Organizația Mondială a Sănătății, parodontita cronică generalizată în diferite țări în curs de dezvoltare se manifestă după vârsta de 35 ani în 65-98%, iar la vârsta de 15-19 ani – în 55% [1]. S-a stabilit că parodontita cronică generalizată se manifestă mai frecvent și mai pronunțat la persoane după vârsta de 50 ani [2]. Diagnosticul parodontitei cronice generalizate se bazează pe analiza manifestărilor clinice, datelor bacteriologice, modifi-

the studying of the interrelations between signs of chronic generalized periodontitis, the degree of indentation and the thickness of the Schneiderian membrane.

Material and methods. There has been conducted a prospective study, on case series. There were enrolled 48 patients (both genders, aged between 18-65 years, mean age 39.5 years). Patients were examined clinically paraclinically (cone beam computer tomography).

Results. In patients with severe chronic generalized periodontitis, in 78.6% of cases, preclinical sinusitis is present, which is confirmed by a thickening of the Schneiderian membrane more than 2 mm. The indentation frequency is approximately equal for all the patients with mild (55%), moderate (57.1%) or severe (64.3%) chronic generalized periodontitis; with the increase of the bilateral indentation frequency, the severity of periodontitis also increases. The 2nd premolar, the 2nd and 3rd molar show trends of increase for the indentation degree at the same rate with the increase of periodontitis severity; the indentation degree of the first molar doesn't present any statistically significant differences, depending on the severity of chronic generalized periodontitis. The indentation degree of dental roots in the maxillary sinus correlates with the thickness of the Schneiderian membrane – maximal values were seen for the 2nd molar ($R_{xy}=0.891$, $p<0.001$) and minimal ones for the 2nd premolar ($R_{xy}=0.179$, $p>0.05$). In patients with chronic generalized periodontitis, the disease duration has stronger correlation with the inflammatory process ($R_{xy}=0.58$, $p<0.001$), in comparison to patient's age ($R_{xy}=0.31$, $p<0.001$).

Conclusions. In patients with chronic generalized periodontitis, the duration of disease has stronger correlation with the inflammatory process, in comparison to the patient's age. Indentation frequency is approximately equal in patients with mild, moderate or severe chronic generalized periodontitis. The severity of chronic generalized periodontitis is associated with certain peculiarities of the indentation degree of the 2nd premolar, 1st molar, 2nd molar and 3rd molar. In patients with severe chronic generalized periodontitis in 78.6% of cases, preclinical sinusitis is present, this being confirmed by the thickening of the Schneiderian membrane. The indentation degree of dental roots in the maxillary sinus, correlated with the Schneiderian membrane thickness. Monitoring the dynamics of the quantitative parameters of the Schneiderian membrane based on the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis and the degree of indentation, leads to the optimization of the complex diagnosis of patients with chronic generalized periodontitis.

Keywords: chronic generalized periodontitis, diagnosis, Schneiderian membrane, indentation, preclinical sinusitis.

Introduction

According to the data published by the World Health Organization, chronic generalized periodontitis in various developing countries, occurs after the age of 35 in 65-98% of cases, and at age 15-19 years – 55% of cases [1]. It has been established that chronic generalized periodontitis occurs more frequently and more pronounced in people after the age of 50 [2].

cările radiologice, cu anumite criterii bine definite. După cum se cunoaște, datorită simptomatologiei minime, dintre care un loc deosebit are lipsa durerii, parodontita este deseori ignorată de pacienți și fiind netratată poate progresa până la parodontita ireversibilă, cu pierderea dinților. Chiar în statele înalt dezvoltate, această problemă este actuală – în SUA, aproximativ 35% dintre adulți prezintă cel puțin un *situs* afectat cu pierderea atașamentului parodontal [3]. Pe de altă parte, examinarea vizuală a radiografiilor, realizate consecutiv, poate releva schimbări în țesutul osos, doar după ce are loc resorbția a 30-50% din conținutul mineral osos [4]. Deci, problema diagnosticului precoce include atât atitudinea pacientului, cât și diagnosticul clinic-radiologic profesional. În acest context, continuă cercetările în aspectul elaborării metodelor de diagnostic precoce ale manifestărilor parodontitei. În ultimii ani se studiază particularitățile cantitative ale membranei Schneider, însă până în prezent nu sunt elaborate criteriile diagnostice în dependență de gravitatea parodontitei și alți factori [5, 6]. Actualitatea acestei probleme are un aspect interdisciplinar, deoarece îngroșarea membranei Schneider este o reacție la diferite procese inflamatorii în organism și în special, în context regiunea oromaxilofacială.

Ipoteza de cercetare

Monitorizarea în dinamică a parametrilor cantitativi ale membranei Schneider în corelație cu manifestările clinice ale parodontitei cronice generalizate și gradul de indentație, poate conduce la optimizarea diagnosticului complex al pacienților cu parodontită cronică generalizată.

Scopul studiului

Optimizarea diagnosticului parodontitei cronice generalizate în baza evidențierii corelațiilor indicilor gravității parodontitei și gradului de indentație cu indicii cantitativi (grosimea) membranei Schneider.

Material și metode

Designul studiului și populația studiată

A fost realizat un studiu prospectiv, pe serie de cazuri. Au fost respectate următoarele criterii de includere a pacienților (ambele sexe, vârsta cuprinsă între 18 și 65 de ani, vârsta medie 39,5 de ani): prezența parodontitei cronice generalizate; acordul scris al pacientului. Cercetările au fost realizate pe durata a 6 luni, în cadrul Catedrei Stomatologie Terapeutică, IP Universitatea de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și în cadrul clinicii stomatologice „Fala Dental”. Criterii de excludere: afecțiunile acute, acutizarea maladiilor cronice ale diferitor organe și sisteme, aritmiile cardiace, hipertensiunea arterială, diabetul, obezitatea, traumele oromaxilofaciale severe în anamneză; prezența în anamneză a diferitor afecțiuni cardiace; alcoolism, narcomanie, toxicomanie; graviditate; prezența chisturilor și altor formațiuni în sinusurile maxilare, prezența lichidului în sinusurile maxilare, sinuzita seroasă sau purulentă; utilizarea de lungă durată a remediilor farmacologice; afecțiuni psihice și neurologice; alte afecțiuni stomatologice severe în afară de cele indicate în criteriul de includere; pacienți necooperanți. Conform criteriilor menționate, au fost înrolați 48 de pacienți.

The diagnosis of chronic generalized periodontitis is based on analysis of clinical manifestations, the bacteriological data, and radiological changes, based on certain defined criteria. As it is known, due to minimal symptomatology, of which a special role takes the lack of pain, periodontitis is often ignored by patients and when left untreated, it may progress to irreversible periodontitis, followed by tooth loss. Even in highly developed countries, this problem can be found – in the US, about 35% of adults have at least one affected site with periodontal attachment loss [3]. On the other hand, visual inspection of the subsequently performed X-rays, can reveal changes in the bone tissue only after 30-50% of the bone mineral content is lost due to resorption [4]. So the problem of early diagnosis is linked to both the attitude taken by patients, as well as to the professional clinical and radiological diagnosis. In this aspect, there are still being investigated and developed methods for early diagnosis of periodontitis. In recent years there are being studied the peculiarities of quantitative changes of the Schneiderian membrane, but so far there aren't developed any diagnostic criteria based on the severity of periodontitis, as well as other factors [5, 6]. There is an interdisciplinary aspect to this problem is due to the fact that the thickening of the Schneiderian membrane is a response to various inflammatory processes in the body, especially in the oro-maxillo-facial region.

Research hypothesis

Monitoring the quantitative parameters of the Schneiderian membrane correlated with the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis and the degree of indentation can lead to optimization of complex diagnosis of patients with chronic generalized periodontitis.

The purpose of the study

Improving the diagnosis process for chronic generalized periodontitis, based on highlighting the correlations between the indices of periodontitis severity, the indentation degree and the quantitative indices of the Schneiderian membrane (thickness).

Material and methods

Study design and studied population

There was conducted a prospective study, on cases series. There were observed the following inclusion criteria for patients (both genders, aged between 18-65 years, mean age 39.5 years), with chronic generalized periodontitis, written consent of the patient. The research has been conducting on a period of 6 months at the Department of Therapeutic stomatology, PI State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu” and at the dental clinic “Fala Dental”. Exclusion criteria: acute illnesses, acute exacerbation of chronic diseases of various organs and systems, cardiac arrhythmias, hypertension, diabetes, obesity, history of severe oro-maxillo-facial trauma; various cardiac diseases in anamnesis; alcoholism, drug addiction; pregnancy; the presence of cysts and other pathological structures in the sinuses, presence of liquid in the maxillary sinuses, serous or purulent sinusitis; long-term use of pharmacological remedies; psychiatric and neurological disorders; other severe dental problems other than those

Metode de investigație

Examenul clinic al pacienților s-a efectuat conform schemei tradiționale: anamneza, examenul clinic exobucal și endobucal, după care urma cel paraclinic.

În cadrul diagnosticului diferențial al variantelor de parodontită cronică generalizată, s-a utilizat clasificarea clinică a afecțiunilor parodontale (după T. Lemețkaia, 1998) [7].

Analiza literaturii privind importanța de diagnostic a diferitor indici care caracterizează gradul de afectare al parodontiului a evidențiat o serie de indici care, conform investigațiilor speciale, au o sensibilitate nu mai mică de 95% și o specificitate mai mare de 75% [8]. Acestor cerințe corespundeau indicii ce reflectau starea igienei cavității orale (OHI-S), gradul de manifestare al procesului inflamator (PMA), gradul de sângerare (PBI), mobilitatea dentară (MD) și indicele parodontal (IP) care includeau elemente de inflamație, mobilitate dentară și adâncimea pungii parodontale. Indicii nominalizați au fost determinați la toți pacienții incluși în studiu.

În cadrul studiului, s-a utilizat tomografia computerizată cu fascicul conic (CBCT – *cone beam computer tomography*, tomograf *GXCB-500™*, Gendex Dental Systems, SUA). Determinarea grosimii membranei Schneider s-a realizat în baza secționării tomografiilor obținute, prin intermediul instrumentarului din software-ul specializat *VixWin Platinum* (Gendex Dental Systems, SUA) și *iCat Vision* (Imaging Sciences International, SUA), fiind selectate valorile maxime, pentru analiza statistică ulterioară. Măsurătorile s-au efectuat conform metodei elaborate de Janner *et al.* [6].

Analiza statistică

Datele primare au fost prelucrate matematico-statistic, computerizat, prin intermediul *Microsoft Excel*, *EpiInfo* și software-ului *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) for Windows versiunea 20, cu calcularea ratelor, proporțiilor și erorilor standard, pentru valorile relative și valorile medii. Valoarea $p < 0,05$ a fost acceptată în calitate de nivel statistic semnificativ al diferențelor dintre loturile comparate (test Mann-Whitney-Wilcoxon). Pentru determinarea corelațiilor, conform obiectivelor propuse, am determinat coeficienții de corelare după Pearson (variabilele cantitative cu o distribuție normală) sau Spearman (variabile cantitative fără distribuție normală).

Rezultate

Tradițional, diagnosticul parodontitei cronice generalizate se realizează prin metode clinice bine determinate, cu cuantificarea a diverse semne și simptome (Indicele Parodontal, OHI-S, Indicele Mobilității Dentare etc.). Aprecierea fiecărui simptom și tabloului clinic general, dă posibilitatea de a evidenția gravitatea parodontitei.

După cum se vede din Figura 1, procesele inflamatorii sunt mai exprimate odată cu avansarea în vârstă a pacientului și durata perioadei de boală, însă durata maladiei are corelații mai puternice cu procesul inflamator, ceea ce confirmă faptul că gravitatea inflamației este asociată cu cronicizarea procesului. Particularități se evidențiază și în corelația hemoragiei gingivale cu indicii de vârstă și durata bolii. Analiza corelațiilor

indicated in the inclusion criteria; uncooperative patients. According to the afore-mentioned criteria, a number of 48 patients were enrolled in the study.

Methods of investigation

Clinical examination of patients was carried out according to the traditional scheme: history taking, clinical examination and paraclinical exam.

For the differential diagnosis of chronic generalized periodontitis we have used the clinical classification of periodontal diseases (after T. Lemetkaia, 1998) [7].

A literature review on the diagnostic importance of various indices that define the severity of periodontal disease has highlighted a number of indices, which according to some special investigations, have a sensitivity not less than 95% and a specificity greater than 75% [8]. These requirements have been met by the simplified oral hygiene index (OHI-S), the Papillary-Marginal-Attached index (PMA), the papilla bleeding index (PBI), the tooth mobility index (DM) and the periodontal index (IP), which included elements of inflammation, tooth mobility and periodontal pocket depth. These indices were assessed for all patients included in the study.

There was used the cone beam computed tomography (CBCT, *GXCB-500™*, Gendex Dental Systems, USA). Measuring of the thickness of the Schneiderian membrane was conducted on sections obtained via CBCT, with the aid of specialized software *VixWin Platinum* (Gendex Dental Systems, USA) and *iCat Vision* (Imaging Sciences International, USA), where we have selected maximum values for the latter statistical analysis. The measurements were carried out according to the method, developed by Janner *et al.* [6].

Statistical analysis

The raw data was processed mathematically and statistically via *Microsoft Excel*, *EpiInfo* and *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) for Windows version 20, with the calculation of rates, proportions and standard errors for the relative values and average values. The $p < 0.05$ value was accepted as of statistical significance for differences between the compared groups (Mann-Whitney-Wilcoxon test). In order to determine the correlations, we have used the Pearson correlation coefficients (quantitative variables with a normal distribution) or the Spearman correlation coefficients (quantitative variables without normal distribution).

Results

Traditionally, the diagnosis of chronic generalized periodontitis was established on well-defined clinical methods, by quantifying the various signs and symptoms (Periodontal Index, OHI-S, Dental Mobility Index etc.). Assessment of each symptom and of the general clinical picture gives the opportunity to establish the severity of periodontitis.

As it is shown in Figure 1, the inflammatory processes are more expressed with an increase in patient's age and in the duration of the disease; but the disease duration has the strongest correlation with the inflammatory process, which confirms that the severity of inflammation is associated with the chronicization of the pathological process. There were highlighted some peculiarities in the correlation between the

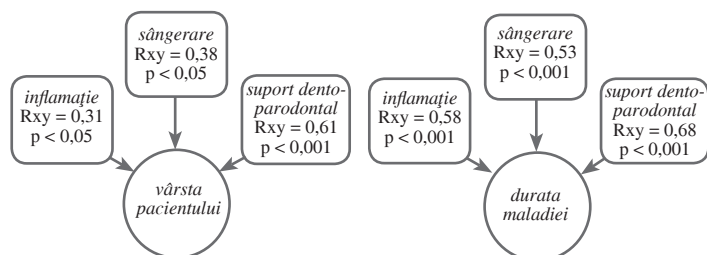


Fig. 1 Corelațiile (R_{xy}) manifestărilor clinice ale parodontitei cronice generalizate cu vârsta pacienților și durata maladiei.

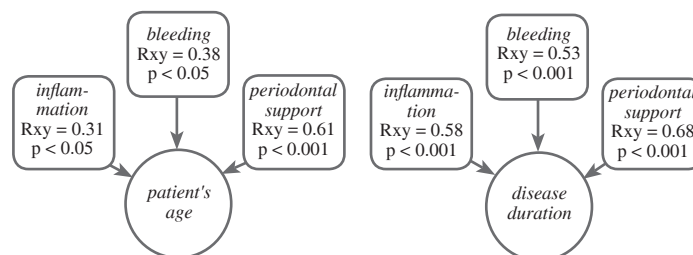


Fig. 1 Correlations (R_{xy}) between the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis, the age of patients and the duration of the disease.

vârstei pacientului și duratei bolii cu procesele de destrucție a suportului dento-parodontal a evidențiat faptul că, atât vârsta pacientului, cât și durata maladiei corelează în măsură aproximativ egală cu gradul proceselor destructive. Acest fapt are o importanță deosebită în cazurile când la o persoană avansată în vârstă persistă parodontita cronică generalizată.

Reieșind din experiența proprie propunem lărgirea viziunii referitor la diagnosticul și monitorizarea parodontitei cronice generalizate. În procesul diagnosticului se va atrage o atenție deosebită modificărilor cantitative ale membranei Schneider, care conform datelor obținute de noi au anumite particularități la pacienții cu parodontită cronică generalizată, în special asociate cu gradul de severitate a maladiei.

Membrana sinuzală (Schneider) este o structură anatomică cu legături morfo-funcționale puternice cu structurile dento-parodontale. A fost demonstrată capacitatea membranei Schneider de a participa la procesele de mineralizare a matricei extracelulare, prin secreția de fosfatază alcalină, osteoproteină morfogenetică-2, osteopontină, osteonectină, osteocalcină etc [5]. Potențialul osteogen al membranei Schneider nu poate fi ignorat, în special la pacienții cu parodontită cronică generalizată, la care pot avea loc fenomene osteodestructive localizate în vecinătatea membranei sinuzale.

Tabelul 1. Frecvența de manifestare a variantelor de grosime a membranei Schneider la pacienții cu parodontită cronică generalizată în dependență de gravitatea maladiei.

Grosimea membranei Schneider	Parodontita cronică generalizată, gravitatea maladiei		
	Ușoară (n=20)	Medie (n=14)	Gravă (n=14)
<0,8 mm	25,0%	7,1%	7,1%
0,81-2,0 mm	35,0%	21,4%	14,3%
>2 mm	40,0%	71,4%***	78,6%***

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu indicii normali:
*** - $p < 0,001$.

După cum se vede în Tabelul 1, în toate cazurile parodontitei cronice generalizate (ușoară, medie, gravă) predomină variantele cu grosimea membranei Schneider mai mare de valorile normale (>0,8 mm). O grosime a membranei sinuza-

gingival bleeding and the indices related to the age of patients and duration of the disease. The analysis of the correlation between the age of patients and the disease duration, with the destructive processes in the periodontal support showed that both patient age and the disease duration correlate on a roughly equal degree with the destructive processes. This is particularly important in cases where the chronic generalized periodontitis is persistent, such as in the elderly.

Based on our own experience, we propose to extend the vision on the diagnosis and monitoring of chronic generalized periodontitis. During the diagnostic process there should be drawn a special attention to the quantitative changes in the Schneiderian membrane according to our data have certain peculiarities in patients with chronic generalized periodontitis, especially in association with the severity of the disease.

The sinus membrane (Schneiderian membrane) is an anatomical structure with strong morpho-functional ties with the periodontal and dental structures. Schneiderian membrane has a proven ability to participate in the extracellular matrix mineralization processes by secreting alkaline phosphatase, morphogenetic osteoprotein-2, osteopontin, osteonectin, osteocalcin etc [5]. The Schneiderian membrane has an osteogenic potential that can not be ignored, especially in patients with chronic generalized periodontitis, when the osteodestructive phenomena can be located in the vicinity of the sinus membrane.

Table 1. Manifestation frequency for various degrees of Schneiderian membrane thickness in patients with chronic generalized periodontitis, depending on the severity of disease.

Thickness of the Schneiderian membrane	Chronic generalized periodontitis, disease severity		
	Mild (n=20)	Moderate (n=14)	Severe (n=14)
<0.8 mm	25.0%	7.1%	7.1%
0.81-2.0 mm	35.0%	21.4%	14.3%
>2 mm	40.0%	71.4%***	78.6%***

Note: statistically significant changes in comparison to the normal values of the indices: *** - $p < 0,001$.

As it is shown in Table 1, in all cases of chronic generalized periodontitis (mild, moderate, severe) there is a pre-

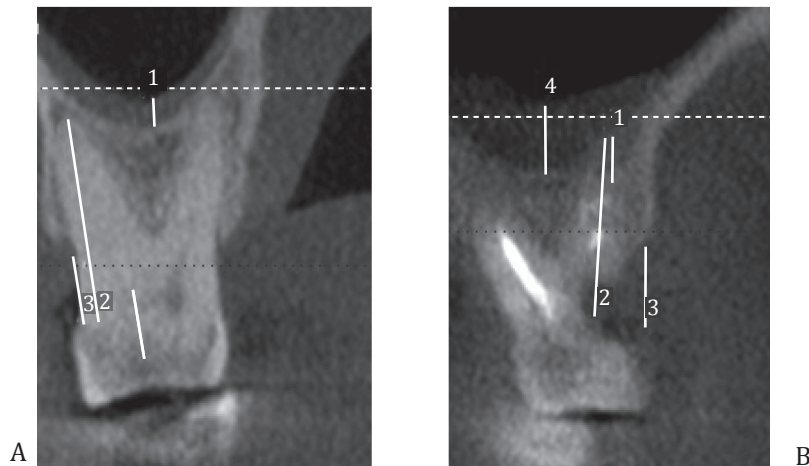


Fig. 2 Parodontită cronică generalizată cu diferit grad de îngroșare a membranei Schneider (pacientul A – 1,8 mm; pacientul B – 4,4 mm).

Fig. 2 Chronic generalized periodontitis with various degrees of Schneiderian membrane thickness (patient A – 1.8 mm; patient B – 4.4 mm).

le, cuprinsă între 0,81 și 2 mm (Figura 2, pacientul A. 37 ani), se întâlnește mai rar în comparație cu o valoare de ≥ 2 mm a grosimii membranei Schneider (Figura 3). Pacienții cu forma gravă a parodontitei cronice generalizate, în 78,6% cazuri, au membrana Schneider mai groasă de 2 mm (Figura 2, pacientul B., 59 ani), ceea ce conform lui Janner *et al.*, denotă prezența sinuzitei preclinice [6].

De notat, că în studiu, nu au fost incluși pacienți cu semne clinice manifeste ale sinuzitei seroase sau purulente, fără lichid în cavitatea sinuzală. De asemenea, au fost excluse persoanele cu formațiuni patologice sau chisturi cu localizare sinuzală.

Au fost observate două tendințe contradictorii, care se manifestau odată cu creșterea gravității parodontitei cronice generalizate: prima – micșorarea progresivă a cazurilor cu grosimea membranei Schneider de până la 2 mm și a doua – creșterea frecvenței de cazuri cu grosimea mai mare de 2 mm. Aceste rezultate convingător demonstrează că o dată cu agravarea procesului parodontal, sporește esențial numărul de cazuri cu sinuzite preclinice – în parodontita gravă în 78,6% cazuri, membrana Schneider este mai groasă de 2 mm, însă

dominance of variants with a thickness of the Schneiderian membrane greater than normal values (>0.8 mm). A sinus membrane thickness between 0.81 and 2 mm (Figure 2, the patient A. 37 years old), occurs less frequently in comparison with a membrane thickness of ≥ 2 mm (Figure 3). Patients with severe form of chronic generalized periodontitis, in 78.6% of cases, have a Schneiderian membrane thickness of 2 mm (Figure 2, the patient B., 59 years old), which according to Janner *et al.*, corresponds to the presence of preclinical sinusitis [6].

It should be noted that in the study there were not included patients with clinical signs of serous or purulent sinusitis, or with liquid present in the sinus cavity. Also there were excluded those with pathologic structures or cysts, localized in the maxillary sinus.

Two contradictory tendencies have been observed, which are revealed at the same time with the increase in the severity of chronic generalized periodontitis: first – the progressive reduction of cases with a Schneiderian membrane thickness of up to 2 mm and the second – an increase in the frequency of cases with a Schneiderian membrane thickness greater than 2

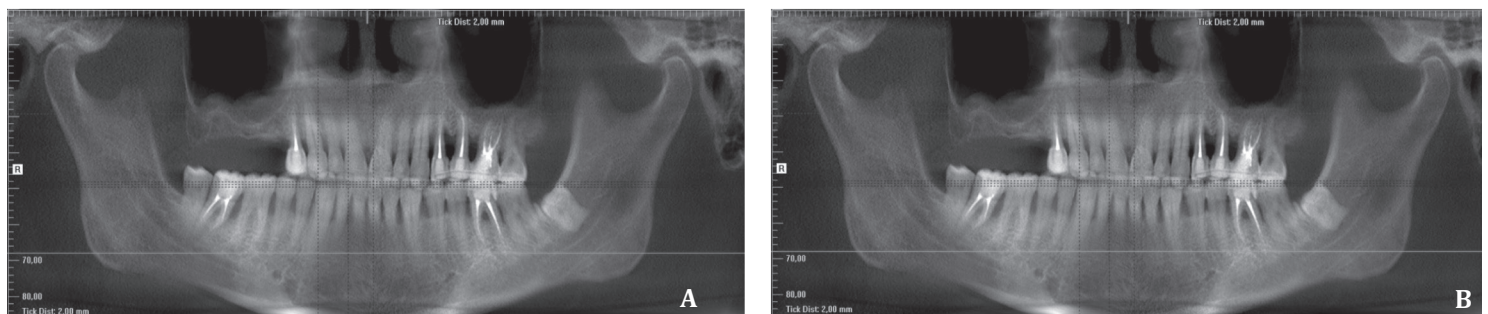


Fig. 3 Parodontita cronică generalizată asociată cu diferit grad de îngroșare a membranei Schneider (grosimea medie a membranei la pacientul A. – 4,62 mm; pacientul B. – 2,24 mm).

Fig. 3 Chronic generalized periodontitis associated with various degrees of thickening of the Schneiderian membrane (average membrane thickness for the patient A. – 4.62 mm; patient B. – 2.24 mm).

fără manifestări clinice evidente ale sinuzitei (dureri, edem, eliminări etc.). Care este importanța acestui fenomen? Pe de o parte, se poate presupune că reacția membranei Schneider prin îngroșarea ei are un caracter de apărare prin crearea unei bariere în calea infecției și toxinelor parodontale. Pe de altă parte, posibil îngroșarea membranei poate reflecta multiplicarea celulelor osteogene cu acțiunea lor sanogenă asupra focarului parodontal.

A fost studiată frecvența cazurilor de proeminare (l. engl. *indentation* – indentație) în sinusul maxilar a rădăcinilor dentare din numărul total de premolari secunzi și molari superiori prezenți la pacienți. Se poate constata că, creșterea gravității parodontitei cronice generalizate sporește odată cu creșterea frecvenței indentației. Aceste rezultate denotă că procesul inflamator parodontal prin ascensiune atinge membrana Schneider, și în cazurile în care este mai mare suprafața de contact cu cavitatea sinusului, apar condiții favorabile pentru afectarea membranei sinuzale. Din punct de vedere practic, în cazurile când există o indentație, este importantă determinarea gradului de proeminare a rădăcinilor dentare în sinus. Gradul de proeminare se determină în milimetri la nivelul interfeței dintre os și membrana Schneider [6].

Frecvența de manifestare a indentației este aproximativ egală în grupurile de pacienți cu parodontită cronică generalizată ușoară (55%), medie (57,1%) și gravă (64,3%), cu tendința de sporire a frecvenței la pacienți cu parodontită cronică generalizată gravă.

Prezintă interes compararea frecvenței indentațiilor în dependență de prezența lor unilaterală (un singur sinus) și bilaterală (concomitent în ambele sinusuri). S-a observat că odată cu creșterea indentației bilaterale, gravitatea parodontitei crește. Concomitent, s-a observat și micșorarea frecvenței indentației unilaterale de la 20% până la 14,3%.

Se poate constata că există o legătură strânsă între indentația bilaterală și predispoziția persoanei către afectarea parodontiului. De notat că indentația creează unele condiții nefavorabile pentru drenarea lichidului sinuzal și favorabile pentru acumularea exsudatului în nișele formate. Totodată, indentația mărește considerabil suprafața de contact a rădăcinii dentare cu membrana Schneider. Un factor important este și micșorarea distanței dintre structurile dento-parodontale și cavitatea sinusului maxilar, ceea ce creează condiții mai favorabile pentru pătrunderea bidirecțională (cavitatea bucală-dinți-sinus) a infecției și toxinelor.

Analiza realizată a evidențiat că la bolnavii cu parodontită cronică generalizată, indiferent de gravitatea procesului patologic, se constată valoarea proeminării egală în mediu cu $2,34 \pm 0,46$ mm (48 de pacienți din toate grupurile). Prezintă un interes mare din punct de vedere practic, gradul de proeminare în sinus a fiecărui dinte din zona studiată (Tabelul 2).

Se observă anumite particularități între creșterea gravității parodontitei cronice generalizate și sporirea valorilor indentației. Premolarul II, molarul II și III au dinamica de majorare a gradului de indentație în paralel cu creșterea gravității parodontitei, pe când gradul de indentație al molarului I nu se deosebește statistic semnificativ în funcție de gravitatea parodontitei cronice generalizate ($p > 0,05$).

mm. These results demonstrate convincingly that with a worsening of the periodontal process, there is an essential increase in the number of cases of preclinical sinusitis – in 78.6% cases of severe periodontitis, the Schneiderian membrane is thicker than 2 mm, but without obvious clinical manifestations of sinusitis (pain, swelling, secretions etc.). What is the importance of this phenomenon? On one hand, it can be assumed that the reaction of the Schneiderian membrane through thickening has a defensive character by creating a barrier to the periodontal infection and periodontal toxins. On the other hand, it may reflect the possible multiplication of osteogenic cells, which will have a sanogenic effect on the periodontal foci.

We have studied the frequency of cases of indentation in the maxillary sinus of dental roots of all superior premolars and molars that were present. It may be noted that the increasing severity of chronic generalized periodontitis is followed by an increasing frequency of indentation. These results show that the inflammatory periodontal process reaches the Schneiderian membrane, and in the case when there is a greater contact surface with the sinus cavity, there are favorable conditions for damaging the Schneiderian membrane. From a practical standpoint, in cases where there is an indentation, it is important to determine the degree of dental roots indentation in the maxillary sinus. The indentation degree is determined in millimeters at the interface between the bone and the Schneiderian membrane [6].

The frequency of manifestation of indentation is approximately equal in the patients groups with mild (55%), medium (57.1%) and severe (64.3%) chronic generalized periodontitis, with a trend of increased frequency in patients with severe periodontitis.

Of a great interest is the comparison of the indentation frequency, depending on its location – unilateral (one sinus) and bilateral (simultaneously in both sinuses). It has been observed that with an increase in bilateral indentation the severity of periodontitis also increases. At the same time, there was observed a reduction in the frequency of unilateral indentation from 20% to 14.3%.

It can be observed that there is a close link between bilateral indentation and a predisposition to periodontal disease. It should be noted that indentation creates some unfavorable conditions for sinus fluid drainage with a subsequent accumulation in the sinus cavity. At the same time, indentation significantly increases the contact surface of the dental roots with the Schneiderian membrane. An important factor is the reduction of the distance between the periodontal structures and the maxillary sinus cavity, which creates more favorable conditions for the bidirectional entrance (mouth-teeth-sinus) of infection and toxins.

Our analysis showed that in patients with chronic generalized periodontitis, regardless of the severity of the disease process, there is on average an indentation degree of 2.34 ± 0.46 mm (48 patients from all the studied groups). Of a great interest from a practical standpoint, is the degree of indentation for each tooth from the studied area (Table 2).

Tabelul 2. Gradul de proeminare (indentație) în sinusul maxilar al rădăcinilor dentare la pacienți cu parodontită cronică generalizată în dependență de gravitatea procesului patologic.

Dinții cu rădăcini indentate	Indentația, mm / Gravitatea parodontitei cronice generalizate		
	Ușoară (n=20)	Medie (n=14)	Gravă (n=14)
Premolarul II	1,59±0,21	2,60±0,23**	3,10±0,70*
Molarul I	1,94±0,51	2,81±0,50	2,39±0,63
Molarul II	1,45±0,22	2,97±0,46**	3,47±0,90**
Molarul III	0,81±0,12	1,53±0,13***	3,40±0,94**
Media	1,45±0,27	2,48±0,33*	3,09±0,79*

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu valorile din grupa parodontitei de grad ușor: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

În Tabelul 2. sunt redate rezultatele analizei statistice, care reflectă tendințele cantitative referitor la gradul indentației și gravitatea parodontitei. Se observă, că cele mai mari valori ale indentației le are molarul II ($3,47 \pm 0,9$ mm). Însă, la unii pacienți, erau prezente cele mai diverse asocieri ale gradului de indentație, a grosimii membranei sinuzale și gravității parodontitei. În Figura 4., sunt redate exemple de secțiuni a tomografiei computerizate a pacienților cu parodontită cronică generalizată de grad mediu, la care se atestă într-un caz o indentație pronunțată de 5,26 mm (pacienta S., 43 ani), în alt caz (pacientul V., 28 ani) indentația este aproape de 2 ori mai mică (2,8 mm), ambele fiind asociate cu grosimea membranei Schneider în limitele normei (0,4 mm).

Pentru a răspunde la întrebarea referitor la relațiile dintre gradul de indentație și grosimea membranei Schneider am re-

Table 2. The indentation degree of dental roots in the maxillary sinus in patients with chronic generalized periodontitis, depending on the severity of the disease.

Teeth with indented roots	Indentation, mm / chronic generalized periodontitis severity		
	Mild (n=20)	Moderate (n=14)	Severe (n=14)
2 nd premolar	1.59±0.21	2.60±0.23**	3.10±0.70*
1 st molar	1.94±0.51	2.81±0.50	2.39±0.63
2 nd molar	1.45±0.22	2.97±0.46**	3.47±0.90**
3 rd molar	0.81±0.12	1.53±0.13***	3.40±0.94**
Mean	1.45±0.27	2.48±0.33*	3.09±0.79*

Note: statistically significant changes in comparison with the values from the group with mild periodontitis: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$.

It can be noticed that certain peculiarities between the increase in the severity of chronic generalized periodontitis and the increase of the indentation degree. The 2nd premolar, 2nd and third molar have an increase trend for the indentation degree, at the same rate with the increase in the severity of chronic generalized periodontitis, while the indentation degree for the 1st molar didn't show any statistically significant differences, depending on the severity of chronic generalized periodontitis ($p > 0.05$).

In Table 2 there are shown the results of the statistical analysis, which reflects the quantitative trends regarding the indentation degree and periodontitis severity. It has been observed that the highest indentation degree is specific are for the 2nd molar (3.47 ± 0.9 mm). However, some patients have presented various associations between the level of indentation, the sinus membrane thickness and the severity of periodontitis. In

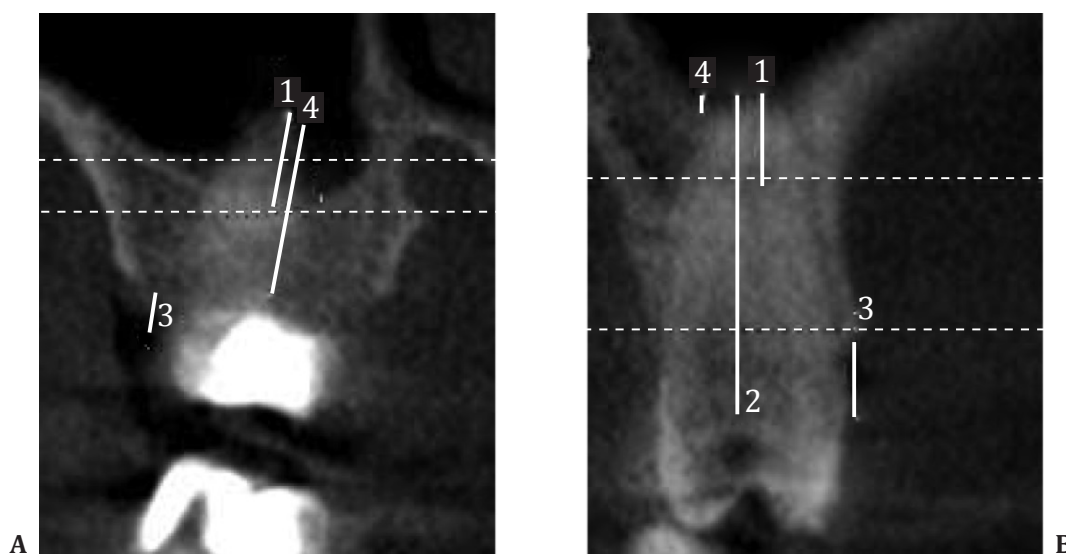


Fig. 4 Secțiune CBCT la pacienta S., 43 ani (A) și pacientul V., 28 ani (B) cu parodontită cronică generalizată de grad mediu și diferit grad de indentație.

Fig. 4 CBCT sections of patient S., 43 years old (A) and of patient V., 28 years old (B) with chronic generalized periodontitis of moderate severity and with various degrees of indentation.

alizat analiza corelațiilor dintre indicii corespunzători (Tabelul 3).

Tabelul 3. Analiza corelației gradului de indentație în sinusul maxilar cu grosimea membranei Schneider la pacienți cu parodontită cronică generalizată în dependență de gravitatea procesului patologic.

Dinți cu rădăcini indentate	R_{xy} : indentație, mm – grosimea membranei Schneider, mm / gravitatea parodontitei cronice generalizate		
	Ușoară (n=20)	Medie (n=14)	Gravă (n=14)
Premolarul II	0,244, p>0,05	0,179, p>0,05	0,192, p>0,05
Molarul I	0,563, p<0,05	0,585, p<0,01	0,768, p<0,001
Molarul II	0,650, p<0,05	0,829, p<0,01	0,891, p<0,001
Molarul III	0,411, p<0,05	0,620, p<0,01	0,739, p<0,001

Valoarea R_{xy} pentru premolarul II este statistic neconcludentă în grupurile studiate. Aceste date denotă că influența indentației premolarului II asupra manifestărilor preclinice ale sinuzitei (grosimea membranei Schneider) este minimală. Un alt tablou se prezintă pentru indentația molarilor – odată cu creșterea gravității parodontitei are loc sporirea valorilor corelației dintre gradul indentației și grosimea membranei. Deci dinții studiați au un aport diferit în procesele de modificare cantitativă a membranei Schneider și în apariția manifestărilor preclinice sinuzale: gradul de indentație în sinusul maxilar al rădăcinilor dentare corelează cu grosimea membranei Schneider – valori maxime ($R_{xy}=0,891$, p<0,001), pentru molarul II și minime ($R_{xy}=0,179$, p>0,05) pentru premolarul II.

După cum se vede din Tabelul 4, există o diferență importantă referitor la asocierea gradului de indentație și influența acestuia asupra membranei Schneider în funcție de gravitatea parodontitei cronice generalizate.

Tabelul 4. Analiza comparativă a rezultatelor statistic concludente referitor la relațiile gravității parodontitei cronice generalizate cu gradul de indentație și grosimea membranei Schneider.

Dinți cu rădăcini indentate	Rezultate statistic concludente	
	Indentație/Gravitatea parodontitei	Indentație/Grosimea membranei Schneider
Premolarul II	+	-
Molarul I	-	+
Molarul II și III	+	+

Notă: (+) – rezultate statistic concludente; (-) – rezultate neconcludente.

Se pot evidenția trei grupuri de dinți cu diferite combinații ale efectelor sus numite: prima include premolarul II, care au

Figure 4, there are shown some examples of CBCT sections in patients with chronic generalized periodontitis of moderate severity, where there is a pronounced indentation of 5.26 mm (patient S., 43 years old), in another case (patient V., 28 years old) the indentation degree is close to two times smaller (2.8 mm), both cases are associated with a thickness of the Schneiderian membrane in the normal range of values (0.4 mm).

In order to answer the question regarding the relations between the thickness of the Schneiderian membrane and the indentation degree, we have conducted an analysis of the correlations between the qualifying indices (Table 3).

Table 3. Analysis of the correlation between the indentation degree and the thickness of the Schneiderian membrane in patients with chronic generalized periodontitis, depending on the severity of the disease.

Teeth with indented roots	R_{xy} : indentation, mm – Schneiderian membrane thickness, mm / chronic generalized periodontitis severity		
	Mild (n=20)	Moderate (n=14)	Severe (n=14)
2 nd premolar	0.244, p>0.05	0.179, p>0.05	0.192, p>0.05
1 st molar	0.563, p<0.05	0.585, p<0.01	0.768, p<0.001
2 nd molar	0.650, p<0.05	0.829, p<0.01	0.891, p<0.001
3 rd molar	0.411, p<0.05	0.620, p<0.01	0.739, p<0.001

The R_{xy} value for the 2nd premolar is statistically inconclusive in the studied groups. This data shows that the influence of the indentation of the 2nd premolar on the preclinical manifestations of sinusitis (Schneider membrane thickness) is minimal. On the contrary, another picture can be observed in regard to the indentation degree of the molars – with an increase in the periodontitis severity there occurs an increase in the correlation values correlation between the degree of indentation and the thickness of the Schneiderian membrane. So the studied teeth show a various influence on the processes of quantitative modification of the Schneiderian membrane, as well as on occurrence of preclinical events in the maxillary sinus: the degree of indentation in the maxillary sinus of the dental roots correlates with the thickness of the Schneiderian membrane – maximum values are seen for the 2nd molar

Table 4. Comparative analysis of the statistically significant results regarding the relations between the severity of periodontitis, the indentation degree and the thickness of the Schneiderian membrane.

Teeth with indented roots	Statistically significant results	
	Indentation/Periodontitis severity	Indentation/Schneiderian membrane thickness
2 nd premolar	+	-
1 st molar	-	+
2 nd and 3 rd molar	+	+

Note: (+) – statistically conclusive results; (-) – statistically inconclusive results.

conexiuni statistic concludente cu gravitatea parodontitei și statistic neconcludente privind interrelația indentație-grosimea membranei Schneider; a doua include molarii I, care au relații inversate față de cele ale premolarilor II; a treia include molarii II și III, care au asocieri statistic concludente în aspectul influenței indentației atât asupra membranei Schneider, cât și asupra gravității procesului parodontal.

Discuții

Aceste rezultate au o importanță teoretică și aplicativă, deoarece pot servi ca suport suplimentar în diagnosticul parodontitelor cronice generalizate cu evidențierea gradului de răspândire ascendentă a procesului inflamator/toxic spre sinusul maxilar, cu afectarea membranei Schneider. Considerăm că diagnosticul parodontitei cronice generalizate, trebuie să includă, în mod obligatoriu, evidențierea modificărilor cantitative ale membranei Schneider.

Extracția dinților indentați are o influență considerabilă asupra proceselor de pneumatizare a maxilarului, factor important în intervențiile chirurgicale de elevare a planșeului sinuzal (l. engl. *sinus-lifting*). Cauzele apariției pneumatizării nu sunt pe deplin studiate. Acest proces este influențat de: ereditate [9], presiunea atmosferică asupra mucoasei nazale [10], configurația structurilor craniului facial, densitatea osoasă, hormonii de creștere [11], presiunea intrasinusală a aerului [10] și intervențiile chirurgicale realizate în sinus [12]. Asupra gradului și vitezei procesului de pneumatizare a maxilarului superior, după pierderea dinților, poate influența proeminarea rădăcinilor dentare în sinusul maxilar superior. La extragerea dintelui, inevitabil are loc lezarea osului, astfel creându-se condiții favorabile expansiunii sinusului către alveola dentară liberă [13].

Investigațiile de perspectivă în acest aspect vor contribui la optimizarea tratamentului individualizat al pacienților cu parodontită cronică generalizată în baza indicilor parodontali, în asociere cu gradul de indentație și indicii cantitativi ai membranei Schneider.

Concluzii

- 1) La pacienții cu parodontită cronică generalizată, durata maladiei are corelații mai puternice cu procesul inflamator, decât cu vârsta pacienților.
- 2) Frecvența de indentație este aproximativ egală la pacienții cu parodontită cronică generalizată ușoară, medie și gravă. Gravitatea parodontitei cronice generalizate se asociază cu anumite particularități a gradului de indentație a premolarul II, molarii I, II și III.
- 3) La pacienții cu parodontită cronică generalizată gravă, în 78,6% cazuri, este prezentă sinuzita preclinică, confirmată prin îngroșarea membranei Schneider. Gradul de indentație în sinusul maxilar a rădăcinilor dentare corelează cu grosimea membranei Schneider.
- 4) Monitorizarea în dinamică a parametrilor cantitativi ale membranei Schneider în funcție de manifestările clinice ale parodontitei cronice generalizate și gradul de

($R_{xy}=0.891$, $p<0.001$) and minimal ones are observed for the 2nd premolar ($r_{xy}=0.179$, $p>0.05$).

As it is shown in the Table 4. there is a significant difference in regard to the association of the indentation degree and its influence on the Schneiderian membrane depending on the severity of chronic generalized periodontitis.

There can be highlighted three groups of teeth with various combinations of the above-mentioned effects: the first group consists of the 2nd premolar, that has statistically conclusive connections with the periodontitis severity and statistically inconclusive results in regard to the inter-relationship between indentation degree and Schneiderian membrane thickness; the 2nd group comprises the 1st molars, that have relationships inversed from those of 2nd premolars; the 3rd group consists of 2nd and 3rd molars that have statistically significant associations in regard to the influence of the indentation both on the Schneiderian membrane, as well as on the severity of the periodontal disease.

Discussion

These results have important theoretical and practical implications, due to the fact that it can serve as an additional support in the diagnosis of chronic generalized periodontitis, by highlighting the degree of upward spread of the inflammatory/toxic process into the maxillary sinus, with an impact on the Schneiderian membrane. We consider that the diagnosis of chronic generalized periodontitis should necessarily include determination of any quantitative changes in the Schneiderian membrane.

Extraction of the indented teeth has a considerable influence on the pneumatization processes of the maxilla, which is an important factor in sinus lifting surgery. The causes of pneumatization are insufficiently studied. This process may be influenced by: hereditary factors [9], air pressure on the nasal mucosa [10] configuration of facial bone structures, bone density, growth hormones [11], the intra-sinus air pressure [10] and surgeries performed in the sinus [12]. The degree and speed of the pneumatization process of the maxilla after tooth loss, may influence the indentation degree of dental roots in the maxillary sinus. After tooth extraction, a bone damage inevitably occurs, thus creating favorable conditions for expansion of the sinus into the free dental socket [13].

Future investigations into this aspect, will contribute to the optimization of individualized treatment for patients with chronic generalized periodontitis based on the periodontal indices, in association with the indentation degree and the quantitative indices of the Schneiderian membrane.

Conclusions

- 1) In patients with chronic generalized periodontitis, the duration of disease has stronger correlation with the inflammatory process, in comparison to the patient's age.
- 2) Indentation frequency is approximately equal in patients with mild, moderate or severe chronic generalized periodontitis. The severity of chronic generalized periodontitis is associated with certain peculiarities of the indentation degree of the 2nd premolar, 1st molar, 2nd molar and 3rd molar.

indentație, conduce la optimizarea diagnosticului complex al pacienților cu parodontită cronică generalizată.

Abrevieri

CBCT – tomografie computerizată cu fascicul conic; IP – indicele parodontal; MD – indicele mobilității dentare; OHI-S – indicele igienei orale (simplificat); PBI – indicele de hemoragie papilară (*papilla bleeding index*); PMA – indicele papilar marginal alveolar.

Declarația de conflict de interes

Autorul declară lipsa conflictului de interese financiare sau non-financiare.

- 3) In patients with severe chronic generalized periodontitis in 78.6% of cases, preclinical sinusitis is present, this being confirmed by the thickening of the Schneiderian membrane. The indentation degree of dental roots in the maxillary sinus, correlated with the Schneiderian membrane thickness.
- 4) Monitoring the dynamics of the quantitative parameters of the Schneiderian membrane based on the clinical manifestations of chronic generalized periodontitis and the degree of indentation, leads to the optimization of the complex diagnosis of patients with chronic generalized periodontitis.

Abbreviations

CBCT – cone beam computer tomography; PI – periodontal index; DM – dental mobility index; OHI-S – oral hygiene index (simplified); PBI – papilla bleeding index; PMA – papillary marginal attached index.

Declaration of conflicting interests

Author declares no financial or non-financial conflict of interests.

Referințe / references

1. Petersen P, Ogawa H. Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. *J Periodontol*, 2005; 76(12): 2187-2193.
2. Thornton-Evans G., Eke P., Wei L., Palmer A., Moeti R., Hutchins S., Borrell L. Periodontitis Among Adults Aged ≥ 30 Years — United States, 2009–2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, 2013; 62(03): 129-135.
3. Page R., Eke P. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*, 2007; 78: 1387–1399.
4. Lindhe J., Thorkild K., Lang N. Clinical periodontology and implant dentistry. Vol. 1. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008, 371 p.
5. Srouji S., Kizhner T., Ben David D. The Schneiderian membrane contains osteoprogenitor cells: in vivo and in vitro study. *Calcif Tissue Int*, 2009; 84(2): 138-145.
6. Janner S., Caversaccio M., Dubach P., Sendi P., Buser D., Bornstein M. Characteristics and dimensions of the Schneiderian membrane: a radiographic analysis using cone beam computer tomography in patients referred for dental implant surgery in the posterior maxilla. *Clin Oral Impl Res*, 2011; 22: 1446-1453.
7. Corchuelo J. Sensitivity and specificity of an index of oral hygiene community use in relation to three indexes commonly used in measuring dental plaque. *Colombia Médica*, 2011; 42(4): 448-457.
8. Lemeckaja T. I. Etiology, pathogenesis, classification of periodontal diseases. *Stomatologija*. 1998; 22: 55-60. [in Russian]
9. Nowak R. Studies on the state of pneumatization of the sinus maxillaris. *Anat Anz*, 1975; 138: 143-151.
10. Thomas A., Raman R. Comparative study of the pneumatization of the mastoid air cells and the frontal and maxillary sinuses. *Am J Neuroradiol*, 1989; 10: S88.
11. Shapiro R., Schorr S. A consideration of the systemic factors that influence frontal sinus pneumatization. *Invest Radiol*, 1980; 15: 193-202.
12. Kosko J. Acquired maxillary sinus hypoplasia: A consequence of endoscopic sinus surgery? *Laryngoscope*, 1996; 106:1210-1213.
13. Wehrbein H., Diedrich P. Progressive pneumatization of the basal maxillary sinus after extraction and space closure. *Fortsch Kiefer Orthop*, 1992; 53: 77-83.

OPINIA EXPERTULUI

Repere conceptuale privind securitatea farmaceutică

Valentina Buliga^{1†}, Vladimir Safta^{*1†},
Stela Adauji^{1†}, Ana Luța^{1†}

¹Catedra de farmacie socială „Vasile Procopișin”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

Adauji Stela, dr. șt. farm., conf. univ.
Catedra de farmacie socială „Vasile Procopișin”
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
str. Nicolae Testemițanu, 22; Chișinău, Republica Moldova, MD-2025
e-mail: stela.adauji@usmf.md

Rezumat

Pentru prima dată, securitatea farmaceutică din Republica Moldova este abordată sistemic, multidimensional. În articol se prezintă un concept de sistem al securității farmaceutice din Republica Moldova: scop, clasificare, niveluri, intrări, conținut, ieșiri. S-au argumentat direcțiile principale de asigurare a securității farmaceutice a Republicii Moldova. În baza acestui concept, ulterior, se va realiza o cercetare în patru etape, cu aplicarea principiilor abordării sistemice, referitoare la securitatea farmaceutică a statului.

Cuvinte cheie: farmacie, securitate farmaceutică, asigurarea securității farmaceutice, abordare sistemică.

Introducere

Conform specificației Dicționarului explicativ al limbii române (DEX), noțiunea de securitate semnifică „*faptul de a fi la adăpost de orice pericol; sentiment de încredere și de liniște pe care îl dăm cuiva, absența oricărui pericol*” [2]. Din acest punct de vedere, noțiunea de securitate farmaceutică ar semnifica crearea situației în care ar fi exclus orice pericol, care ar veni din partea sistemului farmaceutic sau a activității farmaceutice, în amenințarea sănătății publice.

În aspect istoric, noțiunea de securitate farmaceutică (SF), a apărut odată cu începutul dezvoltării extensive a industriei farmaceutice mondiale, condiționate nu doar de intenții orientate spre beneficii pentru sănătatea omenirii, ci și de intenții de a obține cât mai mult profit în rezultatul acestei „afaceri profitabile”.

Actualmente, noțiunea de SF se folosește pentru semnificarea diferitor probleme ce necesită a fi soluționate în diverse țări:

EXPERT OPINION

Conceptual landmarks in pharmaceutical security

Valentina Buliga^{1†}, Vladimir Safta^{*1†},
Stela Adauji^{1†}, Ana Luța^{1†}

¹Chair of social pharmacy “Vasile Procopișin”, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

Stela Adauji, PhD, associate professor
Chair of social pharmacy “Vasile Procopișin”
Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Stefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: stela.adauji@usmf.md

Summary

For the first time pharmaceutical security is subject to examination by the position multidimensional systemic approach. It developed the concept of pharmaceutical safety system: order, classification levels, entrances, content outputs. They argued the main directions of pharmaceutical safety assurance of Moldova. Pharmaceutical state security research will be done in 4 stages with the principles of the systemic approach.

Keywords: pharmacy, pharmaceutical security, ensuring pharmaceutical security, systemic approach.

Introduction

According to the Dictionary of the Romanian Language specification (DEX), concept of security means “*the fact of being sheltered from all danger; sense of confidence and tranquility that we give someone, the absence of danger*” [2]. From this point of view, the concept of pharmaceutical security (PhS) would mean creating a situation in which it ruled out any danger that could come from pharmaceutical or seemed pharmaceutical public health threat.

From historical aspects the notion of PhS occurs with early development of stormy pharmaceutical industry worldwide conditioned not only by intentions oriented health benefits to mankind but also by the intention to get as much profit as a result of this “profitable business”.

Currently, the concept of PhS is used for signifying different issues that need to be solved in various countries:

- preventing the placing on the pharmaceutical market of counterfeit medicines, counterfeit inconsistent quality;

- preîntâmpinarea plasării pe piața farmaceutică a medicamentelor falsificate, contrafăcute, de calitate neconformă;
- asigurarea inofensivității medicamentelor prin fortificarea cercetărilor clinice și a farmacovigilenței;
- asigurarea păstrării conforme a medicamentelor în cadrul întreprinderilor farmaceutice;
- minimizarea dependenței țării de importul medicamentelor din alte țări în baza dezvoltării industriei farmaceutice naționale și altele.

Una dintre definițiile SF, folosite des în mediul farmaceutic, specifică – „totalitatea măsurilor orientate spre depistarea și prevenirea amenințărilor potențiale pentru sănătatea populației, condiționate de accesibilitatea, calitatea neconformă, falsificarea medicamentelor precum și de utilizarea lor incorectă sau/și în scopuri frauduloase” [9]. În unele cazuri, noțiunea de SF se aplică la nivelul întreprinderilor farmaceutice, care își desfășoară activitatea economică în domeniul fabricării sau/și distribuției medicamentelor.

Marile corporații farmaceutice, abordând problema SF, se orientează, în primul rând, la asigurarea securității producției lor în procesul de transportare pe întregul lanț de distribuție, precum și la aplicarea de măsuri durabile care ar exclude contrafacerea produselor [12].

Dr. conf. în economie A. E. Erasova (2012), consideră că asigurarea „securității medicamentoase” este o problemă de importanță majoră a oricărui stat [3]. Rezolvarea acestei probleme presupune crearea condițiilor pentru creșterea economică, satisfacerea necesităților populației, formarea rezervelor de stat a materialelor și mărfurilor, care includ în sine și o anumită grupă de medicamente. După părerea autoarei: „securitatea medicamentoasă” semnifică asigurarea populației în orice moment cu toată nomenclatura de medicamente necesare pentru ocrotirea sănătății și a unei vieți active [3].

O abordare amplă a componentelor noțiunii de securitate farmaceutică se regăsește în Rezoluția Asambleii Parlamentare a Consiliului Europei din 29 septembrie 2015 „Sănătatea publică și interesele industriei farmaceutice: cum să garantăm primatul intereselor sănătății publice?” [8]. În particular, această rezoluție are ca scop optimizarea interacțiunii dintre industria farmaceutică și actorii din sectorul sănătății, respectarea normelor etice în activitatea de cercetare-dezvoltare privind elaborarea de noi medicamente, aplicarea de pedepse disuasive pentru practicile ilegale, desfășurate de companiile farmaceutice, căutarea de alternative pentru modelul inovațiilor farmaceutice, bazat pe patente, excluderea barierelor artificiale în promovarea genericelor, sporirea eforturilor privind asigurarea transparenței etc.

În Republica Moldova, unele aspecte privind asigurarea securității farmaceutice, au început să fie abordate la nivel de țară abia în anul 2015.

La 25 februarie 2015, Comisia Parlamentară Protecție Socială, Sănătate și Familie a Parlamentului Republicii Moldova a cerut Guvernului să modifice cadrul normativ în vigoare pentru a asigura la un nivel mai înalt securitatea farmaceutică a statului și evitarea, pe viitor, a crizelor pe piața medicamentu-

- ensuring the safety of drugs by strengthening clinical research and pharmacovigilance;
- ensuring consistent retention of drugs within pharmaceutical companies.

One of the definitions PhS often used in pharmaceutical environment specific – “all measures aimed at detecting and preventing potential threats to public health, subject to availability, quality non-compliant, the counterfeiting of medicines and their use improper and/or fraudulent purposes” [9]. In some cases the concept of PhS is applied to the pharmaceutical companies that develop their economic activities in the manufacture and/or distribution of drugs.

Large corporations pharmaceutical tackling PhS, is focused primarily on ensuring security in the transportation of their production on the entire supply chain and on the implementation of sustainable measures that would exclude counterfeiting [12].

The economist A. E. Erasova (2012), believes that ensuring “drug safety” is a major concern of any state [3]. Solving this problem involves creating conditions for economic growth, meeting the needs of the population, formation of state reserves of materials and goods, including itself and a certain group of medicines. According to the author, “drug safety” means ensuring to the population at any time throughout the nomenclature of products needed for health care and an active life [3].

A broad approach to security concept, pharmaceutical components can be found in the Council of Europe Parliamentary Resolution of 29 September 2015, “Public health and the interests of the pharmaceutical industry: how to guarantee the primacy of public health interests?” [8]. In particular, this resolution aims at optimizing the interaction between industry and stakeholders in the health sector, compliance with ethical standards in research and development on the development of new medicines from penalties deterrent to illegal practices carried out by pharmaceutical companies looking for alternative model pharmaceutical innovations based on patents, excluding artificial barriers to the promotion of generics increased efforts on ensuring transparency etc.

In Moldova, some aspects of pharmaceutical security began to be addressed at the country after 2015.

On February 25, 2015 Parliamentary Committee on Social Protection, Health and Family of the Parliament asked the Government to amend the legislative framework in place to ensure a higher security Pharmaceutical state and avoid future market crises drug [10] taking into account the lack of medicines in hospitals, hikes prices for drugs.

According to the press release of the Parliament of 31 March 2015, the Parliamentary Committee on Social Protection, Health and Family in a meeting with representatives MSRM, AMDM, APAPF, CC, MPhA and the WHO office in Moldova, “claimed the exclusion of discriminatory legal provisions for domestic producers of medicines in relation to importers. This action supports the domestic producers of pharmaceutical products, which will help ensure greater access of the popula-

lui [10], avându-se în vedere lipsa medicamentelor în spitale, majorările nejustificate a prețurilor pentru medicamente și altele.

Conform comunicatului de presă a Parlamentului Republicii Moldova din 31 martie 2015, Comisia Parlamentară Protecție Socială, Sănătate și Familie, într-o ședință cu participarea reprezentanților MSRM, AMDM, APAPF, CC, AFRM și a oficiului OMS în Republica Moldova, a „susținut excluderea unor prevederi legale discriminatorii pentru producătorii autohtoni de medicamente, în raport cu importatorii. Această acțiune vine în susținerea producătorilor autohtoni de produse farmaceutice, fapt ce va contribui la asigurarea unui acces mai mare a populației la medicamente, crearea locurilor de muncă, dezvoltarea economică și securitatea farmaceutică a țării” [11].

Cele expuse mai sus denotă faptul că în noțiunea de „securitate farmaceutică” diferiți autori din diverse țări includ multiple aspecte: calitatea, eficacitatea și siguranța medicamentelor, transportarea și păstrarea lor conformă, accesibilitate și independență de import, elaborarea și promovarea lor etică, utilizarea rațională etc. Totodată, analiza literaturii de specialitate ne permite să conchidem despre absența unei analize complexe de pe pozițiile abordării sistematice a noțiunii de SF și a factorilor ce influențează asigurarea SF a statului.

Scopul prezentei lucrări este abordarea sistemică a securității farmaceutice – bază teoretică și legislativ-normativă a asigurării SF a statului și bază metodologică a cercetărilor privind situația SF în țară.

Priviri generale

Amploarea problemelor ce țin de securitatea farmaceutică (dimensiunile de volum, conținut și profunzime), a atins astăzi un grad extraordinar de acuitate nu numai la nivel de țară, dar și global. În cazurile în care se abordează problemele securității farmaceutice, de cele mai dese ori, se pun în evidență aspectele legate de falsificarea și contrafacerea medicamentelor, accesul populației la medicamentele esențiale, precum și asigurarea relațiilor dintre industria farmaceutică și actorii sistemului de sănătate pe principii etice, orientate spre beneficii, pentru sănătatea publică. Alte aspecte, ce țin de SF, se abordează insuficient, fiind puse în discuție în cazuri unitare, foarte rar sau fiind ignorate, nedepistate, neevaluate. Cauza acestei situații este condiționată de absența unei abordări sistematice a SF. Totodată, este indiscutabilă importanța asigurării din partea statului a securității farmaceutice pentru cetățenii săi.

Securitatea farmaceutică – categorie sistemică

Securitatea farmaceutică, fiind o noțiune multidimensională și complexă, conține, în ansamblu, multiple activități, procese, entități, tehnologii, obiective, informații – toate fiind legate între ele prin relații interpersonale, interfuncționale, interorganizaționale etc. Suplimentar, pentru SF, sunt caracteristice încă trei aspecte semnificative:

- 1) multipli și diverși factori determinanți;
- 2) continuitatea și dinamicitatea tuturor părților componente;
- 3) integritate, având un scop caracteristic, dar și particularitate, făcând parte dintr-un sistem mai complex.

Caracteristicile menționate sunt specifice sistemelor, deci

„*tion to drugs, creating jobs, economic development and pharmaceutical security of the country*” [11]. Also, the literature review allows us to conclude about lack of complex analysis from the standpoint of systematic approach to notification of PhS and PhS factors influencing the state insurance.

The purpose of this paper is to address systemic pharmaceutical security – theoretical and legal-normative base ensuring PhS of the State and methodological research on the situation in the country’ PhS.

General glances

The scale of the security problems related to pharmaceuticals, both as content and volume and depth of today reached an extraordinary degree of acuity both at home and globally. Where is addressing security issues pharmaceutical, most often they reveal aspects of forged and counterfeit medicines, people’s access to essential medicines and providing linkages between industry and stakeholders of the healthcare system on ethical principles aimed at benefits for public health. Other aspects of PhS is insufficient addresses being discussed in unit cases rarely or being ignored, undetected, unrated. Because of this situation it is conditioned by the absence of a systematic approach to PhS. It is also indisputable importance of ensuring state security for its citizens pharmaceuticals.

Pharmaceutical Security – a systemic category

Pharmaceutical Security is a multi-dimensional concept and a whole complex contains multiple activities, processes, entities, technologies, objectives, information – all of which are linked by interpersonal relations, inter-functional, inter-organizational etc.

Additionally, the PhS are characteristic three significant ways:

- 1) multiple and various determinants;
- 2) continuity and dynamics of all the parts;
- 3) integrity, purposeful and characteristic feature, part of a more complex system.

The characteristics listed are specific systems, and therefore PhS is a system, which determines the application indisputable need a systemic approach in the research of PhS.

The first and most important feature of any system is the goal. PhS is logical following formula purpose: providing state of protection lasting the entire human community and every citizen of any threat / danger that would result as a result of the work unsatisfactory / irregular / illegal pharmaceutical system or parts of components. According to the general scheme (Figure 1) any system consists of „inputs”, „content” and „outputs”.

According to the general scheme (Figure 1) any system consists of „inputs”, „content” and „outputs”.

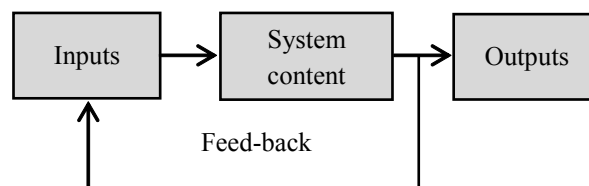


Fig. 1 System' general scheme.

și SF reprezintă un sistem, fapt ce condiționează necesitatea indiscutabilă privind aplicarea abordării sistemice în procesul de cercetare a SF.

Prima și cea mai importantă caracteristică a oricărui sistem este scopul. Pentru SF, este logică următoarea formulă a scopului: „asigurarea din partea statului a unei protecții durabile a întregii comunități umane și a fiecărui locuitor de orice amenințare / pericol, ce ar solda ca rezultat al activității nesatisfăcătoare / neconforme / ilegale a sistemului farmaceutic sau a părților lui componente”.

Conform schemei generale (Figura 1), orice sistem este compus din „intrări”, „conținut” și „ieșiri”.

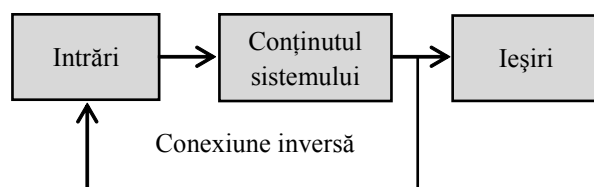


Fig. 1 Schema generală a sistemului.

Intrările în sistemul securității farmaceutice (SSF), conținutul sistemului și ieșirile din sistem sunt expuse în Tabelul 1.

Tabelul 1. Caracteristicile sistemului securității farmaceutice.

Părțile sistemului	Descrierea lor
Intrare	Siguranța medicamentelor și a întregii activități farmaceutice.
Componentă	Medicamentul: elaborarea, standardizarea, producerea, prepararea, controlul calității, transportarea, depozitarea, distribuția, promovarea, farmacovigilența; întreprinderi: laboratoare, uzine farmaceutice, depozite farmaceutice, farmacii, organisme statale; personal; informații; tehnologii.
Ieșire	Acoperirea legislativă a siguranței medicamentelor și activității farmaceutice.

Comparând caracteristicile sistemului securității farmaceutice cu cele ale sistemului farmaceutic, se evidențiază următoarele particularități:

- componentele sistemului farmaceutic sunt aceleași și pentru SSF;
- deosebirea dintre aceste două sisteme constă în deosebirea dintre „intrări” și „ieșiri”, precum și corelația dintre scopuri, după cum s-a menționat mai sus.

Fiind subsistem al sistemului farmaceutic, SSF este și parte componentă a sistemului medical, care, la rândul lui, este subsistem al sistemului de sănătate, toate fiind părți componente ale sistemului mai superior organizat – cel *social*.

Conținând în componența sa uzine farmaceutice, care produc medicamente, SSF este și parte componentă (subsistem) a sistemului *industrial*.

O altă componentă a SSF este personalul, compus în cea mai mare parte din specialiști farmaciști și laboranți-farmaciști, care, conform legislației în vigoare [10], au dreptul și sunt

Entries in pharmaceutical safety system (PSS), content and outputs of the system are given in Table 1 system.

Table 1. Characteristics of pharmaceutical safety system.

System elements	Description
Inputs	Safety of medicines and all pharmaceutical activities.
Content	The drug: the development, standardization, production, preparation, quality control, transportation, storage, distribution, promotion, pharmacovigilance; Business: laboratories, pharmaceutical plants, pharmaceutical warehouses, pharmacies, state bodies; personal; information; technology.
Outputs	Legislative coverage of medicines and pharmaceutical activity.

Comparing pharmaceutical safety system characteristics to those of the pharmaceutical system highlights the following features:

- pharmaceutical system components are the same for SSF;
- distinction between these two systems lies in the distinction between “inputs” and “outputs” and correlation purposes, as mentioned above.

Being subsystem of Pharmacy, SSF is part of the medical system, which in turn is a subsystem of the health system, all the higher parts of the system organized – *social*.

In its composition containing pharmaceutical factories that produce drugs, SSF is part (subsistem) of the industrial system.

Another component of the SSF is the staff, composed mostly of specialists and pharmacists pharmacists lab- that, under current legislation [10] have the right and obligation to continuously improve their professional knowledge. This SSF is part of the education system.

Pharmaceutical companies – indispensable part of the SSF are traders who parallel with pharmaceutical carries out economic and financial activity, which allows classification of SSF economic system.

SSF is a system that is using multiple decisions and, above all, they are regulatory decisions. Thus, this system can be characterized as managerial one.

Part of SSF are pharmaceutical organizations, including all pharmaceutical companies, regulatory and control bodies, NGOs, professional, various regional bodies, all with legal status, organizational structure governed. By this, SSF can be defined as an organizational system.

One of the major characteristics of SSF is the quality of all the parts. This allows assessment of SSF as one of total quality.

The role of information resources at the current stage of development of society and of any system is hard to be overestimated. Therefore SSF can be characterized as one of information.

The systemic approach involves analyzing SSF levels. If SSF looms 3 levels: elementary, integrated and globally.

obligați să-și perfecționeze continuu cunoștințele profesionale. Din acest punct de vedere, SSF este parte componentă a sistemului *educațional*.

Întreprinderile farmaceutice – parte componentă indispensabilă a SSF, sunt agenți economici, care paralel cu activitatea farmaceutică, desfășoară și activitate economico-financiară, fapt ce permite clasificarea SSF la sistemul *economic*.

SSF este un sistem în care se iau multiple decizii și, în primul rând, acestea sunt decizii de reglementare. Astfel, acest sistem poate fi caracterizat drept unul *managerial*.

Parte componentă a SSF sunt organizațiile farmaceutice, care includ toate întreprinderile farmaceutice, organele de reglementare și control, organizații nonguvernamentale, profesionale, diverse organisme de nivel regional, toate având statut legal, structură organizatorică reglementată. Prin aceasta, SSF poate fi definit și ca un sistem *organizațional*.

Una dintre caracteristicile de importanță majoră a SSF este calitatea tuturor părților componente. Acest fapt permite aprecierea SSF ca unul al *calității totale*.

Rolul resurselor informaționale la etapa actuală de dezvoltare a societății dar și a oricărui sistem este greu de supraapreciat. Din aceste considerente, SSF poate fi caracterizat și ca unul *informațional*.

Conform Clasicatorului activităților din economia Moldovei [1], comerțul produselor farmaceutice, atât cu ridicata cât și cu amănuntul (activitățile G 76.46 și G 47.73), sunt activități comerciale. Astfel, SSF prin act oficial, este clasificat la sistemele *comerciale*¹.

Abordarea sistemică presupune analiza SSF pe niveluri. În cazul SSF, se întrevăd 3 niveluri: elementar, integrat și global.

Nivelul elementar include elemente indivizibile ale sistemului: medicamentul și informația ce-l însoțește, consumatorul medicamentului, precum și operațiile și funcțiile indivizibile ale proceselor ce se desfășoară în cadrul SSF. Acest nivel reprezintă temelia întregului sistem, deoarece, calitatea părților componente ale nivelului elementar determină, în cea mai mare măsură, eficiența funcționării sistemului în întregime.

Nivelul integrat presupune organizarea tuturor părților componente în subsisteme ce includ nivelul elementar, toate procesele, produsele și personalul sistemului, toate relațiile interpersonale, interfuncționale și interorganizaționale. Acest nivel reprezintă baza reglementărilor menite să asigure acoperirea legislativ-normativă a siguranței medicamentelor și activității farmaceutice, adică – baza ce asigură ieșirile din sistem corespunzătoare scopului.

Nivelul global se referă la caracterul internațional al unor probleme ale SSF. Acestea sunt condiționate, în cea mai mare măsură, de dependența pieței farmaceutice a Republicii Moldova de medicamente din import. La acest nivel se manifestă reglementările / recomandările de nivel internațional. În primul rând, acestea sunt regulile de bune practici, regulamentele și directivele Uniunii Europene cu care s-au armonizat, se armonizează și tind să se armonizeze reglementările naționale. Totodată, trebuie menționat faptul că armonizarea nu poate fi sută-la-sută; în procesul de armonizare trebuie să se țină cont

Elementary level indivisible elements of the system include: drug and the information that accompanies it, as well as consumer drug operations and functions of processes taking place indivisible in SSF. This level is the foundation of the whole system because the quality components of the elementary level largely determines the efficiency of the entire system operation.

Integrated level involves organizing all of the components into subsystems including elementary level, all the processes, products and personnel system, all interpersonal relationships and inter-interoperable. This level represents the basis of regulations designed to ensure coverage of legislative and normative safety of medicines and pharmaceutical activity, -the basis that ensures exits for the purpose.

The overall level relates to the international character of SSF problems. They are subject to the greatest extent of the dependence of the pharmaceutical market of Moldova imported drugs. At this stage occur regulations / recommendations internationally. First they are good practice rules, regulations and EU directives that have harmonized harmonize and tend to harmonize national regulations. It should also be noted that harmonization cannot be 100%; in the process of harmonization must take account of situations existing in different parts of SSF integrated national level.

Another important aspect of pharmaceutical safety is stating the relationship SSF national security of the Republic of Moldova [5]. It should be noted that the National Security Concept of the Republic of Moldova, any references to pharmaceutical security not found. Only some concrete threats such as drug addiction, the spread of contagious diseases, classified in “threat of social origin” are mentioned in the Concept. However, such threats such as the absence of drugs of vital importance, inaccessibility their economic presence in the pharmaceutical market of counterfeit drugs, promoting abuse of drugs ineffective “security” suspect who really deserve to be part of the Concept national security have not found reflection in this important national policy document. Synthesis components of SSF allowed to highlight three main areas that determine Moldova’s pharmaceutical safety:

I – ensuring effectiveness and safety of medicines of good quality:

II – Ensuring physical and economic accessibility of medicines;

III – Ensuring good quality of all pharmaceutical services and the proper functioning of the entire pharmaceutical system (Figure 2).

Measures to ensure pharmaceutical safety. Given the advanced experience and given that determines the main directions SF Moldova was formulated complex of measures, legislative provision which would allow the gradual strengthening of pharmaceutical safety (Table 1).

¹ **Notă:** Autorii prezentului articol consideră incorectă clasificarea domeniului farmaceutic la cel comercial.

¹ **Note:** The authors of this article considers incorrect classification in the commercial pharmaceutical industry.

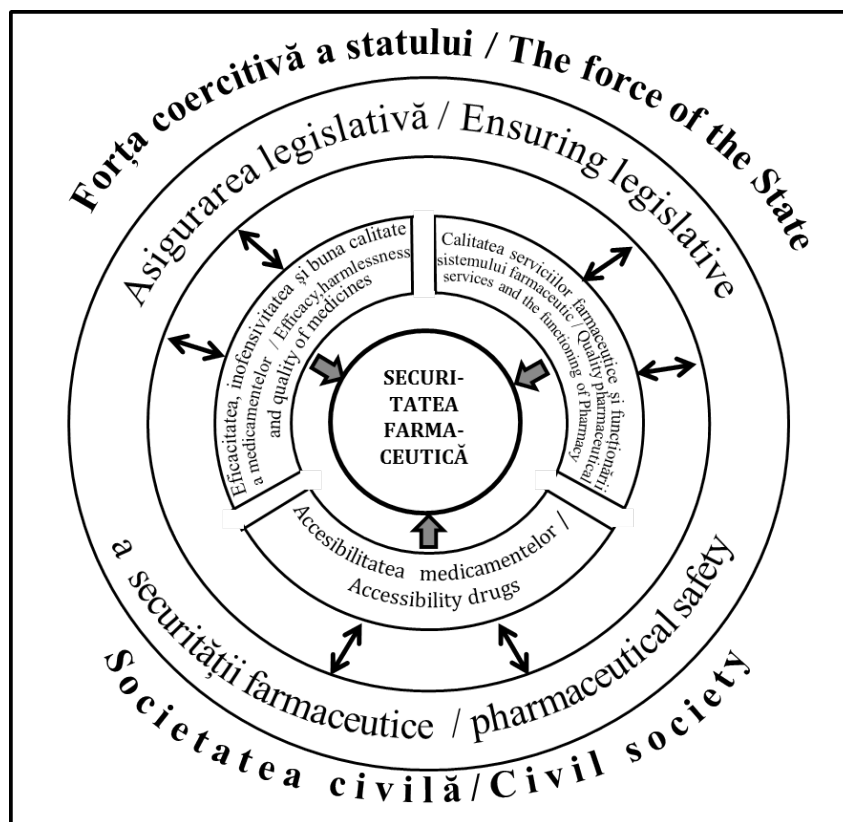


Fig. 2 Schema conceptuală a asigurării securității farmaceutice a statului.

Fig. 2 Conceptual diagram of the state pharmaceutical safety.

de situațiile existente în diversele părți componente ale SSF la nivelul integrat național.

Încă un aspect important al securității farmaceutice este evidențierea corelației SSF cu securitatea națională a Republicii Moldova [5]. Trebuie menționat faptul că în Concepția securității naționale a Republicii Moldova, careva referințe la securitatea farmaceutică nu se regăsesc. Doar unele amenințări concrete, cum ar fi narcomania, răspândirea unor boli contagioase, clasate la „amenințările de origine socială”, sunt menționate în Concepție. Totodată, astfel de amenințări cum ar fi: absența unor medicamente de importanță vitală, inaccesibilitatea lor economică, prezența pe piața farmaceutică a unor medicamente falsificate, promovarea abuzivă a unor medicamente ineficiente, cu „siguranță” suspectă, care neapărat merită să fie parte componentă a Concepției securității naționale, nu și-au găsit oglindire în acest important document de politici naționale.

Sinteza părților componente ale SSF a permis să evidențiem următoarele trei direcții principale ce determină securitatea farmaceutică a Republicii Moldova (Figura 2):

I – asigurarea eficacității, inofensivității și buneii calități a medicamentelor;

II – asigurarea accesibilității fizice și economice a medicamentelor;

III – asigurarea buneii calități a tuturor serviciilor farmaceutice precum și a buneii funcționări a întregului sistemul farmaceutic.

Table 1. The complex of measures to strengthen security pharmaceuticals.

I.	Ensuring the effectiveness and safety of medicines of good quality
1.1.	Conducting research on the development of ethical drugs targeted at obtaining health benefits;
1.2.	Consistent and efficient operation of the authorization procedure to manufacture drugs to domestic enterprises;
1.3.	Compliance with the rules of good practice: laboratory (GLP) in clinical trials (GCP), manufacturing (GMP) of medicines;
1.4.	Quality assurance of drug substances and excipients used in the production of medicines and preparations;
1.5.	Consistent and efficient operation of the service, pharmacovigilance;
1.6.	Ensuring transparency of R & D in developing new drugs;
1.7.	Ensuring the efficiency of the licensing process (expertise, approval, registration) marketing of drugs;
1.8.	Ensure compliance and efficiency of permitting import of medicines;
1.9.	Preventing the placing on the market of pharmaceutical drugs uncontrolled quality;
1.10.	The availability and continuous application of measures to prevent the placing on the pharmaceutical market of counterfeit medicines;

Măsuri de asigurare a securității farmaceutice

Ținând cont de experiența avansată, precum și având în vedere direcțiile principale ce determină SF a Republicii Moldova, a fost formulat complexul de măsuri, asigurarea legislativă ale căror ar permite fortificarea treptată a securității farmaceutice (Tabelul 2).

Tabelul 2. Complexul de măsuri pentru fortificarea securității farmaceutice.

I. Asigurarea eficacității, inofensivității și buneii calități a medicamentelor
1.1. Efectuarea cercetărilor de elaborare a medicamentelor pe principii etice orientate la obținerea beneficiilor pentru sănătate;
1.2. Funcționarea conformă și eficientă a procedurii de autorizare a fabricării medicamentelor la întreprinderile autohtone;
1.3. Respectarea cerințelor regulilor de bune practici: de laborator (GLP), în studiul clinic (GCP), de fabricare (GMP) a medicamentelor;
1.4. Asigurarea calității substanțelor medicamentoase și excipienților utilizați în producerea și prepararea medicamentelor;
1.5. Funcționarea conformă și eficientă a serviciului de farmacovigilență;
1.6. Asigurarea transparenței procesului de cercetare-dezvoltare în domeniul elaborării medicamentelor noi;
1.7. Asigurarea eficienței procesului de autorizare (expertiză, omologare, înregistrare) de punere pe piață a medicamentelor;
1.8. Asigurarea conformității și eficienței procesului de autorizare a importului de medicamente;
1.9. Neadmiterea plasării pe piața farmaceutică a medicamentelor nesupuse controlului calității;
1.10. Disponibilitatea și aplicarea continuă a măsurilor de prevenire a plasării pe piața farmaceutică a medicamentelor falsificate;
1.11. Asigurarea păstrării conforme (GDP, GSP) și transportării conforme (GTP) a medicamentelor.
II Asigurarea accesibilității fizice și economice a medicamentelor
2.1. Amplasarea uniformă, corespunzătoare normativelor demografic și geografic a farmaciilor comunitare pe întreg teritoriul țării;
2.2. Asigurarea prezenței medicamentelor esențiale, inclusiv a celor compensate în / la: <ul style="list-style-type: none"> • Nomenclatorul de stat al medicamentelor; • Catalogul Național al prețurilor de producător; • depozitele farmaceutice; • farmaciile comunitare; • instituțiile medico-sanitare (conform Formularului farmacoterapeutic instituțional și a protocoalelor clinice naționale);
2.3. Stabilirea responsabilităților pentru prezența / absența medicamentelor esențiale pe piața farmaceutică;
2.4. Elaborarea și implementarea conceptului medicamentelor orfane;
2.5. Asigurarea asistenței cu medicamente a populației pe parcursul zilei, iar a asistenței urgente – pe parcursul a 24 de ore;
2.6. Asigurarea disponibilității totale a informației despre prezența / absența medicamentelor în farmaciile comunitare / la depozitele farmaceutice;
2.7. Existența normei privind sortimentul minim obligatoriu de medicamente în farmaciile comunitare și depozitele farmaceutice;

1.11. Ensuring consistent retention (GDP GSP) and transportation conformity (GTP) of drugs.

II. Ensure the physical and economic accessibility of medicines

- 2.1. Uniform location, demographic and geographic norms appropriate community pharmacies throughout the country;
- 2.2. Ensuring the presence of essential drugs including offset / from:
 - State Nomenclature of drugs;
 - National Catalogue of producer prices;
 - pharmaceutical warehouses;
 - community pharmacies;
 - healthcare institutions (according to Form pharmacotherapeutic institutional and national clinical protocols);
- 2.3. Establishing responsibilities for the presence/ absence of essential drugs in the pharmaceutical market;
- 2.4. Developing and implementing the concept of orphan drugs;
- 2.5. Assisting with population intraday medicines and emergency assistance - within 24 hours;
- 2.6. Ensuring total information about the presence/ absence of medicines in community pharmacies / pharmaceutical deposits;
- 2.7. The existence of the rule on mandatory minimum range of medicines in community pharmacies and pharmaceutical warehouses;
- 2.8. Establishing a rule of law which prohibits unjustified refusal of delivery drugs to pharmacies warehouse and IMS;
- 2.9. There was an effective pricing for medicines;
- 2.10. Ensuring the professional negotiation of producer prices;
- 2.11. Ensure effective functioning of the mechanism of drug procurement for PMSI needs;
- 2.12. Ensuring total transparency and exclusion of conflict of interest in the procurement of medicines;
- 2.13. Continuous expansion of the list of compensated drugs;
- 2.14. Creating stimulating mechanisms for ensuring the presence of generics in the pharmaceutical market.

III Ensuring a good quality of pharmaceutical services and the proper operation of Pharmacy

- 3.1. Ensuring compliance with essential pharmaceutical services (correspondence accreditation standards and standard operating procedures);
- 3.2. Unfair competition in the pharmaceutical market, banning monopolies;
- 3.3. Stimulating the establishment of rules for implementing advanced pharmacy services;
- 3.4. Ensuring uninterrupted information/ timely Pharmacy Act;
- 3.5. Ensuring compliance with legal requirements involved in the professionalism of pharmaceutical activity;
- 3.6. Compliance with good pharmacy practice (GPP) and standards of good practice for dispensing medicines (GDP);
- 3.7. Strengthen the functionality and efficiency of the Pharmaceutical Inspectorate;

- 2.8. Stabilirea unei norme juridice, care interzice refuzul neargumentat al livrării medicamentelor de la depozitul farmaceutic către farmacii și IMS;
- 2.9. Existența unui mecanism eficient de formare a prețurilor pentru medicamente;
- 2.10. Asigurarea profesională a procesului de negociere a prețurilor de producător;
- 2.11. Asigurarea funcționării eficiente a mecanismului de achiziții publice a medicamentelor pentru necesitățile IMSP;
- 2.12. Asigurarea transparenței totale și excluderea conflictului de interese din procesul achiziției publice de medicamente;
- 2.13. Lărgirea continuă a listei medicamentelor compensate;
- 2.14. Crearea mecanismelor stimulatorii de asigurare a prezenței medicamentelor generice pe piața farmaceutică.

III Asigurarea bunei calități a serviciilor farmaceutice și a bunei funcționări a sistemului farmaceutic

- 3.1. Asigurarea conformității serviciilor farmaceutice esențiale (corespunderea standardelor de acreditare și procedurilor operaționale standard);
- 3.2. Combaterea concurenței neloiale pe piața farmaceutică, neadmiterea monopolismului;
- 3.3. Stabilirea normelor stimulatorii pentru implementarea serviciilor farmaceutice avansate;
- 3.4. Asigurarea informațională neîntreruptă / oportună a actului farmaceutic;
- 3.5. Asigurarea respectării cerințelor legale privind nivelul profesionalismului specialiștilor încadrați în activitatea farmaceutică;
- 3.6. Respectarea cerințelor regulilor de bună practică de farmacie (GPP) și a regulilor de bună practică de distribuție a medicamentelor (GDP);
- 3.7. Fortificarea funcționalității și eficienței activității Inspectoratului Farmaceutic;
- 3.8. Reglementarea principiilor utilizării raționale a medicamentelor;
- 3.9. Eficientizarea conceptului și procedurilor de acreditare a întreprinderilor farmaceutice;
- 3.10. Modificarea procedurii de autorizare (licențiere) a activității farmaceutice și fortificarea ei profesională;
- 3.11. Asigurarea respectării normelor promovării etice a medicamentelor;
- 3.12. Asigurarea prevenirii conflictelor de interese și a coruptibilității în toate procesele, procedurile și funcțiile cuprinse în noțiunea de activitate farmaceutică;
- 3.13. Fortificarea procedurilor de nimicire inofensivă a medicamentelor cu termen de valabilitate expirat, a celor rebutate și deteriorate;
- 3.14. Exercițarea conformă a profesiei de farmacist și a celei de laborant-farmacist;
- 3.15. Fortificarea rolului organizațiilor profesionale a farmaciștilor în asigurarea bunei calități a serviciilor farmaceutice și a bunei funcționări a întregului sistem farmaceutic;
- 3.16. Stabilirea și promovarea principiilor de colaborare „medic – farmacist” în folosul pacientului;
- 3.17. Contribuții reale la prevenirea și combaterea narcomaniei și narcobusinessului;
- 3.18. Interacțiunea dezvoltării pe toate dimensiunile a conceptului de farmacie clinică.

- 3.8. Regulating the principles of rational use of medicines;
- 3.9. Efficient concepts and procedures for accreditation of pharmaceutical companies;
- 3.10. Amending the procedure for authorization (licensing) of pharmaceuticals and strengthen her professional activity;
- 3.11. To ensure the ethical promotion of medicines;
- 3.12. Ensure the prevention of conflicts of interest and corruption in all processes, procedures and functions within the concept of pharmaceutical activity;
- 3.13. Strengthening the procedures for destruction harmless drugs with expired, those discarded and damaged;
- 3.14. Consistent pursuit of the profession of pharmacy and pharmacists laboratory activities;
Strengthening the role of professional organizations of pharmacists in ensuring the best quality of pharmaceutical services and the proper functioning of the entire pharmaceutical system;
- 3.15.
- 3.16. The establishment and promotion of cooperation "doctor – pharmacist" for the benefit of the patient;
- 3.17. Real contribution to preventing and combating drug addiction and drug trafficking;
- 3.18. Interaction of all sizes developing the concept of clinical pharmacy.

Making measures to ensure pharmaceutical safety is the major addictive and correlates mainly with legislative and regulatory coverage of all aspects elucidated in Table 1. The analysis of legislative and regulatory coverage of all components can be structured based on SF principles of Pharmacy has launched for discussion 2013 [7]. Using the five proposed principles will ensure highlighting all risk factors on pharmaceutical safety: the principle of legality Pharmacy Act; the principle of ensuring the quality, effectiveness and safety of medicines; the principle of guaranteeing public access to pharmaceutical care quality; balanced regulation of the pharmaceutical market principle and the principle of unity between the medical and pharmaceutical act.

All postulates, principles and measures set out above are allowed to be developed algorithm pharmaceutical safety research in Moldova (Figure 3).

The content of the algorithm shown in Figure 3 interpreted from the standpoint of the systemic approach is the basis of research Methodology SF in Moldova, scheduled for Implementation During the years 2016 to 2017.

Conclusions

1) To demonstrate the systemic nature of pharmaceutical safety. The system is distinguished by pharmaceutical safety purpose inputs and outputs. It highlighted three levels of pharmaceutical safety system: elementary, integrated and globally.

2) They argued three main areas of pharmaceutical safety in Moldova: a) the effectiveness, quality and safety of medi-

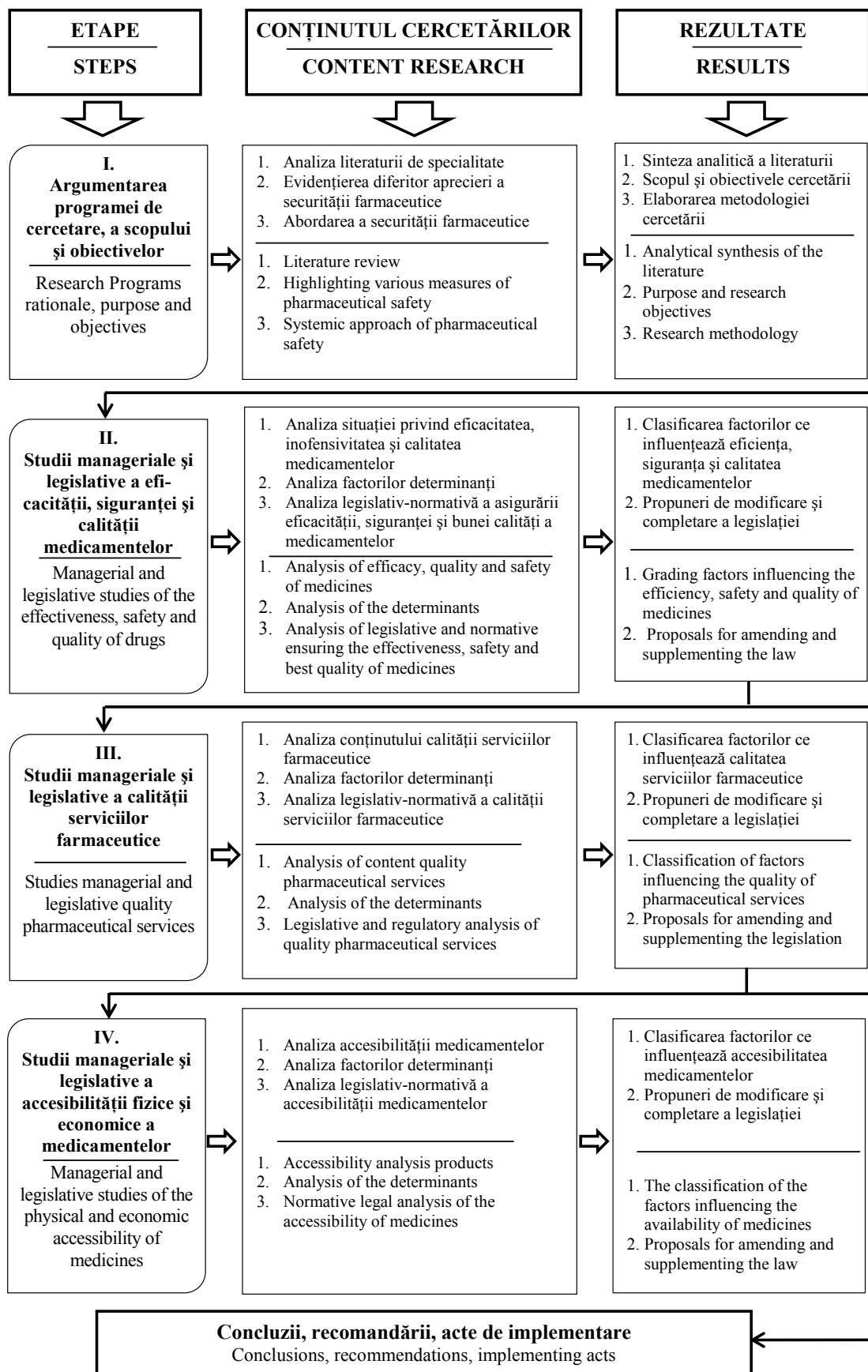


Fig. 3 Algoritm de cercetare a securității farmaceutice în Republica Moldova.

Fig. 3 Research algorithm on pharmaceutical security in Republic of Moldova.

Realizarea măsurilor de asigurare a securității farmaceutice este în dependență majoră și corelează preponderent cu gradul de acoperire legislativ-normativă a tuturor aspectelor elucidate în Tabelul 2. Procesul de analiză a gradului de acoperire legislativ-normativă a tuturor componentelor SF poate fi structurat în baza principiilor dreptului farmaceutic, lansate pentru discuții în a. 2013 [7]. Utilizarea celor 5 principii propuse va asigura posibilitatea evidențierii tuturor factorilor de risc privind securitatea farmaceutică: principiul legalității actului farmaceutic; principiul asigurării calității, eficacității și inofensivității medicamentelor; principiul garantării accesului populației la asistența farmaceutică de calitate; principiul reglementării echilibrate a pieței farmaceutice și principiul unității între actul medical și actul farmaceutic.

Toate postulatele, principiile și măsurile expuse mai sus au permis să fie elaborat algoritmul cercetării securității farmaceutice în Republica Moldova (Figura 3).

Conținutul algoritmului, prezentat în Figura 3, interpretat de pe pozițiile abordării sistemice, reprezintă baza metodologică a cercetării SF în Republica Moldova, preconizată spre realizare pe parcursul anilor 2016-2017.

Concluzii

1) S-a demonstrat caracterul sistemic al securității farmaceutice. Sistemul securității farmaceutice se deosebește prin scop, intrări și ieșiri. S-au evidențiat trei niveluri ale sistemului securității farmaceutice: elementar, integrat și global.

2) S-au argumentat trei direcții principale ale asigurării securității farmaceutice în Republica Moldova: a) eficacitatea, inofensivitatea și buna calitate a medicamentelor; b) accesibilitatea fizică și economică a medicamentelor; c) buna calitate a serviciilor farmaceutice și a funcționării sistemului farmaceutic.

3) S-a trasat metodologia cercetării securității farmaceutice asigurate în Republica Moldova.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară despre lipsa oricărui conflict de interese în legătură cu conținutul materialelor expuse în prezentul articol.

Contribuția autorilor

VB și VS au conceput studiul, au elaborat designul și algoritmul cercetării, au efectuat abordarea sistemică a securității farmaceutice, au redactat manuscrisul. SA și AL au contribuit la sinteza analitică a literaturii.

Referințe/references

1. Clasificatorul Activităților din Economia Moldovei, Rev. 2, (CAEM-2), Ed. oficială, Chișinău, BNS, 2009, 221 p.
2. Dicționarul explicativ al limbii române. Ed. a II-a, Editura Univers Enciclopedic, București, 1998, p. 969. ISBN 973-637-087-x.
3. Ерасова Е. А. Экономико-правовые аспекты обеспечения лекарственной безопасности в России, Вестник СПбГУ. 2012. №1. стр. 49-59.
4. Legea ocrotirii sănătății Nr.411-XIII din 28.03.95, art. 10, alin. (1).
5. Legea pentru aprobarea Concepției securității naționale a Republicii Moldova Nr. 112 din 22.05.2008.
6. Safta V., Brumărel M., Ciobanu N., Adauji S. Management și Legislație farmaceutică. Ch. : S. n., 2012 (F.E.-P. „Tipogr. Centrală”). – 800 p. ISBN 978-9975-53-117-7. p. 157.

cines, b) accessibility and affordability of medicines, c) quality of pharmaceutical services and the functioning of Pharmacy.

3) To trace pharmaceutical safety research methodology provided in Moldova.

Declaration of conflicting interests

The authors declare conflict about the absence of any conflict of interest in relation to the content of the materials presented in this article.

Contributing authors

VB and VS authors have designed the study, developed the algorithm design and research conducted systematic approach of pharmaceutical safety, drafted the manuscript. SA and AL contributed to analytical synthesis of the literature.

7. Safta V., Brumărel M., Ciobanu N., Lupu M. Repere conceptuale privind dreptul farmaceutic. În: A XXII-a Reuniune Națională de istoria farmaciei dedicată memoriei Profesorului Marțian Cotrău, la împlinirea a 90 de ani de la naștere. România, Iași, 2013, pp.79-80.
8. Sănătatea publică și interesele industriei farmaceutice: cum poate fi garantată supremația intereselor sănătății publice? Rezoluția Asamblei parlamentare a CE, 29 septembrie 2015, 2p.
9. Горячев А. Б. Безопасность фармацевтических услуг. http://studopedia.ru/3_72040_slayd--ponyatie-i-predmetnaya-oblast-farmatsevticheskoy-bezopasnosti.html (accesat 08.02.2016).
10. Cheptine A. Deputații au cerut PG, CNA și CC să se implice. Se anunță o mică revoluție! <http://tribuna.md/2015/02/25/deputatii-au-cerut-pg-cna-si-cc-sa-se-implice-se-anunta-o-mica-revolutie/> (accesat 09.02.2016).
11. Comisia Protecție Socială, Sănătate și Familie. Comunicat de presă <http://www.parlament.md/Actualitate/Comunicatedepresa/tabid/90/ContentId/2078/language/ro-RO/Default.aspx>. (accesat 08.02.2016).
12. Healthcare & Pharmaceutical Security Solutions. <http://www.protection1.com/business/healthcare-security-services/>. (accesat 02.02.2016).

ARTICOL DE SINTEZĂ

Substituenții biologici ai pielii – între mit și realitate

Octavian Cirimpei¹, Tatiana Malcova^{1,2},
Diana Cirimpei^{1,3}, Viorel Nacu^{1,2}

¹Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie, Chișinău, Republica Moldova;

²Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova;

³Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România.

Autor corespondent:

Tatiana Malcova, studentă

Facultatea de medicina nr. 1

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: malcovatiana92@mail.ru

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Niciunul din materialele existente, destinate închiderii defectului tegumentar, nu satisface în totalitate cerințele medicilor cliniciști. Cercetările în acest domeniu continuă și în zilele noastre. Ele au drept scop principal obținerea unui substituent de piele universal, care, pe de o parte, va asigura acoperirea mecanică a defectului, iar pe de altă, va stimula procesul de regenerare.

Ipoteza de cercetare

Expunerea unei sinteze narative a literaturii contemporane, referitoare la substituenții biologici de piele.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Sinteza celor mai recente date despre principalele grupe de substituenți biologici de piele, indicațiile și contraindicațiile lor de utilizare, efectele și posibilele avantaje ale acestei metode de tratament, comparativ cu metodele convenționale (greafa de piele, standardul actual de aur în tratamentul leziunilor extinse), actualizează informația deținută de către personalul medical.

Rezumat

Introducere. Substituenții de piele sunt încă în curs de dezvoltare. Ei sunt aplicați în calitate de tratament adjuvant al arsurilor și, de asemenea, pentru tratamentul plăgilor cronice și al ulcerelor venoase și diabetice. Având în vedere că mortalitatea în caz de arsuri continuă să scadă, există un interes crescut pentru dezvoltarea unor metode noi de tratament, care ar reduce morbiditatea. Această lucrare compară rezultatele clinice obținute la utilizarea diferitor tipuri de substituenți biologici de piele.

Material și metode. Din bazele de date PubMed și Springer Link, au fost selectate articolele după cuvintele cheie “wound

REVIEW ARTICLE

Biological skin substitutes – between myth and reality

Octavian Cirimpei¹, Tatiana Malcova^{1,2},
Diana Cirimpei^{1,3}, Viorel Nacu^{1,2}

¹Traumatology and Orthopedics Hospital, Chisinau, Republic of Moldova;

²Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, Bucharest, Romania.

Corresponding author:

Tatiana Malcova, medical student

Faculty of Medicine no. 1

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: malcovatiana92@mail.ru

What is not known yet, about the topic

None of existing material for skin defect closure satisfies completely doctors' requirements. Researches in this field continue. They have the main goal obtaining of a universal skin substitute which ensures mechanical coverage of the skin defect and stimulates the regeneration process.

Research hypothesis

To provide an overview of current data on the biological skin substitutes.

Article's added novelty on this scientific topic

A synthesis of the latest worldwide data on the main groups of biological skin substitutes, indications and contraindications of the use, effects and possible advantages of this method of treatment vs. conventional methods (as transplantation of split-thickness skin grafts, which remains the gold standard of care for extensive wounds) facilitates perception of information by the medical professionals.

Abstract

Introduction. Skin tissue substitutes are still developing, being conceived as adjuvant treatment of burns, but also, as treatment of chronic plagues and of the more frequent venous and diabetic ulcers. Since the burn-related mortality continues to decrease, there is an increased interest for the development of new treatment guidelines that would decrease the morbidity. This work compares the clinical usage of different types of biologic skin substitutes.

Material and methods. Articles containing the keywords “wound healing”, “wound coverage”, “wound closure”, “wound treatment”, “skin biological substitutes”, were selected from

healing”, “wound coverage”, “wound closure”, “wound treatment”, “skin biological substitutes”. A fost selectată și procesată informația despre grupele principale de substituenți biologici de piele, indicațiile pentru utilizarea acestora, efectele obținute și beneficiile în cazul utilizării acestora în tratament.

Rezultate. După procesarea informației din bazele de date *PubMed* și *Springer Link* conform criteriilor de căutare, au fost găsite 586 de articole despre utilizarea clinică a substituenților biologici de piele. Bibliografia finală conține 47 de surse, care au fost suficiente pentru formularea ideilor principale.

Concluzii. În viitor, substituenții de piele vor avea un mai mare potențial de a stimula procesul de regenerare a leziunii, decât de a o repara. Pielea artificială va înlocui grefele de piele, astăzi considerate drept standard de aur în tratamentul defectelor tegumentare. În calitate de clinicieni, scopul nostru este – de a-l asigura pe pacientul ars – cu piele de cea mai înaltă calitate și cât mai rapid posibil. Ca oameni de știință, noi deocamdată, nu am realizat scopul final – obținerea pielii artificiale gata pentru utilizare și, cu atât mai mult, în cantități suficiente. Însă, prin sinteza ultimelor date în acest domeniu și aplicarea rațională a cunoștințelor noi în practică, putem să ne asigurăm că folosim materialul potrivit într-o situație corespunzătoare.

Cuvinte cheie: vindecarea arsurilor, acoperirea defectului, închiderea leziunilor, substituenți biologici de piele.

Introducere

Progresul recent, realizat în domeniul biotehnologiei, sugerează ideea că ingineria tisulară ar fi o abordare interesantă în rezolvarea problemei deficitului de organe [1]. Substituenții de piele, obținuți prin ingineria tisulară, reprezintă un mijloc terapeutic inovator în tratamentul arsurilor și ulcerelor cutanate și, de asemenea, un instrument puternic pentru cercetarea fundamentală [2, 3].

Din punct de vedere anatomic și funcțional, pielea e compusă din două straturi: cel superficial, epidermic, care reprezintă o barieră împotriva infecției și pierderilor lichidiene, și cel dermic, profund, care este responsabil de elasticitatea, rezistența și integritatea mecanică.

Vindecarea plăgilor reprezintă un proces complex și dinamic de substituire a structurilor acelulare, devitalizate și a straturilor tisulare [4].

Fazele procesului de vindecare sunt: faza inflamatorie, faza proliferativă și faza de maturizare [5]. Fibroblastele dermale și cheratinocitele epidermale joacă un rol esențial în vindecarea plăgilor cutanate și repararea pielii. Pe parcursul fazelor a doua și a treia a procesului de reparare a leziunilor termice, pe prim plan iese interacțiunea specifică a acestora, care duce, în final, la schimbarea treptată a micromediului de la cel inflamator la cel de sinteză, cu formarea țesutului de granulație. Cheratinocitele stimulează fibroblastele să sintetizeze factorii de creștere; fibroblastele, la rândul lor, stimulează proliferarea keratinocitelor într-o manieră dublă, paracrină [6]. Pe parcursul fazei de proliferare, rana este „reconstruită” cu noul țesut de granulație, compus din collagen și matricea extracelulară, în care se dezvoltă o nouă rețea de vase sanguine (proces cunoscut drept *angiogeneză*). Formarea țesutului de granulație să-

the *PubMed* and *Springer Link* databases. Information on the main groups of biological skin substitutes, indications of the use, effects and benefits of this method of treatment was selected and processed.

Results. As a result of information processing in *PubMed* and *Springer Link* databases according to the search criteria, there were found 586 articles on biological skin substituents clinical use. The final bibliography includes 47 sources necessary to formulate the main ideas of this issue.

Conclusions. In future, skin substitutes may have more ability to stimulate regeneration than to repair, and artificial skin may be like skin split autografts – the gold standard for skin defects recovery today. As clinicians, our goal is to provide patients with wounds with skin of the highest quality in the shortest time possible. As scientists, we have not reached the final goal yet – to have an artificial skin ready for use, but bringing into question the current views and using them rationally we can at least do our duty as clinicians and ensure that we use the right material in a proper situation.

Keywords: wound healing, wound coverage, wound closure, wound treatment, and skin biological substitutes.

Introduction

Recent biotechnological progress suggests that tissue engineering is an interesting approach to counteract organ deficit [1]. Tissue-engineered skin substitutes represent an innovative therapeutic option for the treatment of burns and skin ulcers as well as a powerful tool for fundamental research [2, 3].

The anatomical and functional structure of the skin is composed of two layers: the superficial epidermis, which acts as a barrier against infection and fluid loss and deep dermis, which is responsible for elasticity and mechanical integrity.

Wound healing is a complex and dynamic process of replacing devitalized and missing cellular structures and tissue layers [4].

The phases of wound healing are: inflammatory, proliferation, and maturation phases [5]. Dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes play a pivotal role in cutaneous wound healing and skin repair. In the mid- and late phase of wound healing, cellular interactions become dominated by the interplay of keratinocytes with fibroblasts, which gradually shift the microenvironment away from an inflammatory to a synthesis-driven granulation tissue. Keratinocytes stimulate fibroblasts to synthesize growth factors, which in turn, will stimulate keratinocyte proliferation in a double paracrine manner [6]. During proliferation, the wound is “rebuilt” with new granulation tissue which is comprised of collagen and extracellular matrix and into which a new network of blood vessels develop, a process known as angiogenesis. Healthy granulation tissue is dependent upon the fibroblast receiving sufficient levels of oxygen and nutrients supplied by the blood vessels. Healthy granulation tissue is granular and uneven in texture; it does not bleed easily and is pink/red in colour. The colour and condition of the granulation tissue is often an indi-

nătos depinde dacă fibroblastele primesc în cantități suficiente oxigen și substanțe nutritive. Țesutul de granulație sănătos este granular și are textură diferită; acesta nu sângrează ușor și are culoarea roză sau roșie. Culoarea și alte proprietăți ale țesutului de granulație sunt considerați drept indicatori ai modului în care rana se vindecă. Țesutul de granulație de culoare întunecată arată un nivel scăzut de perfuzie, o ischemie și/sau o infecție. În final, celulele epiteliale acoperă suprafața plăgii, are loc procesul de epitelizare [5]. Regenerarea epidermei are loc, în mare parte, din celulele epidermice rămase, care se găsesc în adâncimea structurilor dermice. Creșterea de pe marginile plăgii este insuficientă atunci, când defectul tegumentar depășește câțiva centimetri [7].

Scopurile principale în cadrul îngrijirii defectelor cutanate sunt: debridarea și curățarea defectului, aplicarea agenților antimicrobieni, acoperirea cu materiale biologice, acoperirea cu materiale sintetice sau biosintetice, excizie și grafting [8]. Recuperarea cât mai precoce a funcției de barieră a tegumentului este cheia succesului în tratamentul pacienților cu arsuri cu grad diferit de lezare a pielii. Substituenții de piele sunt absolut de neînlocuit în cadrul îngrijirii pacienților arși, precum și a celor care necesită ample reconstrucții post arsură. Aceștia influențează rezultatul obținut în cadrul tratamentului victimelor arse [9]. Pentru închiderea plăgii e nevoie de așa un material, care să restabilească funcția de barieră a epidermei și să se încorporeze în plagă în cursul vindecării. Materialele pentru acoperirea plăgii se potrivesc cel mai bine pentru arsurile superficiale (arsuri de gradul I-II), unde creează un mediu benefic regenerării epidermei, oferind o barieră împotriva infecției și controlând pierderile de apă [7].

Material și metode

Articolele au fost selectate din bazele de date *PubMed* și *Springer Link* după cuvintele cheie “wound healing”, “wound coverage”, “wound closure”, “wound treatment”, “skin biological substitutes”.

După examinarea titlurilor articolelor, în bibliografia finală au fost incluse doar acelea, care conțineau informații noi și concepte contemporane despre efectele și indicațiile de utilizare ale substituenților biologici de piele. Pentru selecția avansată a literaturii, am folosit următoarele filtre: lucrări publicate începând cu luna martie 2015 în limbile engleză, română și rusă. De asemenea, a fost studiată bibliografia articolelor selectate, cu scopul de a găsi alte articole relevante scopului nostru. Informația a fost sistematizată, evidențiind principalele aspecte ale viziunii contemporane asupra caracteristicii generale a substituenților de piele, clasificarea acestora, avantajele și dezavantajele fiecărui grup, posibilele indicații și contraindicații de utilizare. Publicațiile, care nu au fost accesibile pentru vizionare, au fost excluse din lista publicațiilor generate de motorul de căutare.

Rezultate

După procesarea informației, selectate din bazele de date *PubMed* și *Springer Link*, conform criteriilor sus-menționate, au fost găsite 586 de articole relevante temei noastre. Pentru a clarifica unele aspecte, la necesitate, a fost consultată literatură adițională. Bibliografia finală a inclus 47 de publicații.

cator de how the wound is healing. Dark granulation tissue can be indicative of poor perfusion, ischaemia and / or infection. Epithelial cells finally resurface the wound, a process known as epithelialisation [5]. Epidermis regeneration occurs from remaining epidermal cells, which lies in the depth of dermal structures. The cell growth from the wound edges is not sufficient if the defect exceeds several centimeters [7].

The general wound care consists in: clearing and debridement, antimicrobial agents, biological dressing, biosynthetic and synthetic dressing, excision and grafting [8]. The timely restoration of skin protective functions is the key to the successful treatment of burn victims with various severity of damaged skin. Skin substitutes are required in the acutely burned patients as well as in those requiring extensive post burn reconstructions. These have important impact in the care and outcome in the burn victims [9]. An adequate wound closure material should restore the barrier function of the epidermis and incorporate in wound bed during the healing process. Wound coating materials are the best choice for superficial burns (burns I-II degree), because they create a beneficial environment for epidermis regeneration, provide a barrier against infection and control the water loss [7].

Material and methods

Articles containing the keywords “wound healing”, “wound coverage”, “wound closure” “wound treatment”, “skin biological substitutes”, were selected from the *PubMed* and *Springer Link* databases.

After examining the titles of articles found, only works that could possibly include accounts of current concepts regarding the effects and indications of use of biological skin substitutes were selected. For advanced selection of literature sources, the following filters were applied: works published by March 2015, articles in English, Romanian and Russian. The bibliography of selected articles was analysed too, in order to find other articles, relevant to the intended purpose. Conclusions of existing literature reviews were critically examined. Subsequently, information was systematized, highlighting the main aspects of contemporary vision on: skin substituents general characteristics, classification, advantages and disadvantages of each group, possible indications and contraindications. The publications that were not accessible for viewing were excluded from the list of publications generated by search engine.

Results

As a result of information processing in *PubMed* and *Springer Link* databases according to the search criteria, there were found 586 articles on biological skin substitute’s clinical use. If necessary (to clarify some aspects) additional literature was consulted. The final reference includes 47 of publications.

Skin substitutes are a heterogeneous class of therapeutic devices that vary in their biology and application. These substances are alternatives to the standard wound coverage in

Substituenții de piele reprezintă o clasă heterogenă de mijloace terapeutice, ce diferă după structură și indicații pentru utilizare. Aceste produse pot fi folosite pentru acoperirea leziunilor cutanate, atunci când aplicarea mijloacelor standard nu este posibilă. Deși nu există un material universal, anumite criterii generale trebuie luate în considerație la evaluarea alternativelor.

Caracteristica generală a substituenților de piele

- produsul trebuie să fie ușor de pregătit și să se aplice fără a necesita o pregătire specială. Flexibilitatea materialului permite ca acesta să fie adaptat plăgilor de diferite tipuri;
- materialul trebuie să fie rezistent la hipoxie și să aibă un grad înalt de rezistență la infecție, pentru a permite ca și țesuturile relativ ischemizate să fie acoperite;
- substituentul ideal de piele ar trebui să aibă o rezistență bună la forțele de tracțiune și să ofere plăgii stabilitate permanentă;
- acesta ar trebui să includă în structura sa cele două zone ale pielii (epidermul și dermul) și să nu posede proprietăți antigenice, care ar putea compromite rezultatele grefării [10].
- deoarece niciunul din produsele existente nu corespunde tuturor criteriilor sus-menționate, fiecare caz trebuie examinat cu atenție, în scopul alegerii celui mai potrivit material.

Clasificarea substituenților de piele

În primul rând, substituenții de piele se clasifică în funcție de tipul de țesut folosit pentru grefare. Din acest punct de vedere, deosebim *xenogrefe*, *alogrefe* și *autogrefe*. Pot exista unele suprapuneri între categorii, atunci când un produs individual conține atât componente de origine animalieră, cât și componente sintetice, sau elemente de origine umană și animalieră.

Xenogrefele sunt țesuturi transplantate de la o specie pe o altă specie și sunt folosite în calitate de grefă temporară (de ex., piele de broască și piele de șopârlă). Xenogrefele porcine astăzi sunt cel mai frecvent utilizate [11, 12].

Alogrefele sunt grefe transplantate între indivizi genetic neidentici, dar care aparțin aceleiași specii. Cele mai multe alogrefe se obțin de la cadavru. Alogrefele se împart în trei categorii: epiteliale/epidermice, dermice și complexe (dermo-epidermice). În cadrul acestor trei categorii, acestea mai pot fi acelulare, celulare/vii sau mixte, celular-acelulare. Exemple – *AlloDerm*, *Graftjacket*, *Neofrom*, *Dermamatrix*, *ICX-SKIN*, *TransCyte*, *Dermagraft*, *Apligraf*, *Orcelare*, *Apiligraf*, *OrCel*.

Alogrefele, sau țesuturile prelevate de la un donator viu sau decedat, și xenogrefele, obținute de la o altă specie, promovează procesul de reepitelizare și pregătesc patul leziunii pentru aplicarea autogrefei; la fel, cresc rata vindecării, comparativ cu pansamentele tradiționale [13]. O meta-analiză recentă a sugerat că dacă alogrefele și xenogrefele au aceeași eficiență, atunci xenogrefele par a fi o alegere superioară, pentru că au o siguranță mai mare și un preț redus [14]. Cu toate acestea, concluziile generale ale acestei meta-analize trebuie acceptate cu precauție, deoarece studiile citate nu sunt standardizate, iar detaliile critice, cum ar fi adâncimea și dimensiunea de arsură, au fost trecute cu vederea. O alogrefă de la cadavru este,

circumstances when standard therapies are not desirable. Although there is no single perfect skin substitute, certain characteristics can be considered when evaluating alternatives.

Skin substitute general characteristics

- the substitute should be easy to prepare and apply without intensive training. Flexibility of thickness allows the product to be tailored to every type of wound;
- the product should be able to withstand a hypoxic wound bed and have a degree of resistance to infection in order to allow relatively ischemic tissues to be candidates for application;
- the ideal skin substitute should have resistance to tensile forces and provide permanent and long term wound stability;
- it should reproduce both components of the skin (epidermis and dermis) and provide no antigenicity that could compromise the graft or host or present difficulties with future applications [10];
- because no single product meets all these criteria, each patient case requires careful evaluation before choosing the appropriate treatment.

Skin substitute's classification

Skin substitutes are primarily categorized by the type of tissue used for grafting. Products are broadly classified as *xenografts*, *allografts*, and *autografts*. There can be some overlap among categories when an individual product contains both animal and synthetic components or both human and animal components.

Xenografts are tissues transplanted from one species onto another species, used as a temporary graft (e.g., frog skin and lizard skin). Porcine products are the most commonly used xenografts today [11, 12].

Allografts are grafts transplanted between genetically non-identical individuals of the same species. Most human skin substitute allografts come from cadaveric sources. Allografts fall into three categories: epithelial/epidermal, dermal, and composite (epidermal and dermal). Within these three categories, they may be acellular, cellular/living, or cellular/non-living. Examples – *AlloDerm*, *Graftjacket*, *Neo-from*, *Dermamatrix*, *ICX-SKIN*, *TransCyte*, *Dermagraft*, *Apligraf*, *Orcelare*, *Apiligraf*, *OrCel*.

Allografts, or tissue taken from a living or deceased human donor, and xenografts, taken from a different species, promote re-epithelialization and prepare the wound bed for autograft, increasing the healing rate when compared with traditional dressings [13]. A recent meta-analysis suggested that since allografts and xenografts appear to be equally effective, xenografts may be a superior choice for their increased safety and reduced price [14]. However, caution should be exercised in drawing broad conclusions from this meta-analysis because the cited studies lack standardization and critical details such as depth and size of burn, and many studies cited were merely anecdotal. A cadaver allograft is thus widely considered the best material for temporary closure of excised wounds in patients with extensive, life-threatening burns and inadequate donor sites.

așadar, considerată cel mai bun material pentru închiderea temporară a rănilor incizate la pacienții cu arsuri extinse, care pun în pericol viața, în lipsa zonelor adecvate donatoare.

Autogrefele sunt țesuturi grefate într-o nouă poziție, pe același individ. Ele sunt, de obicei, împărțite în trei categorii principale [15]:

- grefe de grosime parțială, care conțin epidermul și o parte a stratului dermal superior;
- grefe de grosime totală, care conțin atât epidermul, cât și dermul [16]. Aceste tipuri de grefe sunt preferate în zonele, în care cicatricile voluminoase sau contractura grefelor ar altera funcția regiunii și rezultatul cosmetic ar fi inestetic. Ele sunt, de obicei, rezervate pentru reconstruirea rănilor capului, gâtului, mâinilor și organelor genitale;
- substituenții de piele autologică de cultură, la care, mai frecvent, se referă doar autogrefele epidermice de cultură (CEA). Această nomenclatură include grefele epidermice și exclude grefele dermo-epidermice. *Epicel* și *Laserskin* sunt, la moment, două produse disponibile din această categorie [17, 18]. Substituenții de piele de cultură sunt CEA cu adăugarea unui strat dermic autolog de cultură; în rezultat, se obține un substituent de piele cu structură anatomică mai corectă. Acest produs este, deocamdată, în faza studiilor clinice, dar, în prezent, este cel mai avansat substituent autolog de piele din cele disponibile. Produsul este creat prin cultivarea fibroblastelor și keratinocitelor autologice pe o matrice din colagen și glicozaminoglicani [19, 20].

Substituenții de piele sintetici sunt compuși din materiale non-biologice. Avantajele sunt că acestea pot fi sintetizate la cerere fără a fi nevoie de țesut biologic și permit un control mai mare asupra componentelor sale. În plus, produsele pot fi modificate prin adăugarea diferitor factori de creștere și nu prezintă risc de transmitere a bolilor [21].

Substituenții de piele mai pot fi clasificați, în funcție de componența celulară, în trei grupe mari: *epidermali*, care conțin predominant keratocite epidermale; *dermali*, care conțin predominant fibroblaste; și de *tip mixt* [22].

Substituenții biologici de piele sunt clasificați, în funcție de scopul utilizării, în două grupe mari: materiale pentru acoperirea plăgii și pentru închiderea acesteia [7].

- **închiderea temporară a plăgii** poate fi realizată cu ajutorul alogrefelor cadaverice. Imunosupresia patologică, observată în stadiile precoce după o arsură gravă, protejează alogrefele de desprindere în timpul acestei perioade. Materialul cadaveric este asigurat de băncile de piele, unde se păstrează la temperaturi joase. Examinarea atentă a donatorilor potențiali are drept scop reducerea riscului de transmitere a agenților infecțioși, însă, din păcate, acest risc nu poate fi redus la zero. Toate materialele biologice posedă un potențial de transmitere a maladiilor, iar producerea și proveniența materiilor prime sunt esențiale pentru calitatea structurilor bioingineresti obținute și se află sub un control strict în Europa și America de Nord [23, 24].
- **închiderea permanentă a plăgii** se bazează pe grefa epi-

Autografts are tissues grafted to a new position on the same individual. They are commonly divided into three main categories [15]:

- *split-thickness skin grafts* (STSGs) which contain the epidermis and a variable thickness of the upper layers of dermis;
- *full-thickness skin grafts* (FTSGs) which contain the epidermis and the entire dermis [16]. These types of grafts are preferred in areas where significant scarring or contracture of the grafts would provide harmful esthetic or functional consequences. They are usually reserved for reconstructing wounds of the head, neck, hands, and genitals;
- *cultured autologous skin substitutes* which are frequently referred to as cultured epidermal autografts (CEAs). This nomenclature includes epidermal grafts and excludes dermal/epidermal grafts. *Epicel* and *Laserskin* are among the currently available products [17, 18]. Cultured skin substitute (CASS) is a CEA with the addition of a cultured autologous dermal layer, making it a more anatomically correct skin substitute. This product is still in clinical trials but in present it represents the most advanced autologous skin substitute available. The product is created by culturing autologous fibroblast and keratinocytes with collagen and glycosaminoglycan substrates [19, 20].

Synthetic skin substitutes are comprised of non-biologic materials. Advantages are that they can be synthesized on demand without need for biologic tissue and there is greater control over scaffold components. Additionally, the products can be modified for specific use by adding different growth factors and do not carry a risk for disease transmission [21].

Cellular skin substitutes may be categorized according to whether they consist of epidermis constructed mainly from epidermal keratinocytes, dermis constructed mainly of fibroblasts, or both [22].

Biological skin substitutes can be classified in two groups: covering material and material for wound closure [7].

- **temporary wound closure** can be achieved by cadaveric allograft use. Pathologically immunosuppression observed during the early stages after a severe burn prevents allograft detachment. Cadaveric material is provided by skin banks where it is kept at low temperatures. Examination of potential donors is necessary for reducing the risk of infectious agents transmitting, but, unfortunately, this risk can't be reduced to zero. The potential of transmission of a disease is an important factor which influences the development of skin substitutes. All the biological materials possess a potential transmission of diseases. The manufacturing process and the origin of raw materials are under strict control in Europe and North America because they influence essentially the quality of obtained structures [23, 24].
- **permanent wound closure** is based on use of an epidermal graft applied over the integrated allodermis. It can be a skin autologous graft or a skin substitute which

dermică, aplicată peste aloderma integrată. Aceasta poate fi o grefă de piele proprie, sau să provină dintr-un substituent de piele, bazat pe includerea în componența sa a celulelor epidermice. Substituenții de piele conțin un amestec de componente de proveniență biologică și substanțe non-biologice – polimeri sintetici. Pansamentele disponibile, totalmente non-biologice: *Opsite (Smith & Nephew Inc.)*, *Duoderm (ConvaTech Inc.)* sunt ocluzive, produc un mediu umed și contribuie la o vindecare mai rapidă, deși pot contribui și la proliferarea microorganismelor sub suprafețele lor [25, 26].

Substituenții de piele pentru acoperirea plăgii

Membranele biologice pentru acoperirea plăgii reprezintă atât materiale sintetice cât și produse neprelucrate, provenite din piele, cum ar fi homogrefele sau alogrefele cadaverice. Substituenții temporari de piele trebuie să asigure închiderea temporară a plăgii, să ajute în controlul durerii, să absoarbă exudatul din plagă, să prevină uscarea (deshidratarea plăgii). Substituenții temporari sunt utilizați în calitate de pansament al zonei; ei asigură închiderea temporară (fiziologică) a plăgilor profunde (arsuri parțial profunde sau totale) după excizie, protejează mecanic plaga, asigură protecția antimicrobiană, mențin un mediu umed în plagă, cu o densitate redusă a germinilor.

BioBran (*Bertek Pharmaceuticals, SUA*) reprezintă o membrană bilamelară ce constă dintr-o rețea de nailon aderentă de un strat subțire de silicon semipermeabil. Rețeaua de nailon este acoperită cu peptide derivate din colagenul de tip I, pentru a favoriza aderarea la patul plăgii și integrarea fibrovasculară. *BioBran* asigură o barieră față de evaporare și invazia microbiană, permite controlul durerii pe toată perioada vindecării plăgii [27]. Odată ce plaga se vindecă, *BioBran* se detașează și poate fi cojit cu ușurință de pe suprafață. Este recomandat pentru a fi utilizat în zonele donatoare și în arsurile superficiale cu afectarea parțială a pielii, în primele 6 ore de la traumatism, întrucât are un efect mai bun pe plăgile „curate”. *BioBran* mai este utilizat și ca acoperire temporară pentru plăgile proaspete, după excizia pielii în toată grosimea [28].

TransCyte (*Advanced Tissue Sciences Inc., SUA*) este constituit dintr-o rețea de nailon, învelită cu fibroblaste neonatale, care îmbunătățesc semnificativ proprietățile ei curative. Întrucât nailonul nu este biodegradabil, acest material nu poate fi folosit ca un substituent dermic. Fibroblastele neonatale din interiorul stratului biologic sunt lăsate să prolifereze o perioadă de 17 zile, timp în care ele produc fibronectină, colagen de tip I, proteoglicani și factori de creștere. Ulterior, materialul se congelează la -70°C ; în rezultat, se stopează activitatea metabolică a fibroblastelor. Materialul se păstrează la temperatura de -20°C în cartușe speciale.

TranCyte este indicat pentru acoperirea temporară a defectelor tegumentare la pacienți după debridare chirurgicală de piele integră, sau la pacienți cu arsuri de adâncime parțială, care necesită o astfel de acoperire, înainte de aplicarea autogrefelor. *TranCyte*, la fel, este indicat pentru tratamentul arsurilor intermediare sau cu afectarea parțială a dermului, care, de obicei, necesită debridare și care au potențialul de a se vindeca fără autogrefare. *TranCyte* este contraindicat pacienților

contain epidermal cells. The skin substituents contain a mixture of components of biological and non-biological origin (synthetic polymers). Available completely non-biological materials like *Opsite (Smith & Nephew Inc.)*, *Duoderm (ConvaTech Inc.)* are occlusive, produce a moist environment and ensure faster wound healing, although they may contribute to the microorganisms proliferation under their surfaces [25, 26].

Skin substitutes used for wound coverage

Biological membranes used for wound coverage have different origin: synthetic materials or unprocessed skin products as autografts or cadaveric allografts. The temporary skin substituents should ensure the temporary wound closure, help in pain control, absorb exudate from the wound, and prevent drying (desiccation injury). They are used as dressing material, ensure the temporary (physiological) closure of thickness wounds (partially burns or totally deep) after excision, protect the wound mechanically, provide antimicrobial protection, maintain a moist environment with a low germs' density.

BioBran (*Bertek Pharmaceuticals, USA*) is a by-layer membrane which consists of a nylon network adhered to a thin layer of semipermeable silicon. The nylon network is coated with peptides derived from collagen type I. It promotes membranes' adherence to the wound bed and fibrovascular integration. *BioBran* ensures a barrier for evaporation and microbial invasion, allows pain control for the whole period of wound healing [27]. Once the wound heals, *BioBran* detaches and can be peeled easily from the skin surface. It is recommended for donor sites coverage and in superficial burns with partial skin damage during the first 6 hours after injury, because it has a better effect on "clean" wound. *BioBran* is also used as a temporary coverage of fresh wounds after full thickness skin excision [28].

TransCyte (*Advanced Tissue Sciences Inc., USA*) is a nylon network wrapped with neonatal fibroblasts which improve its curative properties. Because nylon is not biodegradable, this material cannot be used as a dermal substitute. Neonatal fibroblasts within the biological layer proliferate during 17 days and produce fibronectin, collagen type I, proteoglycans and growth factors. Then the material is frozen at -70°C , it stops the metabolic activity of fibroblasts. The material is stored at -20°C in special cartridges.

TranCyte is indicated for use as a temporary wound covering for surgically excised full-thickness and deep partial-thickness thermal burn wounds in patients who require such a covering prior to autograft placement. *TranCyte* is also indicated for the treatment of mid-dermal to intermediate depth burn wounds that typically require debridement and that may be expected to heal without autografting. *TranCyte* is contraindicated in those patients with known hypersensitivity to porcine dermal collagen or bovine serum albumin. *TranCyte* advantages are: bilayer analogy, excellent adherence to a superficial to mid-dermal burn, decreases pain, provides bioactive dermal components, maintains flexibility, good outer

cu hipersensibilitate la colagenul dermal porcine sau la albumina din serul bovin. Avantajele *TransCyte* sunt: analog bistratificat, aderență excelentă în cazul arsurilor de diferită profunzime, scade intensitatea durerii (efect analgezic), furnizează componente dermale bioactive, posedă flexibilitate și funcție de barieră mecanică bună. Dezavantajele sunt: trebuie păstrat congelat până la utilizare, prețul relativ înalt [27]. Falanga V. *et al.* (1998), au realizat un studiu clinic, unde au comparat utilizarea alogrefei de piele crioprezervate cu *TransCyte* în calitate de analog dermic temporar. Rezultatele au dovedit că aderența și priza au fost, cel puțin, la fel de bune la utilizarea *TransCyte*, în comparație cu alogrefa. Studiul histologic comparativ dintre *TransCyte* și alogrefă în plăgile postcombustionale, a demonstrat doar o singură diferență semnificativă – o dezvoltare mai amplă a țesutului de granulație în plăgile tratate cu alogrefe. Rolul principal al *TransCyte* este tratamentul arsurilor parțiale – acesta aderă rapid la suprafața viabilă a plăgii, stimulând epitelizarea. Dat fiind faptul că *TransCyte* costă de 16 ori mai scump decât *BioBrane* și necesită păstrare la temperaturi joase, ar fi binevenit un studiu clinic care ar compara *TransCyte* cu *BioBrane* [29].

Apligraf, echivalent al pielii umane (*Organogenesis Inc., Novartis Pharmaceuticals Corporation, SUA*), este produs prin combinarea unui strat de gel de colagen bovin de tip I, ce conține fibroblaste alogene neonatale vii, acoperite cu un strat epidemic cornificat din keratinocite alogene neonatale. Din cauza că include două tipuri de celule diferite, acesta e cel mai sofisticat produs tisular artificial cunoscut și este disponibil pe piață în formă gata pentru întrebuințare, are o perioadă de valabilitate de 5 zile [30]. *Apligraf* promovează procesul de vindecare prin furnizarea a mai mult de 40 de citokine și factori de creștere. La aplicarea lui, închiderea defectului are loc de 2-3 ori mai rapid decât în cazul recurgerii la metode convenționale. Răspunsul imun la aplicarea *Apligraf* nu se dezvoltă, deoarece acesta nu conține celule prezentatoare de antigen. *Apligraf* este unicul produs bistratificat, comercial disponibil, ce conține celule cultivate prin bioinginerie, aprobat de FDA (în 1998) [31]. Este indicat, de rând cu compresele terapeutice standard, pentru tratamentul ulcerelor venoase non-infectate, la pacienții cu insuficiență venoasă cu durata mai mare de o lună, care nu răspund la tratamentul convențional. *Apligraf* este, la fel, indicat pacienților cu picior diabetic pentru tratamentul ulcerelor neuropatice, care persistă mai mult de 3 săptămâni, atunci când sunt prezente leziuni ale dermei, dar care nu implică tendonul, mușchii, capsula articulară sau osul, și nu răspund la mijloacele convenționale de îngrijire. *Apligraf* este contraindicat în cazul ulcerelor infectate, la pacienții alergici la colagenul bovin, sau la cei hipersensibilizați la agaroză, care intră în componența mediului de transport [23].

Într-un studiu prospectiv, randomizat, s-a dovedit că, la un număr semnificativ mai mare de pacienți, s-a reușit închiderea completă a plăgii în grupul tratat cu *Apligraf*, decât în grupul de control, în care nu s-a utilizat *Apligraf*. Nu au fost observate semne clinice de detașare, deși s-au observat semne de vindecare *per secundam intentionem* la o jumătate din grupul de studiu. Aceste date au fost confirmate de Sabolinski *et al.* și Eaglestein *et al.* Nu există, deocamdată, rapoarte care să com-

barrier function; as disadvantages, could be noted the need to store frozen till use, and relatively expensive [27]. Falanga V. *et al.* (1998) performed a clinical trial by which they compared the use of cryopreserved skin allograft with *TransCyte* as temporary dermal analog. The results showed that the adhesion and outlet were good in both cases. Histological examination demonstrated just one significant difference when *TranCyte* and skin allograft were used for burn wounds treatment – a broader development of granulation tissue in the second case. The main role of *TranCyte* is the treatment of partial wounds – it rapidly adheres to the viable surface of the wound and in this way stimulates epithelialization. Because *TransCyte* costs 16 times more expensive than *BioBran*, and requires storage at low temperature, it's necessary to perform a clinical trial to compare *TransCyte vs. BioBran* [29].

Apligraf, human skin equivalent (*Organogenesis Inc., Novartis Pharmaceuticals Corporation, USA*), is produced by combination of a gel of bovine collagen type I which contain allogeneic neonatal fibroblasts with a cornified epidemic layer of allogeneic neonatal keratinocytes. Because it consist of two different cell types, this is the most sophisticated artificial tissue product and it is available in a ready to use form with a shelf life for five days [30]. *Apligraf* promotes healing by supplying over 40 cytokines and growth factors. It closes chronic wounds 2 to 3 times faster than conventional wound care. There is no immune response to *Apligraf* because it does not contain any antigen-presenting cells. *Apligraf* is the only commercially available bi-layered bio-engineered cell therapy approved by the FDA in 1998 [31], indicated for use with standard therapeutic compression for the treatment of non-infected partial and full-thickness skin ulcers, due to venous insufficiency of greater than 1 month duration, and which have not adequately responded to conventional ulcer therapy. *Apligraf* is also indicated for use with standard diabetic foot ulcer care for the treatment of full-thickness neuropathic diabetic foot ulcers of greater than three weeks duration which have not adequately responded to conventional ulcer therapy and which extend through the dermis but without tendon, muscle, and capsule or bone exposure. *Apligraf* is contraindicated for use on clinically infected wounds, in patients with known allergy to bovine collagen, in patients with a known hypersensitivity to the components of the *Apligraf* agarose shipping medium [32].

A prospective randomized study proved that in a significantly higher number of patients treated with *Apligraf* complete wound closure obtained was better than in the control group (non-treated with *Apligraf*). Detachment signs were not observed, although some signs of healing by secondary intend were determined in the half of the group. These data were confirmed by Sabolinski *et al.* and Eaglestein *et al.* As there are no any reports for clinical comparison of *Apligraf* with epidermal cell culture and *Dermagraft* yet. *Apligraf* has a great potential to bring cosmetic and functional amelioration after apply it on fenestrated medium-thickness allografts, but pigmentation, elasticity and skin graft vascularization are significantly

pare clinic *Apligraf*-ul cu *Dermagraft*-ul sau culturile de celule epidermale. Potențialul *Apligraf*-ului de a aduce ameliorări cosmetice și funcționale după aplicarea pe alogrefe fenestrate de grosime medie este evident, însă pigmentarea, elasticitatea și vascularizarea grefei de piele, tratată cu *Apligraf*, este semnificativ mai mare decât în cazurile tratate obișnuit [30].

Dermagraft (*Advanced Tissue Sciences Inc.*, SUA) reprezintă o structură dermică vie, crioprezervată, obținută prin cultivarea fibroblastelor alogene neonatale pe o structură de polimer: acid poliglicolic sau Poliglactin-910, cu denumire comercială de *Dexon* sau *Vicryl*. Fibroblastele devin confluențe în interiorul rețelei de polimer, secretând factori de creștere și proteine matriciale dermice – colagen, tenascină, vitronectină și glicozaminglicani, creând, astfel, o structură dermică vie. Ea rămâne viabilă și metabolic activă după aplicarea pe plagă, în pofida crioprezervării [33]. În SUA, *Dermagraft*-ul este aprobat pentru tratamentul ulcerelor venoase cronice ale membrelor inferioare, precum și utilizat într-o varietate de alte cazuri, pentru a facilita vindecarea defectelor tegumentare [34]. *Dermagraft*-ul îmbunătățește procesul vindecării prin stimularea creșterii țesutului fibrovascular și reepitelizării de la marginile plăgii. Deși *Dermagraft* nu a fost utilizat pe larg în tratamentul arsurilor, el a fost utilizat sub grefele fenestrate de piele despicată, pe plăgi cauzate de arsuri profunde. Acesta poate reprezenta o soluție utilă pentru substituirea țesutului dermic pierdut, însă studiile clinice au semnalat reacții imunologice împotriva fibroblaștilor [27].

Substituenți de piele pentru închiderea plăgii

AlloDerm (*LifeCell*, SUA) este pe larg utilizat în clinică din 1995 [35]. Acesta reprezintă pielea umană de cadavru, prelucrată, de pe care s-a înlăturat epiderma și s-au extras componentele celulare ale dermei înainte de crioprezervare, pentru a evita riscul dezvoltării răspunsului imun specific sau inflamației [36]. Tot ceea ce rămâne este o rețea de colagen. Corpul recunoaște matrixul intact drept un material biologic inert, care oferă pielii un grad mai înalt de rezistență. *AlloDerm* este considerat un material cu grad minim de prelucrare, iar după structură, acesta nu diferă mult de pielea naturală și, conform clasificării FDA, este inclus în categoria "banked human tissue" (țesuturi umane, ce pot fi stocate în bancă) [37]. După ce se aplică pe patul vascular, acesta devine repopulat de celulele gazdei, revascularizat și incorporat în țesut. Inițial, *AlloDerm* a fost folosit în calitate de substituent tegumentar la pacienții cu arsuri. În scurt timp, avantajele acestui produs în înlocuirea sau repararea țesutului dermic lezată sau inadecvat, au fost pe larg apreciate și *AlloDerm* se aplică, deja, în mai multe domenii medicale: chirurgie plastică și reconstructivă, dermatochirurgie, urologie, ortopedie, stomatologie. Din 1992, *AlloDerm* a fost aplicat la mai mult de 30.000 de pacienți. Avantajele *AlloDerm*-ului sunt: (1) este singurul substituent biologic de piele, care poate să stimuleze regenerarea țesutului normal; (2) fiind un țesut uman, nu poate conduce la declanșarea răspunsului inflamator sau al unei reacții alergice; (3) este moale și pliant; (4) nu este necesar de a preleva țesut de pe o altă zonă a corpului; (5) este nevoie de un strat foarte subțire, atunci când este utilizat în calitate de grefă de suprafață [35, 38]. Există publicații, care comunică rate bune de integrare și

higher than in ordinary cases [30].

Dermagraft (*Advanced Tissue Sciences Inc.*, USA) represents a living cryopreserved dermal structure, obtained by allogeneic neonatal fibroblasts cultivation on a polymeric structure: polyglycolic acid or Polyglactin-910 (the trade name – *Dexon* or *Vicryl*). Fibroblasts become confluent inside the polymer network and secrete growth factors and dermal matrix proteins – collagen, tenascin, vitronectin and glycosaminoglycan. In this way, a living dermal structure is obtained. Despite cryopreservation, it remains viable and metabolically active after application to the wound [33]. *Dermagraft* has been approved for marketing in the United States for treatment of venous leg ulcers (VLUs) and has been clinically used in a variety of other indications to stimulate wound healing [34]. *Dermagraft* facilitates wound healing by stimulating the growth of fibrovascular tissue from the wound bed and reepithelization from the wound margins. Although *Dermagraft* was not widely used in burns' treatment, it was used as fenestrated split graft in wounds caused by deep burns. It can be a useful solution for replacing lost dermal tissue, but clinical trials determined immunological reactions against fibroblasts [27].

Skin substitutes used for wound closure

AlloDerm (*LifeCell*, USA) is used in various applications since 1995 [35]. It is processed human cadaveric skin, in which epidermis is removed, the cellular dermis components are removed too prior to cryopreservation in order to prevent specific immune response or inflammation [36]. All that remains is a collagen framework. Body recognizes the intact matrix as a biologically inert material which provides strength to the skin. *AlloDerm* is regarded as minimally processed, is not significantly changed in structure from the natural tissue so the FDA has classified it as banked human tissue [37]. Once it is applied to the wound bed, it is repopulated by host cells, revascularised and incorporated into the tissue. Initially, *AlloDerm* was used as a skin replacement for burn patients. Quickly, plastic surgeons, urologists, orthopedic surgeons, dentists worldwide recognized the benefits provided by this natural soft tissue replacement when used as an implant to repair or replace damaged or inadequate dermal tissue. Since 1992, *AlloDerm* has been used in more than 30,000 patients. *AlloDerm* advantages are: (1) it is the only skin substituent capable for normal tissue regenerating; (2) since it is human tissue, it cannot provoke any inflammatory response or allergic reaction; (3) it is a soft, pliable implant with a natural feel; (4) there is no need to harvest tissue from another site on your body; and (5) it requires a very thin layer when used as a surface graft [35, 38]. Published data show good rates of integration and reduction of the following cicatrization in total deep wounds, allowing covering with free skin ultra-thin split grafts during a single intervention. In a multicentric study on 67 patients with total or partial deep burns, the wounds were excised and closed either with *AlloDerm* and split skin graft or with split skin graft only. In the last case *AlloDerm* was just perforated and wasn't stretched, in this way the cellular elements were

de reducere a cicatrizării ulterioare ale plăgilor profunde totale, permițând acoperirea cu grefă de piele liberă, despicată ultra-subțire, în timpul unei singure intervenții. Într-un studiu multicentric, efectuat pe 67 de pacienți cu arsuri profunde totale sau profunde parțiale, plăgile se excizau și se închideau fie cu *AlloDerm* și grefă de piele despicată, fie doar cu grefă de piele despicată. În ultimul caz, *AlloDerm* se fenestra, dar nu se întindea; în așa mod, elementele celulare pot fi alimentate cu serul care pătrunde prin orificii. Evaluarea plăgii la distanță a demonstrat că autogrefele cu *AlloDerm* erau echivalente autogrefelor de piele integrală. Lattari *et al.*, au raportat trei cazuri de utilizare a *AlloDerm*, în asociere cu grefe de piele despicată ultra-subțire, fenestrată (0,15-0,20 mm, fenestrate 1,5:1), care au fost aplicate pe suprafața dorsală a trei mâini și a unei glezne. Autorii au raportat despre o recuperare rapidă, fără deficit rezidual. Această abordare este similară celei care se referă la utilizarea *Dermagraft*-ului [36].

Integra (*Integra Life Science Corporation, SUA*) este cel mai utilizat substituent de piele în arsuri și a fost descris pentru prima dată de Yannas *et al.* (1981). *Integra* are o structură bilamelară, care constă din colagen bovin și glicozaminglican, acoperite, de o parte, cu o membrană de silicon, care asigură funcția epidermei. Dimensiunea porilor a fost concepută între 70 și 200 μm , pentru a permite migrarea propriilor celule endoteliale și fibroblastelor. Porii mai mici întârzie sau chiar previn biointegrarea, în timp ce porii mai mari conferă o suprafață de atașare insuficientă pentru celulele migrante ale gazdei. După aplicarea pe o plagă proaspăt excizată, stratul de colagen se biointegrează cu plaga pentru a forma un „neoderm” vascular – proces, care durează aproximativ 3-6 săptămâni. Odată ce acest stadiu a fost depășit, stratul de silicon poate fi înlăturat și se poate aplica o grefă de piele despicată ultra-subțire [39, 40]. Până în prezent, probleme imunologice semnificative (de respingere) ale produsului nu au fost semnalate. Indicația de elecție o reprezintă tratamentul plăgilor postexcizionale ale arsurilor de gradul III și IV. Avantajele *Integra* sunt: (1) este superior substituenților tegumentari monostratificați; (2) rezultatul estetic în timp este mult mai bun; (3) este disponibil imediat și în orice cantități; (4) permite amânarea autogrefării până în momentul, în care se pot obține autogrefele; (5) *Integra* poate rămâne la nivelul plăgii până la aproximativ 2 luni, fără a forța, astfel, aplicarea imediată a autogrefelor; (6) funcționează ca un suport biorezorbabil, potențând creșterea neodermului (asemănător cu cel normal); (7) ridicarea stratului siliconic (extern) este atraumatică, neimplicând excizia chirurgicală; și (8) permite aplicarea de grefe foarte subțiri, ușurând, astfel, vindecarea zonei donatoare și permițând eventual o nouă recoltare din aceeași zonă [8]. Există și unele dezavantaje în utilizarea acestui produs – este relativ scump în comparație cu alogrefele de piele cadaverică din băncile de țesuturi [39, 40]. Utilizarea *Integra* impune o intervenție în două etape, cu un interval minimal de 3 săptămâni între aplicare și grefarea cu piele despicată, pentru a forma neodermă. În anumite cazuri, acest fapt poate crește perioada de timp necesară vindecării plăgii. Dacă *Integra* ar putea fi utilizată în combinație cu culturi de celule epidermale autologice, atunci o întârziere de 3 săptămâni ar putea fi avantajoasă.

supplied with serum that penetrated through the holes. The assessment demonstrates that autografts with *AlloDerm* are equivalent to natural skin autografts. Lattari *et al.*, reported three cases of use of *AlloDerm* in association with split skin ultra-thin graft (0.20 to 0.15 mm, perforated 1.5:1). They were applied to the dorsal surface of the three hands and one ankle. The authors reported a rapid recovery without residual deficit. This approach is similar to that which refers to the use of *Dermagraft* [36].

Integra (*Integra Life Science Corporation, USA*) is a widely used as a skin substitute in burn patients. For the first time it was described by Yannas *et al.* (1981). *Integra* is a by-layer structure which consists of bovine collagen and glycosaminoglycan coated with a silicone membrane on the side, which execute the epidermis function. The pore size is between 70 and 200 μm . They enable fibroblasts and endothelial cells migration. Smaller pores delay or even prevent biointegration, while the larger pores determine insufficient attachment surface for the migrated host cell. After applying on a fresh excised wound the collagen layer integrates in the wound and form a vascular “neoderm”. This process takes about 3-6 weeks. Once this stage is passed, the silicone layer can be removed and a skin split ultra-thin graft can be applied [39, 40]. Significant immunological problems (rejection) of the product are reported. The indication for *Integra* use is treatment of post-excised wounds of third and fourth degree burns. *Integra* advantages are: (1) is better than monolayer skin substituents; (2) gives better aesthetic result in time; (3) is immediately available and in any quantity; (4) allows autografting delay until autografts can be obtained; (5) *Integra* remains in the wound approximately for 2 months and don't force immediate autograft application; (6) acts as a bio-resorbable support and stimulates the neoderm growth (like that normal); (7) silicone layer (the external one) elevation is atraumatic and doesn't involve surgical excision; and, (8) allows very thin grafts application, facilitating the healing of the donor site and allowing a new harvest from the same area if it is necessary [8]. There are some disadvantages of using this product – it's relatively expensive in comparison to cadaverous skin allograft from tissue banks [39, 40]. Using *Integra* is required intervention in two stages, with a minim interval of 3 weeks between application and split skin grafting necessary for neoderm formation. In some cases this may increase the time necessary for wound healing. If *Integra* could be used in combination with autologous epidermal cells, a three weeks delay can be advantageous.

A recent study, made on a porcine model, shows successful integration of autologous epithelial cells on the material type *Integra* already applied on the wound. Subsequent histological examination showed a nearly complete confluence of epidermal autologous cells in the seventh day, while in the control group, the autologous epidermal cells applied on the fresh excised wounds did not integrate. Current research are focused on collagen-glycosaminoglycan matrix modification by additional incorporation in structure of peptides and antibiotics.

Într-un studiu recent, pe un model porcin, s-a demonstrat integrarea reușită a culturilor de celule epiteliale autologice pe material de tip *Integra*, deja aplicat pe plagă. Examinările histologice ulterioare au demonstrat o confluență aproape completă a culturilor de celule epidermale autologice la 7 zile, în timp ce, în grupul martor, când culturile de celule epidermale autologice au fost aplicate pe plăgi proaspăt excizate pe toată grosimea pielii, acestea nu s-au integrat. Cercetările curente se concentrează pe modificarea matricei de colagen-glicozaminoglicani prin incorporarea suplimentară în structură a peptidelor și antibioticilor. *Integra* poate fi folosită drept suport pentru cultivarea keratinocitelor autologice. Culturile de keratinocite autologice au demonstrat că au capacitatea de a forma un strat epitelial după ce se plasează pe *Integra*, cu grefare ulterioară. Materialul de însămânțare a dovedit o aderență bună pe plagă, vindecare completă, cu contracție minoră a plăgii, având potențialul de a restabili pielea umană elastică, funcțională și cu rezultate durabile.

Substituenți epidermali

Substituenții epidermali autologici sau alojeni constau, în cea mai mare parte, din keratinocite epidermale. Descoperirea lor se datorează cercetărilor efectuate de Rheinwald și Green (1975), care au obținut, pentru prima dată, culturi epiteliale monostrat matrice sintetice de susținere. Însă celulele obținute după metoda propusă de Rheinwald și Green se diferențiau rapid în cadrul cultivării, făcând imposibilă obținerea numărului suficient de celule. Pricipiul acestei metode constă în co-cultivarea keratinocitelor umane cu fibroblastele murine 3T3, subletal iradiate. Celulele 3T3 servesc în calitate de strat de suport (sau, *feeder*) pentru keratinocite, rămânând viabile, dar incapabile de a se multiplica după iradiere. Aplicarea mitomicinei C poate servi drept alternativă iradierii pentru stoparea multiplicării celulelor 3T3. În orice caz, fibroblastele murine rămân metabolic active și produc factori esențiali pentru multiplicarea și creșterea keratinocitelor, însămânțate pe suprafața lor. Acest proces, de la începerea cultivării și până la aplicarea stratului de keratinocite la pacient, durează aproximativ 3-4 săptămâni [41].

Avantajele substituenților epidermali sunt: funcționează ca acoperire permanentă și nu dezvoltă reacție de respingere. Dezavantajele substituenților epidermali sunt: (1) prezintă instabilitate mecanică (fragilitate) prin structura monostrat (lipsită de suportul dermic), manevrare dificilă; (2) prezintă dificultăți în utilizare, în cazul leziunilor tegumentare profunde, cu distrugerea completă a stratului dermal; (3) necesită mult timp pentru obținerea numărului suficient de celule; (4) flictenizează cu ușurință; (5) retracții importante; (6) rezultat estetic precar; (7) au un cost ridicat; (8) aplicarea lor pe analogi dermali sintetici nu și-a demonstrat eficiența [8, 42].

Culturi de keratinocite autogene

Tehnologia creșterii keratinocitelor a fost pusă la punct acum 30 de ani. Foițele confluențe de keratinocite pot fi crescute *in vitro* și aplicate, apoi, pe defecte tegumentare generate de arsuri, ulcere cronice ale gambei, înlăturarea nevrozilor gigantice, epidermoliză buloasă, necroza scalpului la nou-născuți etc. Ca și în cazul grefelor de piele despicate, atașarea culturilor celulare epiteliale autogene depinde de patul recipient al plăgii, care trebuie să fie, de preferință, țesut granular tânăr

Integra can be used as a support for autologous keratinocytes cultivation. The autologous keratinocytes have the capacity to form an epithelial layer after placing on *Integra* with subsequent grafting. The material demonstrates a good adherence to the wound, complete wound healing with a minor contraction and has the potential to restore elastic, functional human skin with sustainable results.

Epidermal substitutes

Autologous and allogeneic cultured epidermis consist mainly of epidermal keratinocytes. Their discovery is due to research conducted by Rheinwald and Green (1975), who obtained for the first time an epithelial monolayer cultures on synthetic support. Prior to Rheinwald and Green's report, however, human epidermal keratinocytes had easily keratinized (undergone final differentiation) during culture, making it impossible to obtain sufficient cell proliferation. The principle of this method is based on co-cultivation of human keratinocytes with sublethally irradiated murine 3T3 fibroblasts. The 3T3 cells serve as a supporting (feeding) layer for the keratinocytes, remaining viable but unable to divide themselves post-irradiation (an alternative method involves stopping 3T3 cells dividing using mitomycin C). However, the metabolic activity of these mouse fibroblasts remains functional, yielding growth factors which are essential for the division and growth of keratinocytes seeded on top of them. This process takes approximately 3-4 weeks from the start of cultivation to the application of keratinocyte sheets to the patient [41].

Advantages of epidermal substitutes: act as a permanent coverage, and don't give rejection response. Disadvantages of epidermal substitutes are: (1) fragility and mechanical instability because they don't have a dermal support (monolayer structure) difficult handling; (2) problematical use in cases of deep skin damage for patients in whom the dermis has been completely destroyed; (3) time lag to obtain the needed amount; (4) easily formation of fluid-filled vesicles; (5) significant retractions; (6) uncertain aesthetic outcome; (7) high cost; (8) application on derma synthetic analogues is not an effective one [8, 42].

Autologous keratinocytes cultures

The keratinocyte cultivation is possible for 30 years. Confluent keratinocyte layer may be grown *in vitro* and then applied to the skin defects caused by burns, chronic leg ulcers, giant nevus removing, epidermolysis bullosa, scalp necrosis in new-borns etc. As in the case of split skin grafts, autologous epithelial cells attachment depends on the wound bed quality, which preferably should be fresh granulation tissue or muscle fascia and should not be chronic granulation tissue. Wound pre-grafting with an allograft will encourage the incorporation and ensure the presence of non-granular dermis bed consisting of autologous or allogenic dermis.

The films of keratinocytes are offered under the name *Epicel* (*Genzyme Tissue Repair Corporation, USA*) and can be obtained in well-equipped hospital and university laboratories.

sau fascie musculară, însă nu țesut granular cronic. Pregrefarea plăgii cu alogrefă va încuraja incorporarea și va asigura prezența unui pat dermic nongranular, format din dermă autogenă sau alogenă.

Peliculele constituite din keratinocite sunt oferite sub denumirea de *Epicel* (*Genzyme Tissue Repair Corporation, SUA*) și pot fi realizate în laboratoarele spitalelor și universităților bine echipate. Totuși, sunt scumpe, întrucât necesită multă muncă calificată și un bun control al calității; în plus, sunt necesare 3-5 săptămâni pentru a produce 1,8 cm² de pelicule confluențe de celule dintr-o biopsie de 2 cm². Pentru a utiliza optimal foițele de autogrefă epitelială, este necesar un grad înalt de coordonare între sala de operații și laborator. Pentru a rezolva aceste probleme, s-a recurs la congelarea culturilor de keratinocite, atât în formă de suspensie, cât și de culturi de autogrefe epiteliale, ele rămânând viabile, deși eficiența de generare a coloniilor scade, după aceasta, cu circa 50%.

Keratinocite alogene cultivate

În încercarea de a rezolva problema impusă de întârzierea creșterii keratinocitelor autologice confluențe pentru închiderea plăgii, a fost studiată utilizarea keratinocitelor alogene cultivate. După cultivare, keratinocitele nu exprimă antigeni MHC de clasa II. Ele nu stimulează limfocitele alogene. Expresia antigenilor MCH de clasa I este și ea atenuată de pasajul multiplu al celulelor și crioconservare. La aplicarea keratinocitelor non-diferențiate, straturile granulos și cornos nu sunt prezente. La a șasea zi după aplicare, celulele se diferențiază în straturi normale, însă joncțiunea dermo-epidermică nu este una stabilă. La a treia săptămână după grefare, apare membrana bazală cu hemidesmozomi. Pe parcursul săptămânilor 6-12, fibrele de ancoră (colagen de tip VII) sunt puține la număr și imature, deși papilele sunt prezente deja și sistemul de vascularizare este format.

În experiența clinică, nu se observă reacția de detașare acută, ce urmează în urma aplicării foiței de keratinocite. Totuși, probele cu cromosomul Y și ADN, au demonstrat că celulele alogene își păstrează viabilitatea mai puțin de 1 săptămână după aplicarea lor pe plăgile rezultate în urma exciziei tatuajelor sau a ulcerelor. Termenul crește până la 6 săptămâni, când se aplică pe zonele donatoare de grefă de piele despicată. Vindecarea mai bună după aplicarea keratinocitelor alogene este atribuită secreției factorilor de creștere și a citokinelor de către celule. Culturile de keratinocite alogene sunt privite, prin urmare, ca un material pentru acoperirea plăgii, întrucât singure nu pot să asigure închiderea plăgii. Utilizarea keratinocitelor alogene se consideră primordială în acoperirea plăgilor cronice deschise, precum ulceretele de gambă, sau pentru a accelera vindecarea zonelor donatoare.

Culturile de alogrefe epiteliale reprezintă niște foițe fragile. Ele trebuiesc separate de la vasul de cultură celulară cu ajutorul unei enzime proteolitice, înainte de aplicarea pe patul plăgii. Procedul induce contracție și proliferare ulterioară redusă. Epiteliul format este instabil, fapt ce conduce la apariția spontană a bulelor la mai multe luni după grefare, crescând, astfel, susceptibilitatea pentru infecții și contracturi. Histologic, fragilitatea foițelor culturilor de alogrefe epiteliale poate fi produsă de imaturitatea joncțiunii dermo-epidermice, care

However, they are expensive because of the fact that their production requires skilled labour and good quality control; 3-5 weeks are required to produce 1.8 cm² of confluent cell film from a 2 cm² biopsy. A high degree of coordination between the operation theatre and laboratory is necessary for optimal epithelial autograft use. For solving this problem, the keratinocyte cultures are congealed, both in suspension and in culture of epithelial autografts. The cells remain viable, but the efficiency of colonies generation is reduced by about 50%.

Cultured allogeneic keratinocytes

To obtain the confluent culture of autologous keratinocytes for wound closure is a long process that is why allogeneic cultured keratinocytes use is studied too. After cultivation keratinocytes do not express Ag (antigens) of MHC class II and do not stimulate allogeneic lymphocytes. Expression Ag of MHC class I is also attenuated by multiple passage and cells cryopreservation. When transplanted, keratinocytes are non-differentiated, the cornified and granular layers are not present. On the 6th day after grafting they differentiate into normal layers, but crosslinking increases are missing; 3 weeks after fragging the basal lamina with hemi-desmosomes is already present. During the first 6-12 weeks anchoring fibrils (collagen VII) are few in number and immature, although at this stage the ridges are present and the vascular organization is normal.

In clinical experience acute detachment reaction after keratinocytes' pellicle application is not observed. However, samples with chromosome Y and DNA demonstrated that allogeneic cells retain their viability less than 1 week after application to the wound resulting from tattoos or ulcers excision. The term increases to 6 weeks when keratinocytes are applied to the skin split graft donor sites. Progressively wound healing after allogeneic keratinocytes application is determined by secretion of growth factors and cytokines of these cells. Allogeneic keratinocyte cultures are seen as a material for wound coverage because they cannot provide wound closure alone. The use of allogeneic keratinocytes is essentially in chronic open wounds covering (as leg ulcers), or for accelerating donor sites healing.

Epithelial allografts represent some fragile films. Before application to the wound bed they should be detached from the cell culture dish with a proteolytic enzyme. This process produces shrinkage and low subsequent proliferation. Epithelium formed in this way is unstable and leads to spontaneous bubbles appearance several months after grafting, increases susceptibility to infections and contractures. Histologically, the fragility of epithelial allograft can be produced by dermo-epidermal junction immaturity, which lead to an inadequate anchorage. There is an abnormal wound healing area around the graft edges firmly seated and there is a healing type "brick wall" [43].

Several groups work in the direction of development of transportation systems for cultured keratinocytes which will reduce costs, will improve incorporation and the quality of the formed epidermis. Many of these transporting systems are not

duce la un ancoraj inadecvat. Apare o zonă de vindecare anormală, fermă, în jurul zonei de grefă [43].

Mai multe grupuri lucrează în sensul dezvoltării unor sisteme pentru transportarea culturilor de keratinocite autogene, în speranța că aceasta va reduce costurile și va ameliora incorporarea și calitatea epidermei rezultate. Multe dintre aceste soluții nu au fost utilizate pe larg pe subiecți umani. Transportul celulelor cultivate spre zona defectului se face prin aplicare directă sau cu utilizarea sistemelor de transport [44].

Aplicare directă

S-au realizat anumite succese, aplicând celulele împreună cu fibrină, în suspensie sau sub formă de membrană.

Suspensia de fibrină. Este o tehnică simplă, care permite grefarea la etape mai precoce, când celulele se află în stare proliferativă activă. După ce keratinocitele se fixează de plagă cu fibrină, vindecarea completă se produce în 14-21 de zile. Pe model animal (șobolani), prin utilizarea unei suspensii de clei de fibrină pe un pat dermic pregătit, s-au obținut un atașament și o regenerare bună și, în final, piele stabilă, cu calități mecanice bune.

Foița de fibrină. Culturi subconfluente de keratinocite pot fi crescute pe un strat de fibrină și, apoi, transferate în formă de plăcuțe pe plăgi. Așa metodă a fost folosită la trei pacienți cu plăgi profunde după excizie. S-a constatat că fibrina oferă o barieră satisfăcătoare în raport cu mediul înconjurător timp de 10 zile, astfel asigurând timpul necesar pentru proliferarea keratinocitelor până la confluență. Culturi de keratinocite autogene au fost aplicate și sub formă de spray de fibrină autogenă pe suprafața plăgii.

Suspensii de celule pentru pulverizare. Culturi de keratinocite au fost aplicate pe plăgi acoperite cu autogrefe de piele despicată, fenestrată 3:1. În aceste cazuri, keratinocitele au fost suspendate în mediu de creștere și au fost pulverizate direct pe plagă, fără a folosi fibrină. Se raportează că plăgile se vindecă mai rapid și au o calitate mai bună, acolo unde s-au pulverizat celule.

Sistem de transport

Au fost utilizate mai multe membrane în calitate de suport pentru keratinocite. Unul dintre cele mai moderne este *Laser-skin* (*Fidia Advanced Biopolymers*, Italia), un derivat esterificat al acidului hialuronic, perforat cu ajutorul laserului. Acidul hialuronic stimulează migrarea celulelor, proliferarea lor și procesul de angiogeneză. Același material a apărut pe piață cu denumirea de *Vivoderm* (*ER Squibb and Sons Inc.*, SUA). Keratinocitele sunt însămânțate *in vitro* pe membrană și, proliferând, populează porii creați de laser. Coloniile celulare cresc, apoi, de asupra și sub membrană, care poate fi dezlipită de pe ceașca Petri fără digestie enzimatică. Metoda a fost utilizată în clinică în tratamentul *vitiligo*, precum și pentru a acoperi *Integra* [45].

Substituenți combinați de piele pentru închiderea plăgii

Rezultatele elaborării și utilizării sistemelor alternative de transport pentru celule (trame, suporturi) sunt încurajatoare, deoarece acolo, unde keratinocitele au fost utilizate separat, calitatea vindecării a fost de calitate proastă. Combinarea keratinocitelor cu anumite forme de matrice cutanată, crește

used widely in humans. The delivery of cells to the wound can be at any stage in the expansion process by direct application or by use of a carrier [44].

Direct application

There are some successes in keratinocyte application with fibrin, in suspension or in the form of a membrane.

The fibrin suspension. The fibrin suspension is a simple technique that allows grafting at early stages, when cells proliferate actively. Once keratinocytes are attached to the wound, complete healing occurs in 14-21 days. In the animal model (rat) a good attachment and regeneration and formation of stable skin with good mechanical properties were obtained by use of a fibrin glue suspension on the dermal pre-grafted bed.

Fibrin pellicle. Keratinocyte subconfluent cultures can be grown on a layer of fibrin and then transferred to the wound bed. Such method was used to three patients with deep wounds after excision. It was found that fibrin provided a satisfactory barrier against the environment for 10 days, ensuring the time required for the keratinocytes proliferation until confluence. Autogenous keratinocytes can be applied in spray form on the wound surface.

Cell suspension for pulverization. Keratinocyte suspension were applied to wounds covered with split skin fenestrated 3:1 autografts. In these cases the keratinocytes are suspended in growth medium and sprayed directly on the wound surface without the use of fibrin. It is reported that wounds heal faster and have a better quality where cells were sprayed.

Carrier system

Different membranes were used as a support for keratinocytes. One of the latest is *Laser-skin* (*Fidia Advanced Biopolymers*, Italy), an esterified derivative of hyaluronic acid perforated by laser. The hyaluronic acid can promote cell migration, proliferation and angiogenesis. The same material appeared on the market under the name *Vivoderm* (*ER Squibb and Sons Inc.*, USA). Keratinocytes seeded *in vitro* on the membrane and proliferate. In this way they inhabit the pores created by laser. Then the cell colonies grow above and below the membrane. It can be peeled from the cup surface without enzymatic digestion. It has been used clinically in the treatment of vitiligo and for *Integra* covering [45].

Complex skin substitutes for wound closure

The results of development and use of alternative carrier systems for cells (Trame, supports) are encouraging because when keratinocytes are used separately the healing quality is poor. Combination of keratinocytes with some forms of cutaneous matrix increases the efficiency of their utilization. Matrix films with subconfluent cell cultures need time to restore the dermal basal membrane. The dermal basal membrane is the key-structure which ensures a robust and adherent epidermal barrier. The best solution is the formation by epidermis of the basal membrane during the cultivation process with its maintenance during the autograft transportation. The objective can be achieved by keratinocyte cultivation on a certain

eficacitatea utilizării acestora. Totodată, plăcuțele de matrice cu celule subconfluente, au nevoie de timp pentru a restabili membrana dermică bazală, care este structura-cheie, ce asigură o barieră epidermică robustă și aderentă. Soluția cea mai favorabilă ar fi formarea de către epiteliu a unei membrane bazale în decursul procesului de cultivare, cu menținerea acesteia în timpul transportării autogrefei celulare epidermice. Obiectivul poate fi atins prin cultivarea celulelor pe un anumit tip de biomaterial. Dacă stratul epidermic poate fi fixat în plagă, atunci bariera epidermică vitală poate fi substituită. Acest mod de abordare este denumit adesea tehnologie „complexă” de substituire a pielii. Sinteza unui compus cutanat, care are două componente, dermic și epidermic, poate nu doar să îmbunătățească tehnicile de transfer al keratinocitelor, dar și să influențeze aderarea, creșterea și diferențierea epidermică. Cultivarea concomitentă a keratinocitelor și fibroblastelor stimulează sinteza collagenului de tip VII, proteina structurală majoră a fibrelor de ancoraj.

Compușii, dezvoltăți actualmente, conțin geluri simple de collagen, similare după formă cu *Apligraf*, dermă prelucrată și compuși pe bază de collagen-glicozaminoglicani.

Compuși pe bază de alogrefe și xenogrefe

Ghosh *et al.* (2009), au comparat metodologiile folosite pentru prepararea substituenților de piele, combinați pe bază de dermă alogenă. Ei au cercetat etapele de sterilizare, de de-epitelizare și introducere a fibroblastelor și keratinocitelor în compus, necesare pentru producerea unei derme sterile și aceluare, cu membrană bazală intactă, necesară pentru o bună aderare a stratului epidermal.

Tehnica de glicerolizare standardizată oferă rezultate optime de sterilizare, menținând, în același timp, o dermă elastică ce păstrează cu fidelitate structura histologică normală. Iradierea face pielea rigidă și histologic anormală, iar tratamentul cu oxid de etilenă are rezultate imprevizibile. Dacă oxidul de etilenă ar da rezultate consistente, ar fi preferată din cauză că reprezintă o procedură de sterilizare standard și rapidă.

De-epidermizarea cu clorură de sodiu păstrează membrana bazală mai bine și a fost mai rapidă decât la utilizarea soluției de fosfat tampon. Penetrarea fibroblastelor în dermă se produce doar în derma reticulară, în cazul în care nu a fost în-sămânțată împreună cu keratinocitele. Autorii acestui studiu recomandă un compus format din alogrefă glicerolizată sau tratată cu oxid de etilenă, în-sămânțat, în prealabil, cu fibroblaste și, ulterior, cu keratinocite [46].

Compuși derivați din matrice collagen-glicozaminoglican

Studiile *in vitro*, în care keratinocitele umane subconfluente sunt aplicate pe suprafața unei matrice de collagen-glicozaminoglicani, similară celei utilizate în *Integra*, au dovedit aderență și creștere până la confluență. Modificările ulterioare ale membranei din collagen-glicozaminoglicani pentru implantarea fibroblastelor autogene, au permis creșterea unor straturi distincte de cultură de keratinocite autogene pe suprafața modificată. Utilizarea clinică a acestui tip de material în plăgile profunde, excizate ale pielii, au dovedit rate de incorporare acceptabile, cu formarea membranei bazale timp de 9 zile. Lucrările ulterioare ale acestui grup, utilizând keratinocitele împreună cu fibroblastele, au demonstrat că includerea

type of biomaterial. When the epidemic layer is attached on the wound surface, the vital epidermic barrier function is substituted. This method is called “complex” technology of skin substitution. Formation of a skin substitutes which consists of two components – the dermis and epidermis components – can improve the keratinocytes carrier methods and influence the epidermic adherence, growth and differentiation. Keratinocytes and fibroblasts simultaneous cultivation stimulates the synthesis of collagen type VII, the major structural protein of anchorage fibrils.

Currently developed products contain simple collagen gels, similar with *Apligraf*, processed dermis and components based on collagen-glycosaminoglycans.

Compounds based on allografts and xenografts

Ghosh *et al.* (2009) compared the methods used for the preparation of “complex” skin substitutes based on allogeneic dermis. They studied the steps of sterilization, de-epithelialization and fibroblast and keratinocyte introduction in the compound necessary for production of a sterile and acellular dermis with intact basal membrane which ensure a proper epidermal layer adherence. Glycosylation standardized technology leads to obtain optimal sterilization results and allows to maintain elastic dermis which keep normal histological structure. The radiation makes the skin stiff and histologically abnormal. The treatment with ethylene oxide has unpredictable results. If ethylene oxide gives consistent results it will be preferred because it is a quick standard sterilization procedure.

De-epidermisation with sodium chloride maintains the basal membrane better and is a faster method than phosphate buffer solution use. The penetration of fibroblasts into the dermis has place only in the reticular layer (if keratinocytes are not seeded simultaneously). The authors of this study recommend a compound which consist of glycerolized or treated with ethylene oxide allograft, previously seeded with fibroblast and subsequently with keratinocyte [46].

Compounds derived from collagen-glycosaminoglycan matrix

In vitro studies in which subconfluent human keratinocytes are applied to a collagen-glycosaminoglycan matrix show adherence and growth until confluence. Subsequent modification of the collagen-glycosaminoglycan membrane for autologous fibroblast implantation allows growth of distinct layers of autologous keratinocytes. The clinical use of this material in excised full-thickness wounds demonstrates acceptable rates of incorporation with basal membrane formation in 9 days. Subsequent studies of this group with simultaneously use of keratinocytes and fibroblasts show that the inclusion of these two cell types *in vitro* ensure formation of a better basal membrane, increase production of laminin, collagen type IV and thicker epithelial layers. Recently, cell cultures in composition of skin substitutes were successfully applied to patients with burns for deep excised wound closure.

Approximate price of the most frequently used skin substitutes is given in Table 1.

acestor două tipuri de celule au drept rezultat formarea unei membrane bazale mai bune, producere crescută de laminină, colagen de tip IV și straturi epiteliale mai groase, *in vitro*. Mai de curând, culturile de celule în componența substituenților de piele, au fost aplicate cu succes la pacienți cu arsuri pentru închiderea plăgilor profunde excizate.

Prețul aproximativ al celor mai frecvent utilizați substituenți de piele este redat în Tabelul 1.

Tabel 1. Prețul aproximativ al celor mai frecvent utilizați substituenți de piele [47].

Denumire	Structură	Preț per cm ² , €
EZ-Derm	Xenogrefă porcină, procesată prin liofilizare	2,5
Biobrane	Silicon, rețea de nailon, colagen	0,7
Transcyte	Silicon, rețea de nailon, colagen însămânțat cu fibroblaști neonatali	10,7
Apligraf	Keratinocite neonatale, colagen însămânțat cu fibroblaști neonatali	19,3
Dermagraft	Acid poliglicolic, însămânțat cu fibroblaști neonatali	9,7
AlloDerm	Derm cadaveric deepitelizat acelular	8,1
Integra	Silicon, colagen și glicozaminglican	4,5
Laserskin	Cultură de keratinocite autogene, acid hialuronic cu perforări laser	21,9
Epistel	Cultură de keratinocite autogene	15,8
Allograft	Tegument uman, procesat prin glicerolizare	1,5
Allograft	Tegument uman, procesat prin crioprezervare	0,8

Concluzii

În viitor, substituenții de piele vor avea un mai mare potențial de a stimula procesul de regenerare a leziunii, decât de a o repara. Pielea artificială va înlocui grefele de piele, astăzi considerate drept standard de aur în tratamentul defectelor tegumentare. În calitate de clinicieni, scopul nostru este – de a-l asigura pe pacientul ars – cu piele de cea mai înaltă calitate și cât mai rapid posibil. Ca oameni de știință, noi, deocamdată, nu am realizat scopul final – obținerea pielii artificiale gata pentru utilizare și, cu atât mai mult, în cantități suficiente. Însă, prin sinteza ultimelor date în acest domeniu și aplicarea rațională a cunoștințelor noi în practică, putem să ne asigurăm că folosim materialul potrivit într-o situație corespunzătoare.

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal la elaborarea și scrierea articolului.

Declarația de conflic de interese

Nimic de declarat.

Referințe/references

- Bernard G., Auger M., Soucy J., Pouliot R. Physical characterization of the stratum corneum of an *in vitro* psoriatic skin model by ATR-FTIR and Raman spectroscopies. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1770: 1317-1323.
- Horch R., Kopp J., Kneser U., Beier J., Bach A. Tissue engineering of cultured skin substitutes. *J. Cell Mol.*, 2005; 9: 592-608.

Table 1. Approximate price of the most frequently used skin substitutes [47].

Name	Composite layers	Price per cm ² , €
EZ-Derm	Porcine xenograft processed by lyophilisation	2.5
Biobrane	Silicon, nylon network, collagen	0.7
Transcyte	Silicon, nylon network, collagen seeded with neonatal fibroblasts	10.7
Apligraf	Neonatal keratinocytes, collagen seeded with neonatal fibroblasts	19.3
Dermagraft	Polyglycolic acid seeded with neonatal fibroblasts	9.7
AlloDerm	Deepithelised cadaveric acellular derma	8.1
Integra	Silicon, collagen and glycosaminoglycan	4.5
Laserskin	Autologous keratinocyte culture, hyaluronic acid with laser perforation	21.9
Epistel	Autologous keratinocyte culture	15.8
Allograft	Human skin processed by glycerolisation	1.5
Allograft	Human skin processed by cryopreservation	0.8

Conclusions

Products which consist of cultured allogeneic cells in combination with biomaterial are available on the market for wound coverage and wound closure stimulation. Material with autologous cellular component, which can provide immediate wound closure, are developing and are not available. In future skin substitutes may have more ability to stimulate regeneration than to repair, and artificial skin may be like skin split autografts – the gold standard for skin defects recovery today. As clinicians, our goal is to provide patients with wounds with skin of the highest quality in the shortest time possible. As scientists, we have not reached the final goal yet – the goal to have an artificial skin ready for use, but bringing into question the current views and using them rationally we can at least do our duty as clinics and ensure that we use the right material in a proper situation.

Authors' contribution

All of the authors contributed equally to the writing of this manuscript.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

- Auger F., Berthod F., Moulin V., Pouliot P., Germain L. Tissue-engineered skin substitutes: from *in vitro* constructs to *in vivo* applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2004; 39: 263-275.
- Mercandetti M. Wound Healing and Repair. Mar, 12, 2015.
- Hutchinson J. The Wound Programme. Centre for Medical Education: Dundee, 2012.

6. Werner S., Krieg T., Smola H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *J. Invest. Dermatol.*, 2007; 127 (5): 998-1008.
7. Bradley M., Cullum N., Nelson E.A. *et al.* Systematic reviews of wound care management: dressings and topical agents used in the healing of chronic wounds. *Health Tech. Assess.*, 1999; 17: (2): 1-35.
8. Marinescu B. Aplicațiile clinice ale culturilor de cheratinocite în acoperirea marilor defecte tegumentare. Teze_doctorat_2007.
9. Halim A., Khoo T., Yussof S. Biologic and synthetic skin substitutes: an overview. *Indian J. Plast. Surg.*, 2010; 43 (Suppl.): S23-S28.
10. Shores J., Gabriel A., Gupta S. Skin substitutes and alternatives: a review. *Adv. Skin Wound Care*, 2007; 20: 493-508.
11. Piccolo N., Piccolo-Lobo M., Piccolo-Daher M. Use of frog skin as a temporary biological dressing. *Proc. Am. Burn Assoc.*, 1992; 24: [abstract #39].
12. Chiu T., Burd A. "Xenograft" dressing in the treatment of burns. *Clin. Dermatol.*, 2005; 23: 419-23.
13. Hermans M. Preservation methods of allografts and their (lack of) influence on clinical results in partial thickness burns. *Burns*, 2011; 37: 873-81.
14. Hermans M. Porcine xenografts vs. (cryopreserved) allografts in the management of partial thickness burns: is there a clinical difference? *Burns*, 2014; 40: 408-15.
15. Shores J., Gabriel A., Gupta S. Skin substitutes and alternatives: a review. *Adv. Skin Wound Care*, 2007; 20 (9): 493-508.
16. Wright K., Nadire K., Busto P., Tubo R., McPherson J., Wentworth B. Alternative delivery of keratinocytes using a polyurethane membrane and the implications for its use in the treatment of full-thickness burn injury. *Burns*, 1998; 24: 7-17.
17. Carsin H., Ainaud P., Le Bever H. *et al.* Cultured epithelial autografts in extensive burn coverage of severely traumatized patients: a five year single- centre experience with 30 patients. *Burns*, 2000; 26: 379-87.
18. Lobmann R., Pittasch D., Muhlen I., Lehnert H. Autologous human keratinocytes culture of membranes composed of benzyl ester of hyaluronic acid for grafting in nonhealing diabetic foot lesions: a pilot study. *J. Diabetes Complications*, 2003; 17: 199-204.
19. Harriger M., Warden G., Greenhalgh D., Kagan R., Boyce S. Pigmentation and microanatomy of skin regenerated from composite grafts of cultured cells and biopolymers applied to full-thickness burn wounds. *Transplantation*, 1995; 59: 702-7.
20. Boyce S., Goretsky M., Greenhalgh D., Kagan R., Rieman M., Warden G. Comparative assessment of cultured skin substitutes and native skin autograft for treatment of full-thickness burns. *Ann. Surg.*, 1995; 222: 743-52.
21. Halim A., Khoo T., Yussof S. Biologic and synthetic skin substitutes: an overview. *Indian J. Plast. Surg.*, 2010; 43 (Suppl): S23-8.
22. Kenichiro H. Current issues regarding skin substitutes using living cells as industrial materials. November, 2006: 10.
23. Chaby G., Senet P., Vaneau M. *et al.* Dressings for acute and chronic wounds: a systematic review. *Arch. Dermatol.*, 2007; 143 (10): 1297-1304.
24. Greer N., Foman N., MacDonald R. *et al.* Advanced wound care therapies for nonhealing diabetic, venous, and arterial ulcers: a systematic review. *Ann. Intern. Med.*, 2013; 159 (8): 532-42.
25. Singer A., Clark R. Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 738-746.
26. Harding K. G., Morris H. L., Patel G. Healing chronic wounds. *BMJ*, 2002; 324: 160-163.
27. <http://www.slideshare.net/gueste2ea26/trans-cyte>
28. Cassidy C., St Peter S., Lacey S. *et al.* Biobrane vs. duoderm for the treatment of intermediate thickness burns in children: a prospective, randomized trial. *Burns*, 2005; 31 (7): 890-893.
29. Pham C., Greenwood J., Cleland H., Woodruff P., Maddern G. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review. *Burns*, 2007; 33 (8): 946-957.
30. Shealy F., DeLoach E. Experience with the use of apligraf to heal complicated surgical and nonsurgical wounds in a private practice setting. *Adv. Skin Wound Care*, 2006; 19 (6): 310-322.
31. http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2007_Groups/group11/future.html
32. Organogenesis Inc. Living technology. Apligraf. Prescribing information. 300-111-8 Apligraf R12-10 12/6/10.
33. Marston W. A., Hanft J., Norwood P. *et al.* The efficacy and safety of Dermagraft in improving the healing of chronic diabetic foot ulcers: results of a prospective randomized trial. *Diabetes Care*, 2003; 26 (6): 1701-1705.
34. Hart C., Loewen-Rodriguez A., Lessem J. Dermagraft: use in the treatment of chronic wounds. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*, 2012; 1 (3): 138-141.
35. Reganato A. Private practice periodontist West suburbs Chicago, IL. AllodermR is Allodynamite. "The Reganato Lecture Series", Sponsored by Woodlake Family Dental of Naperville, IL.
36. Gore D. Utility of acellular allograft dermis in the care of elderly burn patients. *J. Surg. Res.* 2005; 125 (1): 37-41.
37. <http://www.pittsburghdentalimplants.com/cosmetic-procedures/surgical-procedures/alloderm-grafts/>.
38. <http://www.hughessurgical.com/procedures/non-surgical/injectables/alloderm>
39. Lee L., Porch J., Spenler W. *et al.* Integra in lower extremity reconstruction after burn injury. *Plast. Reconstr. Surg.*, 2008; 121 (4): 1256-1262.
40. Lagus H., Sarlomo-Rikala M., Böhling T. *et al.* Prospective study on burns treated with Integra, a cellulose sponge and split thickness skin graft: comparative clinical and histological study randomized controlled trial. *Burns*, 2013; 39 (8): 1577-1587.
41. Rheinwald J., Green H. Serial cultivation of human epidermal keratinocytes: the cell formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 1975; 6: 331-344.
42. Desai M., Mlakar J., McCauley R., Abdullah K., Rutan R., Waymack J., Robson M., Herndon D. Lack of long-term durability of cultured keratinocyte burn-wound coverage: a case report. *J Burn Care Rehabil.*, 1991; 12(6): 540-5.
43. Carsin H., Ainaud P., Le Bever H. *et al.* Cultured epithelial autografts in extensive burn coverage of severely traumatized patients: a five year single-center experience with 30 patients. *Burns*, 2000; 26 (4): 379-387.
44. Poumay Y., Pittelkow M. Cell density and culture factors regulate keratinocyte commitment to differentiation and expression of suprabasal K1/K10 keratins. *J. Invest. Dermatol.*, 1995; 104: 271-6.
45. Rousou J. Use of fibrin sealants in cardiovascular surgery: a systematic review. *J. Card. Surg.* 2013; 28 (3): 238-247.
46. Yao M., Attalla K., Ren Y. *et al.* Ease of use, safety, and efficacy of Integra bilayer wound matrix in the treatment of diabetic foot ulcers in an outpatient clinical setting: a prospective pilot study. *J. Am. Pediatr. Med. Assoc.*, 2013; 103 (4): 274-280.
47. Ho C., Tran K., Hux M. *et al.* Artificial skin grafts in chronic wound care: a meta-analysis of clinical efficacy and a review of cost-effectiveness. Technology Report No 52. Ottawa, ON: Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment (CCOHTA); 2012.

ARTICOL DE SINTEZĂ

Leiomiomele și tumorile stromale gastrointestinale ale intestinului subțire – cauze rare de hemoragie digestivă (revista literaturii, cazuri clinice)

Gheorghe Rojnovceanu¹, Radu Gurghis^{1,2*}, Alexei Muravca¹

¹Catedra de chirurgie nr. 1 „Nicolae Anestiadi”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Laboratorul de chirurgie hepato-pancreato-biliară, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

Radu Gurghis, dr. șt. med.

Laboratorul de chirurgie hepato-pancreato-biliară

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: gurghis@yahoo.com

REVIEW ARTICLE

Leiomyomas and gastrointestinal stromal tumors of the small bowel – rare causes of gastrointestinal bleeding (literature review, case reports)

Gheorghe Rojnovceanu¹, Radu Gurghis^{1,2*}, Alexei Muravca¹

¹Nicolae Anestiadi Chair of surgery nr. 1, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Laboratory of hepato-pancreato-biliary surgery, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

Radu Gurghis, PhD

Laboratory of hepato-pancreato-biliary surgery

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: gurghis@yahoo.com

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Actualmente, în Republica Moldova, nu există niciun ghid oficial de diagnostic și tratament al hemoragiilor digestive superioare, localizate la nivelul intestinului subțire. Cel mai des, se utilizează pentru diagnosticarea lor examinări costisitoare, cu o informativitate redusă.

Ipoteza de cercetare

Sistematizarea tacticilor diagnostice și posibilitățile de rezolvare a hemoragiei digestive superioare din segmentul intestinal mediu.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Cazuistica rară și revista literaturii referitoare la managementul tumorilor intestinului subțire, complicate cu hemoragie, actualizează experiența acumulată și servește drept reper în cazuri similare de hemoragie digestivă superioară obscură, cu diagnostic dificil.

What is not known yet, about the topic

Currently in the Republic of Moldova, there exists no official guideline on the diagnostics and treatment of the upper gastrointestinal bleedings, localized in the small intestine. Most often, costly examinations with a low informativity are used for their diagnostics.

Research hypothesis

Systematization of the diagnostic tactics and the possibilities for solving the upper gastrointestinal bleeding in the medium intestinal segment.

Article's added novelty on this scientific topic

The rare incidence and literature review presented about the management of the small bowel tumors complicated with hemorrhage increase the accumulated experience and serve as reference point and guidance in similar cases of obscure upper gastrointestinal bleeding with a difficult diagnosis.

Rezumat

Introducere. Tumorile intestinului subțire complicate cu hemoragie sunt o provocare grea pentru medicină. Dificultatea constă în acces anevoios și absența unei manifestări tipice, acestea duc la avansarea tumorii, cu o rată mare de deces. Astfel, de cele mai dese ori, primele manifestări ale bolii sunt complicațiile tumorii: ocluzia intestinală, hemoragia digestivă,

Abstract

Introduction. Small bowel tumors complicated by hemorrhage are a hard medical challenge. The challenge consists in the difficult access and the lack of typical manifestations, this leads to tumor progression, with a high death rate. Thus, most often the first manifestations of the disease are the tumor complications, such as: intestinal obstruction, gastrointestinal

perforația de organ cavitărilor. Iată de ce, în ultimii ani, s-a pus un accent deosebit pe metodele de diagnostic.

Material și metode. Prezentăm trei cazuri clinice cu tumori ale intestinului subțire (2 leiomiome duodenale și o tumoră stromală gastrointestinală, la nivel de ileon), complicate cu hemoragie digestivă obscură, care pun probleme de diagnostic și de tactică, datorită situării specifice într-o zonă inaccesibilă metodelor imagistice și endoscopice de rutină. Pentru sistematizarea informației, am utilizat baza de date *PubMed*, unde au fost găsiți câțiva algoritmi de diagnostic și tratament contemporani. Căutarea s-a efectuat după cuvintele cheie „*obscure gastrointestinal bleeding*”, „*duodenal leiomyomas*”, și „*gastrointestinal stromal tumor*”.

Concluzii. Leiomiomul și tumora stromală gastrointestinală sunt două cele mai frecvente tumori ale intestinului subțire, implicate în apariția hemoragiei obscure și produc mari dificultăți de diagnostic în evaluarea de rutină a sursei de sângerare, fapt confirmat și în cazurile clinice prezentate. Capsula endoscopică, enteroscopia cu dublu balon și angiografia intervenționistă cu substracție digitală reprezintă metode contemporane, care ușurează diagnosticul hemoragiilor digestive, acestea fiind utilizate și pentru stoparea hemoragiei.

Cuvinte cheie: hemoragie digestivă, leiomiome, tumoră stromală gastrointestinală.

Introducere

Tumorile intestinului subțire, complicate cu hemoragie, sunt o provocare grea pentru medicină. Dificultatea în a pune un diagnostic cert de tumoră a intestinului subțire (IS) constă în dificultatea accesării și absența unei manifestări tipice, acestea duc la avansarea tumorii, cu o rată mare de deces. Astfel, de cele mai dese ori, primele manifestări ale bolii sunt complicațiile rezultate în urma creșterii tumorii, sugerând, de multe ori, un alt diagnostic, cum ar fi: ocluzia intestinală, hemoragia digestivă (HD), perforația de organ cavitărilor. Iată de ce, în ultimii ani, s-a pus un accent deosebit pe metodele de diagnostic. Tomografia computerizată (TC), rezonanța magnetică nucleară (RMN) și metodele endoscopice de analiză a tubului digestiv superior și inferior, sunt deja considerate modalități de rutină de majoritatea autorilor [1, 2]. Însă, odată cu implementarea capsulei endoscopice și a enteroscopiei cu dublu balon, s-a schimbat complet abordarea chirurgilor și a fost deschisă o nouă eră în cadrul endoscopiei [3, 4]. De asemenea, tot mai des este utilizată și angiografia intervenționistă cu substracție digitală (AISD), care, în cazul tumorilor complicate cu hemoragie digestivă, pe lângă abilitatea de a stabili cu exactitate zona/sursa hemoragiei, mai este utilizată și în scop terapeutic, prin embolizarea vasului [2].

În acest articol, am exemplificat doar două din tumorile IS, complicate cu hemoragie, întâlnite în practica noastră (leiomiomul și tumora stromală gastrointestinală), care, din cauza localizării inaccesibile pentru investigațiile de rutină și a incidenței joase, au pus mari probleme de diagnostic.

Tumorile intestinului subțire au o incidență relativ rară. Acestea reprezintă doar aproximativ 3-6% din toate neoplas-

bleeding, and hollow organ perforations. That is why in the recent years a particular emphasis has been placed on the diagnostic methods.

Material and methods. We present three clinical cases with tumors of the small intestine (2 duodenal leiomyomas and a stromal gastrointestinal tumor of the ileum) complicated with obscure gastrointestinal bleeding that raise issues of diagnosis and tactics because of the specific localization in an area inaccessible for the routine imaging and endoscopic methods. To systematize the information, we used the *PubMed* database, where several contemporary algorithms for diagnosis and treatment were found. The research was conducted after the keywords “*obscure gastrointestinal bleeding*”, “*duodenal leiomyomas*”, and “*gastrointestinal stromal tumor*”.

Conclusions. Leiomyomas and gastrointestinal stromal tumors are the two most common tumors of the small intestine, implicated in the development of obscure bleeding, which cause great diagnostic difficulties in the routine evaluation of the source of bleeding, as confirmed in the presented clinical cases. Capsule endoscopy, double balloon enteroscopy and interventional angiography with digital subtraction are contemporary methods that facilitate the diagnosis of gastrointestinal bleedings, being also involved in stopping the bleeding.

Keywords: gastrointestinal bleeding, leiomyoma, gastrointestinal stromal tumor.

Introduction

Small bowel tumors complicated by hemorrhage are a hard medical challenge. The challenge of establishing a certain diagnosis of small intestine (SI) tumor consists in the difficult access and the lack of typical manifestations, this leads to tumor progression, with a high death rate. Thus, most often the first manifestations of the disease are the complications resulted from tumor growth, often suggesting another diagnosis, such as: intestinal obstruction, gastrointestinal bleeding (GIB), hollow organ perforations. That is why in the recent years a particular emphasis has been placed on the diagnostic methods. Computer tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI) and the endoscopic methods of upper and lower digestive tract examination are already considered routine methods by most of the authors [1, 2]. But with the implementation of capsule endoscopy and double balloon enteroscopy, the surgical approach was completely changed and a new era in endoscopy was launched [3, 4]. Also, a frequently used method is interventional angiography with digital subtraction (IADS), which, in the case of tumors complicated by gastrointestinal bleeding, in addition to the ability of determining the exact area/source of bleeding, is also used for the therapeutic vessel embolization [2].

In this article we have illustrated only two of the si tumors complicated by hemorrhage encountered in our practice (leiomyoma and gastrointestinal stromal tumor), which, because of a location inaccessible for routine investigations and their low incidence, represent major diagnostic problems.

Small bowel tumors have a relatively rare incidence. They represent only about 3-6% of all the gastrointestinal neoplas-

mele gastrointestinale și 1-3% din toate tumorile maligne gastrointestinale [5]. Explicația acestui fenomen fiind legată de particularitatea fiziologică a IS, care include un mediu alcalin, conținutul fluid, un număr redus de bacterii și o concentrație crescută de IgA în lumenul intestinal [4, 6]. Tumorile benigne reprezintă cea mai frecventă cauză de sângerare masivă din intestinul subțire. Deși rare, leiomiomele sunt cele mai des întâlnite tumori benigne ale intestinului subțire și determină mari dificultăți de diagnostic în evaluarea de rutină a sursei de sângerare [7]. Din cele cu caracter malign, tumorile stromale gastrointestinale (GIST), de asemenea cu o incidență joasă (7% din tumorile maligne ale IS), pun probleme de diagnostic ca și cauză de hemoragie digestivă obscură, mai ales, când aceasta este prima manifestare a bolii [2, 5].

Material și metode

Cazuistica noastră cuprinde trei cazuri de HD superioară, înregistrate în perioada 1993-2014, tratate în cadrul IMSP Institutul de Medicină Urgentă, dintre care 2 femei și 1 bărbat, cu vârsta cuprinsă între 40 și 83 de ani. Aceștea prezentau la internare semne de hemoragie digestivă superioară (2 cazuri) și inferioară (1 caz) (Tabelul 1).

În primul caz prezentat, după efectuarea fibroesofagogastroduodenoscopiei (FEGDS), unde nu s-a depistat sursa hemoragiei, s-a decis efectuarea radiografiei cu contrast a duodenului în stare hipotonă, pentru a confirma/exclude sursa hemoragiei digestive superioare, unde la nivelul D₃ se depistează un defect de umplere de aproximativ 3,5 cm în diametru (Figura 1). Datorită stabilității hemodinamice, după o pregătire minuțioasă, s-a practicat, în mod programat peste 48 ore de la internare, rezecția segmentară a duodenului, cu anastomoză latero-terminală. Piesa operatorie fiind o tumoră de 4,0×3,5×3,5 cm, dur-elastică, defect al mucoasei de 1,0 cm în diametru, rezultatul morfopatologic fiind leiomiom epitelioid al duodenului.

În cel de-al doilea caz, pacientul se internează cu un tablou clinic de hemoragie digestivă superioară, însă, peste 6 ore de la spitalizare, prezintă un tablou de recidivă a hemoragiei, cu eliminări de sânge prin sonda nazogastrică, scăderea indicilor hematiilor. La FEGDS, se determină hemoragie activă, cu sursa localizată în lumenul bulbului duodenal, pe peretele medial-anterior, iar tentativa de hemostază endoscopică a fost soldată cu eșec. Astfel, datorită recidivei și instabilității hemodinamice manifestată prin colaps, tahicardie, tahipnee, la indicații vitale, s-a efectuat laparotomia de urgență. Intraoperatoriu, în porțiunea D₂ a duodenului, pe peretele anterior-medial, s-a depistat o formațiune tumorală de 4,0×3,0×2,0 cm, care constituie peretele duodenului; sânge pe parcursul intestinului subțire și gros. S-a practicat excizia peretelui anterior al duodenului, împreună cu tumora, piloroplastie. Piesa: tumoră musculară, elastică de 4,0×3,0×2,0 cm, pe mucoasa duodenului – 2 defecte adânci, cu vas sanguin în centru.

Mai dificil devine cazul al treilea, datorită situării tumorii la aproximativ 1 m de la unghiul ileocecal, ceea ce este inaccesibil pentru metodele endoscopice de rutină (FEGDS și colonoscopie). Astfel, s-a recurs la metodele imagistice: ultrasonografie (USG) și TC nativă, cu contrastare intravenoasă a abdomenului

ms and 1-3% of all the malignant gastrointestinal tumors [5]. The explanation for this phenomenon is related to the physiology of the SI, which includes an alkaline medium, fluid content, and a reduced number of bacteria and an increased level of IgA in the intestinal lumen [4, 6]. Benign tumors are the most common cause of massive bleeding from the small intestine. Although rare, leiomyomas are the most common benign tumors of the small intestine and cause huge difficulties in the routine diagnostic evaluation of the source of bleeding [7]. Among the malignant tumors, the gastrointestinal stromal tumors (GIST), also with a low incidence (7% of the malignant tumors of the SI) provide diagnostic problems as a cause of obscure gastrointestinal bleeding, especially when it is the first manifestation of the disease [2, 5].

Material and methods

Our cases include three cases of upper GIB during 1993-2014, treated in the Institute of Emergency Medicine, including 2 women and 1 man aged between 40 and 83 years. They showed signs of upper (2 cases) and lower (1 case) gastrointestinal bleeding at admission (Table 1).

In the first case presented after fibroesophagogastroduodenoscopy (FEGDS), where the source of bleeding has not been determined, it was decided to perform contrast X-ray of the duodenum in hypotonic state to confirm/exclude the source of upper gastrointestinal tract bleeding, where at the level of D₃ a filling defect about 3.5 cm in diameter is detected (Figure 1). Due to a hemodynamic stability, after a careful preparation, 48 hours after admission, segmental resection of the duodenum with lateral-terminal anastomosis was practiced in a planned way. The surgical piece was a tumor of 4.0×3.5×3.5 cm, tough-elastic, a mucosal defect of 1.0 cm in diameter, the morphopathological result being epithelioid leiomyoma of the duodenum.

In the second case the patient is hospitalized with a clinical picture of upper GI bleeding, but after 6 hours of hospitalization presents a picture of bleeding recurrence with blood discharges by the naso-gastric tube, decreased red cell indices. FEGDS determined an active bleeding, with the source located in the lumen of the duodenal bulb on the medial-anterior wall and the endoscopic hemostasis attempt resulted in failure. Thus, due to relapse and hemodynamic instability manifested by collapse, tachycardia, tachypnea, due to vital indications emergency laparotomy was performed, determining in the D₂ part of the duodenum on the anterior-medial wall a tumor mass of 4.0×3.0×2.0 cm, constituting the wall of the duodenum; blood throughout the small and large intestine. The excision of the anterior wall of the duodenum and tumor, pyloroplasty were performed. Piece: muscular, elastic tumor of 4.0×3.0×2.0 cm, with 2 deep defects with a blood vessel in the center on the duodenal mucosa.

More difficult is the third case because of the tumor localization at about 1 m from the ileocecal angle, which is inaccessible for the routine endoscopic methods (FEGDS and colonoscopy). Thus, imaging methods were performed: ultrasonography (USG), native CT and CT with intravenous abdomen contrasting, highlighting a solid volume mass with ir-

Tablelul 1. Prezentarea clinică a cazurilor.

Caracteristica	Cazul 1	Cazul 2	Cazul 3
Sexul	Masculin	Feminin	Feminin
Vârsta, ani	56	40	83
Acuzele	Melenă, slăbiciune generală	Vome cu cheaguri de sânge, melenă, lipotimie	Scaune cu sânge, slăbiciune generală
Antecedente hemoragice	Da (în ultimii 3 ani)	Nu	Nu
Obiectiv	Tegumente palide	Paliditate pronunțată a tegumentelor	Tegumente și mucoase palide
Tușeul rectal	Melenă	Melenă	Urme de sânge schimbat
Pulsul, bpm	98	90	100
Presiunea arterială, mmHg	110/70	120/80	110/70
Hemoglobina, g/L	83	111	63
Eritrocite, $\times 10^{12}/L$	2,83	3,3	2,2
Fibroesofago-gastroduodenoscopia	Esofagul, stomacul, duodenul – fără leziuni	În lumenul bulbului duodenal se determină hemoragie activă	Fără date de hemoragie la moment
Duodenografia	În D ₃ un defect de umplere cu diametrul de 3,5 cm	–	–
Colonoscopia	–	–	Hemoragie digestivă inferioară, fără identificarea sursei
Ultrasonografia abdominală	–	–	Formațiune cu structură neomogenă, de 196×122 mm, cu zone trans-sonice, de până la 88×57 mm
Tomografie computerizată	–	–	Formațiune de volum intra-abdominală și a bazinului mic
Intervenția chirurgicală	Programată: rezecția segmentară a duodenului cu anastomoză latero-terminală	Urgentă: excizia peretelui anterior al duodenului (D ₂) cu tumora; piloroplastie	Urgentă: excizia tumorii IS (la 1 m de unghiul ileo-cecal), cu rezecție cuneiformă a IS
Morfopatologie	Leiomiom epitelioid al duodenului	Leiomiom al duodenului	Tumoră GIST a intestinului subțire

Table 1. Clinical presentation of the cases.

Parameters	Case 1	Case 2	Case 3
Gender	Male	Female	Female
Age, years	56	40	83
Complaints	Melaena, general weakness	Vomiting with blood clots, melaena, faintness	Bloody stools, general weakness
Bleeding history	Yes (during the last 3 years)	No	No
Clinical examination	Pale skin	Marked skin paleness	Pale skin and mucous membranes
Digital rectal examination	Melaena	Melaena	Traces of modified blood
Pulse, beats/min.	98	90	100
Blood pressure, mmHg	110/70	120/80	110/70
Hemoglobine, g/L	83	111	63
RBC, $\times 10^{12}/L$	2.83	3.3	2.2
Fibroesofago-gastroduodenoscopy	Esophagus, stomach, duodenum – with no lesions	Active hemorrhage is determined in the lumen of the duodenal bulb	No hemorrhage data at present
Duodenography	In D ₃ a filling defect with a diameter of 3.5 cm	–	–
Colonoscopy	–	–	Lower gastrointestinal bleeding, without source identification
Abdominal echography	–	–	Mass with non-homogeneous structure of 196×122 mm with transonic areas of up to 88×57 mm
Computer tomography	–	–	Intra-abdominal and pelvic volume mass
Surgical intervention	Planned: segmental resection of the duodenum with lateral-terminal anastomosis	Urgent: the incision of the anterior wall of the duodenum (D ₂) with the tumor. Pyloroplasty	Urgent: și tumor excision (1 m from the ileocecal angle) with cuneiform resection of the SI
Morphopathology	Epithelioid leiomyoma of the duodenum	Leiomyoma of the duodenum	GIST tumor of the small intestine

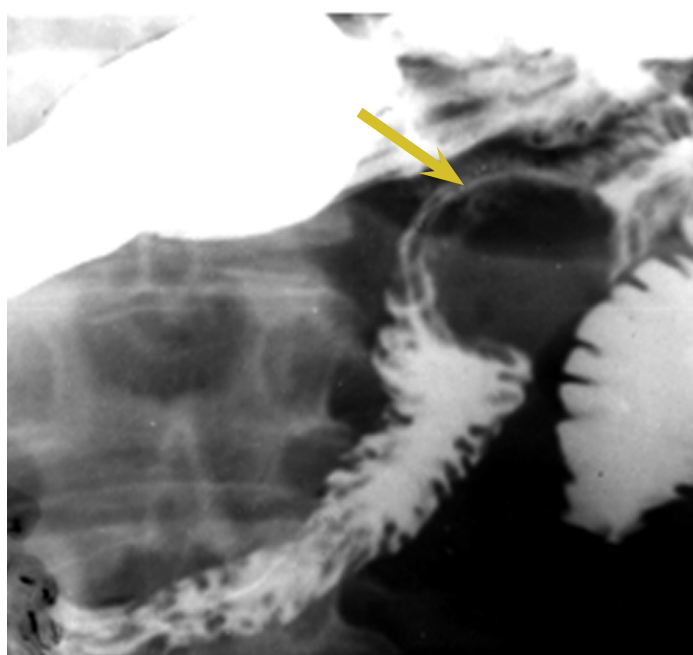


Fig. 1 Duodenografia: în D3, un defect de umplere de 3,5 cm (indică săgeata).

Fig. 1 Duodenography: in D3 a filling defect of 3.5 cm (indicated by arrow).

lui, unde se pune în evidență o formațiune de volum solidă, cu un contur neregulat și structură neomogenă (Figura 2). Datorită informativității reduse a TC în precizarea sursei hemoragiei obscure, precum și a recidivelor frecvente de hematochezie, pe fondul transfuziilor masive de masă eritocitară (12 unități) și plasmă proaspăt congelată (8 unități), la a 9-a zi de la internare, în mod urgent amânat, după o pregătire preliminară, se decide la intervenție chirurgicală. Intraoperator, se determină o formațiune de volum de aproximativ 25×18 cm, aderată parietal la ileon (Figura 3). S-a efectuat excizia tumorii cu rezecție cuneiformă a IS și plastia defectului în 2 planuri. Piesa operatorie fiind o formațiune de volum dur-elastică, care, la nivelul aderării parietale, prezenta un defect al mucoasei de aproximativ 0,3 cm. Rezultatul morfopatologic – tumoră GIST (imunohistochimic pozitivă la CD117, parțial pozitivă la proteina S100 și negativă la vimentină [clona V9], CD34 clasa II [clona QBEnd10], actina mușchilor netezi [clona 1A4] și enolaza neuronal specifică).

Discuții

Hemoragia digestivă reprezintă una din urgențele chirurgicale abdominale și prezintă rate crescute ale mortalității, cuprinse între 10-50%, în funcție de cauza și locul sursei [8]. Un diagnostic corect este indispensabil la persoanele în vârstă care au resurse fiziologice limitate, mai ales că hemoragia digestivă la vârstnici a devenit din ce în ce mai frecventă. O anamneză atentă este foarte importantă, apoi un examen fizic corect și analize pertinente trebuie efectuate înainte ca o cantitate semnificativă de sânge să fie pierdută.



Fig. 2 Formațiune de volum intra-abdominală și a bazinului mic, decelată la TC (indică săgeata).

Fig. 2 Intra-abdominal and pelvic volume mass determined at CT (indicated by arrow).

regular contour and non-homogeneous structure (Figure 2). Due to the low informativity of CT in detecting the source of obscure bleeding and the frequent relapses of haematochezia on the background of massive transfusions of packed red blood cells (12 units) and fresh frozen plasma (8 units), on the 9th day of hospitalization after a preliminary preparation an emergency surgical intervention is performed. During the surgery a volume mass of about 25.0×18.0 cm adhered to the wall of the ileum is determined (Figure 3). Tumor excision was performed with the cuneiform resection of the și and defect plasty in 2 plans. The surgical piece was a tough-elastic volume mass, presenting a mucosal defect of approximately 0.3 cm in the parietal adhesion. The morphopathological result – GIST tumor (immunohistochemically positive to CD117, partially positive to S100 protein and negative to vimentin [V9 clone], CD34 Class II [QBEnd10 clone], smooth muscle actin [1A4 clone] and specific neuronal enolase.

Discussion

Gastrointestinal bleeding is one of abdominal surgical emergencies and presents high mortality rates comprised between 10-50%, depending on the cause and location of the source [8]. A correct diagnosis is essential in older people who have limited physiological resources, especially since digestive hemorrhage in the elderly has become increasingly frequent. Medical history is very important, then a proper physical examination and relevant analyses must be carried out before a significant amount of the blood is lost.

In about 3-5% of the gastrointestinal bleeding cases, the

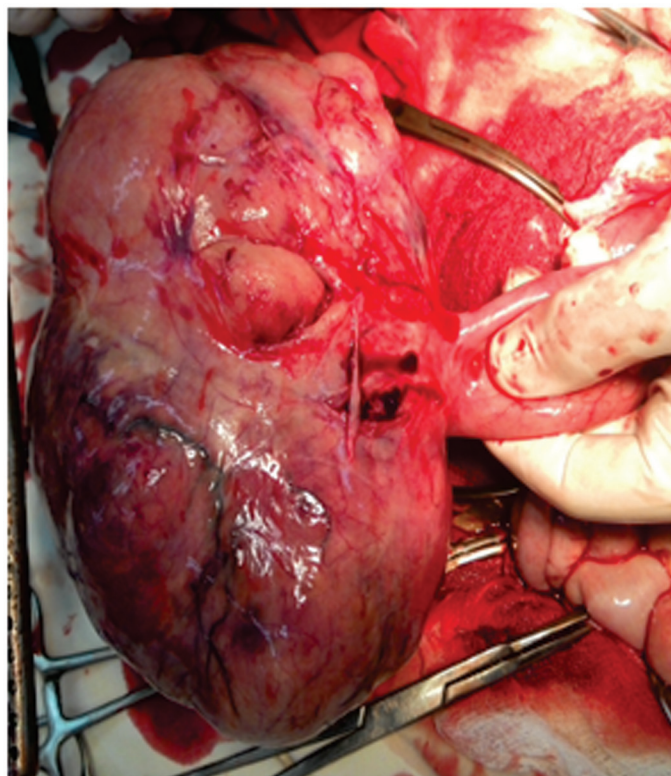


Fig. 3 Secvență intraoperatorie: formațiunea de volum, aderată parietal la ileon.

Fig. 3 Intraoperative sequence: volume mass adhered to the ileum walls.

În aproximativ 3-5% din cazurile de hemoragie digestivă, sursa sângerării nu poate fi identificată la FEGDS și/sau colonoscopie; astfel cauza hemoragiei fiind găsită la nivelul intestinului subțire, aceasta purtând numele de hemoragie digestivă obscură (HDO) [9,10]. HD obscură poate fi împărțită în două tipuri: deschisă, când sângerarea este clinic evidentă și ocultă, când manifestarea sângerării este anemia sau sânge ocult în fecale [11]. Datorită localizării sale anatomice, aceasta a mai fost numită și hemoragie digestivă medie, adică, originară între papilă și valva ileocecală [9, 12]. Particularitatea acesteia constă în faptul că se întâlnește rar și cel mai des pune mari probleme de diagnostic în condițiile unei pierderi de sânge greu de controlat.

Tumorile benigne, ca și cauză de HD, apar în mai puțin de 1% din cazuri [13]. Leiomiomele, deși constituie 1-2% din toate neoformațiunile sistemului digestiv și până la 1% – din afecțiunile benigne ale tractului digestiv, reprezintă cele mai frecvente tumori benigne nonepiteliale ale IS (20-30%) [7, 13, 14]. Clinic, acestea se manifestă, de obicei, prin melene masive, însă se mai pot complica cu ocluzie intestinală, volvulus sau pot provoca o invaginație. Tumora se consideră vinovată de hemoragie gastrointestinală acută în doar în 0,15% din cazuri [14]. Cel mai des, leiomiomele se depistează la nivelul jejunului (44%), urmat de ileon (37%) și duoden (19%) [13]. Clinic și morfologic, se disting trei grupuri de leiomiome: superficiale, leiomiome vasculare (angioleiomiome) și leiomiome profunde [13]; iar ca formă de creștere, se deosebesc: intraluminal, intramurale, extraluminal și sub formă de halteră [15].

În cazurile anterior prezentate, am descris 2 situații de le-

bleeding source cannot be identified at FEGDS and/or colonoscopy, thus the bleeding cause is found in the small intestine, bearing the name of obscure gastrointestinal bleeding (OGIB) [9, 10]. Obscure GIB can be divided into two types: open, when bleeding is clinically evident and occult, when bleeding manifestation is anemia or occult blood in the faeces [11]. Because of its anatomical location, it was also called medium gastrointestinal bleeding, i.e. between the papilla and the ileocecal valve [9, 12]. Its peculiarity is its rare frequency and that it most often poses serious diagnostic problems in terms of unmanageable blood loss.

Benign tumors, as a cause of GIB, comprise less than 1% of the cases [13]. Although leiomyomas account for 1-2% of all the digestive system tumors and up to 1% of the benign diseases of the digestive tract, they represent the most common benign nonepithelial tumors of the SI (20-30%) [7, 13, 14]. They are usually manifested clinically by massive melaena, but can also be complicated by intestinal obstruction, volvulus or invagination. The tumor is considered causative of acute gastrointestinal bleeding in only 0.15% of cases [14]. Most often, leiomyomas are detected in the jejunum (44%), followed by ileum (37%) and the duodenum (19%) [13]. Clinically and morphologically, three groups of leiomyomas are distinguished: superficial, vascular leiomyomas (angioleiomyomas) and deep leiomyomas [13]; and as growth form, the following ones are determined: intraluminal, intramural, extraluminal and dumbbell-shaped [15].

In the previously described cases we presented two cases of leiomyoma of the duodenum – an extremely rare entity, as

iomom al duodenului – o entitate extrem de rară, în literatura de specialitate fiind descrise observații unice. Conform acesteia, cea mai frecventă manifestare a bolii este anemia datorată hemoragiei oculte, urmată de melenă și, destul de rar, se manifestă prin hematemeză – ultimele două fiind prezente și în cazuistica noastră [16, 17]. FEGDS ca metodă de diagnostic, a fost utilă doar într-un singur caz (nr. 2), probabil datorită surinderii puseului de hemoragie, dar și localizării mai superioare a leziunii (D_2), spre deosebire de primul caz, unde tumora se afla în D_3 . Ca metodă complementară, se utilizează duodenografia hipotonă, care depistează leziunea la nivelul porțiunii orizontale a duodenului [18]. Din metodele de tratament, descrise sunt: excizia tumorii, rezecția segmentară cu anastomoză primară (metode practicate la pacienții descriși); de asemenea, se propun și excizii laparoscopice, rezecții endoscopice (pentru tumorile submucoase, de dimensiuni mici), iar mai nou – și rezecții duodenale robotice asistate [16, 19, 20, 21].

Tumorile GIST sunt cele mai frecvente forme de tumori mezenchimale (80%) ale tractului digestiv și reprezintă aproximativ 5% din toate sarcoamele și doar 0,3-0,5% din toate tumorile tubului digestiv [11, 22, 23]. Acestea se pot localiza oriunde, începând de la esofag și până la rect, cu o incidență maximă la nivelul stomacului (60-70%), urmat de IS (25-30%), duoden și rect (câte 5%), și mai rar – în esofag și colon (1-3% și, respectiv –1%), cu o frecvență de malignizare la nivelul IS de 50% [24]. Prin definiție, tumorile GIST cuprind totalitatea neoplasmelor mezenchimale ale tractului digestiv și abdomen, care sunt imunohistochimic pozitive la markerul KIT (CD117). Clinic, tumorile GIST nu au o prezentare specifică, cele de dimensiuni mici deseori sunt depistate incidental la examinările endoscopice, radiologice sau chiar intraoperator. Din cele mai frecvente simptome, întâlnite la pacienții cu astfel de tumori, sunt durerile vagi, asemănătoare ulcerului și HD ocultă, manifestată prin anemie, iar foarte rar – ca o HD evidentă [11, 24]. Acele neoplasme care nu ulcerază, cresc, de regulă, în dimensiuni, formând mase tumorale palpabile și se pot complica cu ocluzie intestinală sau pot duce chiar la perforația organului cavitat [24].

În cazul clinic descris cu tumoră GIST, prima și, de fapt, unica manifestare a tumorii, a fost HD obscură, confirmată prin FEGDS și colonoscopia efectuată, care a exclus altă formă de hemoragie. În paralel, s-au mai efectuat USG și TC abdominală nativă și cu contrastare intravenoasă, care identifică o formațiune de volum, fără a identifica o sursă exactă de sângerare. Astfel, în lipsa din arsenalul de aparataje a unei metode de investigare care ar pune punctul pe "i", se decide de a se interveni chirurgical, unde se depistează tumora ca sursă de sângerare.

În literatura de specialitate sunt descrise o serie de investigații (capsula endoscopică, enteroscopia cu dublu balon, angiografia intervenționistă) care pot identifica cu exactitate sursa sau locul de sângerare, unele având și abilități curative prin stoparea hemoragiei.

Capsula endoscopică (CE) este una din metodele care a făcut lumină în patologia intestinului subțire, din anul 2001 fiind un instrument tot mai des utilizat datorită proprietății non invazive și a informativității înalte asupra întregului tub digestiv. Cele mai multe indicații CE le are pentru identificarea unei he-

described by unique observations in the literature. According to its data, the most common manifestation of the disease is anemia due to occult bleeding, followed by melaena and it is rarely manifested by haematemesis – the last two being present in our study also [16, 17]. FEGDS as a diagnostic method was useful only in one case (no. 2), probably due to the bleeding episode witnessing, but also to the higher localization of the lesion (D_2), unlike the first case where the tumor was located in D_3 . As a complementary method hypotonic duodenography is used, which detects the lesion in the horizontal portion of the duodenum [18]. The treatment methods described are tumor excision, segmental resection with primary anastomosis (methods practiced in the patients described), also proposed are the laparoscopic excisions and endoscopic resections (for small submucosal tumors), and the newest robotic assisted duodenal resections [16, 19, 20, 21].

GIST tumors are the most common forms of mesenchymal tumors (80%) of the digestive tract and represent about 5% of all sarcomas and only 0.3-0.5% of all the tumors of the digestive tract [11, 22, 23]. They can be located anywhere – from the esophagus to the rectum, with a maximum incidence in the stomach (60-70%) followed by the si (25-30%), duodenum and rectum (5% each) and rarely in the esophagus and colon (1-3% and 1%, respectively) with a 50% frequency of malignancy in the si [24]. The definition of GIST tumors includes all of mesenchymal neoplasms of the digestive tract and abdomen, which are immunohistochemically positive to KIT marker (CD117). Clinically, GIST tumors do not have a specific presentation, the smaller ones are often found incidentally in endoscopic, radiological or intraoperative examinations. The most common symptoms encountered in patients with such tumors are vague ulcer-like pain and occult GIB manifested by anemia and rarely as an evident GIB [11, 24]. Those neoplasms which do not ulcerate, usually grow in size to form palpable tumor masses and can be complicated by intestinal obstruction or may even lead to the perforation of the hollow body [24].

In the clinical case described with GIST tumor, the first and the only manifestation of the tumor was obscure GIB, confirmed by FEGDS and colonoscopy performed, which excluded another form of bleeding. Another investigations also performed were abdominal ultrasound and native and contrasting intravenous CT, identifying a volume mass without detecting a precise source of bleeding. Thus, in the absence of a method of investigation which would establish a final diagnosis, it is decided to surgically intervene where the tumor is detected as the source of bleeding.

The literature describes a series of investigations (capsule endoscopy, double balloon enteroscopy, interventional angiography) that can accurately identify the source or place of bleeding, some of them having curative abilities by stopping the bleeding.

Capsule endoscopy (CE) is one of the methods that illuminated the small intestine pathology, being a tool increasingly used starting with 2001, due to its non invasive property and high informativity for the entire digestive tract. Most of CE indications are for finding obscure bleeding. The sensitivity of

moragii obscure. Sensibilitatea investigației în depistarea sursei hemoragiei atinge 58,1%, iar frecvența retenției capsulei pe parcursul intestinului este de 1,4-1,9% din cazuri, problema aceasta fiind soluționată mai recent prin implementarea unei "capsule patente", cu proprietăți de resorbție în timp [3, 12]. Principalul dezavantaj al metodei constă în imposibilitatea de a efectua careva manevre terapeutice sau de prelevare a biopsiei. Astfel, concomitent, s-a dezvoltat și implementat în practică enteroscopia cu dublu balon (EDB), inițial separat, apoi demonstrându-se rolul complementar al CE și EDB. Rolul major al EDB este cel terapeutic, efectuând hemostază endoscopică cu clipsuri sau electrocoagulare. Sensibilitatea acestei metode în depistarea sursei de hemoragie este de 43-80% [4, 12].

La reuniunea de consens, care a avut loc în timpul primului workshop internațional privind endoscopia cu dublu-balon, Sugano și Marcon (2006) au propus ca aceste două metode să fie utilizate conform unui algoritm (Figura 4) [12]. Conform acestuia, în cazul depistării unei hemoragii obscure evidente, este indicată EDB, preferabil peroral, deoarece aceasta vizualizează cu ușurință sursa sângerării din aval. Fiind o metodă cu proprietăți terapeutice, cu ajutorul acesteia se poate efectua hemostază endoscopică, se poate preleva biopsii sau să se indice cert tactica de tratament medicamentos sau chirurgical. În cazul când EDB nu este disponibilă, sau când avem un caz de HD ocultă, preferabilă este capsula endoscopică. La rândul ei, CE poate stabili diagnosticul, indicând metoda cea mai utilă de tratament, iar în cazurile când nu se depistează leziunea, autorii recomandă repetarea procedurii cu CE sau trecerea la EDB, care, conform acestora, are o sensibilitate mai mare, atinând 80% din cazuri [12].

Utilizarea enteroscopiei diagnostice a elucidat mai multe variante morfologice de leziuni vasculare intestinale ce sunt cauza HD medii. Însă, pentru a „standardiza” termenul de leziune vasculară, Yano (2008) propune o clasificare simplă a leziunilor depistate la nivelul SI. În primul grup, autorul include angioectaziile (ce reprezintă o leziune venoasă/capilară, care poate fi ușor tratată prin cauterizare endoscopică), după care le subdivizează în funcție de mărime, în tipul 1a (mai mici de 1mm) și 1b (câțiva mm). Tipul 2 de leziuni vasculare, subdivizate în tipul 2a și 2b, în funcție de absența, respectiv, prezența protruziei în mucoasă, reprezintă o afectare arterială, astfel fiind considerată o leziune Dieulafoy. În tipul 3, se includ malformațiile arterio-venoase, unde arterele și venele direct se conectează, fără paturi capilare. Ultimele două leziuni pot provoca sângerări arteriale, care necesită tratament endoscopic, cu plasarea de hemoclip sau laparotomie, în caz de leziuni mari. Tipul 4 este considerată o leziune vasculară cu morfologie neobișnuită și care nu poate fi inclusă în una din grupele anterioare (Figura 5) [12].

În cazurile de HD obscure acute sau subacute, se mai folosește și angiografia intervenționistă cu substracție digitală. Aceasta este descrisă ca metodă ideală de depistare a tumorilor la nivelul intestinului subțire, atunci când alte metode nu o pot face. AISD, pe lângă faptul că depistează cu acuratețe sursa hemoragiei, mai este utilizată și în scop terapeutic, prin embolizarea arterei ce alimentează tumora [2].

the investigation in tracing the hemorrhage source reaches 58.1% and the capsule retention rate in the intestine is 1.4-1.9% of cases, this problem was solved recently by implementing a "patent capsule" with properties of resorption over time [3, 12]. The main disadvantage of this method is the inability to perform any therapeutic maneuvers or biopsy sampling. Thus, simultaneously double balloon enteroscopy (DBE) was developed and implemented in practice, first separately, then demonstrating the complementary role of CE and DBE. The major role of DBE is therapeutically one, performing endoscopic hemostasis with clips or electrocoagulation. The sensitivity of this method in detecting the source of bleeding is 43-80% [4, 12].

During the consensus meeting that took place during the first international workshop on double balloon endoscopy, Sugano and Marcon (2006) proposed that these two methods should be used according to an algorithm (Figure 4) [12]. According to it, in the event of any evident obscure bleeding preferably oral DBE is indicated, because it easily visualizes the lower bleeding source. As a method with therapeutic properties, it can perform endoscopic hemostasis, may take biopsies or indicate a certain medical or surgical treatment tactics. If DBE is not available or when we have a case of occult GIB, capsule endoscopy is preferable. In its turn, CE can establish the diagnosis indicating the most useful method of treatment and in cases when lesion is not detected, the authors recommend repeating the procedure with CE or switching to DBE, which according to them has a higher sensitivity, reaching 80% of cases [12].

Using diagnostic enteroscopy has elucidated several morphological variants of intestinal vascular lesions, which are the cause of medium GIB. But, in order to "standardize" the term of vascular injury, Yano (2008) proposes a simple classification of the lesions detected in the SI. The first group according to the author includes angioectasias (representing a venous/capillary lesion that can be easily treated by endoscopic cauterization) that divides them according to size in type 1 (less than 1mm) and 1b (several mm). Type 2 vascular lesions subdivided into type 2a and 2b by the absence or presence of mucosal protrusion represents an arterial injury, being thus considered a Dieulafoy lesion. Type 3 includes the arterio-venous malformations, which directly connects arteries and veins without capillary beds. The last two lesions may cause arterial bleeding, which requires endoscopic treatment with the placement of hemoclip or laparotomy in the case of large lesions. Type 4 is considered a vascular lesion with unusual morphology and cannot be included in one of the previous groups (Figure 5) [12].

In cases of acute or subacute obscure GIB, interventional angiography with digital subtraction is also used. It is described as the ideal method for detecting small bowel tumors when other methods cannot do it. Besides accurately detecting the source of the bleeding, IADS is used for therapeutic purposes by the embolization of the artery that blood into the tumor [2].

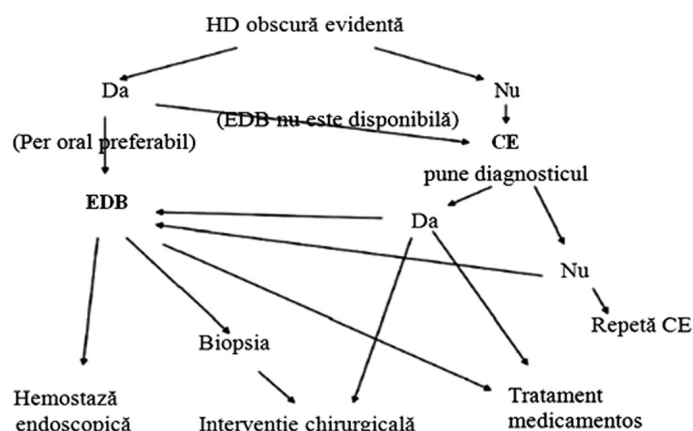


Fig. 4 Algoritm de diagnostic al HD obscure: rolul CE și EDB.

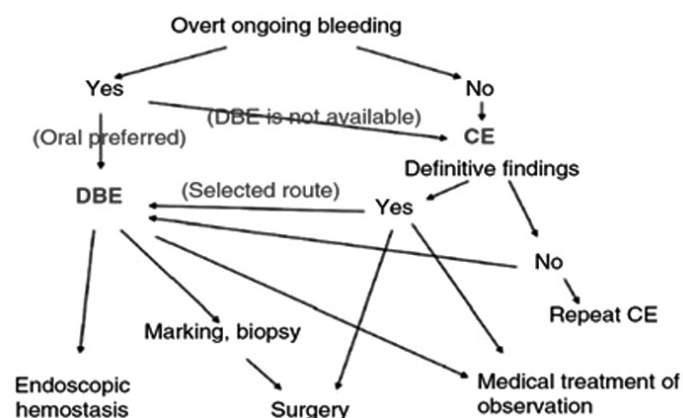


Fig. 4 Obscure GIB diagnostic algorithm: the role of the CE and DBE.

Tipul 1a:		Peteșii eritematoase (mai mici de 1 mm) cu sau fără hemoragie
Tipul 1b:		Peteșii difuze (câțiva mm) cu sau fără hemoragie
Tipul 2a:		Leziuni punctiforme (mai mici de 1 mm) cu hemoragie pulsatilă
Tipul 2b:		Proeminență roșie pulsatilă fără dilatare venoasă adiacentă
Tipul 3:		Proeminență roșie pulsatilă cu dilatare venoasă adiacentă
Tipul 4:		Alte leziuni neclasificate în categoriile precedente

Fig. 5 Clasificarea endoscopică a leziunilor vasculare ale intestinului subțire.

Type 1a:		Punctulate erythema (less than 1 mm) with or without oozing
Type 1b:		Patchy erythema (a few mm) with or without oozing
Type 2a:		Punctulate lesions (less than 1 mm) with pulsatile bleeding
Type 2b:		Pulsatile red protrusion without surrounding venous dilatation
Type 3:		Pulsatile red protrusion with surrounding venous dilatation
Type 4:		Other lesions not classified into any of the above categories

Fig. 5 Endoscopic classification of the vascular lesions of the small intestine.

Concluzii

Leiomiomul și tumora stromală gastrointestinală sunt două cele mai frecvente tumori ale intestinului subțire, implicate în apariția hemoragiei obscure și determină mari dificultăți de diagnostic în evaluarea de rutină a sursei de sângerare, fapt confirmat în cazurile clinice prezentate. Capsula endoscopică, enteroscopia cu dublu balon și angiografia intervenționistă cu substrație digitală reprezintă metode contemporane care ușurează diagnosticul hemoragiilor digestive, acestea fiind implicate și în stoparea hemoragiei.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la elaborarea și scrierea manuscrisului.

Declarația de conflict de interes

Autorii declară lipsa conflictului de interes.

Referințe / references

1. Sandrasegaran K, Rajesh A, Rushing D, Rydberg J, Akisik F, Henley J. Gastrointestinal stromal tumors: CT and MRI findings. *Eur. Radiol.*, 2005; 15 (7): 1407-1414. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15761716> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15761716>

Conclusions

Leiomyomas and gastrointestinal stromal tumors are the two most common tumors of the small intestine, implicated in the development of obscure bleeding, which cause great diagnostic difficulties in the routine evaluation of the source of bleeding, as confirmed in the presented clinical cases. Capsule endoscopy, double balloon enteroscopy and interventional angiography with digital subtraction are contemporary methods that facilitate the diagnosis of gastrointestinal bleedings, being also involved in stopping the bleeding.

Authors' contribution

All authors equally contributed to the manuscript. The final version was approved by all authors.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

2. Chen Y, Sun H, Luo J, Ni J, Chen D, Jiang X, Zhou J, Xu L. Interventional digital subtraction angiography for small bowel gastrointestinal stromal tumors with bleeding. *World J. Gastroenterol.*, 2014; 20 (47): 17955-61. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25548494>

3. Cañas-Ventura A, Márquez L, Bessa X, Dedeu J, Puigvehí M, Delgado-Aros S, Ibáñez I, Seoane A, Barranco L, Bory F, Andreu M, González-Suárez B. Outcome in obscure gastrointestinal bleeding after capsule endoscopy. *World J. Gastrointest. Endosc.*, 2013; 5 (11): 551-558. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3831197/>
4. Chen W, Shan G, Zhang H, Li L, Yue M, Xiang Z, Cheng Y, Wu C, Fang Y, Chen L. Double-balloon enteroscopy in small bowel tumors: a Chinese single-center study. *World J. Gastroenterol.*, 2013; 19 (23): 3665-71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23801870>
5. Cheung D, Choi M. Current advance in small bowel tumors. *Clin. Endosc.*, 2011; 44 (1): 13-21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3363052/>
6. Anzidei M, Napoli A, Zini C, Kirchin M, Catalano C, Passariello R. Malignant tumours of the small intestine: a review of histopathology, multidetector CT and MRI aspects. *Br. J. Radiol.*, 2011; 84 (1004): 677-690. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3473441/>
7. Al Awad N. Leiomyoma of the small bowel – a rare cause of massive gastrointestinal bleeding: a case report and literature review. *Saudi J. Gastroenterol.*, 2000; 6 (2): 92-4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19864719>
8. Hotineanu V. Hemoragiile acute digestive. (p. 339-347). În: Chirurgie. Curs selectiv. Editori: Hotineanu V, Hotineanu A, Cotoneț A. Centrul Editorial-Poligrafic Medicina, Chișinău, 2008.
9. Raju G, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology*, 2007; 133 (5): 1697-717. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17983812>
10. Nakatani M, Fujiwara Y, Nagami Y, Sugimori S, Kameda N, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Tanigawa T, Watanabe K, Watanabe T, Tominaga K, Noda E, Maeda K, Ohsawa M, Wakasa K, Hirakawa K, Arakawa T. *Intern. Med.*, 2012; 51 (19): 2675-2682. https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/51/19/51_51.7847/_article
11. Yuval J, Almogy G, Doviner V, Bala M. Diagnostic and therapeutic approach to obscure gastrointestinal bleeding in a patient with a jejunal gastrointestinal stromal tumor: a case report. *BMC Research Notes*, 2014; 7: 695. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4197232/>
12. Hayashi Y, Yamamoto H, Yano T, Sugano K. Diagnosis and management of mid-gastrointestinal bleeding by double-balloon endoscopy. *Therap. Adv. Gastroenterol.*, 2009; 2 (2): 109-117. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3002514/>
13. Sadat U, Theivacumar N, Vat J, Jah A. Angioleiomyoma of the small intestine – a rare cause of gastrointestinal bleeding. *World J. Surg. Oncol.*, 2007; 5: 129. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2174482/>
14. Krotova E, Morozov S, Zikov A, Nasnikova I, Pavlenko I, Badul M. Chronic recurrent intestinal bleeding. Jejunal leiomyoma. *Russian Electronic Journal of Radiology*, 2012; 2 (2) 60-3. <http://www.rejr.ru/volume/6/sp-krotova-rejr-2-2-2012.pdf>
15. Cengiz H, Yıldız Ş, Kaya C, Ekin M. A diagnostic dilemma of acute abdomen in pregnancy: Leiomyoma of the small intestine. *J. Turk Ger. Gynecol. Assoc.*, 2014; 15 (1): 60-62. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4004307/>
16. Rice D, Bakaeen F, Farley D, Unni K, van Heerden J. Surgical management of duodenal leiomyomas. *World J. Surg.*, 2001; 25 (5): 562-6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11369980>
17. Shetty S, Kalokhe S, Rathi P, Desai N, Sethna K, Rajyadhyaksha G, Sawant P. Duodenal leiomyoma – a rare cause of haematemesis. *J Assoc. Physicians India*, 2001; 49: 1114-5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11868869>
18. Hu Z, Zou S, Zhao D, Zhang C, Shi D, Ye Z, Jiang Y. Diagnosis and treatment of benign duodenal tumor. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*, 2005; 8 (1): 35-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16148996>
19. Cheah W, Lenzi J, Chong S, Goh P. Laparoscopic excision of duodenal tumors. *Surg Endosc.*, 2001; 15 (8): 898. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11443432>
20. Sun S, Jin Y, Chang G, Wang C, Li X, Wang Z. Endoscopic band ligation without electrosurgery: a new technique for excision of small upper GI leiomyoma. *Gastrointest Endosc.*, 2004; 60 (2): 218-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15278048>
21. Downs-Canner S, Van der Vliet W., Thoolen S, Boone B, Zureikat A, Hogg M. *et al.* Robotic surgery for benign duodenal tumors. *J Gastrointest. Surg.*, 2015; 19 (2): 306-12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25348238>
22. Manxhuka-Kerliu S, Sahatciu-Meka V, Kerliu I, Juniku-Shkololli A, Kerliu L, Kastrati M, Kotorri V. Small intestinal gastrointestinal stromal tumor in a young adult woman: a case report and review of the literature. *J. Med. Case Rep*, 2014; 8: 321. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25264210>
23. Bayraktar U, Bayraktar S, Rocha-Lima C. Molecular basis and management of gastrointestinal stromal tumors. *World J. Gastroenterol.*, 2010; 16 (22): 2726-34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20533592>
24. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. *Pol. J. Pathol.*, 2003; 54 (1): 3-24. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12817876>

IMAGINI DIN PRACTICA CLINICĂ

Verum aut Falsum Cavitas**Victor Botnaru¹, Dumitru Chesov^{1*}, Oxana Munteanu¹**¹Disciplina de pneumologie și alergologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.**Autor corespondent:**

Dumitru Chesov, dr. șt. med., asist. univ.

Disciplina de pneumologie și alergologie

Departamentul de medicină internă

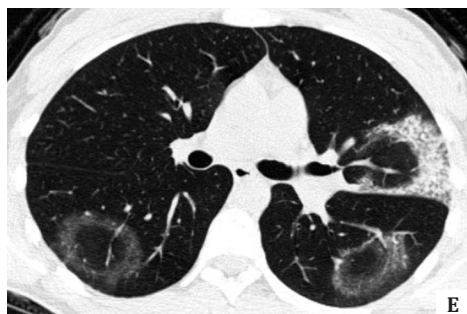
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: dumitru.chesov@usmf.md

Întrebare:

Ce leziuni imagistice cu un conținut aeric sunt prezentate în figurile A-F?



IMAGES FROM CLINICAL PRACTICE

Verum aut Falsum Cavitas**Victor Botnaru¹, Dumitru Chesov^{1*}, Oxana Munteanu¹,**¹Division of Pneumology and Allergology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.**Corresponding author:**

Dumitru Chesov, PhD, assist. prof.

Division of Pneumology and Allergology

Department of Internal Medicine

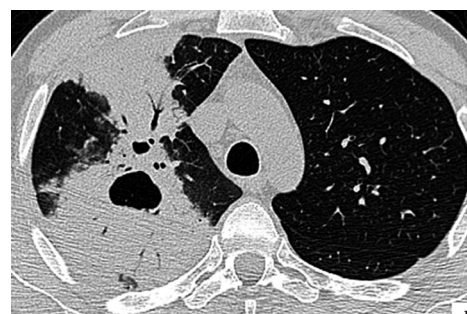
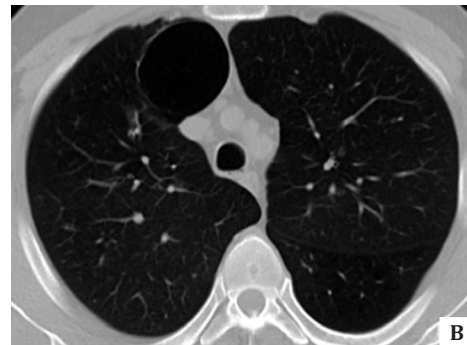
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare și Sfânt ave, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: dumitru.chesov@usmf.md

Question:

Which air-filled pulmonary lesions are shown on figures A-F?



Răspunsuri:

Figurile A și F reprezintă cavități pulmonare. Imaginea din Figura A ilustrează cavitatea tuberculoasă la o pacientă cu hemoptizii repetate, iar cea din Figura F – o cavitate în cadrul unei pneumonii necrotizante prin *Klebsiella pneumoniae*.

Cavitatea este descrisă drept un spațiu aeric, ce apare ca o zonă de hipertransparență (scădere a atenuării, în termenii tomografiei computerizate), ce are perete propriu, tradus imagistic prin opacitate. Dimensiunea opacității ce înconjoară transparența este mai mare în procesele recent excavate (supurații, infiltrații tuberculoase) și mai redusă odată cu evacuarea masei necrozate și resorbția alveolitei exsudative din jur. În cavitățile vechi cu procese de granulație excesive, inelul pericavitar este gros, scleros. Uneori cavitatea pulmonară conține un nivel lichidian. Diferențierea imagistică de chistul pulmonar în mare parte se face în baza grosimii peretelui cavității, care, de regulă, depășește 4 mm. Leziunile cavitare ale parenchimului pulmonar sunt cauzate de cancerul bronhopulmonar primar sau metastatic, vasculite (granulomatoza cu poliangeită, artrita reumatoidă) și diverse cauze infecțioase inclusiv abcese bacteriene, tuberculoză pulmonară, emboli septici, pneumonii fungice [1, 2].

Figura B reprezintă o bulă. Imaginea este a unui pacient tânăr, diagnosticat cu deficit de α 1-antitripsină.

Imagistic, bula reprezintă o hipertransparență focală circumscrisă sau o zonă de atenuare scăzută cu un diametru mai mare de 1 cm și perete fin (<1 mm). Bulele sunt localizate, preponderent, în zona subpleurală, deși este posibilă și localizarea în zona centrală a parenchimului pulmonar. Prezența concomitentă a leziunilor de tip emfizematos, prezervarea arterei centrilobulare în centrul zonei de hipertransparență, precum și forma poligonală pot fi utile în diferențierea bulilor cu un diametru mic de un chist pulmonar. Sunt frecvente bulele multiple, cărora li se asociază semne de emfizem pulmonar centrilobular sau paraseptal (emfizem bulos) [1, 3].

Figura C reprezintă bronșectazie. Imaginea obținută la un bărbat fumător, bronșectaziile fiind postinfecțioase.

Bronșectazia este definită o dilatare difuză sau localizată ireversibilă a bronhiei, de obicei, secundară infecției cronice, obstrucției căilor respiratorii proximale, anomaliilor congenitale sau fibrozei pulmonare (bronșectazii de tracțiune). Criteriile morfologice la computer tomografia cu secțiuni fine, includ: dilatarea bronșică comparativ cu ramura adiacentă a arterei pulmonare (semnul inelului cu pecete), lipsa îngustării bronhiei și identificarea bronhiei la o distanță mai mică de 1 cm de la suprafața pleurală. Bronșectazia trebuie diferențiată de alte leziuni pulmonare cu conținut aeric în baza caracterului ramificant, urmărit în secțiuni consecutive, mai bine observate în reconstrucțiile coronare și sagitale. În plus, bronșectaziilor frecvent li se asociază și alte leziuni ale arborelui bronșic, precum: îngroșări ale peretelui bronșic, dopuri de mucus, semne de afectare a căilor respiratorii mici (grupuri de noduli centrilobulari, capturarea aerului – *air trapping*) [1, 4].

Figura D reprezintă un chist pulmonar. Cazul unui bărbat HIV pozitiv cu pneumonie prin *Pneumocystis jiroveci*.

Imagistic, chistul pulmonar apare drept o zonă de hipertransparență (scădere a atenuării, în termenii tomografiei com-

Answers:

Figures A and F – pulmonary cavities. Figure A contains a tuberculosis cavity in a patient with recurrent hemoptysis and Figure F – cavitating *Klebsiella pneumoniae* pneumonia.

Cavity is an air-filled space with its own walls, seen as a lucency or low-attenuation area surrounded by opacity. A cavity is usually produced by the expulsion or drainage of a necrotic part of the lesion via the bronchial tree. The thickness of the surrounding opacity is larger in recently excavated lesions (lung suppuration, tuberculosis), and becomes thinner once the necrotic masses are drained and surrounding alveolitis resolved. In case of old cavities with excessive granulation very thick sclerotic wall is observed. In some cases cavity contains a fluid level. The distinction between lung cysts and cavities is mainly based on the difference in wall thickness, which usually exceeds 4 mm in case of cavity lesions. Lung cavities can be caused by primary lung cancer, lung metastases, vasculitis (granulomatosis with polyangiitis, rheumatoid arthritis), and different infectious etiologies including bacterial abscess, pulmonary tuberculosis, septic emboli, fungal pneumonia [1, 2].

Figure B represents a bulla. The case of a young man diagnosed with α 1-antitrypsin deficiency.

A bulla appears as a rounded focal lucency or area of decreased attenuation, 1 cm or more in diameter, bounded by a thin wall (<1 mm). Usually bullae are located in the subpleural region, although localization within lung parenchyma is also possible. Association with emphysema, presence of the centrilobular artery in the centrum of lucent area and polygonal shape in case of small size bullae, could be useful for differentiation from lung cysts. Multiple bullae are often present and are associated with centrilobular and paraseptal pulmonary emphysema (bullous emphysema) [1, 3].

On Figure C bronchiectasis are shown. The case of a smoker man with postinfection bronchiectasis.

Bronchiectasis is irreversible localized or diffuse bronchial dilatation, usually resulting from chronic infection, proximal airway obstruction, congenital bronchial abnormality or lung fibrosis (traction bronchiectasis). Imaging signs on thin section CT scans include bronchial dilatation with respect to the accompanying pulmonary artery (signet ring sign), lack of tapering of bronchi, and identification of bronchi within 1 cm of the pleural surface. Bronchiectasis can be differentiated from other air-filled pulmonary lesions by following the dilated airways on multiple sequential chest CT scan images, which will show a branching pattern that is usually better visualized on the coronal and sagittal reformatted images. Moreover, bronchiectasis is usually associated with other bronchial tree abnormalities such as bronchial wall thickening, mucus plugs, and small-airways lesions (clustered centrilobular nodules, air trapping) [1, 4].

On Figure D a pulmonary cyst is shown. The case of an HIV positive man with *Pneumocystis jiroveci* pneumonia.

A cyst appears as a round parenchymal lucency or low-attenuating area with a well-defined interface with normal lung due to an epithelial or fibrous wall of variable thickness (usually less than 2 mm). Cysts occur without signs of pulmonary emphysema that are associated with bullae. Differentiation of

puterizate) cu margine bine delimitată, datorată unui perete epitelial sau fibros de grosime variabilă (de regulă, sub 2 mm). Leziunile chistice nu se asociază cu emfizemul pulmonar, în care se atestă bule. Diferențierea de spațiile emfizematoase poate fi făcută prin identificarea arterei centrilobulare, deplasate excentric în cazul chistului, dar păstrate în centrul zonei de hipertransparență, în emfizem. Conținutul chisturilor pulmonare, de regulă, este aeric, dar, ocazional, chisturile pot conține lichid sau material solid. Termenul de „chist” este frecvent utilizat pentru a defini spațiile aeriice lărgite cu pereți subțiri la pacienții cu limfangioleiomiomatoză sau histiocitoză Langerhans. Chisturi multiple, cu pereții mai groși de tip „fagure de miere” (l. engl. *honeycombing*) caracterizează fibroza pulmonară avansată [1, 5].

Figura E nu conține leziuni aeriice, fiind prezent semnul haloului inversat. Leziunea imagistică ilustrează un caz de pneumonită organizantă criptogenă, confirmată histologic, la o pacientă de 32 de ani.

Semnul haloului inversat (semn imagistic rar, cunoscut și sub denumirea de „semnul atolului”), nu este o structură aerică, ci, dimpotrivă, reprezintă o opacitate focală, rotundă, de tip sticlă mată, înconjurată de un inel mai mult sau mai puțin complet de consolidare. Inițial, considerat patognomonic pentru pneumonita organizantă criptogenă, ulterior a fost descris și în alte afecțiuni ca mucormicoza, tuberculoza pulmonară, sarcoidoza, granulomatoza cu poliangeită etc [1, 6].

emphysema relies on the centrilobular artery that is not visible or is eccentric to the lucent area in cysts. Contrary in emphysema the centrilobular artery is placed in center of the lucent area. Lung cysts usually have an air content but occasionally contain fluid or solid material. The term of “cysts” often is used to describe enlarged thin walled airspaces in patients with lymphangioleiomyomatosis or Langerhans histiocytosis. Multiple thicker walled honeycomb cysts are seen in patients with advanced pulmonary fibrosis [1, 5].

Figure E doesn't contain any air-filled lesions, the reverse halo sign is present. The case of a 34 years old lady with histologically proved cryptogenic organizing pneumonia.

Reversed halo sign (a rare imaging sign, also known as atoll sign) is not an air-filled lesion, but rather represents a focal round shape ground glass opacity, surrounded by a complete or partial ring shaped consolidation. Initially reported as a specific sign for organizing cryptogenic pneumonia, subsequently being described in other conditions such as mucormycosis, pulmonary tuberculosis, sarcoidosis, granulomatosis with poliangeitis etc [1, 6].

Referințe / references

1. Hansell D. *et al.* Fleischner Society: glossary of terms for thoracic imaging. *Radiology*, 2008; 246 (3): 697-722.
2. Grant L., Babar J., Griffin N. Cysts, cavities, and honeycombing in multisystem disorders: differential diagnosis and findings on thin-section CT. *Clin. Radiol.*, 2009; 64 (4): 439-48.
3. Wang J. *et al.* High-resolution computed tomography in assessment of patients with emphysema. *Respir. Care*, 2013; 58 (4): 614-22.
4. Dodd J. *et al.* Imaging in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2015; 36 (2): 194-206.
5. Seaman D. *et al.* Diffuse cystic lung disease at high-resolution CT. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 2011; 196 (6): 1305-11.
6. Godoy M. *et al.* The reversed halo sign: update and differential diagnosis. *Br. J. Radiol.*, 2012; 85 (1017): 1226-35.

RECENZIE DE CARTE

Morfologia aplicată a aparatului vasculonervos al aortei toracice

(Monografie)

Autor: Tamara Hacina, dr. șt. med., conf. univ.
Editura Pontos, 2015; 238 p.
ISBN: 978-9975-51-690-0

Subsemnatul, Alic Darii, dr. hab. șt. med., prof. univ., parcurgând cu atenție lucrarea, am întocmit prezentul referat de evaluare.

Monografia are 238 de pagini, cuprinde introducere, patru capitole și rezumare. Bibliografia include 514 de surse. Tematica abordată este de actualitate și vine să completeze lipsa de informații din literatura de specialitate referitoare la modul morfologic de interpretare a unor probleme clinice. Investigațiile au fost efectuate pe 376 de piese anatomice. E de remarcat că dna doctor și-a extins cercetările și pe animale (porcine, bovine).

Fiecare capitol conține o sinteză de literatură, completată cu rezultatele cercetărilor proprii. Autoarea a depus numeroase eforturi pentru a găsi soluții privind cele mai stringente probleme ale acestei ramuri din medicină, în vederea prevenirii și reducerii numărului de complicații postoperatorii.

Aspectele, redată în imagini originale, argumentează cu multă claritate concluziile autoarei la fiecare capitol.

Argumentarea morfologică a celor mai frecvente complicații postoperatorii în chirurgia cardiovasculară este relevantă.

În monografie sunt trecute în revistă cunoștințele actuale, sintetizate din literatura națională și internațională, care vizează aparatul vasculonervos al aortei toracice. Primul capitol al monografiei este destinat rolului aplicativ al acestor cunoștințe în medicina clinică.

Autoarea descrie variabilitatea corpilor adipoși Rindfleisch ai aortei ascendente – structuri care s-au aflat, până acum, înafara preocupărilor morfologilor și clinicienilor, dar au început să capete un interes clinic deosebit abia în ultimii ani. În opinia

BOOK REVIEW

The applied morphology of the neurovascular apparatus of the thoracic aorta

(Monograph)

Author: Tamara Hacina, PhD in Medical Sciences, assoc. prof.
Pontos Publishing House, 2015; 238 p.
ISBN: 978-9975-51-690-0

I, the undersigned, Alic Darii, PhD in Medical Sciences, university professor, after a careful reading of this very work, have drafted an assessment report.

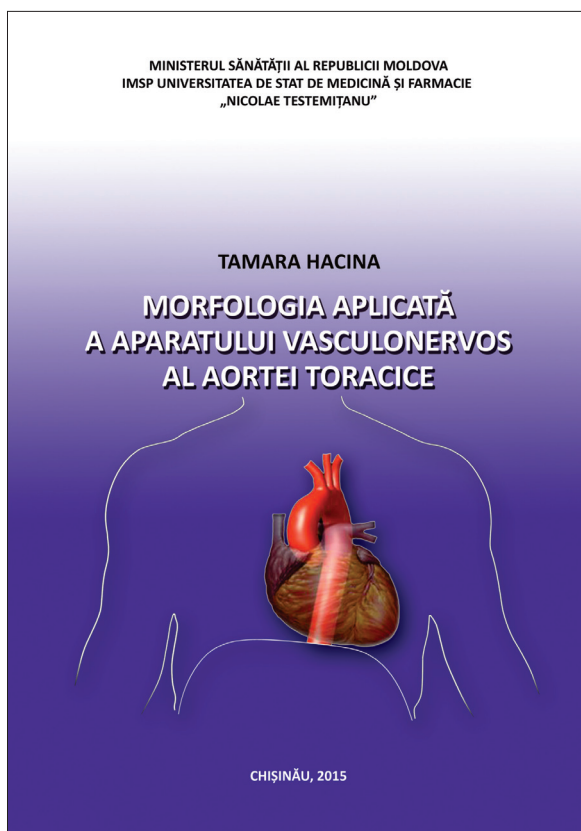
The monograph comprises 238 pages, including introduction, four chapters and summary. The bibliography consists of 514 sources. The thematic is up-to-date and complements the lack of information in the specialized literature regarding the morphological explanation of clinical problems. The investigations were conducted on 376 anatomical pieces. It is to be noted, that the author extended the research on animals (pigs, cattle) as well.

Each chapter contains a summary of the literature, which is complemented with her own research results. The author has made great efforts to find solutions to the most acute problems in this branch of medicine regarding the prevention and reduction of the postoperative complications.

The aspects, which are rendered in the original images, show clear rationale of the author to the conclusions found in each chapter. Morphological argumentation of the most common postoperative complications in cardiovascular surgery is relevant.

The monograph reviews the current knowledge, which is summarized from national and international literature and refers to the neurovascular unit of the thoracic aorta. The first chapter of the monograph is dedicated to the practical role of this knowledge in clinical medicine.

The author describes the diversity of the adipose bodies



chirurgilor cardiaci, acești corpi adipoși conțin structuri nervoase care reglează ritmul cardiac. Extirparea lor intraoperatorie se face pentru a facilita efectuarea unui șir de manipulații chirurgicale, cum ar fi: aplicarea pensei hemostatice, canularea și constrângerea proximală a aortei ascendente, utilizarea canulei pentru cardioplegie antegradă, crearea anastomozelor proximale în *bypass*-ul coronar etc.

Numeroase observații ale clinicienilor au sugerat că neglijarea acestor structuri pot induce fibrilație atrială postoperatoriu și favoriza hemoragii abundente.

Tot în acest capitol, autoarea abordează problema complicațiilor fonetice postoperatorii, care, odată cu dezvoltarea chirurgiei toracice, și-au recăpătat actualitatea. Rezultatele obținute sunt confruntate armonios cu cele din literatura de specialitate. Astfel, autoarea este de acord cu descrierile clasice ale sintopiei arcului aortic, dar le completează cu aspecte noi, de o valoare practică inedită; autoarea atrage o atenție sporită la variabilitatea individuală a sintopiei componentelor mediastinului superior. Cercetătoarea a abordat problema impactului *vasa vasorum* ale aortei asupra proprietăților ei rezistențial-deformative. O atenție deosebită a fost acordată unor momente importante pentru vizualizarea mai rapidă a nervilor vag și a celui laringian recurent din partea stângă pe parcursul intervențiilor chirurgicale. Pe de o parte, o asemenea abordare contribuie la profilaxia leziunii nervilor, iar pe de altă parte, dacă leziunea, totuși, s-a produs, metoda propusă facilitează alegerea tehnicii neuromicrochirurgicale potrivite pentru efectuarea reinervării. Concluziile sunt argumentate prin rezultatele preparării anatomice.

În capitolele următoare, autoarea prezintă descrierea detaliată a surselor de vascularizare și de inervare a corpului adipos al aortei ascendente, precum și a căilor de drenaj limfatic. Astfel, capitolul doi descrie amănunțit aparatul nervos al aortei. Sunt reflectate particularitățile lui zonale și conexiunile nervoase vaso-vasale. De rând cu structurile nervoase tipice, în componența corpului adipos Rindfleisch s-au identificat complexe vasculonervoase fuziforme, care nu au fost descrise, până acum, de către alți cercetători.

Un loc deosebit în acest studiu îl ocupă analiza structurilor similare corpusculului carotid. În lucrare sunt descrise variantele lor anatomice, localizarea și modificările de vârstă. A fost descrisă existența la numeroși corpusculi la una și aceeași persoană, a fost subliniată prezența lor constantă la diferite etape ale ontogenezei umane, în comparație cu cei identificați în alte zone ale aortei, care odată cu vârsta, degenerază. În componența corpului adipos, în straturile superficiale ale adventiției, autoarea a constatat, în premieră, prezența unor formațiuni cu structură tipică glandelor endocrine.

În următorul capitol au fost descrise particularitățile regionale ale vascularizării aortei – aspect important din punct de vedere clinic. Au fost evidențiate și descrise sursele vasculare din categoria *vasa vasorum internae*, ceea ce nu a fost oglindit, până acum, în alte materiale științifice. Este interesant faptul, că de-a lungul traiectului acestor vase, există numeroși corpusculi cu o structură similară celui carotid. În viziunea autoarei, fiecare zonă reflexogenă are nevoie de asemenea surse de vascularizare. Confruntând datele proprii cu cele obținute

Rindfleisch of the ascending aorta - structures that have been, until now, beyond the concern of morphologists and clinicians, but have received a specific clinical interest only in recent years. According to the cardiac surgeons' standpoint, the adipose bodies contain nerve structures that regulate the heart-beat. Their intraoperative removal is performed in order to facilitate a series of surgical manipulations, such as: application of hemostatic forceps, cannulation and proximal coercion of the ascending aorta, use of antegrade cardioplegia cannula, creating of proximal anastomosis in coronary bypass etc.

A number of observations made by clinicians suggested that if neglected, these structures can induce postoperative atrial fibrillation and promote profuse bleeding.

In the same chapter, the author deals with the phonetic postoperative complications, which have regained actuality along with the development of thoracic surgery. The obtained results confront harmoniously with the specialized literature. Therefore, the author agrees with the classical descriptions of aortic arch sintope, but complements them with new issues of a unique practical value; the author draws attention to the individual variability of the sintope of the superior mediastinum components. The researcher has considered the impact of the aortic *vasa vasorum* on its resistant-strain properties. A particular attention was paid to importance of a faster viewing of the *vagus* nerve and the left recurrent laryngeal nerve during surgery. On the one hand, such an approach contributes to prevention of nerve injury, however, on the other hand, if the lesion occurred, the proposed method will facilitate the choice of a suitable neuro- microsurgery technique for performing an effective reinnervation. The conclusions are grounded by the results of anatomical preparations.

In the following chapters, the author presents a detailed description of the sources of vascularization and innervation of adipose body of the ascending aorta and lymphatic drainage pathways. Therefore, the second chapter describes in detail the nervous apparatus of the aorta, where regional particularities and vaso-vasal nerve connections are reflected. Along with typical nerve structures, there were determined fusiform neurovascular complexes in the Rindfleisch adipose body composition, which have not been described so far by other researchers.

A special attention is drawn to the analysis of structures similar to the carotid corpuscle. The paper shows the anatomical variations, localization and age alterations. It has been described the existence of many corpuscles in same person and emphasized their constant presence at different stages of human ontogenesis compared to those identified in the other regions of the aorta, which tend to degenerate with age. The author was the first to note the presence of typical endocrine structure formations in the adipose body composition, in the superficial layers of adventitious.

Next chapter is referred to the regional peculiarities of aortic vascularization – an important clinical aspect. There were highlighted and described the vascular sources from *vasa vasorum internae*, which were not reflected so far in other scientific literature. Interestingly enough is that, there are numerous corpuscles with a structure similar to the carotid

de Iu. Comroe într-un studiu experimental, doamna T. Hacina confirmă existența în componența corpului adipos din adventiția aortei ascendente a unei zonei asemănătoare cu cea din sinusul carotid. Acest lucru este argumentat prin rezultatele căpătate la nivel microscopic și la cel mezoscopic. Este un concept nou, care prezintă atât interes teoretic, cât și practic.

Autoarea a descris trei zone ale aortei cu prezența *vasa vasorum internae*: cea baroreceptorie, pe fața concavă a arcului aortei, anterior de inserția ligamentului arterial; pe fața convexă a arcului aortei, în adiacență cu trunchiul brahiocefalic; în componența corpului adipos al aortei ascendente. Ultimele, se caracterizează prin anastomozare bogată cu ambele artere coronare și cu artera asociată nervului vag drept. Prin existența acestor anastomoze și a presiunii sangvine înalte în *vasa vasorum internae*, T. Hacina explică de ce apar hemoragiile abundente postoperatorii, care, pentru stopare, necesită resternotomie. Bazându-se pe rezultatele obținute, autoarea recomandă modificarea tehnicii intervențiilor chirurgicale la acest nivel, acordarea unei atenții sporite la ermetizarea suturilor aplicate pe aorta ascendentă și păstrarea integrității corpului adipos.

În cel de-al patrulea capitol, sunt prezentate date noi despre aparatul limfatic al aortei, care au aplicabilitate practică. Astfel, autoarea a constatat existența în 54% de cazuri a colectorului limfatic al atriului drept, pe lângă cele constante (colectorii limfatici cardiaci drept și stâng), a nodurilor limfatici intramurali, situați în corpul adipos al aortei ascendente. Se presupune, că lezarea intraoperatorie a colectorului limfatic al atriului drept induce fibrilație atrială postoperatoriu. În acest sens, au fost evidențiate trei zone ale aortei ascendente, importante pentru alegerea locului de acces: (1) zona cu risc înalt de dezvoltare a fibrilației atriale postoperatoriu; (2) zona cu risc redus; (3) zona de acces recomandată pentru manipularile chirurgicale.

Diversitatea tehnicilor de cercetare utilizate: prepararea anatomică, mezoscopia, metoda de injectare, urmată de cea corozivă, injectarea căilor de drenaj limfatic, cele histologice și imunohistochemice ș.a., au permis obținerea unor rezultate inedite referitoare la structurile nervoase, vasculare și la cele limfatice ale aortei.

Calitatea cercetărilor științifice, precum și documentarea exhaustivă a problemelor abordate, face, în mod firesc, această monografie necesară mai ales pentru clinicieni, studenți și cei aflați în studii postuniversitare de specialitate. Datele prezentate în sursa respectivă își vor găsi, neapărat, aplicare în diverse ramuri ale medicinei.

Alic Darii, dr. hab. șt. med., profesor universitar,
Catedra de histologie, citologie și embriologie
USMF „Nicolae Testemițanu”

longwise the track of these vessels. According to the author's opinion, each reflex zone needs this type of vascularization sources. When confronting her own data with those obtained by Iu. Comroe in an experimental study, the author confirms the existence of an area similar to the carotid sinus in the adipose body composition from the ascending aorta adventitia. This fact is reasoned by the microscopic and mesoscopic results. It is a new concept that presents both theoretical and practical interest.

The author has described three aortic areas in presence of *vasa vasorum internae*: the baroreceptors, on the concave side of the aortic arch above the insertion of arterial ligament; on the convex side of the aortic arch, adjacent to brachiocephalic trunk; on the adipose body composition of the ascending aorta. The latter is characterized by extensive anastomosis with both coronary artery and the artery associated with right *vagus* nerve. The author explains that the existence of these anastomoses and high blood pressure in *vasa vasorum internae* may lead to postoperative heavy hemorrhage, which requires sternotomy. Based on the obtained results, the author recommends altering the surgery techniques at this level, paying more attention to the hermetic sutures applied to the ascending aorta and preserving the integrity of the adipose body.

The fourth chapter presents new data on the aortic lymph apparatus, which has a practical application. The author has noted the presence of lymphatic collector of the right atrium in 54% of cases, in addition to the constant ones (right and left cardiac lymph collectors), intramural lymph nodes placed in the adipose body of the ascending aorta. It is assumed that the intraoperative damage of lymphatic collector of the right atrium will induce postoperative atrial fibrillation. In this respect, there were highlighted three areas of the ascending aorta, which are important for the choice of the access area: (1) the high risk of developing postoperative atrial fibrillation; (2) low-risk area; (3) access area recommended for surgical manipulation.

The diversity of used study techniques: the anatomical preparation, mesoscopy, injection method, followed by the corrosive one, injection of the lymphatic drainage pathways, the histological and immunohistochemical ones, have allowed to obtain unprecedented results regarding the nerve, vascular and lymphatic structures of the aorta.

The quality of scientific studies, as well as the exhaustive documentation of the discussed issues, renders this monograph being required for clinicians, students and postgraduate specialists. The data presented in this study will necessarily be implemented in various branches of medicine.

Alic Darii, PhD in Medical Sciences, university professor,
Chair of histology, cytology and embryology
Nicolae Testemitanu SUMPh



centrul stomatologic

vivodent

TRĂIEȘTE ZÎMBIND!

- Igiena bucală
- Terapie
- Restaurare estetică
- Protezare
- Ortodonție
- Viziografie/OPG(digital)
(Rentghen diagnostic)
- Chirurgie/Implantologie
- Parodontologie



str. București, 13/1

www.vivodent.md

e-mail: receptie@vivodent.md

<https://www.facebook.com/CentrulStomatologicVivodent>

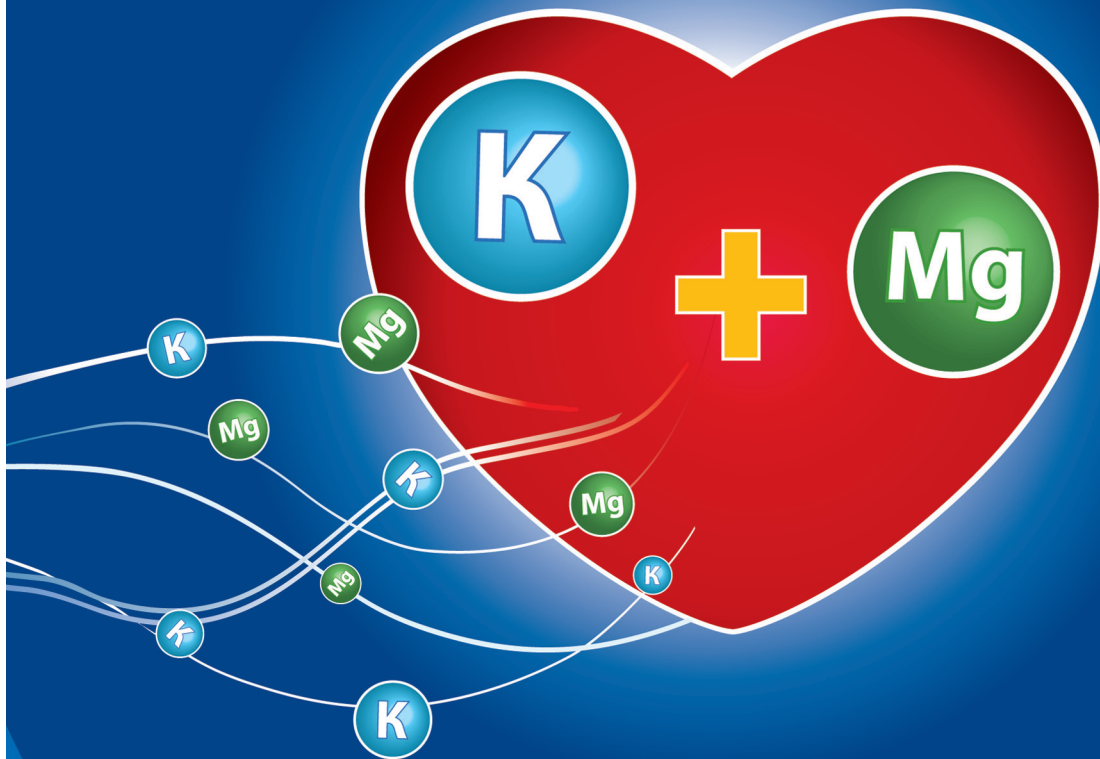
Centrul Stomatologic Vivodent

tel.: 022 54 64 00

mob.: 079 523 377

PANANGIN®

Vital pentru inimă!



- Aportul regulat de magneziu reduce riscul atacului de cord de 2 ori. ¹
- Suplimentarea cu potasiu scade riscul de accident vascular cerebral cu 40%. ²
- Panangin conține magneziu și potasiu

1. Магний и сердечно-сосудистые заболевания. РМЖ, № 20 2007, 1498-1501
2. Ascherio A, Rimm EB, Hernan MA, et al. Intake of potassium, magnesium, calcium, and fiber and risk of stroke among U.S. men. Circulation. 1998;98:1198-1204.
Khaw KT, Barrett-Connor E. Dietary potassium and stroke-associated mortality: a 12-year prospective population study. N Engl J Med. 1987;316:235-240



GEDEON RICHTER

Acesta este un medicament. Citiți cu atenție prospectul. Dacă apar manifestări neplăcute, adresați-vă medicului sau farmacistului.

Nr. 13490 din 23.10.2008

NOU

mertenil[®]
rosuvastatin

Cel mai puternic statin de ultimă generație

Corecție rapidă a nivelului de lipide

Tot spectrul de doze: 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg



ATENȚIE



PROTECȚIE



MERTENIL

Nr. 16902; 16899; 16900; 16901 din 05.10.2011

Un aliat prietenos în gestionarea colesterolului



GEDEON RICHTER

Reprezentanța în Republica Moldova, Chișinău, str. A. Pușkin, 47/1, bl. A, of.1; Tel./Fax: 22-14-49; 22-26-71;
www.gedeonrichter.md