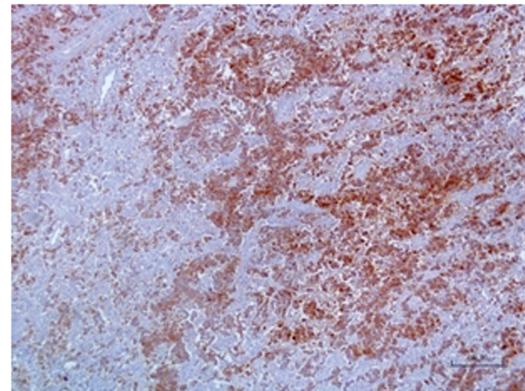
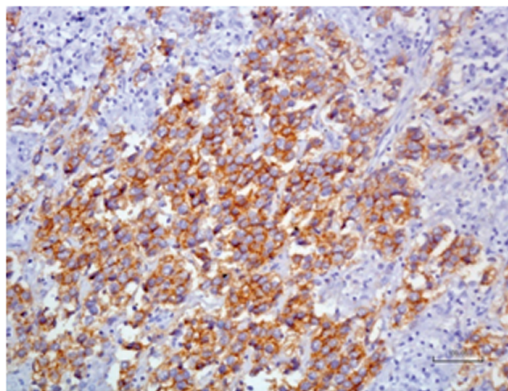
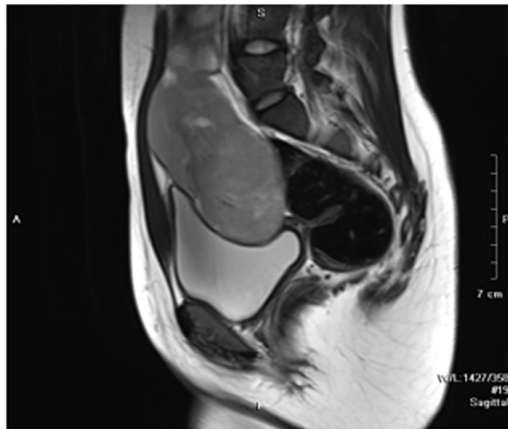
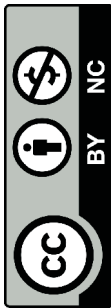


CONTENT HIGHLIGHTS:

Victor Ciobanu *et al.*

Ovarian dysgerminoma at adolescent with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome



GROPRINOSIN®

inozine pranobex, 500mg

Creat pentru a învinge virusii!

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

SUMAR

CONTENT

EDITORIAL		EDITORIAL	
Gabriel M. Gurman	5	Gabriel M. Gurman	5
Cine poate lua decizii în numele pacientului incapacitat		Who can make decisions on behalf of the incapacitated patient	
ARTICOLE DE CERCETARE		RESEARCH ARTICLES	
Egor Porosencov	9	Egor Porosencov	9
Analiza complicațiilor în grefarea osoasă secundară la pacienți cu despicături labio-maxilo-palatine: studiu retrospectiv, descriptiv		Analysis of complications in secondary bone grafting in patients with cleft lip and palate: retrospective, descriptive study	
Evelina Lesnic, Valeriana Pantea, Veronica Sardari, Serghei Ghinda, Valentin Gudumac	16	Evelina Lesnic, Valeriana Pantea, Veronica Sardari, Serghei Ghinda, Valentin Gudumac	16
Markerii circulanți ai stresului oxidativ și sistemului antioxidant în tuberculoza pulmonară: studiu prospectiv, tip caz-control		Circulating markers of the oxidative stress and antioxidant system in pulmonary tuberculosis: prospective, case-control study	
Evelina Lesnic, Adriana Niguleanu, Stela Kulcițkaia, Alina Malic, Mariana Guțu-Grecu, Vasile Popa, Constantin Iavorschi	26	Evelina Lesnic, Adriana Niguleanu, Stela Kulcițkaia, Alina Malic, Mariana Gutu-Grecu, Vasile Popa, Constantin Iavorschi	26
Particularitățile recidivei tuberculozei pulmonare: studiu retrospectiv, comparativ, pe serie de cazuri		Features of pulmonary tuberculosis relapse: retrospective, comparative case series analysis	
Maria Cojocaru-Toma, Sergiu Parii, Eugeniu Nicolai, Maria-Mirabela Toma, Tudorița Gherman, Serafim Romașcu	35	Maria Cojocaru-Toma, Sergiu Parii, Eugeniu Nicolai, Maria-Mirabela Toma, Tudorita Gherman, Serafim Romascu	35
Determinarea toxicității acute a extractelor obținute din <i>Agrimoniae herba</i> și <i>Cichorii herba</i> : studiu experimental		Determination of acute toxicity for extracts of <i>Agrimoniae herba</i> and <i>Cichorii herba</i> : experimental study	
Constantin Furtună, Anatol Taran, Mariana Jian, Viorel Nacu	44	Constantin Furtuna, Anatol Taran, Mariana Jian, Viorel Nacu	44
Terapia tisulară cu membrană amniotică în tratamentul bolnavilor cu leziuni termice: studiu prospectiv, descriptiv, pe serie de cazuri		Tissue therapy with amniotic membrane in the treatment of patients with thermal lesions: prospective, descriptive, case-series study	
SINTEZE DE LITERATURĂ		REVIEW ARTICLES	
Cornelia Lazăr, Ana Mișina, Olga Tagadiuc	52	Cornelia Lazar, Ana Misina, Olga Tagadiuc	52
Rolul indicilor de laborator în diagnosticul torsionii ovariene (revista literaturii)		The role of laboratory indices in the diagnosis of ovarian torsion (review article)	
Tatiana Timercan	62	Tatiana Timercan	62
Markerii contemporani ai ischemiei miocardului: sinteză de literatură		Current markers of myocardial ischemia: review article	
ESEU		ESSAY	
Elena Raevschi, Galina Obreja	73	Elena Raevschi, Galina Obreja	73
Considerații asupra dezvoltării funcționalității sistemului de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile netransmisibile în Republica Moldova		Considerations on the development of functionality of noncommunicable disease surveillance system in the Republic of Moldova	

PREZENTARE DE CAZ Victor Ciobanu, Ana Mișina, Patricia Harea, Virgil Petrovici, Irina Cuțitari Disgerminom ovarian la adolescentă cu sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser	82	CASE REPORT Victor Ciobanu, Ana Misina, Patricia Harea, Virgil Petrovici, Irina Cutitari Ovarian dysgerminoma at adolescent with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome
IMAGINI DIN PRACTICA CLINICĂ Victor Botnaru, Oxana Munteanu, Aliona David, Diana Calaraș Complicație pulmonară după vertebroplastie percutanată	90	IMAGES FROM CLINICAL PRACTICE Victor Botnaru, Oxana Munteanu, Aliona David, Diana Calaras Pulmonary complication after percutaneous vertebroplasty
Ghidul autorului	94	Guidelines for authors
Scrisoare de însoțire	103	Cover letter
Declarația autorilor	104	Authorship statement

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
Iana Burmistr, 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

Bilingual edition: Romanian, English

Founder:

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

Editor-in-chief:

Adrian Belii, PhD, university professor

Editorial staff:

Viorica Cazac, English redactor

Liviu Belii, Romanian redactor

Tatiana Jechiu, English redactor, freelancer

Iana Burmistr, 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, Chișinău, Republic of Moldova, MD-2004

Editat: Tipografia „Sirius”

Tiraj: 300 ex.

Înregistrat la Ministerul Justiției cu nr. 250 din 01 august 2014

Categoria B (hotărârea comună a CSSDT/CNAA nr. 169 din 21.12.2017)

Înregistrat IBN/IDSI la 16.11.2015



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 Iliia, PhD, university professor

Cernețchi Olga, PhD, university professor

Ciobanu Gheorghe, PhD, university professor

Ciocanu Mihai, PhD, university professor

Ciubotaru Anatol, PhD, university professor

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

Croitor Gheorghe, PhD, university professor

Curocichin Ghenadie, PhD, university professor

Gavriliuc Mihai, PhD, university professor

Ghicavăi 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)

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

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

Dmytriiev Dmytro, PhD, associate professor (N. I. Pirogov, National Medical University, Vinnitsa, Ukraine)

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)

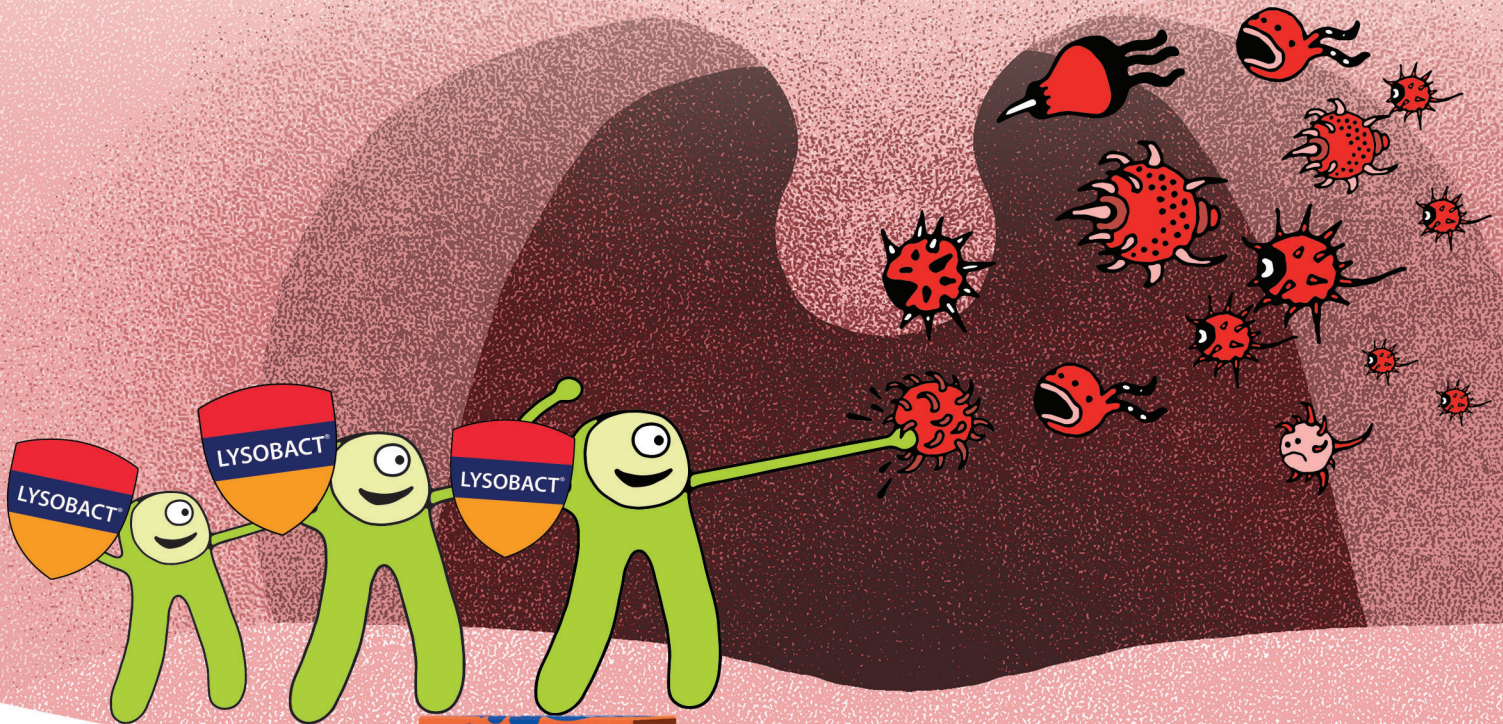
Todiraș Mihail, PhD, scientist (Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany)

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®

ЛЕЧИТ ГОРЛО ЕСТЕСТВЕННО!



ТЕПЕРЬ И В НОВЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ ФОРМАХ - ТАБЛЕТКАХ ДЛЯ РАССАСЫВАНИЯ LYSOBACT DUO® И ДВУХ ФОРМАХ СПРЭЙЕВ.



ЛИЗОЦИМ – ЕСТЕСТВЕННЫЙ ДЛЯ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ФЕРМЕНТ.

- УСТРАНЯЕТ ПРИЧИНУ **БОЛИ В ГОРЛЕ**
- **ОБЛАДАЕТ ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ДЕЙСТВИЯ (БАКТЕРИИ, ВИРУСЫ, ГРИБЫ)**

- **СОХРАНЯЕТ ПОЛЕЗНУЮ МИКРОФЛОРУ***
- **УСКОРЯЕТ ВЫЗДОРОВЛЕНИЕ***

* Погорелова О.О., Усенко Д.В., Ардатская М.Д., Дикая А.В., Горелов А.В. Оценка эффективности Лизобакта в лечении острых респираторных заболеваний у детей // Инфекционные болезни. 2009. 7(1). С. 69–72. Это лекарство. Прочитайте внимательно инструкцию. В случае возникновения побочных эффектов обратитесь к врачу или фармацевту.



EDITORIAL

Cine poate lua decizii în numele pacientului incapacitat

Moto:

„O decizie medicală devine problematică atunci când un pacient incapacitat din punct de vedere cognitiv nu a avut grijă, înainte de a se îmbolnăvi, să hotărască cine va fi persoana care, în caz de nevoie, va putea lua decizii în numele său și nu a lăsat nicio directivă în acest sens.”

(Muriel Gillick)

Nu mi-a fost ușor în luarea hotărârii de a aborda subiectul de care se ocupă citatul alăturat. În primul rând, pentru că am considerat că nu posed expertiza necesară de a mă ocupa de o temă cu multiple fațete, mai puțin medicale și mai mult etice și morale. Un al doilea motiv e faptul că, oricât aș încerca să ofer o soluție cât de cât acceptabilă de colegii mei de limbă română, sunt sigur că se vor găsi printre ei nu puțini care să se opună, pentru că argumente se găsesc din plin, și pro, și contra oricărei idei ce trebuie pusă în practică. În plus, rupt de zeci de ani de realitatea medicală cotidiană din România, nu eram sigur că pot aborda un subiect care, cel puțin în parte, are și o componentă juridică importantă, care poate fi tratată diferit în diferite părți ale lumii.

Ceea ce m-a făcut totuși să iau taurul de coarne și să încerc să tratez acest subiect dificil e experiența mea de mai bine de o jumătate de secol în domeniul terapiei intensive și nenumărații pacienți care mi-au rămas în minte și a căror situație medicală impunea luarea unei poziții clare, fără însă a avea posibilitatea de a comunica pacientului decizia luată.

S-o luăm, ca de obicei, didactic. Conform tuturor principiilor etice și morale, individul e stăpân pe autonomia sa. Cu alte cuvinte el/ea e singurul/singura în măsură de a lua decizii în ceea ce privește situația propriei sănătăți și măsurile terapeutice ce urmează a fi luate. Din acest motiv, a apărut ceea ce americanii numesc *informed consent*, adică consimțământul informat, o noțiune bine cunoscută (și pusă în practică) în România. Și iată un alt termen luat din codurile medicale americane: *battery*, în traducere liberă atac, asalt, adică atingerea fizică (inclusiv tratament medical) a unei persoane în absența consimțământului său.

Deci, teoretic, nicio decizie legată de îngrijirea unui pacient nu poate fi pusă în practică fără aprobarea clară a celui în cauză. Până aici, lucrurile sunt clare și această concepție, apărută legislativ în orice țară democratică, nu poate fi contestată.

Dar, din acest punct, lucrurile se complică foarte mult.

EDITORIAL

Who can make decisions on behalf of the incapacitated patient

Motto:

„A medical decision becomes problematic when a cognitively disabled patient, has not taken care to decide before getting sick, who will be the person who, in case of need, will be able to make decisions on his behalf and not left no directive to that effect.”

(Muriel Gillick)

It has not been easy for me to make the decision to address the subject of the adjoining quote. First, because I consider that I did not have the necessary expertise to deal with a multifaced, less medical and more ethic and moral. A second reason is that no matter how much I try to offer an acceptable solution for my romanian language colleagues, I am sure there will be among them not few who will oppose, because the arguments are in full swing, and pro, and against any idea to be put into practice. In addition, broken for decades by the daily medical reality in Romania, I have not been sure that I can address a topic as that, at least in part, has an important legal component that can be treated differently in different parts of the world.

What has made me to take the situation under control and try to treat this difficult issue is my experience of more than a half century in the field of intensive care therapy and the countless patients who have remained in my mind and whose medical situation required taking a clear position, but without being able to communicate the decision to the patient

Let's take it as usual, didactic. According to all ethical and moral principles, the individual is a master of his autonomy. In other words, he/she is the only one able to make decisions about the health situation and the therapeutic measures to be taken. For this reason, what the Americans calls *informed consent*, ie informed consent, has emerged, a well-known (and put into practice) concept in Romania. And here is another term taken from US medical codes: *battery*, free attack translation, assault, that is to say the physical touch (including medical treatment) of a person in the absence of his or her consent.

So, theoretically, no decision on patient care can be put into practice without the clear approval of the patient concerned. So far, things are clear, and this conception, legally defended in any democratic country, can not be disputed.

But from this point, things get very complicated. Compli-

Complicațiile încep în momentul în care pacientul devine incapabil de a înțelege ce se petrece în jurul său și, deci, nu poate judeca „cu sânge rece” situația în care se află și nici nu poate lua o hotărâre în ceea ce privește continuarea tratamentului său. De aceea, odată cu apariția conceptului de autonomie a individului, au apărut și soluțiile pentru cazuri speciale.

Am mai avut ocazia să amintesc la această rubrică legea israeliană, care permite oricărui cetățean să semneze un document care să ateste faptul că el/ea nu dorește continuarea menținerii vieții pe cale artificială în cazul în care prognosticul maladiei indică în mod clar apropierea imediată a sfârșitului letal. Am ales acest caz special și extrem, pentru că o asemenea situație se întâlnește îndeajuns de frecvent, iar existența unui asemenea document rezolvă o problemă care, teoretic și practic, e cumplit de complicată. Însă, în absența unui asemenea act notarificat, decizia trebuie luată în cooperare cu membrii familiei, iar în absența lor, cu cineva din cercul de prieteni apropiați, o persoană care poate declara că subiectul a fost discutat și că el/ea cunoaște exact părerea celui în cauză despre menținerea inutilă și artificială a funcțiilor vitale atunci când totul e deja pierdut în mod ireversibil.

Bineînțeles, dacă lucrurile ar fi atât de simple, subiectul nu ar merita să fie tratat pe larg, pentru că e ușor de imaginat o situație în care părerile membrilor familiei sunt împărțite, din motive variate. Chiar și atunci când legislația vine în sprijinul echipei terapeutice și permite numirea de către o instanță juridică a unei singure persoane care poate lua decizii în numele pacientului incapacitat, ceilalți membri ai familiei pot contesta decizia și lucrurile se complică și, mai ales, se tergiversează.

Așa cum menționez, această stare de lucruri e extremă. Mult mai frecvente sunt cazurile în care pacientul se află într-o situație de incapacitate temporară. În acest caz, deciziile terapeutice sunt mult mai ușor de luat și de acceptat, chiar când e vorba de necesitatea unei intervenții de urgență. În absența unei persoane apte (legal) de a reprezenta interesele pacientului, echipa terapeutică (în Israel, trei medici) semnează în foaia de observație, confirmând necesitatea intervenției și, în felul acesta, respectarea cadrului juridic și (cel puțin teoretic) interesele pacientului.

Dar nu despre o asemenea situație semnaleză Muriel Gillick, o cunoscută personalitate în lumea medicală americană, absolventă a facultății de medicină de la Harvard și specialistă în medicina internă și în problemele de etică medicală. Problema discutată recent în paginile cunoscutului jurnal *New England Journal of Medicine* e tocmai cea menționată la începutul acestor rânduri. E vorba de situația în care viața pacientului nu poate avea alt curs decât decesul în următoarea perioadă, foarte scurtă, de ore sau zile.

Cer, de la bun început, iertare cititorului care, foarte probabil, cunoaște în amănunt aceste noțiuni de etică medicală, dar am considerat că nu e inutil a le reaminti aici, iar asta pentru a întregi scenariul și a-l pune în concordanță cu literatura de specialitate. Bineînțeles că niciuna dintre posibilitățile ce vor fi descrise pe scurt mai jos nu se referă la conceptul acceptat și promulgat de multe instanțe de peste tot, printre ele și cele

begin when the patient becomes incapable of understanding what is happening around him and therefore can not judge with „cold blood” the situation he is in, nor can he decide on the continuation of his treatment. That is why, with the advent of the concept of autonomy of the individual, the solutions for special cases appeared.

I have had the opportunity to recall in this compartment the Israeli law which allows any citizen to sign a document stating that he/she does not want to continue to maintain his life by artificial means if the prognosis of the illness clearly indicates the immediate end of the lethal end. I have chosen this special and extreme case, because such a situation is encountered quite frequently, and the existence of such a document solves a problem which, theoretically and practically, is terribly complicated. However, in the absence of such a notarized act, the decision must be taken in cooperation with the family members, and in their absence, with someone in the circle of close friends, a person who can declare that the subject has been discussed and that he or she knows precisely what concerned about the unnecessary and artificial maintenance of vital functions when everything is already lost irreversibly.

Of course, if things were so simple, the subject would not deserve to be widely treated, because it is easy to imagine a situation where family members' views are divided, for various reasons. Even when legislation supports the therapeutic team and allows the appointment by a court of a single person who can make decisions on behalf of the incapacitated patient, other family members may challenge the decision, and things get complicated and, in particular, delayed.

As I mentioned, this state of affairs is extreme. More frequent are cases in which the patient is in a state of temporary incapacity. In this case, therapeutic decisions are much easier to take and accept, even when it comes to the need for emergency intervention. In the absence of a person (legally) fit to represent the interests of the patient, the therapeutic team (in Israel, three doctors) signs in the observation sheet confirming the need for intervention and thus respecting the legal framework and (at least theoretically) the patient's interests.

But not such a situation is reported by Muriel Gillick, a well-known personality in the American medical world, a graduate of Harvard Medical School and a specialist in internal medicine and medical ethics. The issue recently discussed in the pages of the well-known *New England Journal of Medicine* is just mentioned at the beginning of these lines. This is the case in which the life of the patient can only have a course other than death in the next, very short, hours or days.

I ask from the beginning forgiveness to the reader who is very likely to know these concepts of medical ethics in detail, but I think it is not useless to remind them here, and that to complete the script and to bring it into line with the literature. Naturally, none of the possibilities that will be briefly described below refers to the concept accepted and promulgated by many instances of everywhere, among them

religioase, conform cărora doar o putere supremă poate scurta viața individului, deci rolul medicului e de a menține în viață pacientul, folosind toate mijloacele care-i stau la dispoziție și indiferent de prognosticul acestuia. Conform acestei concepții, medicul e obligat să facă toate eforturile pentru a menține, cu orice chip, funcțiile vitale ale pacientului cât mai aproape de limitele normale.

Dar, în situația în care decesul e o chestiune de ore sau zile, literatura de specialitate indică trei posibilități practice. Prima posibilitate e aplicarea noțiunii de *withholding*, care se definește prin neincluderea niciunei măsuri terapeutice noi, chiar atunci când situația pacientului terminal o cere (de exemplu, dializa renală). Orice nouă complicație va fi consemnată în dosarul pacientului, dar tratată în mod pasiv, fără o nouă intervenție activă.

A doua soluție poartă numele de *withdrawal* (retragere, în traducere liberă). Aici e vorba de o atitudine activă, dar în sens invers. Noțiunea implică oprirea unor măsuri terapeutice care au rolul de a menține funcțiile vitale în limite mai mult sau mai puțin normale. Exemplul clasic e cel al reluării ventilației mecanice după, să zicem, schimbarea tubulaturii aparatului de ventilat. Oprirea ventilatorului, în mai toate cazurile temporară, va fi în acest scenariu definitivă și, bineînțeles, va fi urmată de decesul pacientului în câteva minute sau ore.

În sfârșit, o a treia soluție e numită *do not resuscitate* (DNR) și se referă la abținerea de la a începe manevrele de resuscitare cardiorespiratorie în caz de stop cardiac. O asemenea decizie e afișată la patul pacientului și va fi respectată de toată echipa terapeutică, în toate schimbările. Bineînțeles, situația e mult mai complicată, pentru că prima întrebare care se cere a fi pusă e cine e în măsură sau cine are dreptul să ia o hotărâre decisivă privitor la starea pacientului aflat într-o condiție care nu-i permite să participe la luarea deciziei.

În anul 2015, Societatea americană de cardiologie a consemnat următoarea poziție: „*Din punct de vedere etic, clinicianul nu trebuie să ezite în luarea deciziei de a întrerupe orice suport al funcțiilor vitale atunci când supraviețuirea funcțiilor vitale e foarte improbabilă*”. Bineînțeles, o asemenea poziție, propusă de un organism foarte respectat în lumea medicală, odată acceptată, ar rezolva problema definitiv. În absența opiniei pacientului și fără a ține cont de părerea familiei sau a cercului de prieteni intimi, echipa terapeutică va aplica una dintre cele trei măsuri amintite mai sus, în funcție de situația pacientului în momentul în care se cere luată o decizie.

Dar poziția societății amintite nu e universal acceptată. Influența preceptelor religioase și dreptul medicului de a refuza să ia o măsură care vine în contradicție cu opiniile sale etice și morale (așa-numita *conscientious objection*, în traducere liberă împotrivire din motive de conștiință) se vor opune propunerii de mai sus și vor împiedica punerea ei în aplicare.

Fără discuție, divergențele pot fi aplanate atunci când familia pacientului în cauză e convinsă de justetea măsurilor propuse. Evitarea unui conflict frontal cu familia e un element primordial într-o asemenea situație. Argumentul ce poate fi adus e cel care va permite familiei să înțeleagă nu numai

religious ones, that only supreme power can shorten the life of the individual, so the physician's role is keep the patient alive, using all the means at his disposal and regardless of his prognosis. According to this concept, the physician is required to make every effort to maintain the vital functions of the patient in any way as close as possible to normal limits.

But if death is a matter of hours or days, literature shows three practical possibilities. The first possibility is the application of the concept of *withholding*, which is defined by the non-inclusion of any new therapeutic measures, even when the situation of the terminal patient requires it (*eg.*, renal dialysis). Any new complication will be recorded in the patient's file, but treated passively without a new active intervention.

The second solution is called *withdrawal*. This is an active attitude, but in the opposite direction. The notion involves stopping some therapeutic measures that have the function of keeping vital functions within more or less normal limits. The classic example is that of resuming mechanical ventilation after, say, changing the duct of the ventilator. Stopping the fan, in all temporary cases, will be in this definitive scenario and, of course, it will be followed by the patient's death in minutes or hours.

Finally, a third solution is called *do not resuscitation* (DNR) and refers to refraining from starting cardiorespiratory resuscitation in the event of cardiac arrest. Such a decision is displayed at the patient's bed and will be respected by the entire therapeutic team in all exchanges. Of course, the situation is much more complicated, because the first question that is asked is who is able or who has the right to make a decisive decision regarding the condition of the patient in a condition that does not allow him to participate in the taking decision.

In 2015, the American Society of Cardiology noted the following: „*From an ethical point of view, the clinician should not hesitate to take the decision to discontinue any support of vital functions when the survival of vital functions is very unlikely*.” Of course, such a position, proposed by a very respected body in the medical world, once accepted, would solve the problem definitively. In the absence of the patient's opinion and without considering the opinion of the family or circle of intimate friends, the therapeutic team will apply one of the three measures mentioned above, depending on the patient's situation when a decision is required.

But the position of that society is not universally accepted. The influence of religious precepts and the right of a physician to refuse to take a measure that contradicts his ethical and moral opinions (the so-called conscientious objection, free conscientious objection) will oppose the above proposal and will prevent them to apply.

Without discussion, divergences can be settled when the patient's family is convinced of the fairness of the proposed measures. Avoiding a frontal conflict with the family is a primordial element in such a situation. The argument that can be brought is the one that will allow the family to understand

inutilitatea continuării tratamentului, dar și necesitatea evitării unei suferințe, de asemenea, inutile.

Doresc să precizez un fapt desprins din realitate: nicio legislație nu poate rezolva în toate cazurile o asemenea situație extremă. Doar comportamentul judicios și uman al echipei terapeutice poate avea darul de a schimba părerea familiei, care trebuie convinsă de obiectivitatea măsurii propuse și de faptul că în centrul ei se află interesul pacientului. Una dintre erorile cele mai clare, care are ca efect aproape imediat puternica opoziție a aparținătorilor, e aducerea argumentului necesității unui pat liber pentru a transfera un pacient cu mai multe șanse de supraviețuire.

În sfârșit, aș dori să precizez faptul că nu întâmplător m-am referit în rândurile de mai sus de mai multe ori la noțiunea de „echipă terapeutică”, nu de „medic curant”. În asemenea cazuri, în care protocoalele medicale se amestecă cu principiile etice, unanimitatea părerilor fiecărui membru al echipei ce îngrijește pacientul (medici, asistente medicale, asistent/ă social/ă etc.) e primordială. Orice disonanță are ca efect împotrivirea imediată a familiei la orice măsură drastică ce are drept scop scurtarea vieții (și a suferinței) pacientului. Principiile eticii medicale sunt făcute pentru a veni în sprijinul medicului aflat în fața unor dileme greu de rezolvat. În același timp, judecata clinică, comportamentul uman și compasiunea sunt factorii care determină succesul rezolvării unei situații dintre cele mai dificile întâlnite în practica medicală.

Viața Medicală, nr. 27 din 2018
Prof. Dr. Gabriel M. Gurman,
Omer, Israel

not only the futility of continuing treatment, but also the need to avoid suffering, also unnecessary.

I would like to make a point out of reality: no legislation can in any case resolve such an extreme situation. Only the judicious and human behavior of the therapeutic team may have the gift of changing the opinion of the family, which must be convinced by the objectivity of the proposed measure and the fact that the patient's interest lies in its center. One of the clearest errors, which almost immediately results in the strong opposition of the people, is the argumentation of the need for a free bed to transfer a patient with more chances of survival.

Finally, I would like to point out that I have not, by accident, referred to the notion of „therapeutic team” rather than „treating practitioner” in the above ranges. In such cases where medical protocols interfere with ethical principles, the unanimity of the opinions of each member of the patient care team (doctors, nurses, social assistant etc.) is paramount. Any dissonance has the effect of immediately opposing the family to any drastic measure aimed at shortening the life (and suffering) of the patient. The principles of medical ethics are made to help the physician in the face of difficult dilemmas. At the same time, clinical judgment, human behavior and compassion are factors that determine the success of solving one of the most difficult situations encountered in medical practice.

Medical Life, no. 27 of 2018
Prof. Dr. Gabriel M. Gurman,
Omer, Israel



ARTICOL DE CERCETARE

Analiza complicațiilor în grefarea osoasă secundară la pacienți cu despicături labio-maxilo-palatine: studiu retrospectiv, descriptiv

Egor Porosencov^{1,2*}

¹Catedra de chirurgie OMF pediatrică, pedodonție și ortodonție, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Secția de chirurgie OMF pediatrică, Spitalul Clinic Republican pentru Copii „Emilian Coțaga”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 21.03.2018

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Egor Porosencov, doctorand

Catedra de chirurgie OMF pediatrică, pedodonție și ortodonție
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004
e-mail: egor.porosencov@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Analysis of complications in secondary bone grafting in patients with cleft lip and palate: retrospective, descriptive study

Egor Porosencov^{1,2*}

¹Chair of OMF pediatric surgery, pedodontics and orthodontics, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Department of maxillofacial pediatric surgery, Emilian Cotaga Clinical Republican Pediatric Hospital, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 21.03.2018

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Egor Porosencov, PhD fellow

Chair of OMF pediatric surgery, pedodontics and orthodontics
Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Ștefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: egor.porosencov@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Condițiile și factorii care influențează rezultatele tratamentului despicăturilor labio-maxilo-palatine și conduc, ulterior, la apariția complicațiilor.

Ipoteza de cercetare

Identificarea variabilelor demografice, clinice și de tratament care ar permite diminuarea frecvenței complicațiilor în urma grefării osoase la pacienți cu despicături labio-maxilo-palatine.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Studiul vizează corelația dintre factorii predispozanți inducției complicațiilor în urma grefării osoase în tratamentul pacienților cu despicături labio-maxilo-palatine.

What is not known yet, about the topic

The conditions and factors that influence the results of treatment of the maxillofacial clefts and lead to the occurrence of complications.

Research hypothesis

Identification of demographic, clinical and treatment variables, which would allow the reduction of the frequency of complications following bone grafting in patients with maxillofacial clefts.

Article's added novelty on this scientific topic

The study appreciates lack of association between the factors predisposing the induction of bone graft complications in the treatment of patients with maxillofacial clefts.

Rezumat

Introducere. Au fost investigați factorii favorizanți complicațiilor apărute post-operator și necesitatea intervenției chirurgicale repetate.

Material și metode. În cadrul studiului retrospectiv, descriptiv, au fost evaluate fișele medicale ale pacienților cu diagnostic de despicătură labio-maxilo-palatină din cadrul secției de Chirurgie OMF pediatrică a Spitalului Clinic Republican pentru Copii „Emilian Coțaga”, în scopul depistării incidenței

Abstract

Introduction. Factors favoring post-operative complications and the need for repeated surgery have been investigated.

Material and methods. In this retrospective descriptive study, the medical records of patients with a diagnosis of maxillofacial cleft from the Department of maxillofacial pediatric surgery of Clinical Republican Pediatric Hospital „Emilian Coțaga” were evaluated in order to detect the incidence of

complicațiilor apărute post-operator în perioada 2011-2018, cu o monitorizare minimă de un an.

Rezultate. Variabile precum sexul, vârsta, părțile afectate, zona-donor, dintele erupt în despicătură, nu au prezentat corelații statistic semnificative față de apariția complicațiilor în urma grefării osoase.

Concluzii. În studiul dat, evaluarea statistică a datelor nu a depistat corelații statistic semnificative, ceea ce ne îndeamnă să studiem, în viitor, eșantioane mai mari de pacienți în scopul depistării factorilor determinanți ai complicațiilor post-operatorii în urma grefării osoase.

Cuvinte cheie: despicătură labio-maxilo-palatină, grefare osoasă secundară, complicații.

Introducere

Despicăturile oro-faciale constituie printre cele mai frecvente deformații ale regiunii capului și gâtului. Acestea prezintă o frecvență de 1:700 de nou-născuți pe întregul glob [1, 2]. Despicăturile labio-maxilo-palatine (DLMP) se pot dezvolta în perioada celei de a doua și a treia săptămână de viață intrauterină în rezultatul tulburărilor de diferențiere a stratului celular primordial [1]. La fel, poate fi asociată factorilor genetici și de mediu, relațată la formarea buzei superioare și a palatului [1, 3, 4].

DLMP constituie o problemă globală recunoscută de OMS ca fiind cu consecințe semnificative de ordin medical, psihologic, social și economic [4]. OMS confirmă că despicăturile necesită investiții în politicile publice din cauza prevalenței lor înalte, asocierii lor cu alte defecte congenitale și co-morbidități, precum și necesitatea unui tratament mai îndelungat care implică eforturi din partea tuturor nivelurilor ale sistemului sănătății [4].

Tratamentul pacienților cu DLMP constituie un concept terapeutic multimodal. Un șir de intervenții chirurgicale sunt necesare pentru restabilirea funcției de vorbire, alimentației și masticăției, precum și la contribuirea la o dezvoltare adecvată a scheletului facial [1, 5-7]. Reconstrucția despicăturii procesului alveolar a constituit un subiect controversat încă de la prima publicare asupra surselor de grefe osoase [5]. Grefarea osoasă constituie o etapă importantă în managementul pacienților cu DLMP. Succesul grefării osoase este important pentru tratamentele postchirurgicale-ortodontice, pentru stabilitatea și retenția dinților adiacenți despicăturii, cât și pentru îmbunătățirea ocluziei [8]. Perioada de transplantare și reconstrucție a defectelor alveolare variază între diverse centre chirurgicale. Majoritatea centrelor au abandonat grefarea osoasă primară și grefarea osoasă secundară timpurie din cauza inhibiției semnificative în creșterea maxilară [9, 10]. Grefarea osoasă secundară alveolară este, de obicei, efectuată înainte de eruperea caninului permanent maxilar sau al incisivului lateral superior, în scopul asigurării continuității procesului alveolar, unei închideri adecvate a fistulei oro-nazale, de a crea un suport pentru baza nazală, la fel, și suport osos pentru erupția dentară permanentă sau pentru o eventuală reabilitare protetică [1, 3, 6, 10, 11]. Anumite variabile pot interfera cu

postoperative complications over the period 2011-2018, with a minimum of one year monitoring.

Results. Variables such as gender, age, affected parts, donor area, teeth in the cleft, have not shown significant statistical association with the occurrence of complications following bone grafting.

Conclusions. Obtained data did not reveal statistically significant associations, which leads us to study in the future larger patient samples in order to detect those determinants in the occurrence of postoperative complications following bone grafting.

Key words: maxillofacial cleft, secondary bone grafting, complications.

Introduction

Oro-facial clefts are among the most common deformations of the head and neck region. They present a frequency of 1:700 newborns worldwide. [1, 2]. Cleft lip and palate (CLP) may develop during the second and third weeks of intrauterine life as a result of primordial cellular differentiation disorders [1]. Similarly, it can be associated with genetic and environmental factors related to the formation of the upper lip and the palate [1, 3, 4].

CLP is a global problem recognized by the WHO and has significant medical, psychological, social and economic consequences [4]. The WHO confirms that clefts require investment in public policies in terms of their high prevalence, association with other congenital defects and co-morbidity and their need for longer treatment involving efforts from all levels of health care [4].

Treatment of patients with CLP is a multimodal therapeutic concept. A number of surgical interventions are required to optimize the recovery of speech, nourishment and mastication, as well as to contribute to the proper development of the facial skeleton [1, 5-7]. Reconstruction of the alveolar process has been a controversial subject since the first publication on bone graft sources [5]. Bone grafting is an important step in the management of patients with CLP. The success of bone grafting is important for postsurgical orthodontic treatments, for stability and retention in adjacent cleft, and for improving occlusion [8]. The period of transplantation and reconstruction of alveolar defects varies between surgical centers. Most centers have abandoned primary bone grafting and early secondary bone graft because of significant inhibition of maxillary growth [9, 10]. Secondary alveolar bone grafting is usually performed prior to the eruption of the permanent maxillary canine or the upper lateral incisor, in order to ensure the continuity of the alveolar process, adequate closure of the oro-nasal fistula, to create a support for the nasal base, as well as bone support for permanent dental eruption or for potential prosthetic rehabilitation [1, 3, 6, 10, 11]. Some variables may interfere with the results of bone grafting of the alveolar cleft. Patient details (age, dental eruption status, splitting details and general condition of the patient), surgical conditions of the wound (especially oral health, quality and amount of

rezultatele grefării osoase a despicăturii procesului alveolar. Detalii cu referire la pacient (vârsta, statusul de erupție dentară în regiunea despicăturii, detalii cu privire la despicătură, cât și starea generală a pacientului), condițiile chirurgicale ale plăgii (în special, sănătatea orală, calitatea și cantitatea de țesuturi dure și moi adiacente despicăturii, rezervele de sânge, zona-donor și țesuturile cicatriceale din intervențiile anterioare) și caracteristicile tehnice (materialul de grefare și experiența chirurgului) – toate pot juca un rol important în aprecierea rezultatelor [1, 11, 12]. Totodată, experiența echipelor de chirurghi OMF, poate influența și ea rezultatele tratamentului DLMP. Revistele de literatură sugerează că centrele care tratează DLMP în volum considerabil obțin rezultate mult mai favorabile decât centrele care asigură asistență pe un eșantion mai redus [11, 13].

Eșecul de reconstrucție a deformării osoase poate avea diverse consecințe. Persistența fistulei oronazale poate cauza refluarea lichidelor din cavitatea orală în cea nazală. În lipsa suportului osos incisivii nu pot fi aliniați prin tratament ortodontic, iar o maxilă instabilă va fi scurtă și îngustă, contribuind, astfel, la asimetria facială [4, 6, 9, 13].

Atunci când apare o complicație postoperatorie, rezultatul chirurgical poate fi compromis și o reintervenție chirurgicală va fi indispensabilă. Necesitățile pentru reintervenția chirurgicală cresc costurile tratamentului, expun pacientul în mod repetat la riscurile relatate operației și anesteziei generale și se pot solda chiar și cu refuzul pacientului sau familiei lui de a continua tratamentul [1]. Intervenția repetată va conduce spre formarea cicatricei suplimentare și va compromite aportul sangvin local și, respectiv, calitatea vindecării țesuturilor moi [1, 8].

Actualmente, majoritatea pacienților cu DLMP urmează tratamentul prin grefare osoasă. Totuși, există un număr mic de pacienți care refuză sau întrerup tratamentul DLMP. Astfel, apare întrebarea: care factori conduc la această situație?

Studiul și-a propus investigarea factorilor favorizanți ai complicațiilor postoperatorii și necesității intervenției chirurgicale repetate.

Material și metode

În cadrul studiului retrospectiv, descriptiv, au fost evaluate 36 de fișe medicale ale pacienților din cadrul secției de Chirurgie OMF pediatrică a Spitalului Clinic Republican pentru Copii „Emilian Coțaga”, în scopul depistării incidenței complicațiilor apărute postoperator în perioada 2011-2018, cu o monitorizare minimă de un an. Studiul a urmat principiile Declarației de la Helsinki. De asemenea, a fost obținut și acordul informat din partea pacienților sau al membrilor familiei. Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” (ședința din 21.03.2011, Președintele CEC – Prof. Mihail Gavriluc).

Criteriile de includere au constituit pacienții cu despicături labio-maxilo-palatine, fără afecțiuni sistemice, care au urmat procedura de grefare osoasă în cadrul secției de Chirurgie OMF pediatrică a Spitalului Clinic Republican pentru Copii „Emilian Coțaga”.

hard and soft tissues adjacent to the cleft, blood supply, donor area, and scar tissue from previous interventions) and technical characteristics (graft material and surgeon experience) – all can play an important role in assessing the results [1, 11, 12]. At the same time, the experience of maxillofacial surgeon teams may also influence the results of CLP treatment: literature reviews suggest that CLP treatment centers in considerable amount achieve far more favorable results than centers providing assistance on a smaller sample [11, 13].

Failure to reconstruct bone deformation can have various consequences. The persistence of the oronasal fistula may cause the fluid to be refilled from the oral cavity to the nasal cavity; lack of bone support, incisors can not be aligned by orthodontic treatment; an unstable maxilla may possibly be both short and narrow, contributing to facial asymmetry [4, 6, 9, 13].

When a post-operative complication occurs, the surgical outcome may be compromised and surgical reintervention will be indispensable. The need for repeated surgery increases treatment costs, expose the patient repeatedly to the risks associated with surgery and general anesthesia and may even cost a refusal from the patient or his family to further treatment [1]. Repeated intervention will lead to the formation of additional scars and will compromise a local blood supply and soft tissue healing [1, 8].

Currently, most patients with CLP are undergoing bone grafting. However, there are few patients who refuse or discontinue CLP treatment. Thus, the question arises: which factors lead to this situation?

In this study, it was proposed to investigate the factors favoring postoperative complications and the need for repeated surgery.

Material and methods

In this retrospective descriptive study, 36 medical records of the patients from the Department of maxillofacial pediatric surgery of Clinical Republican Pediatric Hospital „Emilian Coțaga”, were evaluated in order to detect the incidence of postoperative complications during 2011-2018, with a minimum of one year monitoring. The study followed the principles of the Helsinki Declaration, and we also obtained informed consent from patients or family members. The study was approved by the Scientific Ethics Committee of the *Nicolae Testemițanu* SUMPh (meeting from 21.03.2011, President of EC – Prof. Mihail Gavriluc).

The inclusion criteria were patients with lip and palate clefts without systemic disease; who followed the bone grafting procedure at the Department of maxillofacial pediatric surgery of Clinical Republican Pediatric Hospital „Emilian Coțaga”.

In this institution, bone graft surgery is classified as primarily, according to the age of the teeth development, and secondary bone grafting, performed during mixed dentition, between 6 and 12 years of age [4].

A maxillofacial surgeon was responsible for recording and evaluating the results of the operations. The following variables were recorded: sex, age (≤ 12 years or > 12 years old);

În instituția unde s-a efectuat cercetarea, chirurgia de grefare osoasă este clasificată în primară, în conformitate cu vârsta dezvoltării dentiției și grefarea osoasă secundară, realizată în perioada dentiției mixte, între 6 și 12 ani [4].

Un medic chirurg OMF a fost responsabil pentru înregistrarea și evaluarea rezultatelor operațiilor. Au fost înregistrate următoarele variabile: sexul, vârstă (mai mic sau mai mare de 12 ani); părțile afectate (unilateral sau bilateral), zona donor (creasta iliacă anterioară sau zona intraorală), tipul grefei osoase cortico-spongioase (individuală, bloc sau mixtă) și dintele erupt în contact cu despicătura (prezent sau absent). Variabile independente au fost raportate pentru complicațiile apărute postoperator (da/nu) și pentru necesitatea unei intervenții chirurgicale repetate (da/nu).

Datele primare au fost introduse în tabel Excel, fiind ulterior analizate în programul SPSS prin intermediul testului exact Fisher. Rezultatele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative. Un $p < 0,05$ a fost considerat semnificativ din punct de vedere statistic.

Rezultate

Au fost studiate 36 de fișe ale pacienților cu despicături labio-maxilo-palatine, care au beneficiat de grefare osoasă (Tabelul 1).

Relațiile dintre variabilele condiționale și prezența complicațiilor postoperatorii sunt reflectate în Tabelul 2. Patru pacienți (11%) au necesitat intervenții chirurgicale repetate. Sexul, vârsta, partea afectată, zona donor, dintele erupt în despicătură nu au prezentat asociații statistice semnificative cu complicațiile în urma grefării osoase.

Relația dintre variabilele condiționale și necesitatea unor intervenții repetate este reflectată în Tabelul 3. Printre pacienții care au urmat o intervenție chirurgicală repetată, 4 au făcut complicații postoperatorii. Dintre aceștia, 3 au prezentat despicături labio-maxilo-palatine unilaterale, iar zona intra-orală a constituit zona donor.

Complicațiile postoperatorii s-au dezvoltat la 32 (47%) de pacienți și au inclus expunerea grefei asociat cu dehiscența

affected side (unilateral or bilateral); donor area (anterior iliac crest or intraoral area) and the tooth erupted in contact with the cleft (present or absent). Independent variables have been reported for postoperative complications (yes/no) and the need for repeated surgery (yes/no).

Primary data was introduced into the Excel table, then analyzed in the SPSS program and Person's exact test was performed. Data are presented as absolute and relative values. A $p < 0.05$ value was considered statistically significant.

Results

A total of 36 medical records of patients with lip and palate clefts, who were subjected to bone grafting have been studied (Table 1).

Relationships between conditional variables and postoperative complications are presented in Table 2. Four patients (11%) necessitated repeated surgery. Gender, age, affected side, donor area and the tooth erupted in contact with the cleft did not show statistically significant association with postoperative complications.

Relationships between conditional variables and the need for repeated interventions are reflected in Table 3. Four patients underwent repeated surgery reported postoperative complications. Of these, 3 presented unilateral lip and palate clefts, and the donor structures were from intra-oral area.

Postoperative complications occurred in 32 (47%) patients. This included graft exposures associated with wound dehiscence ($n=14$) or bone graft resorption ($n=18$) reported during the orthodontic screening (Table 4).

Discussion

According to our knowledge, this is the first investigative report of patients with lip and palate clefts who have undergone bone graft surgery in a public hospital on the territory of the Republic of Moldova, which analyzed the risk factors of postoperative complications.

The analysis of the medical records indicated the presence

Tabelul 1. Descrierea variabilelor.

Table 1. Data description.

Parametri / Parameters	n (%)
Sexul / Gender	
▪ Masculin / Male	17 (47,2)
▪ Feminin / Female	19 (52,8)
Vârsta, ani / Age, years	
▪ ≤ 12	2 (5,6)
▪ ≥ 12	34 (94,4)
Părțile afectate / Affected sites	
▪ Unilateral / Unilateral	31 (86,1)
▪ Bilateral / Bilateral	5 (13,9)
Zona-donor / Donor site	
▪ Creasta iliacă anterioară / Anterior iliac crest	7 (19,4)
▪ Zona intraorală / Intraoral region	29 (80,6)
Dintele erupt în despicătură / Erupted tooth in the cleft	
▪ Prezent / Present	9 (25,0)
▪ Absent / Missing	27 (75,0)

Tabelul 2. Caracterizarea pacienților fără complicații vs. cei cu complicații postoperatorii.**Table 2.** Characterisation of patients without vs. with postoperative complications.

Parametri / Parameters	Fără complicații Without complications (n=19)	Cu complicații With complications (n=17)	p
Sexul / Gender			
▪ Masculin / Male	10	7	0,363
▪ Feminin / Female	9	10	
Vârsta, ani / Age, years			
▪ ≤12	2	0	0,271
▪ ≥12	17	17	
Părțile afectate / Affected sites			
▪ Unilateral / Unilateral	17	14	0,445
▪ Bilateral / Bilateral	2	3	
Zona donor / Donor site			
▪ Creasta iliacă anterioară / Anterior iliac crest	4	3	0,566
▪ Zona intraorală / Intraoral region	15	14	
Dintele erupt în despicătură / Erupted tooth in the cleft			
▪ Prezent / Present	6	3	0,283
▪ Absent / Missing	13	14	
Reintervenție / Reoperation			
▪ Da / Yes	0	4	0,040
▪ Nu / No	19	13	

Notă: test statistic: Fisher exact.**Note:** statistics: Fisher's exact.**Tabelul 3.** Caracterizarea pacienților fără reintervenții vs. cei cu reintervenții.**Table 3.** Characterisation of patients without vs. with reoperations.

Parametri / Parameters	Fără reintervenții Without reoperation (n=32)	Cu reintervenție With reoperation (n=17)	p
Sexul / Gender			
▪ Masculin / Male	15	2	0,655
▪ Feminin / Female	17	2	
Vârsta, ani / Age, years			
▪ ≤12	2	0	0,787
▪ ≥12	30	4	
Părțile afectate / Affected sites			
▪ Unilateral / Unilateral	28	3	0,466
▪ Bilateral / Bilateral	4	1	
Zona donor / Donor site			
▪ Creasta iliacă anterioară / Anterior iliac crest	6	1	0,597
▪ Zona intraorală / Intraoral region	26	3	
Dintele erupt în despicătură / Erupted tooth in the cleft			
▪ Prezent / Present	9	0	0,298
▪ Absent / Missing	23	4	
Complicații / Complications			
▪ Da / Yes	13	4	0,040
▪ Nu / No	19	0	

Notă: test statistic: Fisher exact.**Note:** statistics: Fisher's exact.**Tabelul 4.** Complicațiile postoperatorii și necesitatea reintervenției.**Table 4.** Postoperative complications and necessity for reoperation.

Parametri / Parameters	Fără reintervenție Without reoperation	Cu reintervenție With reoperation	p
Rezorbție / Resorption	15	3	0,301
Grefă expusă / Exposed graft	13	1	0,490

Notă: test statistic: Fisher exact.**Note:** statistics: Fisher's exact.

plăgii (n=14) sau rezorbția grefei osoase (n=18), raportată la monitorizarea ortodontică (Tabelul 4).

Discuții

Conform datelor noastre, acesta este primul raport de investigație al pacienților cu despicături labio-maxilo-palatine care au beneficiat de grefare osoasă în Republica Moldova și care a analizat posibila factori de risc ai complicațiilor postoperatorii.

Analiza fișelor medicale a indicat prezența a 17 (47%) băieți și 19 (53%) fete în studiu, dintre care au prezentat complicații 7 și 10 pacienți, respectiv.

În studiul nostru, 18 (61%) pacienți au prezentat rezorbție osoasă în urma grefării, iar 14 (39%) subiecți au înregistrat expunerea grefei. Yamazaki *et al.* (2012) sugerează că igiena orală nesatisfăcătoare constituie unul dintre cei mai importanți factori de inducție ai infecției, iar infecția postoperatorie conduce spre o incidență sporită a rezorbției și expunerii grefei osoase [3].

Borba *et al.* (2014), menționează că vârsta constituie un factor important care influențează incidența complicațiilor apărute postoperator [1].

Succesul rezultatelor grefării osoase în despicături constituie o condiție importantă pentru inserarea implantelor osteointegrate pentru reabilitarea ulterioară a acestor pacienți.

Controverse privind grefarea osoasă secundară și gama largă a ratei de succes, găsite în literatura de specialitate sugerează că este necesar să se stabilească un protocol de tratament specific pentru asigurarea succesului acestei proceduri (Luque-Martin și colab., 2014). Dezvoltarea unor protocoale eficiente și accesul facil la procedurile de intervenții chirurgicale sunt recomandate, precum și abordarea de către o echipă multidisciplinară, cu aplicarea unui program special de reabilitare pentru pacienții respectivi.

Tratamentul pacienților cu despicături labio-maxilo-palatine este unul complex, laborios și de lungă durată. Practica medicinei bazate pe dovezi necesită o evaluare critică și o comparare a rezultatelor diverselor tipuri de tratamente [14]. Opțiunile de tratament al despicăturilor rămâne o arie importantă de cercetare [15].

Concluzii

Studiul dat nu a identificat asociații statistice semnificative dintre variabilele testate, fapt ce argumentează efectuarea unor noi cercetări pe eșantioane mai mari de pacienți, în scopul depistării factorilor determinanți ai complicațiilor postoperatorii după grefarea osoasă.

Declarația de conflict de interese

Autorul declară lipsa conflictelor de interese financiare sau nonfinanciare.

of 17 (47%) male and 19 (53%) female in the study, of which 7 and 10 respectively presented complications.

In our study, 18 (61%) patients experienced bone resorption following grafting, and 14 (39%) subjects had graft exposures. Yamazaki *et al.* (2012) suggests that unsatisfactory oral hygiene is one of the most important factors inducing infection, and postoperative infection leads to an increased incidence of bone resorption and bone graft exposure [3].

Borba *et al.* (2014) mentions that age is an important factor influencing the incidence of postoperative complications [1].

The success of bone grafting outcomes is an important condition for the insertion of osteointegrated implants for subsequent rehabilitation of these patients.

Controversies about secondary bone grafting and the wide range of success rates found in the literature suggest that a specific treatment protocol is needed to ensure the success of this procedure (Luque-Martin *et al.*, 2014). The development of effective protocols and easy access to surgical procedures are recommended as well as a multidisciplinary team with a special health program for this population.

Treatment of patients with cleft lip and palate is a complex, laborious and long-lasting one. The practice of evidence-based medicine requires a critical assessment and a comparison of the effects of different types of treatments on the results reflected on the patient [14]. The optimization of the quality and volume of care and treatment of lip and palate clefts will remain an important area of research that is progressing over time [15].

Conclusions

In this study, data analysis did not reveal statistically significant associations, which leads us to study in the future larger patient samples in order to detect relevant determinants of postoperative complications following bone grafting.

Declaration of conflicting interests

The author declare no financial or nonfinancial conflicting interests.

Referințe / references

1. Borba A., Borges A., Da Silva C., Brozoski M., Naclério-Homem M., Miloro M. Predictors of complication for alveolar cleft bone graft. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 2014; 52 (2): 174-178.
2. Gundlach K., Maus C. Epidemiological studies on the frequency of clefts in Europe and world-wide. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.*, 2006; 34: 1-2.
3. Yamazaki M. *et al.* Evaluation of secondary bone grafting of the alveolar cleft in adult cleft lip and palate patients. *J. Oral Maxillofac. Surgery, Med. Pathol.*, 2012; 24 (2): 86-89.
4. Pessoa E., Braune A., Casado P., Tannure P. Alveolar bone raft: clinical profile and risk factors for complications in oral cleft patients. *Cleft Palate-Craniofacial J.*, 2017; 54 (5): 530-534.
5. Feichtinger M., Mossböck S., Kärcher H. Assessment of bone resorption after secondary alveolar bone grafting using three-dimensional computed tomography: a three-year study. *Cleft Palate-Craniofacial J.*, 2007; 44 (2): 142-148.
6. Jia Y., Fu M., Ma L. Long-term outcome of secondary alveolar bone grafting in patients with various types of cleft. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 2006; 44 (4): 308-312.
7. Coots B. Alveolar bone grafting: past, present, and new horizons. *Semin. Plast. Surg.*, 2012; 26 (4): 178-183.
8. Shirani G., Abbasi A., Mohebbi S. Need for revision surgery after alveolar cleft repair. *J. Craniofac. Surg.*, 2012; 23 (2): 378-381.
9. Wiedel A., Svensson H., Schönmeier B., Becker M. An analysis of complications in secondary bone grafting in patients with unilateral complete cleft lip and palate. *J. Plast. Surg. Hand Surg.*, 2016; 50 (2): 63-67.
10. Zhang W., Shen G., Wang X., Yu H., Fan L. Evaluation of alveolar bone grafting using limited cone beam Computed tomography. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2012; 113 (4): 542-548.
11. Williams A., Semb G., Beam D. *et al.* Prediction of outcomes of secondary alveolar bone grafting in children born with unilateral cleft lip and palate. *Eur. J. Orthod.*, 2003; 25: 205-211.
12. Porosencov E. Recuperarea breșelor alveolo-dentare la pacienții cu despicături labio-maxilo-palatine: reviu literaturii. *Medicina Stomatologică*, 2013; 28 (3): 1-16.
13. Tse R., Siebold B. Cleft palate repair. *Plast. Reconstr. Surg.*, 2018; 1.
14. Jones C. *et al.* The Americleft project: comparison of ratings using two-dimensional versus three-dimensional images for evaluation of nasolabial appearance in patients with unilateral cleft lip and palate. *J. Craniofac. Surg.*, 2018; 29 (1): 105-108.
15. Roussel L., Myers R., Giroto J. The millard rotation-advancement cleft lip repair: 50 years of modification. *Cleft Palate-Craniofacial J.*, 2015; 52 (6): e188-e195.

ARTICOL DE CERCETARE

Markerii circulanți ai stresului oxidativ și sistemului antioxidant în tuberculoza pulmonară: studiu prospectiv, tip caz-control

Evelina Lesnic^{1*}, Valeriana Pantea², Veronica Sardari²,
Serghei Ghinda³, Valentin Gudumac²

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

²*Laboratorul de biochimie, Catedra de medicină de laborator, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;*

³*Laboratorul de imunologie și alergologie, Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, Chișinău, Republica Moldova.*

Data primirii manuscrisului: 18.12.2017

Dara acceptării spre publicare: 18.05.2018

Autor corespondent:

Evelina Lesnic, dr. șt. med.

Catedra de pneumoftiziologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: evelina.lesnic@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Circulating markers of the oxidative stress and antioxidant system in pulmonary tuberculosis: prospective, case-control study

Evelina Lesnic^{1*}, Valeriana Pantea², Veronica Sardari²,
Serghei Ghinda³, Valentin Gudumac²

¹*Chair of pneumophtisiology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;*

²*Biochemistry laboratory, Chair of laboratory medicine, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;*

³*Laboratory of immunology and alergology, Institute of Phtisiopneumology Chiril Draganiuc, Chisinau, Republic of Moldova.*

Manuscript received on: 18.12.2017

Accepted for publication on: 18.05.2018

Corresponding author:

Evelina Lesnic, PhD

Chair of pneumophtisiology

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: evelina.lesnic@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Cu toate că biomarkerii stresului oxidativ au fost studiați în multiple afecțiuni, particularitățile dereglărilor sistemului oxidant și antioxidant la pacienții cu tuberculoză pulmonară nu au fost, deocamdată, complet elucidate.

Ipoteza de cercetare

Stabilirea devierilor homeostaziei biologice la pacienții cu tuberculoză pulmonară permite individualizarea regimului terapeutic pentru îmbunătățirea ratei succesului tratamentului.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

A fost stabilită creșterea markerilor peroxidării proteice și a peroxidării carbohidraților. Sporirea activității totale antioxidante a serului și a concentrației proteinelor cu capacitate antioxidantă relevă stimularea compensatorie a sistemului antioxidant. Activitatea redusă a glutathione-S-transferazei serice a condiționat hepatotoxicitatea regimului terapeutic, apreciat prin creșterea γ -glutamyltransferazei și transaminazelor serice.

What is not known yet, about the topic

Despite the oxidative stress biomarkers were studied in multiple diseases, the features of the oxidative and antioxidant system disturbances in patients with pulmonary tuberculosis were not identified.

Research hypothesis

The establishment of the biological homeostasis disturbances at patients with pulmonary tuberculosis permits the individualization of treatment and improvement its success rate.

Article's added novelty on the scientific topic

There were determined a moderate elevation of the protein oxidation and mild increasing of carbohydrate oxidation. The total serum anti-oxidative activity and the concentration of the proteins with anti-oxidative capacity demonstrated the compensatory hyperactivity of the antioxidative system. Decreased activity of the serum glutathione-S-transferase determined the hepatotoxicity of the applied treatment regimen established through the increasing of the γ -glutamyltransferase and serum transaminases.

Rezumat

Introducere. Evoluția tuberculozei și răspunsul terapeutic sunt determinate de virulența micobacteriilor, mecanismele de protecție, cât și de capacitatea organismului de a contrabalansa agresiunea stresului oxidativ. Scopul studiului a constat în stabilirea particularităților stresului oxidativ și sistemului antioxidant în tuberculoza pulmonară.

Material și metode. A fost realizat un studiu prospectiv, de tip caz-control, care a inclus 87 de pacienți, distribuiți în două eșantioane: cel de studiu (n=51), constituit din cazuri noi de tuberculoză pulmonară și cel de control (n=36), format din persoane condiționat sănătoase. Loturile au fost similare conform distribuției după gen și vârstă. Investigarea cazurilor a fost realizată conform protocolului național și standardelor de evaluare biochimică. Intensitatea stresului oxidativ a fost estimată prin determinarea concentrației serice a produșilor proteici de oxidare avansată (AOPP), proteinei C reactive, produșilor finali de glicare avansată (AGEs). Sistemul antioxidant a fost evaluat prin determinarea activității antioxidante totale a serului, activității enzimelor glutatationului și a nivelului proteinelor serice cu rol antioxidant.

Rezultate. Markerii peroxidării proteice și proteina C reactivă au demonstrat perturbări semnificative în tuberculoză. Peroxidarea carbohidraților a fost nesemnificativ perturbată. Activitatea antioxidantă totală a serului a fost relevant crescută, ceea ce în asociere cu concentrația mărită a proteinelor cu rol antioxidant, au demonstrat hiperactivitatea sistemului antioxidant ca măsură compensatorie agresiunii stresului oxidativ. Activitatea redusă a glutatation-S-transferazei serice a condiționat creșterea activității transaminazelor hepatice și hepatotoxicitatea regimului terapeutic.

Concluzii. Investigarea markerilor biochimici a determinat modificări pronunțate ale peroxidării proteice și moderate ale peroxidării carbohidraților. Activitatea serică antioxidantă sporită și concentrația serică a proteinelor cu rol antioxidant au demonstrat hiperactivitatea sistemului antioxidant la agresiunea stresului oxidativ. Studiul activității glutatation-S-transferazei permite individualizarea regimului terapeutic și reducerea riscului dezvoltării efectelor adverse al medicamentelor.

Cuvinte cheie: tuberculoză, stres oxidativ, sistem antioxidant.

Introducere

Studiile imuno-genetice au demonstrat că tuberculoza (TB) este o boală multifactorială, având o evoluție și răspuns la tratament determinate de interacțiunea continuă a *M. tuberculosis* (MTB) și genotipul uman [1]. Evoluția naturală și particularitățile morfo-clinice ale infecției tuberculoase sunt determinate de virulența, capacitatea de diseminare a MBT și mecanismele de apărare ale gazdei [1]. De asemenea, evoluția infecției depinde de rezistența imună, cât și de capacitatea organismului de a lupta prin mecanisme antioxidante contra stresului oxidativ (SO), determinat de medicația antituberculoasă și exotoxinele MBT. Stresul oxidativ (SO) este cauzat de

Abstract

Introduction. Tuberculosis evolution and treatment response are determined by the mycobacteria virulence, protective mechanisms, as well as the organism's capacity to fight against the aggression of the oxidative stress. The aim of the study was the establishment of the features of the oxidative stress and antioxidative system defence in pulmonary tuberculosis.

Material and methods. A prospective, case-control study, which included 87 patients, distributed in 2 groups: study group (n=51), consisting of new cases with pulmonary tuberculosis, and control group (n=36) – conditioned healthy individuals, similarly distributed according to the sex and age. The case investigation was realized according to the national protocol and biochemical assessment standards. The intensity of the oxidative stress was appreciated through the serum concentration of the advanced oxidation protein products (AOPP), C reactive protein, advanced glycation end-products (AGE). The antioxidant system was assessed through the total serum antioxidant activity, levels of the glutathione enzymes and serum proteins with antioxidant role.

Results. The products of the protein peroxidation and protein C reactive demonstrated severe disturbances in tuberculosis. Carbohydrates peroxidation was non-significantly modified. The increased total antioxidant activity and the concentration of the proteins with the antioxidant role demonstrated the hyperactivity of the antioxidant system as a compensatory measure against the oxidative stress aggression. The decreased activity of the serum glutathione-S-transferase determined the increasing the activity of the hepatic transaminases and hepatotoxicity of the therapeutic regimen.

Conclusions. The assessment of the biochemical markers determined severe disturbances of the protein peroxidation and moderate of the carbohydrate peroxidation. Increased serum antioxidant activity and concentration of the proteins with an antioxidant role demonstrated the hyperactivity of the antioxidant system at the aggression of the oxidative stress. The glutathione-S-transferase enzyme study permits the individualization of the therapeutic regimen for decreasing the risk of development of the adverse drug reactions.

Key words: tuberculosis, oxidative stress, antioxidant system.

Introduction

Immune and genetic studies established that tuberculosis (TB) represent a multifactorial disease, of which evolution and treatment response are determined by the continuous interaction between *Mycobacterial tuberculosis* (MBT) and human genotype [1]. Natural evolution, morphological and clinical features of the tuberculous infection are determined by the virulence, dissemination capacity of MBT and host's defence mechanisms [1]. As well as, the infection evolution depends on the immune resistance, and the organism's capacity to fight through the antioxidant mechanisms against the aggression of the oxidative stress (OS). The oxidative stress

dezechilibrul dintre producția radicalilor liberi de oxigen și capacitatea sistemului biologic de a detoxifia peroxidii și radicalii liberi. SO se manifestă prin peroxidarea ADN-ului celular, proteinelor, lipidelor, glucidelor și altor macromolecule biologice [2]. SO și peroxidarea proteică provoacă dereglări metabolice cronice, cu fibroză extinsă din cauza acumulării de colagen în țesuturi, consecința fiind insuficiența poliorganică. Producții proteice de oxidare avansată (AOPP) sunt toxine uremice care rezultă din interacțiunea dintre oxidanții clorinați (cloramine și acidul hipocloros) cu proteinele plasmatică [3]. Rinichii și ficatul sunt organele principale responsabile de izolarea și excreția lor, iar concentrația serică crescută se identifică în procesele inflamatorii cronice, insuficiența renală cronică, hiperparatiroidism și tratament continuu cu calciu și vitamina D [3]. Producții finali de glicare avansată (AGEs) sunt un grup heterogen de substanțe, care rezultă din glicarea non-enzimatică a proteinelor, lipidelor și acizilor nucleici, în urma unui lanț de reacții definit „reacția Maillard” [4]. Concentrația serică crescută a AGEs se identifică la pacienții cu diabet zaharat și reprezintă un biomarker al hiperglicemiei, glicării neenzimatice a proteinelor și activării excesive a căii polioliol [4, 5]. Proteina C reactivă (PCR) este o proteină neglicozilată plasmatică cu structură pentamerică, produsă de ficat și endoteliul vascular, având o rezistență înaltă la proteoliză [5]. Este considerată un reactant de fază acută, fiind un trigger pro-inflamator, iar producția ei este stimulată de IL-1 β , IL-6 și TNF- α [1]. Dovezi convingătoare au demonstrat că PCR reprezintă un biomarker al SO datorită activării fracțiunilor complementului, inducerii apoptozei, activării celulelor endoteliale, recrutării monocitelor, acumulării lipidelor și altor procese de tip redox [5].

Sistemul antioxidant este format din compuși antioxidanți hidrofilii, prezenți în citoplasma celulelor și serul sanguin, precum și din compuși hidrofobi, care se localizează în membranele biologice [7]. Antioxidanții enzimatici din ser și citoplasma celulară sunt: superoxid dismutaza (SOD), catalaza (CAT), glutation reductaza (GR), glutation peroxidaza (GPO) și glutation-S-transferaza (GST) [8]. Glutation-S-transferaza este o enzimă citozolică, mitocondrială și a membranei microsomală, cu rol în detoxifierea xenobioticelor prin catalizarea conjugării glutationului redus în compuși mercapturici [9]. Reglarea și funcționarea GST influențează creșterea celulară, nivelul stresului oxidativ, progresia bolii și rezultatul terapeutic. Evaluarea activității GST reprezintă o metodă de diagnostic al SO și eficienței mecanismelor de detoxifiere dependente de GST [10]. Gama-glutamyltranspeptidaza (γ -GPT) este o enzimă-cheie a ciclului γ -glutamilic, ce catalizează transferul grupării γ -glutamil de la glutation la alți aminoacizi [8]. Este localizată în membrana citoplasmatică, iar centrul activ al enzimei – la exteriorul celulei. Poședă un rol major în metabolismul mediatorilor inflamației (citokinelor, proteinelor de fază acută), substanțelor cancerigene și toxice. Sinteza γ -GPT este indusă de anumite medicamente, colestază, consumul de alcool, tumori hepatice și ciroză [8]. Actualmente, γ -GPT este considerat drept unul dintre cei mai robusți markeri ai stresului oxidativ al întregului organism [2]. Aspartat aminotransferaza

(OS) is caused by the imbalance between the production of the free oxygen radicals and the capacity of the biological system to detoxify the peroxides and free radicals. OS is manifested through the peroxidation of the cellular DNA, proteins, lipids, carbohydrates and other biological macromolecules [2]. OS and protein peroxidation products determine chronic metabolic disturbances with extensive fibrosis and collagen accumulation in the tissues, in consequence developing the multisystemic failure. The advanced oxidation protein products (AOPP) are uremic toxins which result from the interaction between the chlorine oxidants (chloramines and hypochloric acid) with plasmatic proteins [3]. The kidneys and the liver are the major organs responsible for their isolation and excretion, but the increased serum concentration is identified in patients with chronic inflammatory processes, chronic renal failure, hyperparathyroidism and continuous treatment with calcium and vitamin D [3]. The advanced glycation end products (AGE_s) are a heterogeneous substances, which result from the non-enzymatic glycation of the proteins, lipids and nucleic acid, following a chain of reaction, defined “Maillard reaction” [4]. High serum concentration of AGE_s is identified in patients with diabetes mellitus and represent an index of the hyperglycaemia, non-enzymatic glycosylation of the proteins and excessive activation of the polyol way [4, 5]. Protein C reactive (PCR) is a plasmatic non-glycosylated protein with pentameric structure, produced by the liver and vascular endothelium, with a high resistance to the proteolysis [5]. Is established as an acute phase protein, being a pro-inflammatory trigger, and its production is stimulated by IL-1 β , IL-6 and TNF- α [1]. Evidence-based data demonstrated that PCR represents a biomarker of the OS, due to the activation of the complement fractions, apoptosis inducing, endothelial cell activation, monocyte recruiting, lipid accumulation and other redox reactions [5].

The antioxidant system is composed by the hydrophilic antioxidant compounds identified in the cytoplasm and blood serum, as well as the hydrophobic compounds, which are localized in the biological membranes [7]. Enzymatic antioxidants from the serum and cell's cytoplasm are: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPO) and glutathione S-transferase (GST) [8]. Glutathione S-transferase is a cytosolic, mitochondrial and microsomal enzyme, involved in the detoxification of the xenobiotics through the conjugation catalysis of the reduced glutathione in mercapturic compounds [9]. Assessment of the GST level represents a diagnostic tool of the OS and efficiency of the detoxification mechanisms related to GST. The γ -glutamyltransferase (γ -GPT) is a key-enzyme of the γ -glutamyl cycle, which catalyses the transfer of the γ -glutamyl group from the glutathione to other amino acids [8]. It is localised in the cell's membrane, and the enzyme's active centre at the exterior cell's border. Has a major role in the metabolism of the inflammatory mediators (cytokines, acute phase proteins), carcinogenic substances and toxins. The synthesis of the γ -GPT is induced by drugs, cholestasis, alcohol consumption, hepatic tumours and cirrhosis [8]. Actually, the γ -GPT is considered done of the most important markers of the oxida-

(AST) este o enzimă catalizator al transferul grupării amino de la aspartat la gruparea ceto al cetoglutaratului, cu producerea de acid oxaloacetic și glutamat. AST este un biomarker al patologiilor hepatice, sindromului metabolic, sarcopeniei și stresului oxidativ crescut [8]. Alanin aminotransferaza (ALT) este o enzimă din grupul transferazelor, ce catalizează transferul reversibil al grupării amino de la alanină către α -cetoglutarat, cu formarea acidului piruvic și glutamat [9]. Deși, ambele enzime fac parte din grupul transmaminazelor hepatice, ALT se localizează în citoplasmă, iar AST atât în citoplasmă, cât și în mitocondrii. Raportul AST/ALT mai mare de 1 este corelat cu risc sporit al mortalității [9].

Medicamentele utilizate în tratamentul antituberculos sunt importanți factori ai perturbărilor homeostaziei organismului pacientului [11]. Tratamentul antituberculos este administrat cu scopul diminuării riscului transmiterii infecției, vindecării, prevenirii decesului și recidivei [12]. Principiile tratamentului antituberculos sunt: inițierea imediat după depistare, administrarea strict supravegheată, asocierea medicamentelor cu administrarea în două faze (intensivă și de continuare), individualizarea tratamentului la apariția fenomenelor adverse și a rezistenței medicamentoase, precum și îmbunătățirea complianței terapeutice a bolnavului prin acordarea asistenței materiale [12]. Durata tratamentului tuberculozei sensibile constă în administrarea, pentru cel puțin 6 luni, a preparatelor antituberculoase de linia 1-a (izoniazidă, rifampicină, pirazinamidă, etambutol și/sau streptomycină), iar în tuberculoza determinată de MBT multidrog-rezistente – pentru o perioadă de 18-24 luni de preparate antituberculoase de linia a 2-a, conform spectrului de sensibilitate medicamentoasă [12, 13]. Tratamentul standardizat al TB-MDR include antibiotice injectabile – aminoglicozide (kanamicină, ampicină sau capreomicină) și a chimiopreparatelor cu administrare orală: fluoroquinolone (levofloxacină, moxifloxacină sau gatifloxacină), etionamidă, protionamidă, acidul paraaminosalicilic și cycloserină [13].

Această cercetare reflectă aspecte comparative ale markerilor circulanți ai SO și sistemului antioxidant la pacienții cu tuberculoză pulmonară pe durata fazei intensive a tratamentului antituberculos, comparativ cu a unui eșantion reprezentativ de persoane condiționat sănătoase. Scopul studiului reprezintă stabilirea particularităților stresului oxidativ și ale sistemului antioxidant în tuberculoza pulmonară.

Material și metode

A fost realizat un studiu prospectiv, de tip caz-control, care a evaluat particularitățile imuno-biochimice ale 51 de pacienți cu tuberculoză pulmonară (eșantionul de studiu) diagnosticați în instituțiile medicale specializate ale Chișinăului în perioada anului 01.01.2016-31.08.2016 și 36 de persoane condiționat sănătoase conform criteriilor clinice și biochimice (eșantionul de control).

Criteriile de includere în eșantionul de studiu au fost:

- vârsta peste 18 ani;
- pacient diagnosticat cu tuberculoză pulmonară;
- tipul pacientului: „caz nou”;

tive stress of the entire body [2]. Aspartate amino-transferase (AST) is a catalyser enzyme of the transfer of the amino group from the aspartate to keto group of the ketoglutarate, with the production of the oxal-acetic acid and glutamate. AST is a biomarker of the hepatic diseases, metabolic syndrome, sarcopenia and increased OS [8]. Alanine aminotransferase (ALT) is an enzyme from the transferases group, which catalysis the reversible transfer of the amino group from the alanine to α -ketoglutarate, with the produce of the pyruvic acid and glutamate [9]. Despite, both enzymes are from the group of the hepatic transaminases, ALT is localised in the cytoplasm, but the AST in cytoplasm as well as in mitochondria. The AST/ALT rate more than 1 is correlated with a high risk of the mortality [8].

The drugs used in the treatment of tuberculosis are important factors of patient's organism metabolic homeostasis disturbances [11]. The anti-tuberculosis treatment is used with the aim to reduce the risk of the infection transmission, healing, prevention of the death and recurrence [12]. The principles of the anti-tuberculosis treatment are: onset immediately after detection, strictly supervised administration, drugs association in two phases (intensive and continuation), treatment individualization at the appearance of adverse drug reactions and drug resistance, as well as the improvement of the patient's treatment compliance through the material assistance [12]. Drug susceptible treatment duration consists of the administration for at least 6 months with 1st line antituberculosis drugs (isoniazid, rifampicin, ethambutol and/or streptomycin), but in tuberculosis determined by the multidrug resistant MBT for a period of 18-24 months with 2nd line antituberculosis drugs according to the drug susceptibility test [12, 13]. The standard treatment of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) consists of injectable antibiotics – aminoglycosides (kanamycin, amikacin or capreomycin) and orally administrated anti-tuberculosis drugs: fluoroquinolones (levofloxacin, moxifloxacin or gatifloxacin), ethionamide, prothionamide, paraaminosalicylic acid and cycloserine [13]. This study reflects comparative aspects of the circulating markers of the oxidative stress and antioxidant system in patients with pulmonary tuberculosis during the intensive phase of the anti-tuberculosis treatment in comparison with a representative sample of healthy persons. The aim of the study was the establishment of the oxidative stress peculiarities and antioxidant system in pulmonary tuberculosis.

Material and methods

It was realised a prospective study which assessed the immune biochemical features of 51 patients with pulmonary tuberculosis (study group) diagnosed in the medical specialized institutions of Chisinau during the period 01.01.2016-31.08.2016 and 36 conditioned healthy persons, according to the clinical and biochemical criteria (control group).

Inclusion criteria in the study group were:

- age more than 18 years old;
- patient diagnosed with pulmonary tuberculosis;

- diagnostic confirmat prin metode microbiologice convenționale (examen microbiologic și molecular-genetic al sputei);
- pacient tratat în faza intensivă în cadrul subdiviziunilor clinice ale Spitalului Clinic Municipal de Ftiziopneumologie din Chișinău;
- consimțământul informat semnat.

Ancheta studiului a inclus informații despre sex, vârstă, diagnosticul clinico-radiologic, tipul de caz, statutul microbiologic al pacientului, rezultatele testului de susceptibilitate medicamentoasă, regimul terapeutic și reacțiile adverse.

Toți pacienții eșantionului de studiu au fost diagnosticați și tratați conform protocolului clinic național „*Tuberculoza la adulți*”, elaborat conform recomandărilor OMS [12, 13].

Criteriile de includere în eșantionul de control au constituit:

- vârsta peste 18 ani;
- persoană condiționat sănătoasă conform criteriilor clinice, hematologice (hemoleucograma) și biochimice (transaminazele hepatice, testul bilirubinei);
- consimțământul informat semnat.

Evaluarea indicatorilor biochimici din ser a fost efectuată utilizând metode cu microcantități de material cercetat – ser sanguin și reagenți de lucru. Dozarea s-a efectuat în microplăci cu 96 de godeuri. Procesarea probelor s-a efectuat prin adăugarea reagenților și măsurarea absorbției în condiții de standardizare maximă. Proteinele totale au fost evaluate conform procedurii Lowry modificat [10]. Intensitatea SO a fost analizată prin determinarea concentrației produșilor proteici de oxidare avansată (AOPP) conform procedurii descris de Witko-Sarsat V. modificat [3]. Dozarea produșilor finali de glicare avansată (*advanced glycated end-products AGEs*) a constat în cuantificarea a două tipuri principale: *AGEs pentosidine-like* și *AGEs vesperlysines-like*. Micrometoda s-a bazat pe măsurarea intensității fluorescenței probei de cercetat diluate în tampon fosfat la λ_{exc} 335 nm, λ_{em} 385 nm (cuantificarea *pentosidine-like AGEs*) și la λ_{exc} 370 nm, λ_{em} 440 nm (cuantificarea *vesperlysines-like AGEs*), conform procedurii descris de Sero L. modificat [9, 14].

Dozarea activității antioxidante totale (tAOA) s-a efectuat prin: (1) metoda bazată pe degradarea radicalului 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolină 6 sulfonat (ABTS) la interacțiunea cu compușii serici cu proprietăți antioxidante și măsurarea creșterii absorbției la 734 nm [9]; (2) metoda CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*), bazată pe capacitatea de reducere a ionului de Cu prin captarea radicalului hidroxil [7]. Capacitatea antioxidantă a serului a fost evaluată prin dozarea activității enzimelor glutatationului (GST și γ -GTP) cu ajutorul kiturilor de analiză ale firmei Eliteh (Franța) conform instrucțiunilor anexate. Injuria hepatocelulară a fost evaluată prin determinarea transaminazelor serice conform metodelor cinetice cu ajutorul kiturilor de analiză ale firmei Eliteh (Franța) conform instrucțiunilor anexate.

Metodologia lucrării s-a bazat pe tehnicile de colectare, analiză statistică, reprezentare grafică și evaluare analitică. Analiza statistică a fost realizată prin evaluarea comparativă a particularităților cantitative și calitative ale pacienților se-

- patient type „new case”;
- the diagnosis confirmed through the conventional microbiological methods (microbiological examination and molecular genetic test of the sputum);
- patient treated in the intensive phase within clinical subdivisions of the Municipal Clinical Hospital of Phthisiopneumology of Chisinau;
- signed informed consent.

The study investigation schedule included information about sex, age, radiological diagnosis, case type, microbiological patient's status, and results of the drug susceptibility test, treatment regimen and adverse reactions. All patients of the study group were diagnosed and treated according to the national clinical protocol „*Tuberculosis in adults*”, elaborated according to the WHO recommendations [12, 13].

The including criteria in the control group were:

- age more than 18 years old;
- conditioned healthy individual according to the clinical criteria, haematological (CBC) and biochemical (liver transaminases, bilirubin) indices;
- signed informed consent.

The assessment of the biochemical indices in the serum was performed using the methods with micro quantities of the evaluated material – blood serum and work reagents. The dosage was performed in micro plates with 96 wells. The sample processing was performed by the addition of the reagents and assessing the absorbance in the maximum standardization conditions. Total proteins were assessed according to the Lowry modified method [10]. The OS intensity was assessed through the determination of the advanced oxidation protein products (AOPP) according to the Witko-Sarsat V. modified method [3]. The advanced glycated end-products (AGEs) consisted in the quantification of two main types of the AGEs: *pentosidine-like AGEs* and *vesperlysines-like AGEs*. The micro method was based on the fluorescence measure of the intensity of the studied samples diluted in the phosphate tampon at λ_{exc} 335 nm, λ_{em} 385 nm (quantification of the *pentosidine-like AGEs*) and at λ_{exc} 370 nm, λ_{em} 440 nm (quantification of the *vesperlysines-like AGEs*), according to the Sero L. modified method [9, 14].

The determination of the total antioxidant activity (tAOA) was performed through two procedures: (1) method based on the degradation of the 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical at the interaction with serum compounds with the antioxidant properties and measure of the decreasing absorbance at 734 nm [9]; (2) method CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) based on the reducing capacity of the Cu ion through the captation of the hydroxyl radical [7]. The serum antioxidant capacity was assessed through the dosage of the activity of the glutathione enzymes (GST and γ -GTP) using the analysis kits of the Eliteh (France) producer, according to the attached instructions. The hepatocellular injury was assessed through the determination of the serum transaminases according to the kinetic methods using the analysis kits of the Eliteh (France) producer according to the annexed instructions.

The study methodology was based on the collection, statistical analysis, graphic representation and analytical estima-

lectați, utilizând programul Microsoft Excel XP. Materialul acumulat a fost sistematizat în grupuri simple și complexe. Pentru testarea diferenței semnificative dintre indicatorii studiați ai loturilor comparate, s-a utilizat testul statistic nonparametric „t test” și pragul de semnificație „p” ($p < 0,05$).

Rezultate

Segregând pacienții conform caracteristicilor biologice, a fost demonstrată o distribuție similară a bărbaților și femeilor în ambele eșantioane, cu predominarea bărbaților în aceeași proporție, fapt ce a permis comparabilitatea rezultatelor. Aceași proporție a persoanelor tinere, în vârstă de până la 44 de ani, a fost stabilită în ambele eșantioane, condiție care a permis comparabilitatea datelor de laborator (Tabelul 1).

Distribuind pacienții eșantionului de studiu în grupuri socio-economice, am constatat că persoanele neangajate, fără sursă de venit, au constituit două treimi din eșantion, fapt ce demonstrează similitudinea eșantionului cu cohortele evaluate în cercetările autohtone. Pacienții fără asigurare medicală și protecție socială au constituit o jumătate din eșantion. Fiecare al zecelea pacient a fost comorbid. Din focare infecțioase a provenit fiecare al zecelea pacient. Cu istoric recent de migrație și istoric de detenție au fost un număr limitat de pacienți. Câte un pacient a fost bolnav de diabet, patologii psihiatrice sau alcoolism cronic.

Segregarea pacienților conform grupului de risc este redată în Tabelul 2.

Depistarea pasivă a 28 (55%) de cazuri a fost realizată

tion. Statistical analysis was carried out by the comparative assessment of the quantitative and qualitative peculiarities of the selected patients using the Microsoft Excel XP programme. Accumulated material was systematized in simple and complex groups. For the testing of significant differences between the studied indices of the compared samples it was performed the statistic non-parametric „t test” and the significance threshold „p” ($p < 0.05$).

Results

Distributing patients according to the biological characteristics, it was established a similar rate of men and women in both groups, with the predomination of men in the same proportion, which permitted the comparability of the results. The same proportion of young persons, aged less than 44 years old, was established in both groups, condition which permitted the comparability of the laboratory data (Table 1).

Distributing patients of the study group in socio-economic subgroups, was established that unemployed persons, without personal income, constituted two thirds of the group, what demonstrated the similarity of the group with the assessed cohorts in the national studies. Patients without medical insurance in health and social protection represented one half of the group. Each tenth patient had associated diseases. From the infectious clusters came each tenth patient. With a recent history of migration and a history of detention, there were a limited number of patients. One patient was ill with diabetes, psychiatric pathologies or chronic alcoholism. Patient segregation according to the risk group is shown in Table 2.

Tabelul 1. Segregarea pacienților pe sexe și vârstă.

Table 1. Segregating patients by sex and age groups.

Segregare biologică <i>Biological segregation</i>	Sexul / Sex	ES / SG n=51	EC / CG n=36	P
Stratificarea pe sexe <i>Stratification by sex</i>	Bărbați / <i>Men</i>	31 (61%)	24 (67%)	<0,001
	Femei / <i>Women</i>	20 (39%)	12 (33%)	
Stratificarea pe grupuri de vârstă <i>Stratification by age groups</i>	18-44 ani / <i>years</i>	39 (76%)	29 (81%)	<0,001
	>45 ani / <i>years</i>	12 (24%)	7 (19%)	

Tabelul 2. Segregarea pacienților pe grupuri de risc (n=51).

Table 2. Segregating patients by risk groups (n=51).

Statut economic / <i>Economical state</i>		
▪ Neangajați, pensionați, invalizi, studenți / <i>Unemployed, retired, disabled, students</i>		39 (76%)
Statutul de asigurat / <i>Insurance status</i>		
▪ Absența asigurării / <i>Lack of insurance</i>		29 (57%)
Comorbidități / <i>Comorbidities</i>		
▪ Boli asociate / <i>Associated diseases</i>		6 (12%)
Grupuri epidemiologice / <i>Epidemiological groups</i>		
▪ Focare familiare / <i>Family clusters</i>		5 (10%)
▪ Migrație / <i>Migration</i>		4 (8%)
▪ Istoric de detenție / <i>History of detention</i>		2 (4%)
Grupuri cu risc sporit / <i>Group with high risks</i>		
▪ Alcoolism cronic / <i>Chronic alcoholism</i>		2 (4%)
▪ Boli psihiatrice / <i>Psychiatric diseases</i>		1 (2%)
▪ Diabet / <i>Diabetes</i>		1 (2%)

prin examinarea pacienților simptomatici, 7 (14%) – prin examinarea grupurilor cu risc sporit, iar 16 (31%) au fost depistați prin adresare directă la instituțiile medicale specializate. Majoritatea pacienților, 49 (96%), au fost diagnosticați cu tuberculoză infiltrativă și 2 (4%) – cu tuberculoză diseminată. La examenul radiologic s-au constatat distrucții parenchima-toase la întregul eșantion de studiu. Examenul microscopic al sputei pentru identificarea bacililor acido-alcool-rezistenți a fost pozitiv în 30 (59%) de cazuri, iar cultura pe mediile convenționale a determinat prezența coloniilor micobacteriene în 26 (51%) de cazuri, inclusiv, 20 (39%) au fost sensibile și 6 (12%) – drog-rezistente. Monorezistența la izoniazidă a fost stabilită în 2 (4%) cazuri, iar polirezistența la izoniazidă și streptomycină – în 3 (6%) cazuri. Tratamentul standardizat pentru tuberculoza sensibilă a fost administrat la 33 (65%) de pacienți. Un tratament standardizat pentru tuberculoza drog-rezistentă (DOTS-Plus) – la 13 (25%) pacienți, și regim individualizat pentru tuberculoză polirezistentă – la 5 (10%). Reacții adverse de hepatotoxicitate au fost observate la 2 (4%) pacienți.

Indicatorii biochimici au fost analizați la 46 de pacienți cu tuberculoză (eșantionul de studiu) și la 36 de persoane condiționat sănătoase (eșantionul de control). Cinci cazuri au fost excluse din analiză din cauza depășirii mai mult de trei ori a erorii medii standard a rezultatelor obținute. Recoltarea materialului biologic (sânge) a fost realizat pe durata fazei intensive, în condiții de spitalizare, în subdiviziunile clinice ale SCMF, pe fond de tratament administrat conform spectrului de sensibilitate medicamentoasă a micobacteriilor izolate.

Evaluând concentrația serică a AOPP, s-au obținut valori semnificativ mai mari în eșantionul pacienților cu tuberculoză față de eșantionul de control. La pacienții bolnavi de tuberculoză, concentrația proteinei C reactive a fost de peste 30 de ori mai mare ($16,99 \pm 18,57$ mg/dl) decât valorile de referință pentru persoanele sănătoase ($\leq 0,5$ mg/dl) [15]. Nivelul seric al AGEs *pentosidine-like* a fost ne semnificativ diminuat în eșantionul pacienților cu tuberculoză față de control. Nivelul seric al AGEs *vesperlysines-like* s-a constatat ne semnificativ crescut în eșantionul pacienților cu tuberculoză, comparativ cu eșantionul de control (Tabelul 3).

Activitatea anti-oxidantă totală a serului, evaluată prin me-

Detected by passive way were 28 (55%) patients through the examination of the symptomatic cases, 7 (14%) – through the examination of the high risk groups, but 16 (31%) were detected through the direct addressing to the specialized medical institutions. The majority of patients were diagnosed with pulmonary infiltrative tuberculosis 49 (96%), and 2 (4%) – with disseminated tuberculosis. At the radiological examination was identified lung destruction at patients from the entire study group. Microscopic examination of the smear for acid alcohol-resistant-bacilli was positive at 30 (59%) cases, but the culture on the conventional mediums, determined the presence of the mycobacteria colonies at 26 (51%) cases, including 20 (39%) were sensible and 6 (12%) drug resistant types. Mono resistance to isoniazid was established in 2 (4%) cases, but the poly resistance to isoniazid and streptomycin in 3 (6%) cases. Standardized treatment for sensible tuberculosis was administrated to 33 (65%) patients, standardized treatment for drug resistant tuberculosis (DOTS-Plus) at 13 (25%) patients and individualised regimen for poly resistant tuberculosis at 5 (10%). Hepatotoxicity, as side effect was established in 2 (4%) patients.

Biochemical indices were analysed at 46 patients with tuberculosis (study group), 5 cases being excluded due to of the overpassing more than three times the standard error and at 36 conditioned healthy persons (control group). The collection (harvesting) of the biological material was performed during the intensive phase of the treatment performed in the clinical subdivisions of the hospital (SCMF) according to the drug susceptibility test of the isolated mycobacteria.

When assessing the OS markers through the serum concentration of the AOPP it was established a statistical higher concentration in the group of patients with tuberculosis compared with the control group. The serum concentration of the protein C reactive was 30 times higher (16.99 ± 18.57 mg/dl) compared with the references values of the healthy individuals (≤ 0.5 mg/dl) [15]. The serum concentration of the pentosidine-like AGEs was not significantly lower in the group of patients with tuberculosis compared with the control group. The serum concentration of the vesperlysines-like AGEs demonstrated a nonsignificant increasing in the group of the patients with tuberculosis compared with the control group (Table 3).

The total antioxidant activity of the serum assessed

Tabelul 3. Unii parametri ai stresului oxidativ.

Table 3. Some parameters of the oxidative stress.

Sistemul peroxidativ <i>Peroxidative system</i>	Parametru <i>Parameter</i>	ES / SG n=46	EC / CG n=36	p
Peroxidarea proteică <i>Proteic peroxidation</i>	AOPP, $\mu\text{mol/l}$	$44,06 \pm 2,86$ (128%)	$34,349 \pm 3,58$ (100%)	0,032
Peroxidarea carbohidrată <i>Carbohydrate peroxidation</i>	<i>Pentosidine-like AGEs</i> , $\mu\text{mol/l}$	$174,3 \pm 15,41$ (84%)	$208,5 \pm 16,27$ (100%)	0,13
	<i>Vesperlysines-like AGEs</i> , $\mu\text{mol/l}$	$382,2 \pm 25,42$ (111%)	$343,2 \pm 49,63$ (100%)	0,45

Notă: AOPP – produși proteici de oxidare avansată; AGEs – produși finali de glicare avansată. Datele sunt prezentate drept medie și eroare standard.

Note: AOPP – advanced oxidation protein products; AGEs – advanced glycated end-products. Data are presented as mean and standard error.

todele ABTS și CUPRAC a fost semnificativ mai intensă în eșantionul pacienților cu tuberculoză, comparativ cu eșantionul de control. Concentrația ceruloplasminei, proteină a fazei acute cu rol antioxidant, a fost semnificativ mai mare în eșantionul pacienților cu tuberculoză, comparativ cu eșantionul de control. Concentrația proteinelor serice totale (albumina, globulina α_1 , α_2 , β , γ) cu rol antioxidant a fost semnificativ mai mare în eșantionul pacienților cu tuberculoză față de eșantionul de control (Tabelul 4).

Activitatea serică a GST a fost semnificativ mai redusă în eșantionul pacienților cu tuberculoză față de eșantionul de control. Activitatea γ -GPT a fost mărită veridic în eșantionul

through the ABTS and CUPRAC methods was significantly more increased in the group of patients with tuberculosis in comparison with the control group. The concentration of the ceruloplasmine, known as a protein of the acute phase with antioxidant role was significantly higher in the group of patients with tuberculosis in comparison with the control group. The concentration of the total serum proteins (albumin, α_1 , α_2 , β and γ globulins), which include and those with an antioxidant role were established in a higher concentration in the group of patients with tuberculosis compared with the control group (Table 4).

The serum level of the GST was significantly lower in the

Tabelul 4. Unii indicatori ai activității antioxidante.
Table 4. Some parameters of the antioxidative activity.

Rezervele antioxidante / <i>Antioxidant defense</i>	ES / SG	EC / CG	p
	n=46	n=36	
Activitatea antioxidantă totală / <i>Total antioxidant activity</i>			
▪ metoda ABTS / <i>ABTS method, mmol/l</i>	0,77±0,005 (110%)	0,71±0,004 (100%)	<0,0001
▪ Metoda CUPRAC / <i>CUPRAC method, mmol/l</i>	1,09±0,18 (210%)	0,517±0,04 (100%)	0,008
Proteine antioxidante / <i>Antioxidant proteins</i>			
▪ Ceruloplasmina / <i>Ceruloplasmine, mg/l</i>	887,2±36,48 (123%)	724,3±27,8 (100%)	0,0008
▪ Proteina serică totală / <i>Total serum protein, g/l</i>	59,4±3,61 (114%)	57,1±2,3 (100%)	0,001

Notă: Datele sunt prezentate drept medie și eroare standard.

Note: Data are presented as mean and standard error.

pacienților cu tuberculoză față de control. Nivelul seric al AST a fost semnificativ mai înalt în eșantionul pacienților cu tuberculoză față de cel de control. Similar, nivelul seric al ALT s-a constatat a fi mai înalt în grupul pacienților cu tuberculoză față de control, însă gradul semnificației a fost mai mic, comparativ cu nivelul creșterii AST (Tabelul 5).

group of patients with tuberculosis compared with the control group. The activity of γ -glutamyltranspeptidase (γ -GPT) was significantly increased in the tuberculosis group in comparison with the control group. The serum level of the AST was significantly higher in the group of patients with tuberculosis towards the control group. As well as the serum level of the ALT was established significantly higher in the tuberculosis group

Tabelul 5. Unii indici ai enzimelor glutationului și a clasei transaminazelor.

Table 5. Some indices of the glutathion-related enzymes and transaminase classe.

Sistemul enzimatic / <i>Enzymatic system</i>	ES / SG	EC / CG	p
	n=46	n=36	
Enzimele glutationului / <i>Glutathion-related enzymes</i>			
▪ Glutathion-S-transferaza / <i>Glutathione-S-transferase nmol/sxl</i>	16,4±7,42 (76%)	21,5±6,75 (100%)	0,0015
▪ γ Glutamyltransferaza / <i>γ Glutamyltransferase, U/l</i>	62,95±6,56 (147%)	42,7±7,02 (100%)	0,042
Transaminazele serice / <i>Serum transaminases</i>			
▪ Aspartat aminotransferază / <i>Aspartate aminotransferase, U/l</i>	41,74±7,11 (156%)	26,75±2,36 (100%)	<0,0001
▪ Alanin aminotransferază / <i>Alanine aminotransferase, U/l</i>	43,18±4,65 (139%)	30,98±3,38 (100%)	0,035

Notă: Datele sunt prezentate drept medie și eroare standard.

Note: Data are presented as mean and standard error.

Discuții

Distribuția pacienților în funcție de sex și vârstă a determinat o predominare a sexului masculin și vârstei economic și reproductiv active (18-44 ani) în ambele eșantioane, fapt ce a permis comparabilitatea rezultatelor. Statutul economic social defavorizat, asociat cu absența asigurării medicale a fost stabilit la majoritatea pacienților cu tuberculoză. Datele sunt similare cu rezultatele studiilor autohtone [16]. Ponderea pacienților cu boli asociate a constituit o parte semnificativă, iar

compared with the control group, with a statistical threshold lower compared with the level of the AST (Table 5).

Discussion

Distributing of the patients according to the sex and age determined the predomination of the men and economic reproductive age (18-44 years) in both groups, which allowed the comparability of the results. The social, economic disad-

prezența pacienților cu diabet, boli psihice și alcoolism cronic demonstrează că aceste persoane fac parte din grupurile cu risc, stabilite în ghidurile internaționale [17]. Persoanele cu risc epidemiologic precum cele provenite din focare infecțioase, migranții și ex-deținuții au constituit o parte mică din eșantion, similar cu datele studiilor naționale [18]. Depistați și diagnosticați prin cel puțin una din metodele microbiologice a exclus posibilitatea selectării pacienților cu diagnostic eronat de tuberculoză. Diagnosticul de tuberculoză pulmonară infiltrativă și a distrucțiilor parenchimatose, într-o proporție înaltă, a demonstrat similitudinea eșantionului selectat cu cohorțele naționale [18].

Evaluând markerii circulanți ai SO prin concentrația serică a produșilor proteici de oxidare avansată, a fost demonstrat un nivel semnificativ mai mare în grupul pacienților cu tuberculoză, comparativ cu grupul control. În literatura de specialitate nu au fost identificate studii comparabile privind concentrația AOPP la pacienții cu tuberculoză. Concentrația serică a produșilor finali de glicare avansată *pentosidine-like* a fost ne semnificativ mai mică în serul pacienților cu tuberculoză, fapt ce demonstrează o stare de inaniție a organismului și exacerbarea catabolismului. Concentrația serică a produșilor finali de glicare avansată *vesperlysine-like* a fost ne semnificativ mai înaltă în eșantionul pacienților cu tuberculoză, însă gradul creșterii a fost mult mai mic decât la pacienții comorbizi cu diabet zaharat, asociat tuberculozei, raportați în studiile internaționale [19].

Markerii sistemului antioxidant al serului – activitatea totală antioxidantă, concentrația proteinelor serice cu rol antioxidant au suferit modificări pronunțate în grupul pacienților cu tuberculoză. Rezultatele similare din literatura de specialitate au demonstrat hiperactivitatea mecanismelor defensive împotriva exotoxinelor micobacteriene, cât și intensificarea procesului de detoxifiere a medicației antituberculoase [20].

Activitatea enzimei glutathion-S-transferazei (GST) a fost diminuată semnificativ în eșantionul pacienților cu tuberculoză. Datele din literatura de specialitate corelează cu modificările epigenetice cu nivelul redus al exprimării genei GST, în special, a izoformelor asociate cu hepatotoxicitatea medicamentelor anti-tuberculoase [21, 22, 23, 24]. În consecință, nivelul activității γ -glutamyltransferazei și transaminazelor hepatice au fost semnificativ crescute în serul pacienților cu tuberculoză, investigați pe durata tratamentului antituberculos.

Concluzii

- 1) În tuberculoză s-a constatat creșterea concentrației markerilor peroxidării proteice și glucidice din cauza intensificării stresului oxidativ.
- 2) Activitatea antioxidantă serică totală crescută și concentrația mărită a proteinelor cu rol antioxidant demonstrează activarea compensatorie a sistemului antioxidant față de agresiunea stresului oxidativ.
- 3) Activitatea redusă a glutathion-S-transferazei serice a condiționat hepatotoxicitatea regimului terapeutic anti-tuberculos, apreciat prin creșterea activității enzimelor γ -glutamyltransferazei și a transaminazelor hepatice.
- 4) Studiul factorilor genetici care condiționează polimorfis-

vantaged state, associated with the absence of the medical insurance was established in the majority patients with tuberculosis. Data are similar to the results of other studies [16]. The rate of patients with associated diseases constituted a significant part, but the presence of the patients with diabetes, psychiatric diseases and chronic alcoholism demonstrated that those persons are part of the risk groups established in the national clinical protocol [17]. The persons with epidemiological risk, as those form infectious clusters, migrants and ex-detainees constituted a little part of the group, similar with data of the national studies [18].

Detected and diagnosed through at least one microbiological method excluded the possibility to select patients with diagnosis of tuberculosis subsequently denied. The diagnosis of the pulmonary infiltrative tuberculosis and lung destruction in a high proportion demonstrated the similarity of the selected group with the national cohorts [18].

Estimation of the level of the OS circulating markers through the serum concentration of the advanced oxidation protein products and products of the protein catabolism demonstrated the presence of a significantly higher level of the protein peroxidation in the group of patients with tuberculosis. In the speciality literature, comparable studies on AOPP concentration in patients with tuberculosis have not been identified. The serum concentration of the *pentosidine-like* advanced glycation end-products determined an insignificant lower in patients with tuberculosis, which demonstrates a state of organism's starvation, but can be explained also by the exacerbation of catabolic processes. The serum level of vesperlysines-like advanced glycation end-products was insignificantly higher in the group of tuberculosis patients, but the degree of increase was much lower than in comorbid diabetic patients associated with tuberculosis reported in the international studies [19].

The markers of the serum antioxidant system – total antioxidant activity, the concentration of the serum proteins with an antioxidant role underwent marked changes in the group of tuberculosis patients. The similar results from the speciality literature demonstrated the hyperactivity of the defensive mechanisms against mycobacterial exotoxins as well as by the intensification of the detoxification metabolic process of the antituberculosis medication [20].

The activity of the glutathione S-transferase enzyme (GST) was significantly diminished in the group of patients with tuberculosis. Speciality literature data correlated the epigenetic disturbances with the low level of the GST gene expression, especially of the isoforms associated with the hepatotoxicity of the anti-tuberculosis drugs [21, 22, 23, 24]. In consequence, the level of the hepatic transaminases and γ -glutamyltransferase at patients with tuberculosis was significantly increased in the serum of the patients with tuberculosis investigated during the antituberculosis treatment.

Conclusions

- 1) In patients with tuberculosis was established the increased level of the protein and carbohydrates peroxidation, due to the intensification of the oxidative stress.
- 2) The increased total serum antioxidant activity and the proteins with the antioxidant role demonstrates the hy-

mul glutation-S-transferazei devine importantă pentru promovarea terapiei individualizate și reducerea riscului efectelor adverse la regimul terapeutic antituberculos.

Declarația conflictului de interese

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

EL a elaborat protocolul de cercetare, colectarea datelor, prelucrarea statistică, scrierea manuscrisului. VP a realizat investigațiile de laborator. VS a participat la scrierea manuscrisului. SG a participat la scrierea manuscrisului. VG a participat la realizarea investigațiilor de laborator, colectarea datelor, prelucrarea statistică, scrierea manuscrisului.

peractivity of the antioxidant system as a compensatory measure against the oxidative stress aggression.

- 3) The low activity of the glutathione S-transferase determined the hepatotoxicity of applied anti-tuberculosis regimen, appreciated through the increasing of the γ -glutamyltransferase and hepatic transaminases.
- 4) The genetic study of the factors influencing the polymorphism of the glutathione S-transferase is important for the establishment of an individualized therapy and reducing the adverse drug reactions of the anti-tuberculosis therapeutic regimen.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

Authors' contribution

EL has developed the research, data collection, statistical processing and manuscript writing. VP performed laboratory testing. VS participated to the manuscript writing. SG participated to the manuscript writing. VG participated to the laboratory testing, data collection, statistical analysis, manuscript writing.

Referințe / references

1. Abbas A., Lichtman A., Pillai S. Basic immunology. Functions and disorders of the immune system. Elsevier, 2015; 352 p.
2. Birben E., Sahiner U., Sackesen C. *et al.* Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.*, 2012; 5 (1): 9-19.
3. Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillère-Blandin C. *et al.* Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.*, 1996; 49 (5): 1304-1313.
4. Makita Z., Vlassara H., Cerami A., Bucala R. Immunochemical detection of advanced glycosylation end products in vivo. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267 (8): 5133-5138.
5. Van Zoelen M., Wieland C., van der Windt G. *et al.* Receptor for advanced glycation end products is protective during murine tuberculosis. *Molecular Immunology*, 2012; 52 (3-4): 183-189.
6. Salazar J., Martinez M., Chavez-Castillo M. *et al.* C-reactive protein: an in-depth look into structure, function and regulation. *Int. Sch. Res. Notices*, 2014; 653045. <http://dx.doi.org/10.1155/214/653045>.
7. Apak R., Güçlü K., Özyürek M. *et al.* Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free Radical Res.*, 2005; 39 (9): 949-961.
8. Andronache L. Protocoale standardizate de cercetare a metabolismului glutationic. Chișinău, 2014.
9. Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O. *et al.* Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică USMF „Nicolae Testemițanu”. Tipografia „Tehnica-Info”. Chișinău, 2012; 162 p.
10. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V. *et al.* Investigații biochimice. Elaborare metodică. Micrometode, Vol. II. Tipografia Elena V. SRL. Chișinău, 2010; 104 p.
11. Kehinde A., Adaramoye O. Biochemical changes in blood and tissues of rats following administration of anti-tuberculosis drugs. *African J. Biochemistry*, 2015; 9 (4): 67-72.
12. World Health Organisation. Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care. Geneva, 2017.
13. World Health Organisation. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva, 2014.
14. Séro L., Sanguinet L., Blanchard P. *et al.* Tuning a 96-Well Microtiter plate fluorescence-based assay to identify AGE inhibitors in crude plant extracts. *Molecules*, 2013; 18: 14320-14339.
15. Pepys M., Baltz M. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A proteins. *Adv. Immunol.*, 1983; 34: 141-212.
16. Lesnic E., Ustian A., Niguleanu A., Malic A., Paladi C. Social features of patients with pulmonary tuberculosis. *Туберкулез, легеневи хвороби, ВІЛ-інфекція*, 2016; 25 (2): 36-40.
17. Lesnic E., Niguleanu A., Curocichin Gh. Segregation of tuberculosis patients by social, demographic and economic features on the model of Chisinau city and the role of the community support. *Curierul Medical*, 2016; 59 (4): 11-17.
18. World Health Organisation. Systematic screening for active tuberculosis. Principles and recommendation. Geneva, 2011.
19. Nowortny K., Jung T., Hohn A. *et al.* Advanced glycation end-products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*, 2015; 5 (1): 184-222.
20. Wild I., Seaman T., Hoal E. *et al.* Total antioxidant levels are low during active TB and rise with anti-tuberculosis therapy. *Int. Union for Biochemistry and Molecular Biology*, 2004; 56 (2): 101-6.
21. Habig W., Pabst M., Jakoby W. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 1974; 249 (22): 7130-7139.
22. Todoriko L., Semianiv I., Lesnic E. Analysis of the GSTT-1 gene polymorphism in patients with tuberculosis with regard to the version of *Mycobacterium tuberculosis* resistance. *Буковинський медичний вісник [Bucovina medical courier]*, 2016; 78 (2): 169-172.
23. Liu F., Jiao A., Wu X. Impact of glutathione S-transferase on anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Chinese pediatric patients. *Plos One*, 2014; 9 (12): e115410.
24. Perry W., Jenkins M. Plasma gamma glutamyltransferase levels during rifampicine therapy for tuberculosis. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 1987; 25 (1): 7-9.

ARTICOL DE CERCETARE

Particularitățile recidivei tuberculozei pulmonare: studiu retrospectiv, comparativ, pe serie de cazuri

Evelina Lesnic¹, Adriana Niguleanu¹, Stela Kulcițkaia¹, Alina Malic¹, Mariana Guțu-Grecu², Vasile Popa¹, Constantin Iavorschi¹

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

²*Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, Chișinău, Republica Moldova.*

Data primirii manuscrisului: 07.09.2017

Data acceptării spre publicare: 24.04.2018

Autor corespondent:

Evelina Lesnic, dr. șt. med.

Catedra de pneumoftiziologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: evelina.lesnic@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Features of pulmonary tuberculosis relapse: retrospective, comparative, case series study

Evelina Lesnic¹, Adriana Niguleanu¹, Stela Kulcițkaia¹, Alina Malic¹, Mariana Gutu-Grecu², Vasile Popa¹, Constantin Iavorschi¹

¹*Chair of pneumophthysiology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;*

²*Institute of Phthysiopneumology „Chiril Draganiuc”, Chisinau, Republic of Moldova.*

Manuscript received on: 07.09.2017

Accepted for publication on: 24.04.2018

Corresponding author:

Lesnic Evelina, PhD

Chair of pneumophthysiology

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

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

e-mail: evelina.lesnic@usmf.md

Ce un este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Cu toate că sunt cunoscute caracteristicile sociale, demografice și economice ale pacienților cu recidivă a tuberculozei pulmonare, diferențele dintre recidiva tuberculozei drog-rezistentă versus celei sensibile nu au fost elucidate.

Ipoteza de cercetare

Modalitatea de gestiune a cazului de tuberculoză ar putea crea diferențe dintre recidiva tuberculozei drog-rezistentă față de tuberculoza sensibilă.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Vârsta tânără, reședința urbană și statutul social economic defavorizat au caracterizat pacienții cu TB-MDR, iar vârsta înaintată și reședința rurală – pacienții cu TB sensibilă. Pacienții simptomatici au avut, preponderent, TB sensibilă. Pacienții transferați din alte instituții medicale au avut, preponderent, TB-MDR.

What is not known yet, about the topic

Despite, the fact that social, demographic and economic characteristics of the patients with tuberculosis relapse were well studied the features of the drug resistant and susceptible relapse were not identified.

Research hypothesis

Epidemiological and management differences contribute to the relapse development with different drug-resistance spectrum.

Article's added novelty on the scientific topic

Young age, urban residence and social economic vulnerable state characterized patients with MDR-TB, but the older age and rural residence were more frequently in patients with susceptible TB. The examination of symptomatic patients permitted the identification of the drug-susceptible TB, but the transfer from other medical institutions contributes in diagnosis of patients with MDR-TB.

Rezumat

Introducere. Recidiva tuberculozei reprezintă un nou episod al bolii, dezvoltat după vindecare sau după încheierea celei mai recente cure de tratament. Spectrul rezistenței medicamentoase permite diferențierea reinfecției exogene de reactivarea infecției tuberculoase latente. Scopul studiului a

Abstract

Introduction. Tuberculosis relapse represents a new episode, developed after healing or treatment completion of the latest treatment cure. The drug resistant spectrum permits the differentiation of exogenous infection from the reactivation of latent tuberculosis infection. The research aim was the

constat în evaluarea caracteristicilor sociale, demografice și economice, precum și identificarea factorilor de risc ai pacienților cu recidivă a tuberculozei pulmonare.

Material și metode. A fost realizat un studiu retrospectiv, comparativ, care a inclus 119 pacienți cu recidivă a tuberculozei, diagnosticați în perioada anului 2015. Aceștea au fost distribuiți în 2 loturi: cel cu TB sensibilă (n=57) și cel cu TB-MDR (n=62). Comparați parametrii socio-demografici și de abordare a cazului. Statistică descriptivă.

Rezultate. Recidiva tuberculozei pulmonare are o pondere importantă în indicatorul incidenței globale și demonstrează persistența factorilor de risc de îmbolnăvire. Pentru TB-MDR a fost caracteristic: vârsta tânără, reședința urbană și statutul social-economic defavorizat, iar pentru TB sensibilă – vârsta înaintată și reședință rurală. Examinarea simptomatilor a permis identificarea cazurilor cu TB sensibilă, iar transferul din alte instituții medico-sanitare a permis confirmarea diagnosticului de recidivă a TB-MDR. Cea mai mare rată a pacienților cu TB sensibilă au fost tratați cu succes și o proporție similară de cazuri din ambele eșantioane au decedat pe parcursul tratamentului.

Concluzie. Particularitățile socio-demografice și de management al pacienților contribuie la dezvoltarea recidivei cu diferit spectru de rezistență medicamentoasă a micobacteriilor.

Cuvinte cheie: tuberculoză, recidivă, factori de risc.

Introducere

Tuberculoza (TB) reprezintă o problemă de sănătate publică globală bine recunoscută în Republica Moldova [1, 12]. Unul dintre obiectivele tratamentului direct observat (TDO) al TB constituie prevenirea tratamentului repetat [2]. Recidiva este definită ca un episod tuberculos recurent – recidiva *de facto* sau un nou episod de infecție tuberculoasă exogenă a pacientului anterior tratat și definit cu tratament încheiat sau vindecat [3]. Potrivit Centrului Național de Management în Sănătate, în Republica Moldova (RM), în 2016, au fost declarate 3.029 de cazuri de TB, dintre care, 2.495 de cazuri noi și 534 de recidive. În indicatorii epidemiologici, prevalența bolii a constituit 85,2/100.000 populație, incidența – 78,3/100.000 și recidiva – 19,5/100.000 populație. Tratamentul standardizat al tuberculozei sensibile, realizat conform recomandărilor OMS, se utilizează în RM din 2001 și durează șase luni pentru cazurile noi, sau opt luni pentru recidivă, eșec terapeutic și cazurile recuperate după pierderea din supraveghere [2, 6]. O cercetare recentă a identificat frecvența redusă (1-2%) a recidivei după finalizarea TDO cu durată de 6 luni, administrat pacienților cu TB sensibilă după 2 ani de la finalizarea curei [5]. Aplicarea tehnologiilor industriale și utilizarea medicamentelor anti-TB, asociate cu îmbunătățirea infrastructurii sociale, au contribuit la scăderea indicatorilor epidemiologici și diminuarea ponderii bolii în majoritatea țărilor cu venituri ridicate [7, 8]. Pe de altă parte, îmbunătățirea procesului de diagnostic și utilizarea medicamentelor noi în țările cu venituri mici și medii, dar cu probleme sociale nesoluționate, mențin pacienții tratați cu succes vulnerabili la reactivarea infecției tuberculoase și reci-

assessment of social, demographic and economic characteristics, as well as identification of the risk factors of patients with relapse of pulmonary tuberculosis according to the drug resistance spectrum.

Material and methods. A retrospective, cohort, descriptive study which included 119 patients with tuberculosis relapse diagnosed during 2015, distributed in a drug susceptible TB group – 57 patients and a second group of 62 patients with MDR-TB was performed. Were compared social, demographic and case management parameters. Descriptive statistics.

Results. Pulmonary tuberculosis relapse constitutes a high proportion within the global incidence value and demonstrates the maintenance of the risk factors for the morbidity. For MDR-TB patients were characteristic young age, urban residence and social economic vulnerable state, but the susceptible TB old age and rural residence. The examination of the symptomatic cases permitted the identification of the drug susceptible TB cases, but the transfer from other medical-sanitary institution permitted the diagnosis of the MDR-TB relapse. The highest rate of patients with drug susceptible TB was successfully treated and a similar proportion died during the treatment.

Conclusion. Social demographic features and management of patients contributed to the development of the relapse with different spectrums of the drug-resistant *Mycobacterium*.

Key words: tuberculosis, relapse, risk factors.

Abstract

Tuberculosis (TB) represents a global health problem well recognized in the Republic of Moldova [1, 12]. One of the objectives of direct observed treatment of TB is to prevent the re-treatment especially of the relapse [2]. Relapse is defined a recurrent episode of TB – true relapse or a new episode caused by re-infection of the patients previously treated for TB and declared cured or treatment completion [3]. According to the National Centre in Health Management in the Republic of Moldova (RM) 3.029 cases were notified, from which 2.495 new cases and 534 relapsed cases in 2016 [4]. In epidemiological indices the disease prevalence constituted 85.2/100,000 population, incidence 78.3/100,000 and relapse 19.5/100,000 population [4]. The standard treatment for drug-susceptible tuberculosis (TB) according to WHO recommendations in the RM has been used since 2001 and lasts six months for new cases or eight months for relapse, treatment failure and cases treated after a previous loss to follow-up [2, 6]. A recent trial noted the low frequency of relapse from 1 to 2% in 2 years after the end of the 6 months standard treatment for the drug-susceptible TB [5]. The combination of the industrial development and using of the anti-TB drugs, associated with the social infrastructure improvement contributed to the drop of the epidemiological indices and reducing the relapse rate in the majority of the high-income states [7, 8]. By the other side the improvement of the diagnosis and the treatment options in low and middle-income countries, but with unsolved social problems, make the successfully treated patients vulnerable to the reactivation of latent tuberculosis infection and disease

diva bolii. Studiile efectuate în țările cu povară înaltă a TB au elucidat, că riscul recidivei este mare în grupurile pacienților având condiții nefavorabile de viață și nivel igienico-sanitar redus. Conform cercetărilor în domeniu, cei mai importanți predictorii ai recidivei tuberculoze sunt persistența pozitivității microscopiei sputei și a culturii după 2 luni de tratament, prezența cavităților pe clișeele radiologice ale toracelui și afectarea ambilor plămâni [13, 14, 17]. Factorii care țin de gazdă, cum ar fi statutul HIV-pozitiv, tabagismul, subponderabilitatea și vârsta cu risc fiziogenic sunt factori contributivi ai recidivei TB [17, 18]. Așadar, obiectivele cercetării au constituit: (1) evaluarea caracteristicilor sociale, demografice și economice ale pacienților cu tuberculoză pulmonară diagnosticată cu recidivă, în funcție de rezultatele testului de sensibilitate la medicamentele antituberculoase; (2) identificarea factorilor de risc ai recidivei cazurilor cu tuberculoză sensibilă și rezistentă la medicamente antituberculoase.

Material și metode

A fost realizat un studiu retrospectiv, comparativ, pe o serie de cazuri, care a inclus 119 pacienți cu recidivă a tuberculozei pulmonare, diagnosticați în anul 2015. Criteriile de includere au fost: vârsta peste 18 ani, pacientul cu recidivă a TB stabilită prin metode microbiologice și consimțământul informat. Conform criteriilor determinate inițial, în studiu au fost înrolați 125 de pacienți, dintre care, 6 bolnavi au fost excluși din cauza diagnosticului neconfirmat. Astfel, 119 bolnavi au fost monitorizați și tratați, rezultatele evaluării cărora au fost incluse în raportul final. Acești bolnavi au fost distribuiți în 2 eșantioane: eșantionul pacienților cu TB sensibilă, care a inclus 57 de cazuri identificate cu tulpini sensibile și eșantionul pacienților cu TB-MDR – 62 de cazuri cu tulpini multidrogrezistente. Toate cazurile selectate au fost diagnosticate și tratate în cadrul instituțiilor medicale specializate din orașul Chișinău. Fișa individuală a studiului a inclus date demografice: sexul, vârsta (repartizarea pe grupuri de vârstă, conform recomandărilor OMS), originea pacientului (născut în RM sau în alte țări), reședința, statutul educațional (ultimul nivel al învățământului absolvit), statutul economic (angajat, șomer, pensionat, persoană cu dizabilități, student). Alte particularități stabilite au fost: prezența asigurării medicale, prezența factorilor cu risc sporit (vulnerabilitatea socială, contactul apropiat cu un pacient cu tuberculoză, istoricul de migrație și detenție, comorbiditățile), caracteristicile focarului epidemiologic (statutul microscopic al sputei pacientului), calea de depistare și personalul medical implicat în depistarea pacientului, caracteristicile corelate cu boala: localizare, extensibilitate, rezultatele examenului microbiologic al sputei: microscopia, cultura pe mediile convenționale, testul molecular-genetic (GeneXpert MTB/Rifampicină), regimul terapeutic, reacțiile adverse la medicamente, rezultate finale ale tratamentului. Toți pacienții selectați au fost diagnosticați și tratați conform Protocolului Clinic Național „Tuberculoza la adulți”, elaborat conform recomandărilor OMS. Analiza statistică a fost efectuată prin verificarea comparativă a caracteristicilor cantitative, fiind stabilit pragul semnificației statistice de $p < 0,05$.

relapse. Studies performed in high TB burden countries established that the risk for relapse is higher in patients with low living conditions and poor hygieno-sanitary level. According to the literature data the most important risk factors associated with the TB relapse are positive sputum microscopy results after 2 months of treatment, cavitations on the initial chest radiography and involvement of both lungs [13, 14, 17]. Host factors such as HIV-positive status, smoking, low nutritional state and the age with phthisiogenic risk are factors contributing for TB relapse [17, 18]. The objectives of the study were: (1) assessment of the social, demographic and economic characteristics of patients with pulmonary tuberculosis diagnosed with relapse (recurrent episode) according to the drug susceptibility testing; (2) establishment of the risk factors for the relapse (recurrence) of the drug susceptible and drug resistant tuberculosis.

Material and methods

It was performed a retrospective, cohort type, descriptive study of 119 patients with tuberculosis recurrence diagnosed in the Chisinau city in the period of 2015 year. Including criteria were: age more than 18 years, patient with tuberculosis relapse detected through microbiological methods and signed informed consent. In corresponding to the determined criteria, 125 patients initially were enrolled in the study, 6 patients of them were subsequently excluded due to the non-confirmed diagnosis and 119 patients were monitored and treated during the study, the results of which were included in the final report of the study. Those patients were distributed in two groups: the drug susceptible TB group included 57 patients identified with drug-susceptible strains and the MDR-TB group included 62 patients with multidrug-resistant strains. All selected cases were diagnosed and therapeutically managed in the frame of medical specialized organizations of Chisinau city. The investigational schedule of the research included information about demographic characteristics: sex (male-female), age (distribution in age groups according to the WHO recommendations), patient's origin (born in the Republic of Moldova or in other states), residency, educational status (the last level of education), economical status (employed, unemployed, retired, disabled, student). Other established characteristics were: health-insurance state (presence/lack of health-insurance), high risk characteristics (social vulnerability, close tuberculosis contact, migration and detention history, co-morbidities), characteristics of the epidemiological cluster (patient's microscopic status), way of the patient's detection, medical staff involved in the patient's management, disease related characteristics: localization, extensibility, microbiological characteristics: smear microscopy, culture on the conventional media, molecular-genetic test (GeneXpert MTB/Rifampicine), drug susceptibility test results, treatment regimen, adverse drug reactions, final treatment outcome. All selected patients were diagnosed and managed according to the National Clinical Protocol – „Tuberculosis in adults” approved according to the WHO recommendations. Statistic assessment was carried out by comparative checking of the quantitative features, being established the statistical threshold of $p < 0.05$.

Rezultate

Distribuția pacienților în funcție de sex a stabilit predominanța bărbaților comparativ cu femeile în ambele grupuri, cu un raport bărbați/femei de 5,3:1 în eșantionul cu TB sensibilă și de 3,8:1 în eșantionul cu TB-MDR. Distribuind pacienții pe grupuri de vârstă, conform recomandărilor OMS, a fost identificată predominanța subgrupului de vârstă 25-34 de ani în eșantionul cu TB-MDR. Pacienții cu reședință urbană au predominat în eșantionul cu TB-MDR, cu toate că au constituit ponderea cea mai mare în ambele eșantioane. Toți pacienții au fost originari din RM. Persoanele fără loc de trai au predominat nesemnificativ în eșantionul cu TB-MDR. Persoanele cu istoric de migrație recentă au predominat în eșantionul cu TB sensibilă, iar cu istoric de detenție – în eșantionul cu TB-MDR. O proporție mică din ambele eșantioane a fost constituită din pacienții cu contact infecțios (Tabelul 1).

Distribuind pacienții în funcție de statutul economic, a fost stabilit că ponderea angajaților, persoane care contribuie la bugetul public prin plata impozitelor, asigurării medicale și a taxelor sociale, a constituit doar a cincea parte din ambele eșantioane. Persoane angajate au constituit fiecare al cincilea pacient, iar și asigurați în sănătate – fiecare al doilea pacient din ambele eșantioane. Fiecare al cincilea pacient din ambele eșantioane a beneficiat de asistență medicală specializată, fiind pensionar sau persoană cu dizabilități. O jumătate din eșantionul pacienților cu TB sensibilă și două treimi din eșantionul cu TB-MDR a fost constituit din persoane șomere, care nu aveau asigurare medicală și niciun suport financiar personal. Ponderea pacienților neangajați în câmpul muncii și a celor cu venituri sub minimul de existență (invalidi, pensionați)

Results

Distributing patients, according to the sex it was established the predominance of men in comparison with women in both groups with a male/female ratio=5.3/1 in the susceptible TB group and 3.8/1 in the MDR-TB group. When distributing in age groups according to the WHO recommendations, it was identified the prevalence of the 25-34 year-old age subgroup in the MDR-TB group. Patients with urban residence predominated in the MDR-TB group, however were the highest proportion in both groups. All patients were from RM. Homeless patients predominated insignificantly in the MDR-TB group. Patients with recent history of migration predominated in the drug susceptible group, but with the history of detention – in MDR-TB group. A low proportion of both groups were constituted from patients with infectious contact (Table 1).

Distributing patients, according to the economic status, it was established that the employed persons, by this way contributing to the health budget by paying taxes, health insurance policy and social taxes were only one fifth of both groups. Employed patients were each fifth and patients with health insurance were each second from both groups. Each fifth patient from both groups received the specialised health care as being retired or disease disabled. One half of the drug susceptible group and two thirds of the MDR-TB group were constituted from unemployed patients, which had no health insurance and personal financial support for life. The rate of unemployed patients and those with the income lower than economic minimum level (disease disable, retired) statistically predominated in the MDR-TB group. Persons with poor living conditions were each second in both groups. The rate of

Tabelul 1. Distribuția în funcție de factorii demografici.

Table 1. Distribution according to the demographic factors.

Parametri / Parameters	TB sensibilă Susceptible TB (n=57)	TB-MDR MDR-TB (n=62)
Sex / Gender		
▪ Bărbați / Men	48 (84,2%)	46 (80,5%)
▪ Femei / Women	9 (15,8%)	12 (19,5%)
Grupuri de vârstă tânără / Young age groups		
▪ 15-24 ani / years	1 (1,7%)	0 (0%)
▪ 25-34 ani / years	6 (10,5%)	19 (30,6%)**
▪ 35-44 ani / years	19 (33,3%)	16 (25,8%)
Grupuri de vârstă matură / Older age groups		
▪ 45-54 ani / years	14 (24,6%)	14 (22,6%)
▪ 55-64 ani / years	12 (21,1%)	9 (14,5%)
▪ >65 ani / years	5 (8,7%)	4 (6,4%)
Reședință / Residence		
▪ Urbană / Urban	43 (75,4%)	56 (90,3%)*
▪ Rural / Rural	14 (24,5%)	6 (9,7%)*
Grupuri sociale / Social categories		
▪ Fără loc de trai / Homeless	6 (10,5%)	9 (15,5%)
▪ Migranți / Migrants	5 (8,7%)	3 (4,8%)
▪ Detenție / Detention	3 (5,3%)	11 (17,7%)
Factor epidemiologic / Epidemiological factor		
▪ Contact apropiat / Close contact	5 (8,8%)	3 (4,8%)

Notă: Statistică – testul exact Fisher: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Note: Statistics – Fisher's exact test. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

au predominat statistic semnificativ în eșantionul cu TB-MDR. Persoane cu condiții nesatisfăcătoare de viață au constituit fiecare al doilea pacient din ambele eșantioane. Ponderea pacienților cu studii medii generale a constituit o jumătate din ambele eșantioane și fiecare al patrulea a finalizat doar școala primară. O proporție comparativ mai mică a fost constituită din pacienții cu studii profesionale și superioare (Tabelul 2).

Evaluând managementul cazurilor cu recidivă, am stabilit

patients with secondary studies constituted one half of both groups and each fourth graduated only primary school. A lower proportion was constituted from patients with professional and superior studies (Table 2).

The case-management assessment of the relapsed patients established that one half of both groups were detected in the frame of the primary health care sector. The patients from drug susceptible group were diagnosed more frequently through

Tabelul 2. Distribuția în grupuri social-economice și epidemiologice.

Table 2. Distribution in social-economical and epidemiological groups.

Parametru / Parameter	TB sensibilă Susceptible TB (n=57)	TB-MDR MDR-TB (n=62)
Statut social-economic / Social economical status		
▪ Angajat / Employed	13 (22,8%)	10 (16,1%)
▪ Neangajat / Unemployed	33 (57,9%)	50 (80,6%)**
▪ Invalid / Disabled	5 (8,8%)	5 (8,1%)
▪ Pensionat / Retired	6 (10,5%)	7 (11,3%)
▪ Asigurat / Insured	26 (45,6%)	27 (43,5%)
▪ Condiții nesatisfăcătoare de viață / Low living conditions	28 (49,1%)	36 (58,1%)
Statut educațional / Educational status		
▪ Analfabet sau cu studii primare / Illiteracy or primary school	15 (26,3%)	15 (24,2%)
▪ Studii secundare / Secondary education	29 (50,9%)	34 (54,8%)
▪ Studii profesionale / Professional education	12 (21,1%)	11 (17,7%)
▪ Studii superioare / High education	1 (1,8%)	2 (3,2%)

Notă: Statistică – testul exact Fisher. **– p<0,01.

Note: Statistics – Fisher's exact test. **– p<0,01.

Tabelul 3. Managementul cazului.

Table 3. Case management.

Parametru / Parameter	TB sensibilă Susceptible TB (n=57)	TB-MDR MDR-TB (n=62)
Nivelul asistenței primare / Primary health care level		
▪ Depistat de MF ca și simptomatic / Detected by GPs as symptomatic case	22 (38,6%)	23 (37,1%)
▪ Depistat de MF prin screening / Detected by GPs through the screening	7 (12,3%)	4 (6,5%)
Nivelul de ambulator / Ambulatory specialised level		
▪ Depistat de SP ca și simpotmatic / Detected by SP as symptomatic case	13 (22,8%)	10 (16,1%)
▪ Depistat de SP prin screening / Detected by SP through the screening	1 (1,8%)	3 (4,8%)
Nivelul de spital / Hospital level		
▪ Adresare directă la spitalul de profil / Direct addressing to the specialized hospital	13 (22,8%)	12 (19,4%)
Alte căi / Other ways		
▪ Alte căi (transferat) / Other ways (transferred)	1 (1,8%)	10 (16,1%)*
Tipul recidivei / Relapse type		
▪ Recidivă precoce / Early relapse	9 (15,8%)	6 (9,7%)
▪ Recidivă tardivă / Late relapse	36 (63,2%)	44 (70,9%)
Microbiologie / Microbiology		
▪ Examen microscopic pozitiv / Microscopic positive exam	32 (56,1%)	43 (69,4%)
▪ Cultură convențională pozitivă / Positive conventional culture	27 (47,4%)	56 (90,3%)***
Examen radiologic / Radiological examination		
▪ TB infiltrativă / Infiltrative TB	54 (94,7%)	56 (90,3%)
▪ Afectare bilaterală / Both lungs affected	29 (50,9%)	21 (33,9%)*
Tratament și rezultate / Treatment and outcomes		
▪ Tratament standardizat / Standardized treatment	51 (89,5%)	61 (98,4%)
▪ Succes terapeutic / Treatment success	43 (75,4%)	6 (9,7%)***
▪ Decedați / Died	4 (7,2%)	5 (8,1%)
▪ Pierduți și eșec terapeutic / Defaulted and failed	4 (7,2%)	0 (0%)
▪ Continuă tratamentul / Continue the treatment	5 (8,8%)	51 (83,5%)***

Notă: AMP – asistență medicală primară; MF – medic de familie; SP – specialist pneumolog. Statistică – testul exact Fisher. *– p<0,05; ***– p<0,001.

Note: PHC – primary health care; GPs – general practitioners; SP – specialists in pneumology. Statistics – Fisher's exact test. *– p<0,05; ***– p<0,001.

că fiecare al doilea pacient din ambele eşantioane a fost depistat de către colaboratorii sectorului medical primar. Pacienții din eşantionul cu TB sensibilă au fost diagnosticați, mai frecvent, prin examinarea persoanelor simptomatice: 35 (61,4%) de cazuri comparativ cu 27 (43,5%) de cazuri din eşantionul cu TB-MDR. Fiecare al cincilea pacient din ambele eşantioane a fost depistat de către medicul specialist pneumoftiziolog (pneumolog). Sumând totalitatea pacienților diagnosticați prin examinarea simptomaticeilor, s-a constatat predominarea lor în eşantionul cu TB sensibilă – 45 (78,9%), față de 33 (53,2%) în eşantionul cu TB-MDR. Pacienții diagnosticați în alte condiții decât cele enumerate au fost, mai frecvent, înregistrați în eşantionul cu TB-MDR (Tabelul 3).

Recidiva a fost diagnosticată în primii doi ani de la finalizarea ultimei cure de tratament, definită ca precoce în 9 (15,8%) cazuri din eşantionul cu TB sensibilă și în 6 (9,7%) cazuri din eşantionul cu TB-MDR. Recidiva s-a dezvoltat între doi și cinci ani la 12 cazuri din fiecare eşantion: 21,1% – în eşantionul cu TB sensibilă și 19,35% – în eşantionul cu TB-MDR. Recidiva tardivă, diagnosticată peste cinci ani de la finalizarea ultimei cure de tratament, a fost stabilită într-o proporție similară în ambele eşantioane: 36 (63,2%) de cazuri în eşantionul cu TB sensibilă și 44 (70,9%) de cazuri – în eşantionul cu TB-MDR (Tabelul 4).

Examenul microscopic al sputei a fost pozitiv pentru identificarea bacililor acido-alcool-rezistenți la fiecare al doilea pacient din ambele eşantioane: 32 (56,1%) – în eşantionul cu TB sensibilă și 43 (69,4%) – din eşantionul cu TB-MDR, aceste cazuri definind focarul infecțios cu cel mai mare pericol epidemiologic (de gradul 1). Cea mai mare rată a pacienților cu rezultate pozitive, stabilite prin metodele culturale convenționale, a fost constatată în eşantionul cu TB-MDR și se datorează includerii în studiu a pacienților identificați cu rezistență confirmată prin metode bacteriologice convenționale. Atât monorezistența la izoniazidă, cât și cea la streptomycină a fost stabilită în 4 (7,0%) cazuri din primul eşantion, iar rezistența extinsă a fost stabilită într-un singur caz din grupul cu TB-MDR.

Evaluând caracteristicile radiologice ale pacienților investigați, a fost stabilită predominarea pacienților cu afectarea ambilor plămâni în eşantionul cu TB sensibilă. Tuberculoza pulmonară infiltrativă a fost diagnosticată într-o proporție similară în ambele eşantioane: 54 (94,7%) vs. 56 (90,3%) de pacienți. Forme severe, cu risc letal major, au fost stabilite într-o pondere mică în ambele eşantioane, fără diferențe semnificative. Tuberculoza diseminată a fost diagnosticată la câțiva pacienți: 1 (1,8%) caz din eşantionul cu TB sensibilă și 3 (4,8%) cazuri – din eşantionul cu TB-MDR. Tuberculoza fibro-cavitară a fost stabilită în 2 (3,4%) cazuri din eşantionul cu TB sensibilă vs. 3 (4,8%) pacienți din eşantionul cu TB-MDR.

Pacienții cu boli asociate au fost diagnosticați într-o proporție similară în ambele eşantioane: 14 (24,6%) cazuri în eşantionul cu TB sensibilă și 19 (30,6%) cazuri – în eşantionul cu TB-MDR. Pacienți infectați HIV au fost 3 (5,3%) în eşantionul cu TB sensibilă și 6 (9,7%) în eşantionul cu TB-MDR. Câte un pacient cu diabet zaharat a fost înregistrat în ambele eşantioane. Un pacient cu tratament imunosupresiv a fost identifi-

the examination of the symptomatic cases: 35 (61.4%) cases compared with 27 (43.5%) cases from the MDR-TB group. Each fifth patient from both groups was detected by pulmonologist. Summing the totality of the patients diagnosed through the symptomatic examination was established their predominance in the drug susceptible group 45 (78.9%) compared with 33 (53.2%) in the MDR-TB group. Patients diagnosed in other conditions as previewed by the national protocol were more frequently registered in the MDR-TB group (Table 3).

Relapse occurred in the first two years after the ending the last treatment cure, defined as early relapse in 9 (15.8%) cases of the susceptible TB group and 6 (9.7%) cases of the MDR-TB group. Relapse developed between two and five years in 12 cases from both groups: 21.1% in the susceptible TB group and 19.4% of the MDR-TB group. Late relapse diagnosed after more than five years following the last finished course of the treatment was identified in a similar rate in both groups: 36 (63.2%) cases of the susceptible TB group and 44 (70.9%) cases of the MDR-TB group (Table 4).

Sputum smear for acid-fast-bacilli was positive in each second patient from both groups: 32 (56.1%) cases in the susceptible TB group and 43 (69.4%) cases of the MDR-TB group, those cases being defined with the highest degree of the epidemiological danger (first degree). The highest rate of the microbiological positive patients identified through conventional culture methods was established in the MDR-TB group and was due to the including criteria of drug resistance established through conventional culture methods. Mono-resistance to isoniazid either to streptomycin was established in 4 (7.0%) cases of the susceptible TB group and extensive drug-resistance was established in one case of the MDR-TB group.

When assessing radiological features of the investigated patients was established the predominance of the patients with both lungs affected in the susceptible TB group. Pulmonary, infiltrative tuberculosis was diagnosed in a similar proportion in both groups: 54 (94.7%) vs. 56 (90.3%) patients. Severe forms with death risk were established in a low proportion of both groups, without statistical differences. Disseminated tuberculosis was diagnosed in a minor rate – 1 (1.8%) case in the susceptible TB group and 3 (4.8%) cases in the MDR-TB group. Fibro-cavernous tuberculosis was diagnosed in 2 (3.4%) cases of the susceptible TB group vs. 3 (4.8%) patients from MDR-TB group.

Patients with associated diseases were distributed in a similar proportion in both groups: 14 (24.6%) in the susceptible TB group and 19 (30.6%) cases in the MDR-TB group. HIV positive were 3 (5.3%) patients in the susceptible TB group and 6 (9.7%) in the MDR-TB group. One diabetic patient was registered in both groups. One patient with immune suppressive treatment was identified in the MDR-TB group. Chronic alcohol abusers were 7 patients from both groups (12.3% in the susceptible TB group and 11.3% in the MDR-TB group). Drug users were 3 (4.8%) patients from the MDR-TB group.

The standard regimen for drug susceptible tuberculosis was administrated in 51 (89.5%) patients of the susceptible TB group and 6 (10.5%) by individualized regimens. In the

cat în eșantionul cu TB-MDR. Utilizatorii de alcool au fost câte 7 pacienți în ambele eșantioane (12,3% – în eșantionul cu TB sensibilă și 11,3% – în eșantionul cu TB-MDR). Utilizatori de droguri au fost 3 (4,84%), toți din eșantionul cu TB-MDR.

Regimul standardizat pentru tuberculoza sensibilă a fost administrat la 51 (89,5%) de pacienți din grupul TB sensibile, iar la 6 (10,5%) bolnavi – regim individualizat. În grupul TB-MDR, 61 (98,4%) de pacienți au fost tratați cu regimul standardizat pentru TB-MDR, definit DOTS-Plus și 1 pacient (1,6%) a fost tratat cu regim individualizat pentru tuberculoza cu rezistență extinsă. Reacții adverse au fost stabilite la un singur (1,8%) pacient din eșantionul cu TB sensibilă și la 3 (4,8%) pacienți din eșantionul cu TB-MDR. Rata succesului terapeutic a fost de 75,4% (43 de pacienți) în grupul pacienților cu tuberculoză sensibilă; 4 (7,2%) pacienți au decedat, 3 (4,8%) au fost pierduți din supraveghere, 1 (1,6%) caz a fost calificat drept eșec terapeutic și 4 (7,2%) pacienți au continuat tratamentul. În eșantionul cu TB-MDR, 51 (80,6%) de pacienți au continuat tratamentul, 5 (8,1%) pacienți au decedat și 6 (9,7%) cazuri au fost vindecate (Tabelul 3).

Evaluarea diferențelor dintre factorii de risc asociați recidivei tuberculozei sensibile și celei drog rezistente a constituit unul dintre obiectivele studiului. Raportul probabilităților a fost calculat doar pentru factorii care au expus diferență semnificativ statistică între eșantioane. A fost stabilit că vârsta tânără, reședința urbană, șomajul și transferul pacienților din instituții medico-sanitare cu profil somatic au constituit particularitățile recidivei TB-MDR. Pentru TB sensibilă, a fost caracteristic vârsta înaintată, reședința rurală, depistarea pe cale pasivă prin examinarea pacientului simptomatic și afectarea ambilor plămâni (Tabelul 4).

MDR-TB group 61 (98.4%) patients were treated with the standard regimen for MDR-TB, knew as DOTS-Plus regimen and 1 (1.6%) patient was treated with individualized regimen for extensive drug resistant tuberculosis. One patient (1.8%) in the susceptible TB group and 3 (4.8%) patients in the MDR-TB group developed allergic drug reactions. Treatment success rate was reported 75.4% (43 patients) in the drug susceptible TB group, 4 (7.2%) patients died, 3 (4.84%) patients were lost to follow-up, 1 (1.6%) case failed the treatment and 4 (7.2%) patients were still continuing the treatment. In the drug-resistant group 51 (80.6%) cases were continuing the treatment, 5 (8.1%) patients died and 6 (9.7%) cases were cured (Table 3).

The assessment of the risk factors associated with the tuberculosis relapse was one of the objectives of our study. The odds ratio was calculated only for factors showing statistical significance. It was established that young age, urban residence, unemployment and the transfer from the medical sanitary institution with somatic profile were the features of the MDR-TB. For drug susceptible TB was characteristic old age, rural residence, detection by passive way through the examination of the symptomatic case and involvement of both lungs (Table 4).

Discussion

According to the published epidemiological indices the rate of the new cases and relapses were 4.1:1 demonstrating the maintaining of the risk factors in patients with completed treatment. Similar results were established in the most of countries with a high TB burden [5, 8, 13].

Tabelul 4. Distribuția pe grupuri cu risc.
Table 4. Distribution according to risk groups.

Grupuri cu risc sporit / Risk groups	OR (95% CI)	p
Grupuri socio-demografice / Social demographic groups		
▪ 15-34 ani / 15-34 years old	3,2 (1,2 – 8,2)	0,009
▪ Reședința urbană / Urban residence	3,0 (1,1 – 8,6)	0,019
▪ Șomajul / Unemployment	3,0 (1,3 – 6,9)	0,0042
Factori asociați patologiei / Disease related factors		
▪ Transferat / Transferred	10,76 (1,3 – 87,1)	0,006
▪ Detectare pasivă / Passive way of detection	2,1 (0,99 – 4,3)	0,02
▪ Afectare pulmonară bilaterală / Two lungs affected	2,5 (1,15 – 5,26)	0,0098

Discuții

Conform indicatorilor epidemiologici publicați, raportul dintre cazurilor noi și recidive a constituit 4,1:1, ceea ce demonstrează persistența factorilor de risc de îmbolnăvire în grupul pacienților cu tratament încheiat și vindecați. Rezultate similare au fost stabilite în majoritatea țărilor cu povară înaltă a tuberculozei [5, 8, 13].

Recidiva precoce a fost stabilită în proporții similare de mici

Early relapse was established in similar low proportion, which corresponds to the results of international studies [5]. Demographic characteristics as young age, urban residence and social defavorized state permits the suspicion of an exogenous infection in the MDR-TB group, recognized in other studies [2, 3, 7, 13]. Reactivation of the latent infection and development of a new tuberculosis can be supposed in older patients, from rural localities, detected by examination of the symptomatic. Case management and final treatment outcome

în ambele eșantioane, ce corespunde cu rezultatele studiilor internaționale [5]. Caracteristicile demografice, precum vârsta tânără, reședința urbană și statutul social-economic defavorizat permite suspiciunea unei suprainfecții exogene în eșantionul cu TB-MDR, recunoscute și în alte studii [2, 3, 7, 13]. Reactivarea infecției latente și dezvoltarea unui nou puseu de tuberculoză poate fi presupusă la pacienții vârstnici, cu reședință rurală și depistați prin examinarea simptomatilor. Managementul cazurilor și rezultatul final al tratamentului a fost diferit, în funcție de spectrul de drog rezistență. Succesul terapeutic a fost stabilit într-o proporție superioară în eșantionul cu TB sensibilă, iar continuitatea tratamentului a fost realizată în eșantionul cu TB-MDR.

Concluzii

- 1) Ponderea recidivei tuberculozei pulmonare constituie a patra parte din incidența globală a bolii.
- 2) Ponderea mare a recidivei tardive a demonstrat persistența factorilor de risc de îmbolnăvire pe tot parcursul vieții pacienților anterior tratați.
- 3) Pentru pacienții cu TB-MDR au fost comune caracteristicile: vârsta tânără, reședința urbană și statutul social-economic defavorizat.
- 4) Pacienții cu TB sensibilă au fost, mai frecvent, de vârstă înaintată și din localități rurale.
- 5) Identificarea cazurilor cu TB sensibilă s-a realizat, preponderent, prin examinarea simptomatilor. Suspectarea recidivei la pacienții cu TB-MDR s-a realizat, mai frecvent, în alte instituții medico-sanitare, iar pentru confirmarea diagnosticului, au fost transferați în instituțiile specializate.
- 6) Au fost tratați cu succes două treimi din eșantionul cu TB sensibilă. Majoritatea pacienților diagnosticați cu TB-MDR au continuat tratamentul. O proporție similară de cazuri au decedat pe parcursul tratamentului.
- 7) Particularitățile socio-demografice și cele de management au contribuit la dezvoltarea recidivei cu diferit spectru de rezistență a micobacteriilor, care au influențat rezultatul final al tratamentului.

Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la elaborarea și scrierea manuscrisului. Toți autorii au citit și aprobat versiunea finală a manuscrisului.

was different according to the drug-resistance spectrum. The treatment success was established in a higher proportion in patients with drug susceptible tuberculosis, but the treatment continuity was performed in most of patients from the MDR-TB group.

Conclusions

- 1) The proportion of pulmonary tuberculosis relapse constituted the fourth part of the global disease burden.
- 2) The high proportion of the late relapse demonstrated the risk factors maintaining during the life of previously treated patients.
- 3) Common characteristics in patients with MDR-TB were: young age, urban residence and defavorized social economic state.
- 4) Patients with drug susceptible TB were more frequently older and from rural localities.
- 5) The drug susceptible TB detection was performed through the examination of the symptomatics. The suspicion of a relapse in patients with MDR-TB was performed in other medical institution, but for diagnosis were transferred in the specialized institutions.
- 6) Two third of the patients were successfully treated for drug susceptible TB. The most of patients with MDR-TB were still continuing the treatment. A similar proportion of cases died during the treatment.
- 7) The social and demographic features and management were contributed in the development of the relapse with different a spectrum of drug resistance, which influenced the final treatment outcome.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

Authors' contribution

All authors equally contributed to elaboration and writing of the manuscript. All authors read and accepted final version of the manuscript.

Referințe / references

1. World Health Organization. Global tuberculosis report. Geneva, 2016.
2. World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines, 4th ed. Geneva, 2012.
3. World Health Organization. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe. Surveillance report 2017, 167 p.
4. Centrul Național de Management în Sănătate. Anuar Statistic Medical. Chisinau; 2016.
5. Jo K., Yoo J., Hong Y., Lee J. *et al.* Risk factors for 1-year relapse of pulmonary tuberculosis treated with a 6-month daily regimen. *Respir. Med.*, 2014; 108 (4): 654-9.
6. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr. 768 din 12.10.2011 „Cu privire la aprobarea Programului național strategic în domeniul securității demografice a Republicii Moldova 2011-2015”. *Monitorul Oficial*, 2011, p. 182-186.
7. Rasanathan K., Sivasankara K., Jaramilllo E. *et al.* The social determinants of health: key to global tuberculosis control. *Inter. Journal Tuberculosis Lung Diseases*, 2011; 30-36.
8. Seydou G., Ghosh S. Social determinants of infectious diseases in South Asia. *Int. Sch. Res. Notices*, 2014; 135-143.
9. United Nations. The Millennium Development Goals Report. New York, 2015.
10. World Health Organization. Commission on social determinants of health. Final report, 2008.
11. World Health Organization. Equity, social determinants and public health programmes. Geneva, 2010.
12. World Health Organization. End TB Strategy. Geneva, 2014.
13. Chang K., Leung C., Yew W., Chan S., Tam C. Dosing schedules of 6-month regimens and relapse for pulmonary tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 174: 1153-1158.
14. Chang K., Leung C., Yew W. *et al.* A nested case-control study on treatment-related risk factors for early relapse of tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2004; 170: 1124-1130.
15. Picon P., Bassanesi S., Caramori M. *et al.* Risk factors for recurrence of tuberculosis. *J. Bras. Pneumol.*, 2007; 33 (5): 572-8.
16. Korenromp E., Scano F., Williams B. *et al.* Effects of human immunodeficiency virus infection on recurrence of tuberculosis after rifampin-based treatment: an analytical review. *Clin. Infect. Dis.*, 2003; 37 (1): 101-12.
17. Perrin F., Woodward N., Phillips P. *et al.* Radiological cavitation, sputum mycobacterial load and treatment response in pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2010; 14: 1596-1602.
18. Nettles R., Mazo D., Alwood K. *et al.* Risk factors for relapse and acquired rifampicin resistance after Directly Observed Tuberculosis Treatment: a comparison by HIV serostatus and rifamycin use. *Clinical Infectious Diseases*, 2004; 38 (5): 731-736.
19. Dooley K., Lhlou O., Ghali I. *et al.* Risk factors for tuberculosis treatment failure, default, or relapse and outcomes of retreatment in Morocco. *BMC Public Health*, 2011; 11: 140.



ARTICOL DE CERCETARE

Determinarea toxicității acute a extractelor obținute din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*: studiu experimental

Maria Cojocaru-Toma^{1,3}, Sergiu Parii², Eugeniu Nicolai², Maria-Mirabela Toma⁴, Tudorița Gherman³, Serafim Romașcu³

¹Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Centrul Științific al Medicamentului, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

³Centrul Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

⁴Facultatea de Medicină, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 06.03.2018

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Maria Cojocaru-Toma, dr. șt. farm., conf. univ.

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: m.cojocaru-toma@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Determination of acute toxicity for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*: experimental study

Maria Cojocaru-Toma^{1,3}, Sergiu Parii², Eugeniu Nicolai², Maria-Mirabela Toma⁴, Tudorita Gherman³, Serafim Romascu³

¹Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Scientific Center of Medicine, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation “Nicolae Testemitanu”, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

⁴Faculty of Medicine, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 06.03.2018

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Maria Cojocaru-Toma, PhD, assoc. prof.

Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: m.cojocaru-toma@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Până în prezent nu a fost determinată toxicitatea acută a extractelor obținute din părțile aeriene de turiță (*Agrimoniae herba*) și părți aeriene de cicoare (*Cichorii herba*) prin metoda dozelor fixe, cu stabilirea clasei toxice, conform TG 423 (*Acute Toxic Class Method*).

Ipoteza de cercetare

Plantele din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale al USMF „Nicolae Testemițanu”, care sunt bogate în compuși fenolici ce servesc drept surse de antioxidanți, manifestă toxicitate acută redusă, rezultate ce ar servi ca premiză pentru continuarea studiilor preclinice și clinice de determinare a inofensivității și eficacității lor.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Determinarea toxicității acute a extractelor obținute din părțile aerine de turiță (*Agrimoniae herba*) și părțile aeriene de cicoare (*Cichorii herba*) prin metoda dozelor fixe, denotă toxicitate acută redusă, atât la administrarea enterală cât și parenterală (clasa de toxicitate 5), iar produsele pot servi ca surse valoroase în obținerea de noi fitopreparate.

What is not known yet, about the topic

Until the present, has not been determined the acute toxicity of the extracts obtained from aerial parts of agrimony (*Agrimoniae herba*) and aerial parts of chicory (*Cichorii herba*) by the fixed dose method with the establishment of the toxic class, according to TG 423 (*Acute Toxic Class Method*).

Research hypothesis

Plants from the collection of the Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation Nicolae Testemitanu SUMPh, rich in phenolic compounds, which serve as sources of antioxidants, manifest the reduced acute toxicity, results that would serve as a prerequisite for further preclinical and clinical studies in determination of their safety and efficacy.

Article's added novelty on this scientific topic

Determination of acute toxicity of extracts of (*Agrimoniae herba*) and (*Chicorii herba*), denote low acute toxicity, both enteral and parenteral (toxicity class 5), and the species can serve as valuable sources in obtaining of new phytopreparates.

Rezumat

Introducere. Pornind de la ideea că una din direcțiile actuale de dezvoltare a industriei farmaceutice este obținerea și utilizarea extractelor din plante medicinale cu conținut de diverse principii active, lucrarea dată prezintă cercetări derulate în scopul determinării toxicității acute al unor produse vegetale: *Argimoniae herba*, *Cichorii herba*, produse cu proprietăți antioxidante.

Material și metode. Produsele vegetale *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* au fost selectate din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu” conform recomandărilor farmaceutice. Extracția principiilor active s-a efectuat cu etanol:apă 80%, până la epuizarea produselor vegetale, cu concentrarea ulterioară a soluțiilor extractive obținute cu ajutorul unui evaporator rotativ. Conținutul de polifenoli și acțiunea antioxidantă s-au realizat prin metode spectrofotometrice. Toxicitatea acută a fost determinată prin metoda dozelor fixe, cu stabilirea clasei toxice, prin administrare intragastrală și intraperitoneală, conform TG 423 (*Acute Toxic Class Method*), recomandată de Organizația Economică pentru Cooperare și Dezvoltare și după metoda Kerber, pe 132 de șoricei albi de laborator linia „Wistar” (66 masculi, 66 femele), în urma obținerii acordului Comitetului de Etică nr. 42 din 11.05.2016.

Rezultate. Părțile aeriene de turiță și de cicoare manifestă remarcabile proprietăți antioxidante: *Agrimoniae herba* (IC₅₀ = 45,56 μg/ml), *Cichorii herba* (IC₅₀ = 173,08 μg/ml), cu o corelare în conținutul total de polifenoli pentru turiță de 6,07% și, respectiv, cicoare – 2,88%. Determinarea toxicității acute denotă o toxicitate redusă atât la administrarea enterală, cât și parenterală: (DL_{25%} = 4412 mg/kg pentru extractul din *Agrimoniae herba*); (DL_{50%} este >5000 mg/kg pentru extractele din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*), estimată conform metodei TG 423 (*Acute Toxic Class Method*), ce caracterizează extractele studiate ca fiind, practic, inofensive.

Concluzii. Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că la doza maximă administrată în cadrul experimentului, care a corespuns cu 6000 mg/kg pentru extractele din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* la administrarea enterală și intraperitoneală, pentru *Cichorii herba* nu s-a constatat doza letală (DL=0%), cu clasa de toxicitate 5, fapt ce poate servi ca premiză pentru continuarea studiilor preclinice și clinice de determinare a inofensivității și eficacității pentru produsele *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*.

Cuvinte cheie: plante medicinale, produse vegetale, extracte, toxicitate acută.

Introducere

Interesul pentru antioxidanții naturali, în special, pentru cei proveniți din plante medicinale, a crescut în ultimii ani, inclusiv, prin multiple studii și publicații.

Cicoare (*Cichorium intybus* L.); părți aeriene de cicoare (*Cichorii herba*); fam. *Asteraceae*. Remarcăm că părțile aerine de cicoare conțin cicoarină, arginină, acid cioric și principii amare. Întreaga plantă conține un latex, al cărui constituenț major

Abstract

Introduction. Starting from the idea that one of the current directions of development of the pharmaceutical industry is the obtaining and uses of extracts from medicinal plants containing various active principles, this paper presents research carried out in order to determine the acute toxicity of some vegetable products: *Argimoniae herba*, *Cichorii herba*, products with antioxidant properties.

Material and methods. The vegetable products *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* from the collection of the Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation of the *Nicolae Testemitanu* SUMP were collected according to pharmacopoeial recommendations. The extraction of the active principles was done using ethanol:water 80%, until the exhausted of vegetable products, with the subsequent concentration of the extractive solutions by means of a rotary evaporator. Acute toxicity was determined by the fixed-dose method with the establishment of the toxic class by enteral and intraperitoneal administration, according to TG 423 (*Acute Toxic Class Method*) recommended by Organization for Economic Cooperation and Development by the Kerber method, on 132 laboratory white mice line “Wistar” (66 males, 66 females), following the agreement of the Ethics Committee no. 42 from 11.05.2016.

Results. The aerial parts of agrimony and chicory exhibit remarkable antioxidant properties: *Agrimoniae herba* (IC₅₀ = 45.56 μg/ml), *Cichorii herba* (IC₅₀ = 173.08 μg/ml), with a correlation in total contain of polyphenols for agrimony 6.07% and respectively chicory 2.88%. The determination of acute toxicity indicate low toxicity both for enteral and intraperitoneal administration: (DL_{25%} = 4412 mg/kg for extract of *Agrimoniae herba*); (DL_{50%} > 5000 mg/kg for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*), estimated according to the method TG 423 (*Acute Toxic Class Method*) which characterizes the studied extracts as practically inoffensive.

Conclusions. The obtained results allowed us to establish that the maximum dose administrated in the experiment which corresponded to 6000 mg/kg for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* for enteral and intraperitoneal administration, for *Cichorii herba* did not found the lethal dose (DL=0%), with toxicity class 5, which may serve as a prerequisite for further preclinical and clinical studies to determine the inoffensivity and efficacy for the products *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*.

Key words: medicinal plants, vegetable products, extracts, acute toxicity.

Introduction

Interest in natural antioxidants, especially those derived from medicinal plants, has increased in recent years, including through multiple studies and publications.

Chicory (*Cichorium intybus* L.); aerial parts of chicory (*Cichorii herba*); fam. *Asteraceae*. We note that the aerial parts of chicory contain chicorin, arginine, cichoric acid and bitter principles. The entire plant contains latex, whose major constituent is inulin. Besides inulin, there also are contained sug-

este inulina. Pe lângă inulină, se conțin și zaharuri, substanțe tanante, uleiuri volatile, pectine, rășine. Planta servește și ca sursă de vitamine: A, C, E, K, P, PP. Flavonoidele constituie cca 3%: luteol, quercetol, riboflavină. În părțile aeriene domină: cicorina, arginina, colina; se întâlnesc, de asemenea, microelemente: Fe, P, Ca. În părțile subterane predomină substanțele triterpenice amare, fructoza, taninuri și ulei volatil.

Principiile active din cicoare stimulează digestia, detoxifică organismul, scade colesterolul și glicemia. Prin faptul că sunt anorexigene și laxative, cicoarea este indicată în obezitate. Preparatele din cicoare se recomandă în cazul afecțiunilor digestive: gastrite, hepatite, colecistite, spasme hepato-biliare, constipații, helmintiaze, hemoroizi, ateroscleroză, diabet. De asemenea, cicoarea se dovedește eficientă în perioada de convalescență, poate fi administrată sub formă de infuzie, sirop, decoct, comprimate [1, 2, 3].

Turiță (*Agrimonia eupatoria* L.); părți aeriene de turiță (*Agrimoniae herba*); fam. *Rosaceae*. În părțile aeriene de turiță au fost identificate substanțe tanante, uleiuri volatile, vitamina K, acizi organici și flavonoide, dintre care: quercetrina, kaempferolul, luteolina și apigenina.

Turița este cunoscută de pe vremea vechilor egipteni, posedă un efect puternic curativ în patologii hepatice, gastrointestinale, afecțiuni ale căilor biliare, prin conținutul de taninuri și flavonoide. Menționăm că turița este un bun regenerant, dacă este administrată sub formă de infuzie și decoct. Poate fi utilizată în patologii hepatice și în combinație cu alte plante medicinale [1, 4].

Scopul acestei lucrări a constat în determinarea toxicității acute a extractelor obținute din *Argimoniae herba* și *Cichorii herba*, selectate din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale (CȘCPM) USMF „Nicolae Testemițanu”.

Material și metode

Cercetările experimentale au fost efectuate în cadrul subdiviziunilor USMF „Nicolae Testemițanu”: Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al Centrului Științific al Medicamentului.

Produsele vegetale au fost recoltate din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale. Produsele vegetale: *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* s-au recoltat în funcție de natura produselor vegetale, pe întreaga perioadă de înflorire, s-au uscat și condiționat conform recomandărilor farmaceutice, în scopul studiilor chimice și determinării toxicității acute.

Extractele au fost obținute prin extracție repetată a produselor vegetale pulverizate: *Argimoniae herba* et *Cichorii herba*, cu un amestec etanol:apă (80%), timp de o jumătate de oră la fiecare etapă de extracție, până la epuizarea produselor vegetale, cu concentrarea soluțiilor extractive obținute la temperatura de 40°C, cu ajutorul unui evaporator rotativ. Conținutul de polifenoli a fost dozat prin metoda spectrofotometrică, cu reagentul Folin-Ciocalteu [5, 6], iar acțiunea antioxidantă s-a realizat prin testul DPPH, după Trolox [7].

Din extractele de *Agrimoniae herba* et *Cichorii herba*

ars, tannins, volatile oils, pectin, resins. The plant also serves as a source of vitamins: A, C, E, K, P, PP. Flavonoids make up about 3%: luteol, quercetol, riboflavin. The aerial parts are dominated by chicorin, insulin, arginine, choline, and microelements: Fe, P, Ca; the roots are rich in bitter triterpenic substances, fructose, tannins and volatile oil.

Active principles of chicory stimulate digestion, detoxify the body, decrease the level of cholesterol and glucose in blood, and because they are anorexic and laxative, chicory is indicated in obesity. Chicory preparations are recommended for digestive diseases: gastritis, hepatitis, cholecystitis, hepatobiliary spasms, constipation, helminthiasis, hemorrhoids, atherosclerosis, and diabetes. Also, being effective during convalescence, chicory can be given as infusion, syrup, decoct, tablets [1, 2, 3].

Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.); aerial parts of agrimony (*Agrimoniae eupatoriae herba*); fam. *Rosaceae*. In the aerial parts of agrimony has been identified tannins, volatile oils, vitamin K, organic acids and flavonoids, of which: quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin.

The agrimony is known since the time of the ancient Egyptians, possessing a powerful curative effect in liver, gastrointestinal, and bile duct diseases, by the content of tannins and flavonoids. We mention that the agrimony is a good regenerator, given as an infusion and decoct. Can be used in liver pathologies and in combination with other medicinal plants [1, 4].

The purpose of this work is to determine the acute toxicity of the extract obtained from *Argimoniae herba* and *Cichorii herba*, collected from the collection of the Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation *Nicolae Testemitanu* SUMPh.

Material and methods

Experimental researches were carried out within the subdivisions of *Nicolae Testemitanu* SUMPh: Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany, Laboratory of preclinical and clinical evaluation of medicines of the Scientific Center of Medicine, vegetable products were harvested from the collection of the Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation.

The vegetable products: *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* were harvested according to the nature of the vegetable products, throughout the flowering period, has been dried and conditioned according to pharmacopoeial recommendations, for the purposes of chemical studies and determination of acute toxicity.

The extracts were obtained by repeatedly extracting of the pulverized vegetable products: *Argimoniae herba* and *Cichorii herba*, with a mixture of ethanol: water (80%), for half an hour at each extraction stage, to the depletion of the vegetal products, with the concentration of the extractive solutions obtained at 40°C, with a rotary evaporator. The polyphenol content was dosed by the spectrophotometric method with the Folin-Ciocalteu reagent [5, 6], and the antioxidant action was performed by the DPPH test after Trolox [7].

From the extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* were prepared extempore concentrations in respective doses

s-au preparat extempore concentrații în doze respective de 200 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 4000 mg/kg și 6000 mg/kg. Studiul toxico-farmacologic a fost efectuat în Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al Centrului Științific al Medicamentului USMF "Nicolae Testemițanu" pe 132 de șoricei albi de laborator linia „Wistar” (66 de masculi, 66 de femele), vârsta 12 săptămâni, masa 18-26 gr. La inițierea studiului (120 șoricei – în grupurile experimentale, 12 șoricei – în grupul de control). Pe parcursul experimentului a fost menținut ciclul lumină/întuneric de 12 ore; temperatura 25°C și umiditatea relativă a aerului 60%, menținute constant, cu ajutorul acimatizorului model „Panasonic”. Regimul alimentar standard pentru șoarecii de laborator a fost echilibrat în proteine, glucide, lipide, minerale și vitamine, fiind administrat sub formă de granule și apă *ad libitum*. Condițiile experimentului au corespuns cerințelor pentru studii farmacologice cu implicarea animalelor de laborator [8, 9, 10]. Animalele au fost obținute din aceeași sursă și menținute în mediul laboratorului. Șoriceii au fost cântăriți și repartizați în loturi omogene, câte 3 masculi și 3 femele, conform masei corporale. Animalele nu au primit hrană cu 12 ore înainte de inițierea experienței și 4 ore după administrarea extractelor studiate.

Toxicitatea acută a fost determinată prin metoda dozelor fixe, cu stabilirea clasei toxice conform TG 423 (*Acute Toxic Class Method*), recomandată de Organizația Economică pentru Cooperare și Dezvoltare (OECD) și după metoda Kerber [10, 11].

Extractele din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* și soluția de referință (sol. NaCl 0,9%) au fost administrate șoriceilor enteral, prin gavaj, și intraperitoneal. Cantitatea de lichid administrat a fost calculată în funcție de masa individuală a animalelor de laborator, cântărite înainte de experiment (0,3 ml/g). Pentru stabilirea toxicității acute, extractele au fost administrate șoriceilor enteral, prin gavaj, și intraperitoneal în doze-test de 200 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 4000 mg/kg și 6000 mg/kg. Dozele mai mari de 6000 mg/kg nu au fost folosite atât în corespundere cu cerințele internaționale, cât și din cauza imposibilității administrării a unui volum mai mare de soluție, acesta fiind contrar recomandărilor metodice [11, 12]. Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile.

În timpul observațiilor a fost înregistrat comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. De asemenea, a fost înregistrat timpul apariției fenomenelor de intoxicație și decesul animalelor. Vizual, s-a determinat tabloul clinic al intoxicației. Animalele decedate au fost disecate în mod separat, pentru efectuarea studiului organelor interne și confirmarea modificărilor obținute în experiență.

Rezultate

Rezultatele obținute în urma analizei fitochimice a extractelor din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* prin metoda spectrofotometrică au confirmat prezența compușilor fenolici, după Folin Ciocalteu, cu un conținut de 6,07% pentru turiță și, respectiv, 2,88% pentru cicoare. În calitate de antioxidant standard a fost folosit Trolox, în intervalul de concentrații de

of 200 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 4000 mg/kg and 6000 mg/kg. The toxic-pharmacological study was evaluated in the Laboratory of preclinical and clinical evaluation of medicines of the Scientific Center of Medicine *Nicolae Testemitanu* SUMPh on 132 mice laboratory line “Wistar” (66 males, 66 females), age 12 weeks, weight 18-26 gr; at initiation of the study (120 mice in the experimental groups, 12 mice in the control group). During the experiment, the 12 hour light/dark cycle was maintained constantly 25°C temperature and 60% relative humidity with the “Panasonic” air conditioner. The standard diet for laboratory mice was balanced in proteins, carbohydrates, lipids, minerals and vitamins and was administered as granules and water *ad libitum*. The conditions of the experiment have been corresponded to the requirements for pharmacological studies involving laboratory animals [8, 9, 10]. The animals were obtained from the same source and maintained in the laboratory environment. The mice were weighed and distributed in homogeneous lots, 3 males and 3 females, according to their body mass. The animals did not receive food 12 hours before the start of the experiment and 4 hours after the administration of studied extracts.

Acute toxicity was determined by the fixed dose method with toxic class setting according to TG 423 (*Acute Toxic Class Method*) recommended by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) and by the Kerber method [10, 11].

The extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* and the reference solution (0.9% NaCl) were administered to the mices by enterally way via gavage and intraperitoneal way. The administered amount of liquid was calculated based on the individual mass of laboratory animals weighed before the experiment (0.3 ml/g). To establish the acute toxicity, the extracts were administered to the mices by enterally way via gavage and intraperitoneal way at 200 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 4000 mg/kg and 6000 mg/kg doses. There were not used greater doses than 6000 mg/kg both in accordance with international requirements and the impossibility of administering a major volume of solution, which did not correspond to the methodological recommendations [11, 12]. The animals were monitored for 14 days.

During the observations, animal behavior, food and water consumption, motor activity, coordination of movements, reaction to physical excitations (light, noise), respiratory function, skin and mucosal status were recorded. Also, there were recorded the time of poisoning phenomena and the death of animals. The symptomatology of intoxication was determined visually. The deceased animals were dissected separately for the study of the internal organs and the confirmation of the changes made in the experience.

Results

The results obtained from the phytochemical analysis of the extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, by the spectrophotometric method has been confirmed the presence of phenolic compounds after Folin Ciocalteu, with a content of 6.07% for agrimony and respectively 2.88% for chicory. As a standard antioxidant was used Trolox in the concentration

5-25 µg/ml, iar prin calcul corelațional, a fost stabilită concentrația de inhibare (IC)50. În rezultatul evaluării capacității de scavenger a extractelor de *Agrimoniae herba*, *Cichorii herba* prin metoda radicalului liber DPPH, s-a determinat o capacitate antioxidantă bună, cu activitatea de peste 50% inhibiție. Activitatea antioxidantă prin testul DPPH denotă faptul că, cu cât IC50 este mai mic, cu atât acțiunea antioxidantă este mai mare: *Agrimoniae herba* (IC50 = 45,557 µg/ml) și *Cichorii herba* (IC50 = 173,08 µg/ml), ce ne-a determinat să continuăm studiile asupra acestor produse prin determinarea toxicității acute.

Rezultatul studiului toxicității acute, determinat prin metoda dozelor fixe cu stabilirea clasei toxice acute conform TG 423 (*Acute Toxic Class Method*), denotă că pe parcursul studiului nu s-au constatat modificări în comportamentul și activitatea motorie spontană a animalelor din grupurile de control și de studiu. Animalele erau în mișcare activă, întrebunțau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat au fost fără schimbări patologice. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie, urina de culoare galbenă deschisă, dinții păstrați, iar mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. Glandele mamare ale femelelor la palpare fără indurații și fără eliminări. Organele genitale masculine normale exprimate. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat. Monitorizarea pe parcursul experimentului a procesului de alimentare nu a evidențiat modificări între grupurile cercetate și cele de control. Nu s-au marcat diferențe semnificative în dinamica de greutate corporală între animalele din grupul de studiu și de control. S-a observat o creștere ceva mai mare în greutate la animalele de control, comparativ cu cele experimentale. Explorarea nu purta un caracter statistic semnificativ, ci de tendință. La administrarea substanței de referință și dozei de 200 mg/kg, intragastral și intraperitoneal, și supravegherea timp de 7 zile nu s-au constatat modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea substanțelor cercetate, intragastral și intraperitoneal, în doze de 1000, 2000, 4000, 6000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 2 ore (pentru 1000 mg/kg, 2000 mg/kg) și 4-5 ore (pentru 4000 mg/kg, 6000 mg/kg). La animalele din loturile care au primit doza de 6000 mg/kg s-a observat, ocazional, inapetență pe parcursul primelor 24 de ore. La o femelă și un mascul, care au primit extract din *Agrimoniae herba* în doza de 6000 mg/kg intraperitoneal, s-a menționat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (*gaspings*) și decesul animalelor în decurs de 48 de ore a femelei și 96 de ore a masculului. Convulsii nu s-au remarcat. Din cauza imposibilității determinării LD100%, nu s-a putut stabili LD50% după metoda Kerber.

La toate celelalte doze administrate intragastral și intraperitoneal, nu s-a constatat decesul animalelor. La necropsie, la examinarea organelor interne precum: limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară în loturile experimentale și cele de control, la ambele metode de administrare, modificări patologice vizibile nu au fost stabilite.

range of 5-25 µg/ml, and by correlation calculation was determined Inhibitory Concentration (IC) 50 value. As a result of evaluating the scavenger capacity extracts of *Agrimoniae herba*, *Cichorii herba*, by DPPH free radical method was determined a good antioxidant capacity with activity of over 50% inhibition. Antioxidant activity by the DPPH test indicates that the lower of IC50, mentioning the higher antioxidant action: *Agrimoniae herba* (IC50 = 45.557 µg/ml) *Cichorii herba* (IC50 = 173.08 µg/ml), which determined us to continue the studies on the products by determining the acute toxicity.

The result of the acute toxicity study, determined by the fixed dose method with acute toxic class setting according to TG 423 (*Acute Toxic Class Method*), indicates that there were no changes in the behavior and spontaneous motor activity of animals in the control and study groups. The animals were in active movement, they used food and water. The condition of the mucous membranes and the skin cover is recorded without pathological changes. The coat of the animals was neat, glossy, free of alopecia outbreaks, light yellow urine, retained teeth, and the visible mucus was pale, glossy, smooth. The mammary glands of the females on palpation without induration and without elimination. Male genital organs were expressed normally. Deformations or edema of the extremities were not noted. Monitoring during the experimental process of the feeding process did not reveal any changes between the investigated and the control groups. There were no significant differences in the body weight dynamics between animals in the investigated and control group. Somewhat greater weight gain was seen in control animals than in experimental groups. Exploration did not have a statistically significant character, but a trend. Upon administration of the reference substance and dose of 200 mg/kg, enteral and intraperitoneal, and 7-day surveillance, there were not observed changes in the behavior of the animals or their death.

The administration of the investigated, intragastric and intraperitoneal substances at doses of 1000, 2000, 4000, 6000 mg/kg was characterized by a period of hypodynamia and reduction of the response to exogenous stimulants. All animals returned to initial condition during the first 2 hours (for 1000 mg/kg, 2000 mg/kg) and 4-5 hours (for 4000 mg/kg, 6000 mg/kg). At the animals from the 6000 mg/kg doses, occasional was observed loss appetite during the first 24 hours. For a female and a male who received extract of *Agrimoniae herba* dose of 6000 mg/kg intraperitoneally, there was observed a decrease in motor activity, with reduced response, then weaker to exogenous stimuli, with the development of a gasping and the death of the animals within 48 hours of the female and 96 hours of the male. The convulsions were not noticeable. Due to the impossibility of LD100% determination, LD50% could not be established using the Kerber method.

At all other doses administered in the intragastric and intraperitoneal ways, did not cause the death of the animals. In necropsy, examining internal organs such as the tongue, mucous membranes of the mouth, teeth, trachea, esophagus, lungs, heart, liver, kidney, spleen, aorta, urinary bladder in the experimental and control groups, there have not been established pathologically visible changes.

Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că la doza maximă administrată în cadrul experimentului, care a corespuns cu 6000 mg/kg pentru extractele obținute din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, la administrarea enterală pentru *Cichorii herba* nu s-a constatat doza letală – LD = 0%. Procentajul maxim de letalitate pentru extractul din *Agrimoniae herba* la administrarea intraperitoneală (i/p) a fost stabilit la doza maximă administrată de 6000 mg/kg. Astfel, matematic, prin metoda proporțiilor, s-a calculat DL25% = 4412 mg/kg pentru extractul de *Agrimoniae herba* la administrare i/p. Pentru *Cichorii herba*, nu a fost posibil de calculat indicii respectivi, din cauza lipsei mortalității.

DL50% pentru extractele din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, estimată conform metodei TG 423 (*Acute Toxic Class Method*) este >5000 mg/kg, ce caracterizează extractele studiate ca fiind, practic, inofensive. Rezultatele detaliate ale investigațiilor sunt prezentate în Tabelele 1-6.

The results obtained allowed us to establish that at the maximum dose administered in the experiment which corresponded to 6000 mg/kg for extracts obtained of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, on enteral administration for *Cichorii herba* did not find the lethal dose – LD = 0%. The maximum lethality rate for extract of *Agrimoniae herba* on intraperitoneal administration was established at the maximum dose of 6000 mg/kg. Thus, mathematically, by the properties method, was calculated DL25% = 4412 mg/kg for extract of *Agrimoniae herba*, intraperitoneal administration. For *Cichorii herba*, it was not possible to establish those indices, due to lack of mortality.

DL50% for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, estimated according to the TG 423 (*Acute Toxic Class Method*), is >5000 mg/kg, which characterizes the studied extracts as practically harmless. The detailed results of the investigations are presented in Tables 1-6.

Tabelul 1. Rezultatele toxicității acute – administrare intragastrală (*Extractum Agrimoniae herba*).

Table 1. The results of acute toxicity – enteral administration (*Extractum Agrimoniae herba*).

Doze / Doses	masculi / males		femele / females		total decese / total death	
	n	deces / death	n	deces / death	n	deces / death
200 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
1000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
2000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
4000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
6000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%

Tabelul 2. Rezultatele toxicității acute – administrare intraperitoneală (*Extractum Agrimoniae herba*).

Table 2. The results of acute toxicity – intraperitoneal administration (*Extractum Agrimoniae herba*).

Doze / Doses	masculi / males		femele / females		total decese / total death	
	n	deces / death	n	deces / death	n	deces / death
200 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
1000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
2000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
4000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
6000 mg/kg	3	1	3	1	6	34%

Tabelul 3. Rezultatele toxicității acute – administrare intragastrală (*Extractum Cichorii herba*).

Table 3. The results of acute toxicity – enteral administration (*Extractum Cichorii herba*).

Doze / Doses	masculi / males		femele / females		total decese / total death	
	n	deces / death	n	deces / death	n	deces / death
200 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
1000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
2000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
4000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
6000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%

Tabelul 4. Rezultatele toxicității acute – administrare intraperitoneală (*Extractum Cichorii herba*).
Table 4. The results of acute toxicity – intraperitoneal administration (*Extractum Cichorii herba*).

Doze / Doses	masculi / males		femele / females		total decese / total death	
	n	deces / death	n	deces / death	n	deces / death
200 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
1000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
2000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
4000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%
6000 mg/kg	3	0	3	0	6	0%

Tabelul 5. Grupurile de control – administrare intragastrală (*sol. NaCl 0,9%*).
Table 5. Control groups – enteral administration (*sol. NaCl 0,9%*).

Doze / Doses	masculi / males		femele / females		total decese / total death	
	n	deces / death	n	deces / death	n	deces / death
sol. NaCl 0,9%	3	0	3	0	6	0%

Tabelul 6. Grupurile de control – administrare intraperitoneală (*sol. NaCl 0,9%*).
Table 6. Control groups – intraperitoneal administration (*sol. NaCl 0,9%*).

Doze / Doses	masculi / males		femele / females		total decese / total death	
	n	deces / death	n	deces / death	n	deces / death
sol. NaCl 0,9%	3	0	3	0	6	0%

Tabelul 7. Determinarea clasei de toxicitate pentru extractele de *Cichorii herba* și *Agrimoniae herba*, conform TG 423: *Acute Toxic Class Method (OECD)*.

Table 7. Determination of the toxicity class for extractum from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, on the bases of TG 423: *Acute Toxic Class Method (OECD)*.

Denumirea extractului <i>Name of the extract</i>	Clasa de toxicitate <i>The toxicity class</i>	DL50 estimat, mg/kg <i>Estimated DL50, mg/kg</i>
Extractum <i>Agrimoniae herba</i>	5 (practic inofensivă) 5 (practically inoffensive)	>5000
Extractum <i>Cichorii herba</i>	5 (practic inofensivă) 5 (practically inoffensive)	>5000

Discuții

Studiul fitochimic și biologic al plantelor medicinale din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu” rămâne una din direcțiile prioritare de cercetare. Antioxidanții sunt substanțe chimice care neutralizează efectele radicalilor liberi și protejează organismul uman, formând bariere succesive de protecție, în funcție de tipul de acțiune asupra radicalilor. Studiile științifice confirmă că antioxidanții pot proteja celulele umane, ajutând la distrugerea microorganismelor cu care corpul intră în contact. Totodată, antioxidanții sunt studiați pe larg și recunoscuți și pentru faptul că încetinesc procesul de îmbătrânire. O parte dintre antioxidanți sunt identificați în cantități suficiente în

Discussion

The phytochemical and biological study of medicinal plants from the collection of Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation of *Nicolae Testemițanu* SUMPh remains one of the priority research directions. Interest in natural antioxidants, especially those which comes from the medicinal plants, has been increased in recent years, including through multiple publications. Antioxidants are chemical substances that neutralize the effects of free radicals and protect the human body, forming successive barriers to protection, depending on the type of action on the radicals. Scientific studies confirm that antioxidants can protect human cells, helping to destroy the microorganisms with which the body comes into contact. At

plante medicinale bogate în polifenoli, flavonoide, taninuri, vitamine. În studiul nostru se prezintă cercetări chimice și biologice ale extractelor obținute din *Argimoniae herba*, *Cichorii herba*, cu proprietăți antioxidante remarcabile, produse vegetale din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu”.

Metoda determinării toxicității acute a extractelor obținute din *Argimoniae herba*, *Cichorii herba*, corespunde metodei dozelor fixe cu stabilirea clasei toxice, prin administrare intragastrală și intraperitoneală, conform TG 423 (*Acute Toxic Class Method*). De menționat că, în realizarea studiului s-au preparat concentrații în doze de 200 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 4000 mg/kg și doza maximă 6000 mg/kg.

Conform datelor acestui studiu, se constată o toxicitate redusă atât la administrarea enterală, cât și administrarea intraperitoneală, ce caracterizează extractele obținute din părți aeriene de turiță (*Agrimoniae herba*) și părți aeriene de cicoare (*Cichorii herba*) ca fiind, practic, inofensive, cu clasa de toxicitate 5. Rezultatele obținute pot servi ca o premiză pentru continuarea studiilor preclinice și clinice de determinare a inofensivității și eficacității pentru produsele menționate, în scopul obținerii de fitopreparate noi în Republica Moldova.

Concluzii

- 1) Părțile aeriene de turiță și cicoare manifestă remarcabile proprietăți antioxidante: *Agrimoniae herba* (IC50 = 45,557 μg/ml), *Cichorii herba* (IC50 = 173,08 μg/ml), cu o corelare în conținutul total de polifenoli, pentru turiță de 6,07% și, respectiv, cicoare – de 2,88%.
- 2) Doza maximă administrată în cadrul experimentului, care a corespuns cu 6000 mg/kg pentru extractele obținute din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* la administrarea enterală și cea intraperitoneală, pentru *Cichorii herba* nu s-a constatat o doză letală (DL = 0%).
- 3) Studiul denotă o toxicitate acută redusă atât la administrarea enterală, cât și la administrarea intraperitoneală, raportată la clasa de toxicitate 5, fapt ce poate servi drept premiză pentru continuarea studiilor pentru extractele obținute din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, produse ce pot constitui o sursă valoroasă de materie primă în obținerea de noi fitopreparate.

Declarația de conflict de interes

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal la elaborarea și scrierea manuscrisului. Toți autorii au citit și aprobat versiunea finală a articolului.

the same time, antioxidants are widely studied and recognized for slowing the aging process. Some antioxidants are identified in sufficient quantities in medicinal plants which are rich in polyphenols, flavonoids, tannins, vitamins. The studies present chemical and biological research of vegetable products: *Argimoniae herba*, *Cichoare herba*, with remarkable antioxidant properties, produced from the Scientific Center of Medicinal Plants Cultivation of *Nicolae Testemitanu* SUMPh.

Method of determining the acute toxicity of extracts obtained from *Argimoniae herba*, *Cichoare herba* corresponds to the fixed dose method with toxic class setting by enteral and intraperitoneal administration, according to TG 423 (*Acute Toxic Class Method*). It should be noted that concentrations were achieved in the study at doses of: 200 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, 4000 mg/kg and maximum dose 6000 mg/kg. Larger doses have not been used, taking into account both the requirements of international requirements and the impossibility of increasing the volume of liquid.

According to the data of this study, reduced toxicity is observed for both enteral administration and intraperitoneal administration which characterizes the extracts obtained from *Argimoniae herba*, *Cichorsherba*, as being practically harmless, with toxicity class 5, and the results can serve as a prerequisite for continuing preclinical and clinical studies to determine the harmlessness and efficacy of these products, in order to obtain new phytopreparations in the Republic of Moldova.

Conclusions

- 1) Aerial parts of agrimony and chicory exhibit remarkable antioxidant properties: *Agrimoniae herba* (IC50 = 45.557 μg/ml), *Cichorii herba* (IC50 = 173.08 μg/ml) with a correlation in total polyphenols, for agrimony – 6.07% and respectively chicory – 2.88%.
- 2) The results obtained allowed us to establish that the maximum dose administered in the experiment which corresponded to 6000 mg/kg for extracts obtained from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* at enteral and intraperitoneal administration, for *Cichorii herba* did not confirm the lethal dose – DL = 0%.
- 3) The study indicate the reduced acute toxicity both at the enteral and as well intraperitoneal administration, with toxicity class 5, which may serve as a prerequisite for continued studies on extracts obtained from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, products which can constitute a valuable source of material in the production of new phytopreparations.

Declaration of conflicting interests

The author declares lack of interest conflict.

Author's contribution

All authors equally contributed to elaboration and writing of the manuscript. All authors read and accepted the final version of the manuscript.

Referințe / references

1. Amarowicz R., Pegg B., Barl B. *et al.* Antioxidant activity of extracts of phenolic compounds from selected plant species. *Biologically Active Phytochemicals in Food*, 2003; 16: 124-128.
2. Renee A. *Cichorium intybus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Complementary and Alternative Medicine*, 2013; (15): 579-95.
3. Ionescu D., Popescu M., Rizea G. *et al.* Polyphenols and minerals, antioxidants in the plants used in the natural treatment of hepatobiliary disorders. *Rev. Chim. Bucharest*, 2014; 65 (5): 507-510.
4. Mirjana Z., Muruzovi C. *et al.* Extracts of *Agrimonia eupatoria L.* as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. *Journal of food and drug analysis*, 2016; 24: 539-547.
5. Oniga I., Hanganu D., Benedec D., Toiu A. Analiza produselor naturale medicinale, ed. III-a. Editura Medicală Universitară Iuliu Hațieganu. Cluj-Napoca, România, 2014: 138-139.
6. Vlase L., Mocan A., Hanganu D., Benedec D., Gheldiu A, Crisan G. Comparative study of polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of four *Galium sp.* *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2014; 9 (3): 1085-1094.
7. Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. Food Science and Technology*, 1995 (28): 25-30.
8. Handbook for Good Laboratory Practice (GLP). *Quality practices for regulated non-clinical research and development*. World Health Organization, 2009: 328 p.
9. Legea RM nr. 265 din 28.07.2006 „Privind protecția animalelor folosite în scopuri experimentale sau în alte scopuri științifice”. *Monitorul Oficial*, nr. 168-169. Chisinau, 27.10.2006.
10. OECD Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity. *Acute Toxic Class Method*. 17th December 2001.
11. Хабриев Р.У. и соавт. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Москва, 2005: 827 с.
12. Каркищенко Н., Грачева С. и соавт. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Москва, 2010: 358 с.

ARTICOL DE CERCETARE

Terapia tisulară cu membrană amniotică în tratamentul bolnavilor cu leziuni termice: studiu prospectiv, descriptiv, pe serie de cazuri

Constantin Furtună¹, Anatol Taran², Mariana Jian², Viorel Nacu²

¹Centrul de leziuni termice, Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie, Chișinău, Republica Moldova;

²Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 08.11.2017

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Anatol Taran, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Catedra de ortopedie și traumatologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: anatol_taran@yahoo.com

RESEARCH ARTICLE

Tissue therapy with amniotic membrane in the treatment of patients with thermal lesions: prospective, descriptive, case-series study

Constantin Furtuna¹, Anatol Taran², Mariana Jian², Viorel Nacu²

¹Center for thermal lesions, Clinical Hospital of Traumatology and Orthopedics, Chisinau, Republic of Moldova;

²Laboratory of tissue engineering and cells culture. Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 08.11.2017

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Anatol Taran, PhD, univ. prof.

Chair of traumatology and orthopedics

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel mare si Sfant ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: anatol_taran@yahoo.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Membranele amniotice au fost utilizate cu succes ca pansamente biologice, demonstrând aderența bună la plagă, prevenirea pierderilor de lichide și căldură, protecția mecanică, evitarea infecțiilor bacteriene secundare și stabilitatea în contact cu plaga. Totuși, studiul suplimentare sunt necesare pentru a elucidă mecanismele acestei relații dintre membrana amniotică și recipient.

Ipoteza de cercetare

Cu scopul reducerii numărului de complicații, obținerii regenerării țesutului epitelial într-un timp relativ scurt, s-a cercetat aplicabilitatea și eficiența bioingineriei tisulare.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Datele prezentate ar putea fi utile pentru diferiți specialiști ai sistemului de sănătate care lucrează în domeniul chirurgiei. Terapia tisulară a demonstrat rezultate postoperatorii satisfăcătoare, fără complicații majore, ceea ce confirmă siguranța procedurii.

What is not known yet, about the topic

Amniotic membranes were successfully used as dressing, demonstrating good adherence to wound, preventing fluid and heat loss, mechanical protection, avoidance of secondary bacterial infections and stable in contact with wound. However, additional studies are needed to elucidate the mechanisms of this relationship between the amniotic membranes and the burn patient

Research hypothesis

In order to reduce the number of complications, to achieve regeneration of the epithelial tissue in a relatively short time, the need of implementing and efficiency of the tissue bioengineering.

Article's added novelty on the scientific topic

The data presented in this clinical case might be useful for various members of the healthcare system, working in the area of surgery. Tissue therapy demonstrated postoperative satisfactory results with no significant complications, fact that confirms the safety of this procedure.

Rezumat

Introducere. O nouă frontieră în tratamentul clinic al bolii combustionale este reprezentată de terapia tisulară. Mulți oameni renumiți în întreaga lume s-au folosit de această metodă de tratament care, anterior, era inaccesibilă tuturor, cunoscută sub denumirea de terapie tisulară. Din acest motiv, este pe deplin justificată preocuparea clinicienilor, dar mai ales a cercetării medicale din ultimele decenii, pentru găsirea unor soluții eficiente în obținerea unor substituenți tegumentari, cu ajutorul cărora să se înlocuiască pielea compromisă și să se mențină funcțiile de bază ale organismului uman, agreat.

Material și metode. Lucrarea a fost concepută ca un studiu prospectiv, descriptiv, a unui lot de 24 de pacienți cu arsuri de gr. IIIAB și IV, în tratamentul cărora s-a utilizat membrana amniotică în calitate de pansament biologic temporar (14 bărbați și 10 femei). Cazurile au fost distribuite în 2 eșantioane: eșantionul bolnavilor cărora li s-a aplicat pe locurile donore – 14 pacienți și eșantionul bolnavilor, cărora li s-a aplicat pe plăgi post-arsură, după debridare tangențială – 10 pacienți. Bolnavii au fost investigați conform standardelor naționale în vigoare.

Rezultate. Alotransplantul a purtat un caracter temporar, până la pregătirea satisfăcătoare a plăgii pentru autodermoplastie. S-a observat o accelerare a formării țesutului granular și, respectiv, a scurtării perioadei preoperatorii până la autodermoplastie, de la 10,2 zile în cazul tratamentului standard, cu repansări multiple, până la 6,5 zile, în cazul utilizării MA.

Concluzii. Membrana amniotică reprezintă un material de acoperire a plăgilor, accesibil din punctul de vedere al disponibilității, preparării și stocării. Fiind subțire și flexibilă, membrana amniotică este aplicată cu ușurință pe diverse suprafețe și aderă intim la patul plăgii.

Cuvinte cheie: arsură, substituent al pielii, membrană amniotică.

Introducere

Posibilitatea efectuării unui tratament cu ajutorul terapiei tisulare, care poate fi apoi folosită pentru acoperirea unor mari defecte tegumentare, reprezintă o remarcabilă realizare a cercetării medicale și ingineriei tisulare, pusă la îndemâna clinicienilor. Pornind de la faptul deja cunoscut, cel al capacității epitelului uman de a se reînnoi periodic, s-a căutat și s-a găsit o metodă prin care să se obțină regenerarea țesutului epitelial într-un timp relativ scurt, prin tehnici complexe de laborator, cunoscute, generic, sub denumirea de bioinginerie tisulară.

Un rol deosebit de important în realizarea unei apărări eficiente împotriva atacului factorilor externi îl constituie tegumentele, care reprezintă o barieră interpusă între organismul uman și mediul extern. Pielea este organul cel mai expus la agresiunea directă a factorilor din exterior, este un organ ce se reînnoiește rapid. În piele se conțin celulele stem regionale și ea dispune de posibilități înalte regeneratorii. Pielea a fost genetic înzestrată cu calități specifice, menite să confere o rezistență crescută la traumatism. Versalitatea tegumentului uman se manifestă, îndeosebi, printr-o mare capacitate de re-

Abstract

Introduction. A new frontier regarding clinical treatment of “combustion illness” is represented by tissue therapy. A lot of well known physicians around the world used this kind of treatment, which was previously inaccessible to ordinary people, known as tissue therapy. On these premises physician’s concern but mostly last decade’s medical research, regarding finding a suitable solution on obtaining new skin substituting materials which can replace the damaged skin and maintain the normal functioning of damaged human body, is fully justified.

Material and methods. The research was designed as a descriptive – prospective study – of a group of 24 patients with burns gr. IIIAB and IV was conducted, amniotic membrane as a temporary biological dressing was used (14 men and 10 women) in this treatment. The cases were divided into two groups: the group of patients AM was applied to donor sites skin – 14 patients and the group of patients AM was applied on post-burn wounds after tangential debridement – 10 patients. The patients were investigated in accordance with national standards.

Results. The allograft had a temporary character until wound adequate preparation for autodermoplasty. An acceleration of granulation tissue formation and respectively shortening of preoperative period until autodermoplasty from 10.2 days in case of standard treatment with multiple dressing to 6.5 days in case of MA use was observed.

Conclusions. Amniotic membrane is wound covering material accessible in terms of availability, preparation and storage. Being easy to apply, it is also flexible, making it possible for amniotic membrane to be applied to various surfaces. It has the property to adhere intimately to the wound bed and is easily removed from necessity.

Key words: burn, skin substituent, amniotic membrane.

Introduction

The possibility to perform treatment using tissue therapy which can then be used to cover large skin defects can be a remarkable achievement of medical research and tissue engineering for clinicians. Based on the already known fact, of human epithelium ability to renew periodically, a method to achieve regeneration of the epithelial tissue in a relatively short time via the complex laboratory techniques, known generically as the tissue bioengineering was searched and found.

An important role in achieving an effective defense against external factors attack pertains to teguments. This is the “barrier” interposed between body and external environment. Skin is the most exposed organ to direct aggression of external factors, an organ that renews quickly, containing regional stem cells and it has high regenerating possibilities. Skin was genetically endowed with specific qualities meant to confer increased resistance to traumatism. Versatility of human skin is manifested in particular by a high capacity for regeneration after directly trauma, but in some cases - serious trauma, deep burns, circulatory disorders – require special treatment. Re-

generare după traumatismele directe, însă, în unele cazuri – traumatismele grave, arsurile profunde, tulburările circulatorii – necesită un tratament special. Regenerarea se realizează, în fapt, prin vindecare (cicatrizare). Ca urmare a distrugerii integrității și continuității cutanate, apar defectele tegumentare. Acoperirea cât mai rapidă a defectelor cutanate a constituit întotdeauna o adevărată provocare pentru chirurghi, fie că acestea s-au produs prin traumatisme acute, fie că sunt secundare unor nozologii.

Terapia tisulară este o metodă eficientă, inovațională, de tratament a bolii combustionale și de întinerire a organismului, în genere. Deficitul de informații veridice a dezvoltat în jurul terapiei tisulare numeroase mituri și prejudecăți. Terapia tisulară sau de regenerare a permis obținerea rezultatelor clinice de o nouă calitate în diverse domenii ale medicinei: oncologie, traumatologie, ginecologie, hematologie, endocrinologie, cardiologie, obstetrică, neurologie și neurochirurgie etc. Baza terapiei tisulare este prezența în preparatele biologice folosite a celulelor stem, fibroblastelor, keratinocitelor, precum și substituenților țesutului cutanat.

Celulele stem sunt principiul de bază al organismului. Din ele derivă toate cele 240 de tipuri de celule specializate și țesuturi ale corpului. Un mare număr de celule stem se conțin în sângele din cordonul ombilical, în embrionul uman, în complexul placentar, în măduva osoasă a adulților. Principala caracteristică a acestora este capacitatea de autosusținere. Adică, celulele stem, teoretic, sunt veșnice. Sângele ombilical este sursa cea mai preferată de celule stem din multe puncte de vedere. În primul rând, nu există probleme etice, care interzic primirea acestuia. În al doilea rând, atrage facilitatea procedurii de selectare a mononuclearelor. Iar în al treilea rând, după conținutul celulelor stem și celulelor timpurii predecesori, acesta nu este mai puțin prețios decât măduva osoasă, dar după capacitatea proliferativă – este mai prețios. În plus, atunci când se compară compoziția celulelor din sângele periferic și cablul de sânge, au fost relevate diferențe semnificative în compoziția lor subpopulațională: în sângele din cordonul ombilical predomină celulele supresori neactivate, imature, ce exclude dezvoltarea conflictului dintre greșă și recipient.

Experiența mondială de utilizare a celulelor stem din cordonul de sânge în tratamentul arsurilor, patologiilor ereditare de celule din sânge și bolile de natură netumorală este destul de largă. După cum este raportat în multe lucrări, spectrul de activitate al celulelor stem nu este limitat la restaurarea sistemului de formare a sângelui, iar reacția organismului la introducerea preparatului nu este previzibilă. Un interes special îl reprezintă pansamentele sintetice și biologice, care se consideră a fi mai eficiente decât cele convenționale, deoarece asigură un microclimat mai corespunzător pentru vindecarea umedă a leziunii. Caracteristicile acestor pansamente cuprind protecția față de contaminare, flexibilitate mare, permit evaporarea apei, au prețuri mici și sunt ușor de aplicat. Unele dintre ele pot fi utilizate în calitate de proteză cutanată în urma excizării arsurii, pentru închiderea temporară a leziunii, până în momentul disponibilității unei cantități suficiente de autogrefă. Pansamentele sintetice sunt materiale fabricate de om, relativ ieftine, eficiente și ușor de depozitat. Există

generation is accomplished, in fact, by healing (cicatrization). Skin defects occur following skin integrity and continuity destruction. Skin defects rapid covering was always a challenge for surgeons, whether they were produced by acute trauma or by nosology.

Tissue therapy is an effective and innovative method of burning disease and body rejuvenation treatment in general. Scientific insufficient support of information developed around the tissue therapy numerous ignorant and prejudiced publications. Tissue or regeneration therapy allowed to obtain clinical outcomes by new quality in different areas of medicine: oncology, traumatology, gynecology, hematology, endocrinology, cardiology, obstetrics, neurology and neurosurgery etc. The base of tissue therapy is presence in the used biological compositions of stem cells, fibroblasts, keratinocytes and skin tissue substitutes.

Stem cells are the basic principle of the body they produce 240 specialized types of cells and tissues of the body. A large number of stem cells are contained in umbilical cord blood, in human embryos, placental complex in adult bone marrow. Their main feature is self-sustaining ability. That is, the stem cells are theoretically everlasting. Umbilical blood is the most preferred source of stem cells from different points of view. First, there is not ethical problems which prohibit receiving it, secondly – facilitating selection procedure of mononucleated cells, thirdly according to content of stem cells and early predecessor cells, it is not less precious than bone marrow but by proliferative capacity – it is more precious. Additionally comparing peripheral blood cells composition and cord blood significant differences in their subpopulation composition in umbilical cord blood non-activated suppressor, immature cells prevail were revealed which excludes transplant disease development against of the owner.

Worldwide experience of stem cells use from umbilical cord blood in the treatment of burns, hereditary pathologies of blood cells and non-tumorigenic diseases is quite wide, but, as shown in many works, the spectrum of activity of cells is not limited to restoration of blood forming system, the body's reaction to preparation introduction is not predictable. Special interest is paid to biological and synthetic dressings which are considered to be more efficient than conventional ones, because it provides a more suitable microclimate for lesion humid healing. Characteristics of these dressings include protection at contamination, high flexibility, allows water evaporation, they are low-priced and are easy to apply. Some of them can be used as prosthetic skin after burn excision for temporary closure of the lesion, to sufficient autografts quantity availability. Synthetic dressings are handmade materials relatively inexpensive, effective and easy to store. There are also a large number of bandages. They can be classified into films, foams, gels and compositions. Some of them are used as bandages in burns and as skin tissue substitutes. Biological bandages are natural tissues, usually comprising layers of collagen, elastin and lipids. These can be divided into allografts (human) and xenografts (animal). Perhaps according to autografts, they are the best bandages as possess the following characteristics: reduce water loss by evaporation, calorific

un număr mare de asemenea pansamente. Acestea pot fi clasificate în filme, spume, compoziții și geluri. O parte dintre acestea sunt utilizate atât ca pansamente în arsuri, cât și ca substituenți ai țesutului cutanat. Pansamentele biologice sunt țesuturi naturale, care conțin, de obicei, straturi de colagen, elastină și lipide. Acestea pot fi divizate în homogrefe (umane) și xenogrefe (animale). Probabil, după autogrefă, acestea sunt considerate a fi cele mai bune pansamente, deoarece posedă următoarele caracteristici: reduc pierderea apei prin evaporare, pierderea calorică și deshidratarea unei leziuni deschise, previn colonizarea, reduc numărul bacteriilor de pe suprafața leziunii și previn leziunea fizică a țesutului granular subiacent.

Homogrefa, heterogrefa și membrana amniotică au fost printre primii înlocuitori cutanați, folosiți temporar în terapia arșilor. Materialele respective au oferit unele funcții benefice: plaga arsă devine mai puțin dureroasă, diminuează pierderile lichidiene și proteice, zonele donatoare au timp să se re-epitelizeze, se reduce contaminarea externă și scade concentrația germinilor în plagă.

Dar, inițial, plaga trebuie debridată, deoarece umezeala și mediul cald al escarei sunt favorabile dezvoltării bacteriilor și conduc la infecția plăgii și pierderea completă de piele, în pofida pansamentului biologic.

Dacă plaga a fost debridată și rezultă un țesut granular curat, cu o concentrație a germenilor sub 10^5 per gram de țesut, pansamentul biologic poate ajuta la pregătirea patului pentru autogrefă. Similar, arsurile cu pierdere incompletă de piele pot fi tratate cu pansament biologic pentru asistarea vindecării. Dacă densitatea microbiană este mai mare de 10^5 per gram de țesut, pansamentul va fi schimbat la cel mult 8 ore (unii practicieni folosesc agenți topici antibacterieni, cu pansamente clasice frecvente, până la obținerea unei concentrații a germenilor satisfăcătoare). Dacă numărul bacteriilor este de 10^5 per gram de țesut, pansamentul va fi schimbat zilnic, iar dacă acesta este sub 10^5 per gram de țesut, pansamentul poate fi schimbat și la 2-3 zile, dacă nu există alte motive de a amâna autogrefarea.

Deoarece primul țel în terapia plăgii arse este transformarea unei plăgi deschise într-una închisă, printre criteriile alegerii pansamentului biologic menționăm: aderența la plagă, prevenirea pierderilor de lichide și căldură, protecția mecanică, evitarea infecțiilor bacteriene secundare, să fie netoxic, neantigenic și stabil în contact cu plaga. Membranele amniotice au fost utilizate cu succes ca și pansamente, dar au fost tolerate slab de către pacienți și nu sunt bune în prevenirea pierderii apei prin evaporare. Davis a utilizat membrana amniotică pentru prima dată în scopul pregătirii paturilor recipiente pentru grefarea pielii. Membranele extraembrionice fetale sunt compuse dintr-o membrană amniotică internă și o membrană externă, numită corion. După separarea componentelor membranelor, se observă o suprafață mezenchimală a membranei amniotice și a corionului, care constituie suprafața cu ajutorul careia membrana poate fi aplicată.

Membrana amniotică este un material disponibil și relativ ieftin, oferind, pe lângă stimularea unei rapide re-epitelizări în arsurile superficiale și promovarea epitelizării în arsurile cu pierderea completă de piele. Membrana este spălată cu hipo-

loss and dehydration of open lesions, prevent colonization, reducing the number of bacteria on lesions wound surface and prevent physical damage of granulation tissue underlying it. Homograft, heterograft and amniotic membrane were among the first artificial cutaneous temporarily use in burned therapy, these materials offer some beneficial functions: burned wound becomes less painful, reduces fluid and protein loss, donor sites have time for re-epithelialization, reduces external contamination and wound germ concentration in the wound.

Wound must be initially debrided because moisture and bedsores warm environment are favorable for bacterial growth and lead to wound infection and complete loss of skin despite biological bandage.

If wound was debrided and a clean granulation tissue with a concentration of germs less than 10^5 per gram of tissue resulted, biological bandage may help to prepare vessel bed for autograft. Similarly, burns with incomplete loss of skin can be treated with biological bandage to assist healing. If microbial concentration is greater than 10^5 per gram of tissue, bandage will be changed at least every 8 hours (some use topical antibacterial agents with frequent classical bandages until obtaining satisfactory concentration of germs). If concentration is 10^5 per gram of tissue, bandage will be changed every day, and if it is less than 10^5 per gram of tissue bandage may be changed every 2-3 days if there are no reasons to delay autograft. Since the first goal in wound burn therapy is transformation of open in closed wounds, between criteria for choosing biological dressing should be mentioned: adherence to wound, preventing fluid and heat loss, mechanical protection, avoidance of secondary bacterial infections, to be nontoxic, non antigenic and stable in contact with wound. Amniotic membranes were successfully used as dressing, but are poorly tolerated by patients and are not good in water loss by evaporation prevention. Davis used amniotic membrane for the first time to prepare beds containers for grafting skin. Fetal extra embryonic membranes are composed of inner amniotic membrane and outer membrane called chorion. After membranes components separation a mesenchymal surface of amniotic membrane and chorion is observed, which is the surface with which the membrane can be applied.

Amniotic membrane is easily available and relatively inexpensive provide besides a quick re-epithelialization in superficial burns and promote epithelialization in burns with complete loss of skin. Membrane is washed with 0.25% sodium hypochlorite, 200,000 units of penicillin and stored at 40°C up to 9 months, allowing access to a desired amount at any time. Amniotic membranes decrease pain, loss of fluid and proteins and protect uncured areas up to permanent coating layer application. The method of choice in medical practice is – autodermoplasty. However, this method has a significant disadvantage, namely new graft formation instead of wound sample take making impossible to use this technology in vast burns. For the treatment of deep burns and large areas that replace skin or accelerates grafts epithelialization auto transplantation. In different etiology diseases treatment cell therapy method gives positive results, even if diagnosis sounds like a verdict and disease is considered incurable.

clorit de sodiu 0,25%, penicilină 200.000 unități și stocată la 40°C până la 9 luni, permițând, astfel, accesul la o cantitate dorită în orice moment. Membranele amniotice scad durerea, pierderea lichidiană și cea de proteine, protejează suprafețele nevindecate până la aplicarea unui înveliș permanent.

Metoda de elecție în practica medicală o constituie autodermpoplastia. Însă, această metodă are un dezavantaj semnificativ și anume, formarea unei noi plăgi în locul prelevării grefei, făcând, astfel, imposibilă folosirea acestei tehnologii în arsurile vaste. În tratamentul bolilor de diferită etiologie, metoda de terapie celulară oferă rezultate pozitive.

În rezultatul dezvoltării biotehnologiilor, a apărut posibilitatea creșterii pe medii de cultură, în condiții de laborator, a keratinocitelor, cu ulterioara transplantare pe plăgile granulante (Green H., Rheinwald J., 1979).

Material și metode

Pe parcursul anilor 2015-2016, în Centrul Republican de Leziuni Termice al Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie, s-a efectuat un studiu descriptiv, prospectiv, pe o serie de 24 de pacienți cu arsuri de gr. IIIAB și IV, în tratamentul cărora s-a utilizat membrana amniotică (MA) în calitate de pansament biologic temporar (14 bărbați și 10 femei). La 14 pacienți, MA s-a aplicat pe locurile donore de piele, iar la 10 dintre ei – pe plăgi post-arsură, după debridare tangențială. Lotul martor a inclus 32 de bolnavi cu arsuri de gr. II-III-IV, extinse pe o suprafață corporală între 5% și 60%. Arsurile de gr. II au fost tratate cu pansamente simple, îmbibate cu sol. Betadină 10%, pansamente atraumatice și unguente hidrosolubile. Pansamentele, îmbibate cu sol. Betadină diluată 1:1, se aplicau nemijlocit pe plăgile pacienților, cărora li s-au efectuat plastii cutanate, zona donatorie fiind îngrijită tradițional, cu pansamente aseptice.

Rezultate

Conform profunzimii leziunii termice, distribuția persoanelor a fost următoarea: 4 (16,7%) – arsuri de gr. IIIA, 10 (41,7%) – arsuri de gr. IIIAB, 8 (33,3%) – arsuri de gr. IIIB-IV și 2 (8,3%) – arsuri de gr. IV. (Figura 1).

Aplicarea membranei amniotice s-a efectuat pe plăgile post-arsură, după debridarea tangențială în 10 cazuri, dintre care, în 8 cazuri, arsura a fost de gr. III și în 2 cazuri – de gr. IV.

Alotransplantul a purtat un caracter temporar, până la pregătirea satisfăcătoare a plăgii pentru autodermpoplastie. S-a observat o accelerare a formării țesutului granular și, respectiv, a scurtării perioadei preoperatorii până la autodermpoplastie de la 10,2 zile, în cazul tratamentului standard, cu repansări multiple, până la 6,5 zile, în cazul utilizării MA. La fel, a fost influențată și durata de spitalizare a pacienților respectivi, cu scurtarea ei de la o medie de 21,3 zile, în cazul pacienților tratați prin metodele standard, până la 17,5 zile, la pacienții tratați cu MA.

Distribuția pacienților internați, conform grupelor de vârstă, a fost următoarea: 21-45 de ani – 22 (68,7%) de pacienți, 45-60 de ani – 7 (21,8%) pacienți, peste 60 de ani – 3 (9,3%) pacienți (Figura 2).

Distribuția pacienților după gradul arsurilor superficiale și

As a result of biotechnologies development, there was the possibility of laboratory keratinocytes production on culture media (Green H., Rheinwald J., 1979) with subsequent transplanting on granulate wounds.

Material and methods

During 2015-2016 in Republican Center of Themic Lesions, Clinical Hospital of Traumatology and Orthopedics, was performed a prospective, descriptive study on a group of 24 patients with burns gr. IIIAB and IV. The amniotic membrane (MA) as a temporary biological dressing was used (14 men and 10 women) in this treatment. In 14 patients, MA was applied to donor sites skin, but in 10 of them on post-burn wounds after tangential debridement. Control group included 32 patients with burns of II-III-IV groups estimated between 5% and 60% of body surface, II group wound being treated with simple dressings of 10% Betadine solution, atraumatic dressings and water-soluble ointments. Dressings soaked with Betadine solution diluted 1:1 are applied directly to wounds of patients who undertook skin plasty, donor surface being cared with traditional aseptic dressings.

Results

Percentage distribution of examined person from group I after the throughout depth of thermal injury: 4 (16.7%) presented the third degree burns of IIIA group, 10 (41.7%) – IIIAB group of burns 8 (33.3%) – IIIB-IV group of burns, 2 (8.3%) burns of IV group (Figure 1).

Application of amniotic membrane was performed on post-burn wounds after tangential debridement in 10 cases, where from eight cases of III degree burn and 2 cases of group IV.

The allograft had a temporary character until wound adequate preparation for autodermplasty. An acceleration of granulation tissue formation and respectively shortening of preoperative period until autodermplasty from 10.2 days in case of standard treatment with multiple dressing to 6.5 days in case of MA use was observed. Hospitalization period of patients was also influenced with its shortening from average length of 21.3 days for patients treated by standard methods to 17.5 days for patients for whom MA treatment was used.

Distribution of patients admitted to hospital by age, was the following: 21-45 years – 22 (68.7%) patients, 45-60 years – 7 (21.8%) patients over 60 – 3 (9.3%) patients (Figure 2).

Superficial burns of II-III group – 10 (31.2%) patients, profound IIIB-IV group 22 (68.7%) – patients. So, among the examined patients the third degree burns prevailed only those of III B-IV, but those with superficial lesion of II, IIIA degree had a low percentage (Figure 3).

Percentage distribution of individuals examined in group II by total area of thermal injury: in 6 (18.7%), they constituted up to 5%, to 10 (31.2%) amounted to 10% burns, 13 (40.6%) – burns up to 20% of body surface, 2 (6.2%) to 30% of body 1 (3.1%) more than 30% of body surface (Figure 4).

In 14 cases, MA was used on donor areas of autograft, where 11 thigh location cases, but in 3 cases on trunk, but in one of these patients was used, and on remaining granulating wounds. In case of application to donor wound an accelera-

profunde a fost următoarea: arsuri superficiale, gr. II-III A – 10 (31,2%) pacienți; arsuri profunde, gr. III B-IV – 22 (68,7%) de pacienți. Așadar, printre bolnavii examinați, au predominat cei cu arsuri de gradul III B-IV (Figura 3).

Distribuția procentuală a persoanelor din lotul martor, în funcție de suprafața totală a leziunii termice a fost următoarea: 6 (18,7%) pacienți – până la 5%, 10 (31,2%) pacienți au avut suprafața arsă până la 10%; 13 (40,6%) pacienți au avut arsă până la 20% din suprafața corpului, iar 2 (6,2%) – până la 30%. Un pacient (3,1%) a fost ars pe mai mult de 30% din suprafața corpului (Figura 4).

În 14 cazuri, MA s-a utilizat pe zonele donore de autogrefă, dintre care, în 11 cazuri cu localizare pe coapsă, iar în 3 cazuri – pe trunchi; la unul dintre pacienți, MA s-a aplicat și pe plăgi granulare restante. În cazul aplicării pe plăgile donore, s-a observat o accelerare a procesului de epitelizare și, în rezultat, o închidere mai precoce a plăgii, concomitent cu reducerea complicațiilor septică și eliminarea necesității pansamen-

tion of epithelialization process was observed and resulted in earlier wound closure, concurrently with septic complications reduction and the need of post-operative dressings' elimination. MA is applied to wound after removing the blood and covered with atraumatic dressing. It adheres intimately to wound bed and detaches when wound is completely epithelialized. In patients to whom donor bed membrane was applied faster regeneration in average 7 days was observed compared to the patients treated with standard method, where regeneration occurred for 12.4 days. Simultaneously decrease in dolor syndrome intensity in the postoperative period was observed. Considering the fact that MA is applied only once and remains on the wound throughout postoperative period, patient discomfort and cost of consumables reduction due to need for repeated dressing changes elimination was highlighted. Applying MA as temporary dressing of granular wound, amniotic foil was protection barrier of granulations against injuries, shear forces and fluid loss.

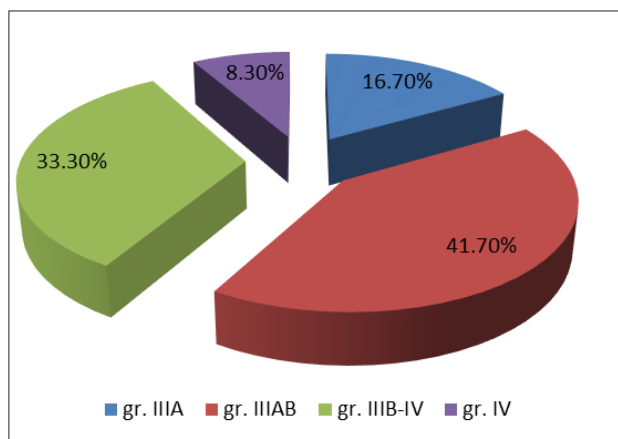


Fig. 1 Utilizarea membranei amniotice în diverse grade ale arsurilor.

Fig. 1 Use of amniotic membranes in various degrees of burns.

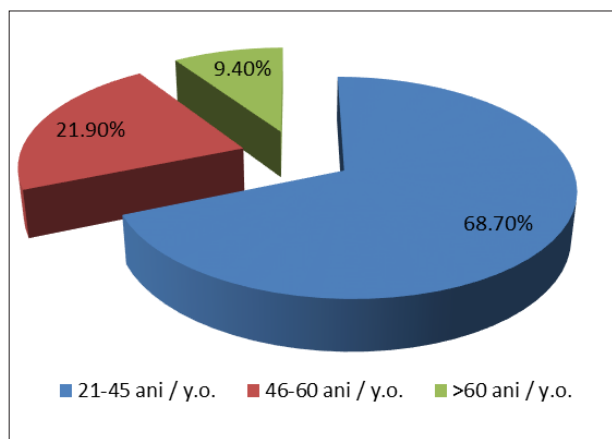


Fig. 2 Repartizarea pacienților pe grupuri de vârstă.

Fig. 2 Patients repartition by age groups.

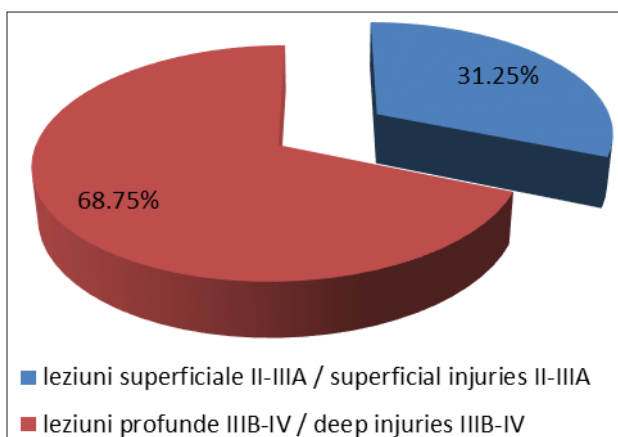


Fig. 3 Repartiția pacienților după gradul arsurilor superficiale și profunde (%).

Fig. 3 Patients distribution by superficial and deep burns degree (%).

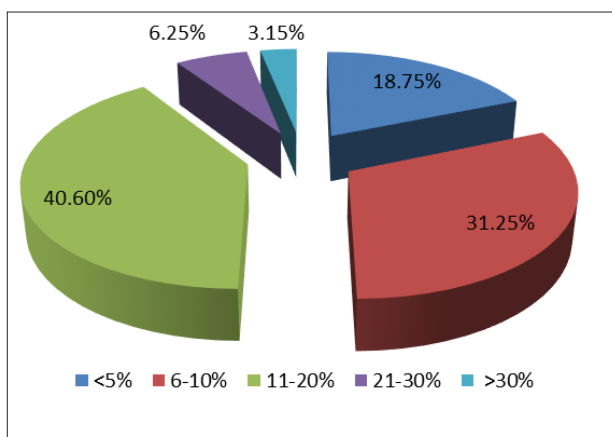


Fig. 4 Repartiția pacienților după suprafața totală de afectare prin arsuri (%).

Fig. 4 Patients distribution by total burn area (%).

telor postoperatorii. MA se aplică pe plagă după înlăturarea sângelui și se acoperă cu pansament atraumatic. Ea aderă intim la patul plăgii și se detașează odată ce plaga este complet epitelizată. La pacienții cărora li s-a aplicat membrană amniotică pe patul donator, s-a observat o regenerare mai rapidă, în mediu, de 7 zile, comparativ cu pacienții tratați prin metoda standard, la care regenerarea a survenit timp de 12,4 zile. Concomitent, s-a observat și o scădere a intensității durerii postoperatorii.

Deoarece MA se aplică o singură dată și rămâne pe plagă pe toată perioada postoperatorie, s-a evidențiat și reducerea disconfortului pacientului și a costului consumabilelor medicale, datorită evitării pansamentelor repetate. La aplicarea MA în calitate de pansament temporar al plăgilor granulare restante, foia amniotică a jucat rolul unei bariere de protecție a granulației contra traumatismelor, forțelor de forfecare și a pierderilor de lichid.

În 3 cazuri s-a constatat rejectarea MA din cauza prezenței *Stafilococcus aureus* pe plăgile granulare.

Discutii

Beneficiile de bază a utilizării MA în tratarea suprafețelor arse au fost: reducerea intensității durerii, scăderea ratei de infecții, diminuarea pierderilor de electroliți, proteine și apă la nivelul plăgii post-arsură. La fel, s-a ameliorat proprietatea de barieră mecanică de protecție contra forțelor de forfecare, traumatismelor minore a plăgilor. La folosirea MA pe plaga debridată în arsurile de gr. IIIB, se stimulează producerea țesutului granular într-un timp mai scurt, ceea ce face posibil mai rapid de a acoperi definitiv plaga cu autogrefă de piele. În cazul plăgilor cu arsuri de gr. IIIA, MA accelerează epitelizarea. La utilizarea MA în calitate de pansament biologic a locului donator de autogrefă, se ușurează epitelizarea plăgii, cu constituirea unui epiteliiu nou, mai subțire și mai fin, decât în cazul tratamentului standard.

Concluzii

- 1) Membrana amniotică reprezintă un material de acoperire a plăgilor accesibil din punct de vedere al disponibilității, preparării și stocării. Fiind subțire și flexibilă, membrana amniotică este ușor aplicabilă pe diverse suprafețe, aderă intim la patul plăgii și este ușor înlăturată la necesitate.
- 2) Beneficiile de bază sunt scăderea intensității durerii, ratei de infecții și diminuarea pierderilor de electroliți, proteine și apă la nivelul plăgii post-arsură. La fel, manifestă o proprietate de barieră mecanică de protecție contra forțelor de forfecare, traumatismelor minore ale plăgilor.
- 3) La folosirea pe plaga debridată cu arsură de gr. IIIB, membrana amniotică stimulează producerea țesutului granular într-un timp mai scurt, ceea ce face posibil mai rapid de a acoperi definitiv plaga cu autogrefă de piele, iar în plăgile arse de gr. IIIA, se accelerează epitelizarea și regenerarea, cu formarea unui țesut mai subțire și mai fin decât în cazul tratamentului standard.

Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

In 3 cases, MA rejection was determined due to *Staphylococcus aureus* present on granulating wounds as a result of poor drain.

Discussion

Basic benefits are lowering dolor syndrome, decrease of infection rate, electrolytes loss, proteins and water reduction from wound post burning. The same is protection of mechanical barrier property against shear forces, minor trauma wounds. Using on debrided wound of IIIB group stimulates production of granulation tissue in lesser time period, making possible to cover quicker definitely wound with autograft skin, and on wounds of IIIA group this leads to promote epithelialization reducing regeneration time. Using as biological dressing of autograft donor site this promote wound epithelialization with new epithelium establishment thinner and smoother than the standard therapy.

Conclusions

- 1) Amniotic membrane is wound covering material accessible in terms of availability, preparation and storage. Being easy to apply, it is also flexible, making it possible for amniotic membrane to be applied to various surfaces. It has the property to adhere intimately to the wound bed and is easily removed from necessity.
- 2) Basic benefits lower dolor syndrome, decrease rate of infection, reduce electrolytes, proteins and water loss from the wound post burn. The same is mechanical barrier property of protection against the shear forces, minor trauma wounds.
- 3) Using debrided wound of IIIB group stimulates production of granulation tissue in less time, making it possible to quickly cover wound with skin autograft permanently, and in IIIB wounds this leads to promoting epithelialization reducing regeneration time. Using as biological dressing the autograft donor site promotes epithelialization of wound with new thinner and smoother epithelium establishment than the standard therapy.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

Authors' contribution

All authors equally contributed to the elaboration and writing of the manuscript. All authors have read and accepted the final version of the article.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit la elaborarea și scrierea manuscrisului. Toți autorii au citit și aprobat versiunea finală a manuscrisului.

Referinte / references

- 1) Hadjiinski O., Anatasov N., Amniotic membrane for temporary burn coverage. http://www.medbc.com/annals/review/vol_9/num_2/text/vol9n2p88.htm
- 2) Alvin Wen Choong Chua, Yik Cheong Khoo, Bien Keem Tan. Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications. *Burns and Trauma*, 2016; 4: 3. <https://doi.org/10.1186/s41038-016-0027-y>
- 3) Mohammadi A., Mohammadi M. How does human amniotic membrane help major burn patients who need skin grafting: New experiences. <http://www.intechopen.com/books/skin-grafts-indications-applications-and-current-research/how-does-human-amniotic-membrane-help-major-burn-patients-who-need-skin-grafting-new-experiences>.
- 4) Andonovska D., Dzokic G., Spasevska L. The advantages of the application of amnion membrane in the treatment of burns. <http://www.manu.edu.mk/prilozi/14and.pdf5>) Loeffelbein D., Rohleder N., Eddicks M. *et al.* Evaluation of human amniotic membrane as a wound dressing for split-thickness skin-graft donor sites. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4070483/>.
- 6) Michael D. Caldwell. Wounds and Wound Management. Editura Saunders, 2010.
- 7) Eskandarlou M., Azimi M, Rabiee S. The healing effect of amniotic membrane in burn patients. http://www.wjps.ir/files/site1/user_files_c1050c/mehdieskandarlou-A-10-65-2-ddc57b1.pdf.

ARTICOL DE SINTEZĂ

Rolul indicilor de laborator în diagnosticul torsiunii ovariene (revista literaturii)

Cornelia Lazăr⁺¹, Ana Mișina⁺², Olga Tagadiuc⁺¹

¹Catedra de biochimie și biochimie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Secția de ginecologie chirurgicală, Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 29.01.2018

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Cornelia Lazăr, asist. univ., doctorand

Catedra de biochimie și biochimie clinică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

str. Nicolae Testemițanu 27, bloc 1, Chișinău, Republica Moldova, MD-2025

e-mail: cornelia.lazar@usmf.md

REVIEW ARTICLE

The role of laboratory indices in the diagnosis of ovarian torsion (review article)

Cornelia Lazăr⁺¹, Ana Misina⁺², Olga Tagadiuc⁺¹

¹Chair of biochemistry and clinical biochemistry, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Department of surgical gynecology, Mother and Child Institute, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 29.01.2018

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Cornelia Lazăr, assist. prof., PhD fellow

Chair of biochemistry and clinical biochemistry

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

27, Nicolae Testemitanu str., building 1, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2025

e-mail: cornelia.lazar@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Cu toate că torsiunea ovariană, fiind o urgență medicală, a antrenat o mulțime de cercetători în elaborarea anumitor algoritmi de diagnostic cât mai rapid, sunt frecvente cazurile când acest diagnostic nu este stabilit corect sau este unul tardiv, existând o carență a markerilor specifici, sensibili și precoce, ai stării patologice respective.

Ipoteza de cercetare

Identificarea, în literatura științifică contemporană, a indicilor de laborator utili asigurării diagnosticului corect și în termen optim de torsiune ovariană.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

A fost evidențiat rolul unor parametri de laborator în precizarea diagnosticului de torsiune de ovar.

What is not known yet, about the topic

Although ovarian torsion, being a medical emergency, has involved a lot of researchers to develop some diagnostic algorithms as quickly as possible, it is common for this diagnosis not to be properly determined or to be established late, being a deficiency of specific, sensitive and early markers of the respective pathological condition.

Research hypothesis

Identification in the contemporary scientific literature of useful laboratory indices to ensure the correct and in a good time diagnosis of ovarian torsion.

Article's added novelty on this scientific topic

The role of some laboratory parameters in the diagnosis of ovarian torsion diagnosis was highlighted.

Rezumat

Introducere. Torsiunea ovariană este o patologie care trebuie diagnosticată corect și rapid. Starea se încadrează în urgențele ginecologice care pot determina diferite complicații, inclusiv, deces. Deoarece aceasta nu poate fi întotdeauna exclusă prin examen clinic și prin metode imagistice, este necesară antrenarea altor investigații care ar susține sau ar exclude afecțiunea și ar determina un management corect din partea medicului.

Abstract

Introduction. Ovarian torsion is a pathology that must be diagnosed correctly and quickly, fitting into gynecological emergencies that can cause various complications, including death. Because it can not be excluded by clinical examination and imaging, it is necessary to know other investigations that would support or exclude the disease and would lead to proper management by the physician.

Material și metode. A fost cercetată literatura de specialitate referitoare la torsiunea ovariană, din anul 2010 până în 2017, din baza de date PubMed, utilizându-se următoarele cuvinte cheie: „*ovarian torsion*”, „*adnexal torsion*”.

Rezultate. În torsiunea ovariană, care are manifestări clinice nespecifice, nu întotdeauna metodele imagistice pot exclude sau confirma diagnosticul. Fiind o problemă de sănătate care poate fi întâlnită la orice vârstă, necesită o bună cunoaștere pentru a exclude potențialele efecte negative ale unui diagnostic tardiv. Se menționează că, laparoscopia ar asigura diagnosticul corect, însă trebuie evaluate și potențialele riscuri ale intervenției, mai ales, când procedura este efectuată femeilor însărcinate. Astfel, s-au găsit informații științifice importante care reflectă aplicabilitatea indicilor de laborator în aprecierea diagnosticului de torsiune ovariană. Au fost selectate 37 de articole care au fost incluse în bibliografia finală.

Concluzii. Diagnosticul torsiunii ovariene, ca și în oricare altă patologie, se stabilește în baza anamnezei, datelor clinice și celor paraclinice. Datele anamnezei și ale examenului clinic sunt nespecifice și pot face dificilă stabilirea diagnosticului. Rezultatele investigațiilor imagistice pot fi neclare. Respectiv, posibilitatea de a testa anumiți indici de laborator ar fi utilă pentru luarea deciziei finale, cu un rezultat cât mai bun. În literatură sunt date despre diferiți markeri biochimici care ar ajuta medicul să ia o decizie corectă. Totuși, o parte dintre aceștia sunt insuficient studiați, iar utilitatea lor în practica clinică urmează a fi demonstrată.

Cuvinte cheie: torsiune ovariană, torsiune anexială, markeri biochimici.

Introducere

Orice situație, în care se întrerupe vascularizarea unui organ este periculoasă, iar intervenția cât mai rapidă a medicului este foarte importantă atât pentru păstrarea adecvată a structurii, cât și pentru asigurarea unei funcționări ulterioare adecvate.

Torsiunea ovariană este o rotire totală sau parțială a ovarului, trompei uterine sau a ambelor în jurul axei lor vasculare, care, pentru soluționare, necesită intervenție chirurgicală promptă, cu scopul restabilirii unei circulații adecvate [1]. Fluxul sangvin venos este afectat primul, urmat de compromiterea fluxului arterial, ceea ce duce la congestie, edem, ischemie și, în cele din urmă, la necroză [2]. În cazurile în care afecțiunea este diagnosticată precoce, ovarul poate fi detorsionat, iar activitatea acestuia se poate restabili [3].

Printre urgențele ginecologice, torsiunea ovariană ocupă locul cinci, cu o prevalență de 2,7% [3-6] până la 3% [3, 4], întâlnindu-se la orice vârstă [6, 7]. Ovarile sănătoase se pot roti în jurul axei lor cu o incidență ce variază de la 16% până la 49% [8]. Se estimează că 70-80% dintre cazuri se înregistrează la femeile de vârstă reproductivă, iar 12-25% dintre femeile cu torsiune sunt însărcinate [7]. În sarcină, afecțiunea are o incidență de, aproximativ, 1-10/1000 sarcini [9] până la 1/5000 sarcini [10], conform diferitor surse. Incidența afecțiunii la femeile cu vârsta sub 20 de ani este de 4,9/100,000 [5, 6, 8, 11, 12], iar la

Material and methods. It has been researched the specialized literature on ovarian torsion, from 2010 to 2017, from the PubMed database, using the following keywords: „*ovarian torsion*”, „*adnexal torsion*”.

Results. In ovarian torsion, which has non-specific clinical manifestations, imaging methods can not always exclude or confirm the diagnosis. Being a health problem that can be encountered at any age, it requires good knowledge to rule out the potential negative effects of a late diagnosis. It is mentioned that laparoscopy would assure the correct diagnosis, but the potential risks of the intervention should be evaluated, especially when the procedure is performed on pregnant women. Thus, important scientific information has been found that reflects the applicability of laboratory indices in assessing the ovarian torsion diagnosis. 37 articles were selected and included in the final bibliography.

Conclusions. Diagnosis of ovarian torsion, as well as other pathologies, is based on anamnesis, clinical and paraclinical data. Anamnesis and clinical examination data may be non-specific and can make it difficult to establish the diagnosis. The results of imaging investigations may be unclear, requiring the knowledge of laboratory indices that would be useful in making the final decision with the best possible result. Various biochemical markers are available in the literature to help the doctor make the right decision. However, some of these are insufficiently studied, and their utility in clinical practice is to be demonstrated.

Key words: ovarian torsion, adnexal torsion, biochemical markers.

Introduction

Any situation in which an organ's vascularization is interrupted is dangerous, and the physician's prompt intervention is very important both for proper maintenance of the structure and for proper subsequent functioning.

Ovarian torsion is a complete or partial rotation of the ovary, the fallopian tube or both around their vascular axis, which, for resolution, requires prompt surgical intervention to restore adequate circulation [1]. Venous blood flow is affected first, followed by compromise of arterial flow, leading to congestion, edema, ischemia, and ultimately to necrosis [2]. In cases where the disease is diagnosed early, the torsion of the ovary can be removed and its activity may be restored [3].

Among gynecological emergencies, ovarian torsion ranks fifth, with a prevalence of 2.7% [3-6] to 3% [3, 4], encountering at any age [6, 7]. Healthy ovaries can rotate around their axis with an incidence ranging from 16% to 49% [8]. It is assessed that 70-80% of cases appear in women of reproductive age and 12-25% of women with torsion are pregnant [7]. In pregnancy, the disorder has an incidence of about 1-10/1000 pregnancies [9] to 1/5000 pregnancies [10], according to different sources. The incidence of the disease in women under the age of 20 is 4.9/100,000 [5, 6, 8, 11, 12], and in the pediatric group frequently twists the healthy ovaries [8], more than 50% of the patients with torsion aged under 15 having nor-

grupul pediatric se torsiunează frecvent ovarele sănătoase [8]. Mai mult de 50% dintre pacientele cu torsiune cu vârsta sub 15 ani au avut ovare normale [13]. La adulți, torsiunea este frecvent legată de un ovar anormal (chistadenom benign, sindromul de hiperstimulare ovariană, sindromul ovarului polichistic etc.) [14].

Se cunoaște faptul că torsiunea ovariană reprezintă o urgență ginecologică [11, 15], a cărei rezolvare cu succes este determinată de momentul precizării diagnosticului și de timpul intervenției.

Diagnosticul este dificil, deoarece prezentarea clinică este variabilă și adesea înșelătoare [3]. Durerea este cea mai frecventă acuză în torsiunea ovariană [6-8, 16], cu debut acut [6, 17, 18], de obicei, localizată unilateral [6, 7], în cadranul abdominal inferior [7]. Însă, durerea poate fi și episodică într-o torsiune intermitentă [19]. Alte simptome sunt greață, vomă, febră [3, 8, 17, 18, 20], simptome urinare inferioare (disurie, retenție urinară), sensibilitate și sângerare vaginală [20], iar într-o torsiune prelungită, anexa se poate necrotiza și chiar infecta, determinând apariția semnelor peritoneale [18]. Febra, de obicei, indică necroza ovariană [2, 4].

Durerea pelviană acută este un simptom care este departe de a fi specific doar torsiunii ovariene, iar atunci când apare la femeile care nu sunt însărcinate, aceasta sugerează o gamă largă de diagnostice ginecologice și gastrointestinale [14], diagnosticul diferențial incluzând apendicita, colecistita, boala inflamatorie pelvină, ruptură de chist benign anexial, calculi în sistemul urinar [3], sarcina ectopică, colita [18] etc. Astfel, intervenția poate fi întârziată din cauza manifestărilor clinice nespecifice ale bolii [19, 20].

Un diagnostic cât mai rapid este esențial pentru a preveni pierderea anexei sau ovarului [3], deoarece durerea care durează mai mult de 10 ore este asociată cu dezvoltarea necrozei [5, 16]. Totuși, o durată a ischemiei care ar provoca schimbări ireversibile nu este cunoscută [2].

În diagnosticul torsiunii ovariene, investigațiile imagistice de primă alegere sunt cele ultrasonografice [2, 21]. Ultrasonografia transvaginală este una dintre primele investigații recomandate [14]. Absența fluxului sangvin indică torsiunea [2]. Totuși, în cele mai multe studii, precizia diagnosticului ultrasonografic preoperator este de numai 23-66% [3], iar prezența vascularizării anexei, determinată prin imagistica Doppler, nu exclude diagnosticul de torsiune [8, 22, 23]. Ovarurile care apar fără modificări pe ecografie pot duce la întârzierea diagnosticării torsiunii ovariene [8]. Alte investigații complementare, cum ar fi tomografia computerizată (CT) sau rezonanța magnetică nucleară (RMN) sunt menționate a fi aplicate în practica clinică [2, 10]. Totuși, CT are o sensibilitate scăzută și nu este recomandată în torsiunea anexială [2]. RMN are avantajul că poate vizualiza fazele incipiente ale edemului ovarian și infarctului hemoragic [10], dar este nespecifică, neputând evalua fluxul sangvin spre ovar [2]. Pe lângă acestea, CT și RMN mai au dezavantajul că sunt investigații costisitoare și nu pot fi efectuate în oricare centru medical sau department de urgență.

Diagnosticul definitiv poate fi făcut numai prin explorare chirurgicală [4, 24], metodele imagistice putând oferi doar

mal ovaries [13]. In adults, the torsion is frequently associated with an abnormal ovary (benign cystadenoma, ovarian hyperstimulation syndrome, polycystic ovary syndrome etc.) [14].

It is known that ovarian torsion represents a gynecological emergency [11, 15], whose successful resolution is related to the time of the diagnosis and the time of the intervention.

Diagnosis is difficult because clinical presentation is variable and often misleading [3]. Pain is the most frequent complaint in ovarian torsion [6, 8, 16], with acute onset [6, 17, 18], usually located unilaterally [6, 7], in the lower quadrant [7]. However, the pain can also be episodic in an intermittent torsion [19]. Other symptoms include nausea, vomiting, fever [3, 8, 17, 18, 20], lower urinary symptoms (dysuria, urinary retention), tenderness and vaginal bleeding [20], and in a prolonged torsion, the adnexa can be necrotic and even infected, causing the appearance of peritoneal signs [18]. Fever usually indicates ovarian necrosis [2, 4].

Acute pelvic pain is a symptom that is far from specific to ovarian torsion only, and when it occurs in non-pregnant women, it suggests a wide range of gynecological and gastrointestinal diagnoses [14], differential diagnosis including appendicitis, cholecystitis, pelvic inflammatory disease, ruptured benign adnexal cysts, urinary system calculi [3], ectopic pregnancy, colitis [18] etc. Thus, intervention may be delayed due to non-specific clinical manifestations of the disease [19, 20].

An early diagnosis is essential to prevent loss of adnexa or ovary [3], because the pain lasting more than 10 hours is associated with the development of necrosis [5, 16]. However, a duration of ischemia that would cause irreversible changes is not known [2].

In the diagnosis of ovarian torsion, the first choice imaging investigations are the ultrasounds [2, 21]. Transvaginal ultrasonography is one of the first recommended investigations [14]. The absence of blood flow indicates torsion [2]. However, in most studies, the accuracy of the preoperative ultrasonographic diagnosis is only 23-66% [3] and the presence of the vascularization of the adnexa determined on the Doppler imaging does not exclude torsion diagnosis [8, 22, 23]. The ovaries without changes on ultrasound may lead to delayed diagnosis of ovarian torsion [8]. Other complementary investigations such as computed tomography (CT) or nuclear magnetic resonance (MRI) are reported to be applied in clinical practice [2, 10]. However, CT has a low sensitivity and is not recommended in the adnexal torsion [2]. MRI has the advantage of being able to visualize the incipient stages of ovarian oedema and haemorrhagic infarction [10] but is unspecific, unable to assess blood flow to the ovary [2]. In addition, CT and MRI still have the disadvantage that they are costly investigations and can not be performed in any medical center or emergency department.

Final diagnosis can only be done by surgical exploration [4, 24], imaging methods can only provide suggestive data for torsion [24]. Very interesting is the fact that in about 56% of patients operated with this diagnosis, torsion was not determined [17]. Thus, the "gold standard" in the diagnosis of ovarian torsion is laparoscopy [15, 20]. However, only in 10-44% of cases with this pre-diagnosis is confirmed the torsion [15],

date sugestive pentru torsiune [24]. Foarte interesant este faptul că, la aproximativ 56% de paciente operate având acest diagnostic, nu a fost determinată torsiunea [17]. Astfel, „standardul de aur” în diagnosticul torsiunii ovariene este laparoscopia [15, 20]. Însă, doar în 10-44% de cazuri cu acest diagnostic prezumtiv se confirmă torsiunea [15], de aceea, când se decide a se apela la chirurgie, trebuie luate în considerație efectele adverse ale acesteia, mai ales dacă urmează a fi efectuată femeilor însărcinate [9].

Un diagnostic incorect și un tratament întârziat pot avea consecințe asupra fertilității, pot duce la dezvoltarea peritonitei și chiar se poate solda cu moarte [18, 25], ca și consecință a tromboflebitei pelviene [26].

Luând în considerație cele menționate, cercetători din întreaga lume încearcă să găsească indici de laborator care ar ajuta la diagnosticarea torsiunii. Acest articol are rolul de a prezenta cele mai recente descoperiri în domeniu care ar susține diagnosticul de torsiune ovariană și ar orienta medicii spre un tratament corect.

Material și metode

A fost cercetată literatura de specialitate referitoare la torsiunea ovariană, din anul 2010 până în 2017, din baza de date PubMed, utilizându-se următoarele cuvinte cheie: „*ovarian torsion*”, „*adnexal torsion*”. Au fost selectate articolele care conțineau informații despre diagnosticul torsiunii ovariene. S-au luat în considerație și articolele care prezentau rezultatele cercetărilor experimentale preclinice referitoare la indicii de laborator care ar ajuta la precizarea diagnosticului.

Rezultate

Într-un proces inflamator din organism, leucocitele sangvine sunt un parametru important, numărul acestora crescând și în torsiunea ovariană [25]. Leucocitoza este o manifestare nespecifică [3, 10, 20], întâlnită, după diferite surse, la 27-50% [18], 20-56% de paciente cu torsiune [2], inclusiv, la gravide [9]. Leucocitoză este, de obicei, ușoară [6, 7, 18], fiind determinată, după datele unor cercetători, de necroza anexei cu asocierea infecției [20]. Însă, în torsiune, numărul leucocitelor este mai mic decât în apendicita acută [18], fiind un element al diagnosticului diferențial.

Mult mai util în evaluarea torsiunii ovariene este menționat raportul neutrofile-limfocite (NLR). În acest context, am identificat două studii care au cercetat NLR. Se specifică faptul că NLR este un indice inflamator important, ieftin și care în cazuri de urgență poate fi obținut rapid [25]. NLR poate avea valoare diagnostică și poate ajuta chirurgii în procesul de luare a deciziilor, permițând o intervenție chirurgicală în timpi adecvați, cu păstrarea ovarelor, deoarece s-a constatat că NLR a fost mai mare la pacientele cu necroză ovariană [27].

Astfel, în studiul retrospectiv caz-control și de diagnostic, efectuat de Yilmaz M. și coaut., ce a inclus 44 de paciente cu torsiune ovariană și 92 de paciente în grupul de control, s-a stabilit că numărul de neutrofile la pacientele cu chist ovarian torsionat s-a majorat semnificativ, comparativ cu cel al grupului de control, iar numărul de limfocite a scăzut [27].

therefore, when there is to decide to perform surgery, its adverse effects should be considered, especially if it is to be done on women pregnant [9].

An incorrect diagnosis and delayed treatment may have consequences on fertility, may lead to the development of peritonitis, and may even lead to death [18, 25] as a consequence of pelvic thrombophlebitis [26].

Considering the above, researchers from all over the world are trying to find laboratory indices that would help diagnose the torsion. This article aims to present the latest findings in the field that would support the diagnosis of ovarian torsion and guide doctors to correct treatment. The identified markers are presented in the Results chapter.

Material and methods

It has been researched the specialized literature on ovarian torsion, from 2010 to 2017, from the PubMed database, using the following keywords: „*ovarian torsion*”, „*adnexal torsion*”. Articles containing information about ovarian torsion diagnosis were selected. There were considered also the articles presenting the results of preclinical experimental research on laboratory indices that would help to establish the diagnosis.

Results

In an inflammatory process in the body, blood leukocytes are an important parameter, their number also increasing in ovarian torsion [25]. Leukocytosis is a nonspecific manifestation [3, 10, 20], found, by various sources, in 27-50% [18], 20-56% of patients with torsion [2], including also pregnant women [9]. Leukocytosis is usually mild [6, 7, 18], determined, according to some researchers data, by necrosis of the adnexa with the association of infection [20]. However, in torsion, the leukocyte count is lower than in acute appendicitis [18], being an element of differential diagnosis.

Much more useful in evaluating ovarian torsion is the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR). In this context, we identified two studies that investigated the NLR. It is specified that NLR is an important, inexpensive inflammatory index and can be obtained quickly in emergency situations [25]. NLR can have diagnostic value and help surgeons in the decision-making process, allowing a surgical intervention in a good time with ovaries preservation, as NLR was found to be higher in patients with ovarian necrosis [27].

Thus, in the retrospective case-control and diagnostic study performed by Yilmaz M. *et al.*, which included 44 patients with ovarian torsion and 92 patients in the control group, was established that the number of neutrophils in patients with torsioned ovarian cysts significantly increased compared to the control group, and the number of lymphocytes decreased [27].

Another retrospective study by Ercan Ö. *et al.*, including 27 patients with adnexal torsion and 30 patients in the control group, showed that the leukocyte and neutrophil counts were higher in the torsion group compared to the control group. However, the amount of lymphocytes determined was lower in the torsion group [25]. In literature, lymphopenia in acute ischemia is considered to be a response to endogenous

Un alt studiu retrospectiv, efectuat de Ercan Ö. și coaut., ce a inclus 27 de paciente cu torsiune anxială și 30 de paciente în grupul de control, a înregistrat că valorile leucocitelor, respectiv, al neutrofilelor, au fost mai mari la grupul cu torsiune comparativ cu grupul de control. Însă, cantitatea de limfocite determinată a fost mai mică în grupul cu torsiune [25]. În literatură se menționează că limfopenia în ischemia acută este considerată a fi un răspuns la creșterea cortizolului endogen în situații de stres [27]. În consecință, NLR determinat a fost semnificativ mai mare în grupul cu torsiune și în procesul de diagnostic un NLR >3 a fost stabilit ca un marker mai sensibil decât numărul mare de leucocite [25].

O altă constatare a cercetării noastre este că la paciente cu torsiune ovariană, în investigații de laborator, se poate determina anemie [28]. Totuși, anemia în torsiunea ovariană este foarte rar întâlnită, iar dezvoltarea acesteia este consecința necrozei hemoragice. Aceste situații pot pune viața pacientei în pericol și sunt descrise cazuri când a fost necesară chiar transfuzie sanguină [20].

Proteinele de fază acută au fost și ele cercetate în condițiile torsiunii ovariene. Proteina C reactivă (PCR) este produsă de ficat ca răspuns la IL-6 [29], iar nivelul acesteia crește în inflamație și necroză tisulară [12]. Cercetătorii sugerează că în torsiunea ovariană o creștere a PCR este mai probabil legată de prezența necrozei [2], iar în contextul unui diagnostic diferențial, valorile înregistrate sunt mai mici decât în apendicita acută [18]. Astfel, valorile crescute de proteină C reactivă sunt caracteristice mai mult pentru apendicită, decât pentru torsiune [2].

Chiar dacă în studii experimentale pe animale proteina C reactivă s-a arătat a fi un indice de laborator util în diagnostic [30], în studiul efectuat de Topçu H. O. și coaut., care a inclus 17 femei însărcinate, cu torsiune confirmată chirurgical și 34 în grupul de control, nivelul PCR a fost crescut, însă a fost similar în ambele grupuri. Astfel, s-a constatat că PCR este inutilă în precizarea diagnosticului [9]. La fel, valori crescute ale PCR la paciente cu torsiune, care aveau vârsta <18 ani, au fost raportate în studiul făcut de Smorgick N. și coaut. De asemenea, studiul a constatat că nu sunt diferențe statistic semnificative între nivelurile de PCR înregistrate la pacientele diagnosticate cu torsiune în perioada premenarhală și postmenarhală [31].

Într-un studiu, efectuat de Karaman E. și coaut., care a inclus paciente ce au fost repartizate în două grupuri: grupul 1 – paciente cu ovare normale, torsionate, și grupul 2 – paciente cu ovare torsionate, cu formațiuni de volum sau chisturi, nu s-au înregistrat diferențe statistic semnificative în ceea ce privește datele de laborator, incluzând hemoglobina, leucocitele, proteina C reactivă [8].

O altă proteină de fază acută, identificată ca fiind utilă în diagnosticul torsiunii ovariene, într-un studiu experimental, efectuat pe șobolani de laborator, a fost PTX3. Aceasta aparține familiei pentraxinelor. La moment, PTX-urile sunt împărțite în două grupe: PTX-uri scurte (de exemplu, proteina C reactivă) și PTX lungi (de exemplu, PTX3). PTX3 este un mediator inflamator produs de diferite celule, cum ar fi celulele granulose ovariene, macrofage, celulele endoteliale, celulele musculare netede, adipocite, celulele dendritice și fibroblaste, la sem-

cortisol growth in stressful situations [27]. Consequently, the determined NLR was significantly higher in the torsion group and in the diagnosis process a NLR >3 was established as a more sensitive marker than the high number of leukocytes [25].

Another finding of our research is that in patients with ovarian torsion, in laboratory investigations, anemia can be determined [28]. However, anemia in ovarian torsion is very rare, and its development is due to hemorrhagic necrosis. These situations can put the patient's life at risk, and there are described cases where even blood transfusion was required [20].

Acute phase proteins were also investigated under ovarian torsion. Reactive protein C (PCR) is produced by the liver in response to IL-6 [29], and its level increases in inflammation and tissue necrosis [12]. Researchers suggest that in ovarian torsion an increase in PCR is more likely to be related to the presence of necrosis [2], and in the context of a differential diagnosis, the values recorded are lower than in acute appendicitis [18]. Thus, elevated C-reactive protein values are more characteristic of appendicitis than torsion [2].

Although in animal experimental studies the C-reactive protein was shown to be a laboratory parameter useful in the diagnosis [30] in the study by Topçu H. O. *et al.*, which included 17 pregnant women with surgically confirmed torsion and 34 in the control group, the PCR level was increased, but was similar in both groups, and thus found to be useless to establish the diagnosis [9]. Similarly, elevated PCR values in patients with torsion aged <18 years were reported in the study by Smorgick N. *et al.* The study also found that there were no statistically significant differences between the PCR levels recorded in patients diagnosed with torsion in the premenarchal and postmenarchal period [31].

In a study by Karaman E. *et al.*, which included patients who were divided into two groups: group 1: patients with normal twisted ovaries, and group 2: patients with twisted ovaries with ovarian mass or cysts, there were no statistically significant differences in laboratory data, including hemoglobin, leukocytes, reactive C protein [8].

Another acute phase protein, identified as useful in the diagnosis of ovarian torsion, in an experimental study performed on laboratory rats was PTX3. This belongs to the pentraxin family. At the moment, PTXs are divided into two groups: short PTXs (for example, reactive C protein) and long PTXs (for example, PTX3). PTX3 is an inflammatory mediator produced by various cells, such as ovarian granulocytes, macrophages, endothelial cells, smooth muscle cells, adipocytes, dendritic cells and fibroblasts, to proinflammatory signals. Thus, in the study of Akman L. *et al.*, plasma levels of PTX3 increased significantly in the torsion group compared to the control group [29].

In disorders characterized by ischemia and necrosis an increase of interleukin 6 (IL-6) was detected. Researchers have also determined that in ovarian torsion the level can be high. Thus, in the study by Zangene M. *et al.*, it has been reported that an increased serum of IL-6 value, together with a suggestive Dopplerography for torsion, may help physicians to decide the need for surgery [3]. In other research it is mentioned that

nalele proinflamatorii. Astfel, în studiul lui Akman L. și coaut., valorile plasmatică ale PTX3 au crescut semnificativ în grupul cu torsiune, comparativ cu grupul martor [29].

În afecțiuni caracterizate prin ischemie și necroză s-a detectat o creștere a interleukinei 6 (IL-6). Cercetătorii au stabilit că și în torsiunea ovariană nivelul acesteia poate fi unul înalt. Astfel, în studiul făcut de Zangene M. și coaut., s-a înregistrat că o valoare crescută a IL-6 serice, împreună cu o Dopplero-grafie sugestivă pentru torsiune, pot ajuta medicii să decidă necesitatea intervenției chirurgicale [3]. În alte cercetări se menționează că IL-6 ar putea ajuta la diagnosticare [2, 32], fiind un marker identificat ca fiind semnificativ crescut la femei cu torsiune confirmată [2]. De asemenea, în studiul lui Christopoulos G. și coaut., se relevă faptul că IL-6 ar putea fi un test util în diagnosticul torsiunii ovariene [33].

D-dimerul este definit ca produsul de degradare a fibrinei, iar determinarea acestuia oferă informații importante despre formarea fibrinei și procesul de fibrinoliză din compartimentul vascular [17]. Utilitatea în diagnosticul torsiunii poate fi datorată faptului că în procesul patologic se observă, inițial, o tromboză venoasă, apoi – una arterială [17, 34]. În condiții fiziologice, sistemele coagulant și anticoagulant sunt în echilibru, iar când acest echilibru este perturbat, sistemul fibrinolic este activat. Fibrina, care este produsă în timpul coagulării, este transformată în produse de degradare a fibrinei. Unul dintre produsele finale care se formează prin stabilizarea produșilor de degradare ai fibrinei este D-dimerul. Astfel, formarea patologică de cheaguri sangvine în organism determină o creștere a nivelului plasmatic al D-dimerilor [17]. Într-un studiu experimental pe șobolani, Kart C. și coaut. au determinat niveluri crescute ale D-dimerilor în plasma subiecților cu ovare torsiionate [34]. În studiul efectuat de Topçu H. și coaut., s-a stabilit o creștere statistic semnificativă a nivelului seric al D-dimerilor în cazul pacientelor însărcinate cu diagnosticul de torsiune anexială, comparativ cu grupul de control [9].

În studiul efectuat de Incebiyik A. și coaut., la 34 de paciente care au fost supuse laparoscopiei, s-au măsurat D-dimerii. Nivelul D-dimerilor la cele care aveau torsiune anexială a fost statistic semnificativ mai mare comparativ cu cele care au fost supuse intervenției pentru tumori ovariene benigne [17].

O altă constatare interesantă a fost făcută în studiul preclinic al lui Karatas Gurgun A. și coaut., care a inclus 3 grupuri experimentale: unul de control și două cu torsiune de 4 ore și respectiv 24 ore. Aceștia au determinat că D-dimerii în grupul cu torsiune de 4 ore a fost statistic mai mare decât la șobolanii din grupul de control și grupul cu torsiune de 24 ore, iar concluziile cercetătorilor au fost că D-dimerii pot fi un marker mai valoros în afecțiuni precoce. Acest studiu a arătat că D-dimerii pot fi markeri ai torsiunii ovariene în perioada acută, nivelurile acestora reducându-se cu creșterea duratei torsiunii [15].

Speciile reactive de oxigen, derivate dintr-un ovar ce este supus ischemiei, pot reduce capacitatea albuminei de a lega metalele de tranziție, conducând la generarea unei variante metabolice a proteinei cunoscută sub numele de albumină ischemic modificată (IMA) [24]. Astfel, s-a constatat că IMA este un biomarker seric caracteristic mai mult pentru ischemie,

IL-6 could help the diagnose [2, 32], being a marker identified as significantly elevated in females with confirmed torsion [2]. Also, in the study by Christopoulos G. *et al.*, it is emphasized that IL-6 could be a useful test in the diagnosis of ovarian torsion [33].

D-dimer is defined as the fibrin degradation product, and its determination provides important information about fibrin formation and the fibrinolysis process in the vascular compartment [17]. Utility in the diagnosis of torsion may be due to the fact that in the pathological process is initially observed venous thrombosis, and then an arterial [17, 34]. Under physiological conditions, the coagulant and anticoagulant systems are in balance, and when this balance is disturbed, the fibrinolytic system is activated. Fibrin, which is produced during coagulation, is converted into fibrin degradation products. One of the final products that is formed by stabilizing fibrin degradation products is D-dimer. Thus, the pathological formation of blood clots in the body causes an increase in the plasma level of D-dimers [17]. In an experimental study on rats, Kart C. *et al.* determined elevated levels of D-dimers in the plasma of subjects with twisted ovaries [34]. In the study by Topçu H. O. *et al.*, a statistically significant increase in the serum level of D-dimers was established in the pregnant patients with adnexal torsion diagnosis compared to the control group [9].

In the study conducted by Incebiyik A. *et al.*, 34 patients who underwent laparoscopy were measured D-dimers. The level of D-dimers in those with adnexal torsion was statistically significantly higher compared to those who underwent surgery for benign ovarian tumors [17].

Another interesting finding was made in the preclinical study of Karatas Gurgun A. *et al.*, which included 3 experimental groups: one control and two with torsion for 4 hours and 24 hours, respectively. They determined that D-dimers in the 4 hours torsion group were statistically higher than in rats from the control group and the 24 hours torsion group, and the researchers' conclusions were that D-dimers may be a more valuable marker in early illnesses. This study showed that D-dimers may be a valuable marker of ovarian torsion during the acute period, their levels decreasing with the increase of the torsion duration [15].

Oxygen reactive species derived from an ischemic ovary may reduce the capacity of albumin to bind transition metals, leading to the generation of a metabolic variant of the protein known as ischemically modified albumin (IMA) [24]. Thus, it has been found that IMA is a more characteristic serum biomarker for ischemia than necrosis [28]. This has been investigated in laboratory animals as well as in humans.

In the experimental rat study of Aran T. *et al.*, has been shown that the IMA level increased significantly in the ovarian ischemia group compared to the control group. However, it has not been studied at that time whether there is a correlation between IMA levels and histopathological changes in the ovary [28]. Another preclinical research had the purpose to complete the knowledge about IMA implications in ovarian torsion. Thus, Yildirim A. *et al.*, have determined a positive correlation between the IMA level and the histopathological changes, suggesting that besides the fact that IMA is a marker

decât pentru necroză [28]. Aceasta a fost cercetată atât la animale de laborator, cât și la om.

În studiul experimental pe șobolani al lui Aran T. și coaut., s-a demonstrat că nivelul IMA a crescut semnificativ în grupul cu ischemie ovariană, comparativ cu grupul martor. Cu toate acestea, nu a fost studiat, la momentul respectiv, dacă există o corelație între nivelurile IMA și modificările histopatologice din ovare [28]. O altă cercetare preclinică a avut scopul să completeze cunoștințele despre implicațiile IMA în torsiunea ovariană. Astfel, Yildirim A. și coaut., au determinat o corelație pozitivă între nivelul IMA și modificările histopatologice, sugerând că, pe lângă faptul că IMA este un marker al torsiunii ovariene, aceasta mai poate indica severitatea modificărilor histopatologice ale ovarului torsionat [19]. Totuși, studiul preclinic al lui Karatas Gurgun A. și coaut., nu a înregistrat creșteri statistic semnificative ale IMA în grupurile cu torsiune. Creșterea menționată era la limita pragului de semnificație în grupul care a fost supus torsiunii ovariene pentru o perioadă de 24 ore, iar concluziile cercetătorilor au fost că IMA poate avea o mai mare importanță în situațiile cu o durată mare a ischemiei [15]. Într-un studiu clinic, Guven S. și coaut., au examinat 34 de paciente cu durere pelviană și 40 de subiecți de control. Conform datelor înregistrate despre nivelul IMA, a fost posibilă stabilirea prezenței sau absenței torsiunii, la valori ale IMA $\geq 0,7045$ unități de absorbție (ABSU) [24]. Alți markeri, determinați în serul sangvin la paciente, sunt dialdehida malonică (MDA), activitatea antioxidantă totală (TAS), activitatea oxidantă totală (TOS), având capacitatea de a susține ipoteza creării condițiilor dezvoltării stresului oxidativ în torsiunea ovariană [24].

O altă constatare a investigațiilor de laborator în torsiunea ovariană este piuria sterilă, menționându-se că, aproximativ la jumătate dintre paciente, în analiza de urină se evidențiază piurie fără bacteriurie [23].

În literatură găsim date despre markerii tumorali care ar trebui evaluați preoperator în caz de torsiune, incluzând CA125, AFP (alfa-fetoproteina) [5, 6], și HCG (gonadotropina corionică umană), pentru o decizie chirurgicală corectă [5], iar ovarele suspecte cu formațiuni maligne trebuind înlăturate. Gonadotropina corionică umană, determinată în ser, poate indica o sarcină sau o tumoră ovariană cu celule germinale, pe când CA125 poate sugera o tumoră ovariană malignă sau endometriomă [13].

Discuții

În diagnosticul torsiunii ovariene „standardul de aur” este laparoscopia [15, 20], pentru că manifestările clinice și imagistice, după cum a fost deja precizat, nu oferă date suficiente pentru stabilirea diagnosticului. Aceasta ar presupune că, la suspectarea torsiunii, atât la fete, cât și la femei însărcinate, ar trebui să se recurgă la intervenție chirurgicală.

După cum se știe, la femei însărcinate torsiunea mai des apare în prima jumătate a sarcinii [9, 35]. Oricare intervenție chirurgicală poate avea anumite consecințe nefavorabile, care ar putea fi mai bine înțelese, dacă am preciza potențialul efect dăunător asupra sănătății fătului al chirurgiei efectuate unei paciente însărcinate în această perioadă.

of ovarian torsion, it may also indicate the severity of the histopathological changes of the twisted ovary [19]. However, the preclinical study of Karatas Gurgun A. *et al.*, did not show statistically significant increases in IMA in torsion groups. The mentioned increase was at the limit of statistical significance in the ovarian torsion group for a period of 24 hours, and the researchers' conclusions were that IMA may be of a greater importance in situations with a long period of ischaemia [15]. In a clinical study, Guven S. *et al.*, examined 34 patients with pelvic pain and 40 control subjects. According to the recorded IMA level, it was possible to determine the presence or absence of torsion at IMA values ≥ 0.7045 absorbance units (ABSU) [24].

Other markers, determined in the blood serum in patients, are malondialdehyde (MDA), total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), having the capacity to support the hypothesis of creating conditions for the development of oxidative stress in ovarian torsion [24].

Another finding of laboratory investigations in ovarian torsion is sterile pyuria, mentioning that approximately half of the patients in urinalysis show pyuria without bacteriuria [23].

In literature, we find data on tumor markers that should be evaluated preoperatively in the event of torsion, including CA125, AFP (alpha-fetoprotein) [5, 6], and HCG (human chorionic gonadotropin), for a correct surgery decision [5], suspected ovaries with malignant structures having to be removed. Human chorionic gonadotrophin, determined in the serum, may indicate a pregnancy or germ cell tumor, CA125 may suggest a malignant ovarian tumor or endometrioma [13].

Discussion

In the diagnosis of ovarian torsion, the „gold standard” is laparoscopy [15,20], because the clinical and imagistic findings, as already mentioned, do not provide sufficient data to establish the diagnosis. This would imply that surgical intervention should be used when torsion is suspected in both girls and pregnant women. As it is known, in pregnant women the torsion occurs more often in the first half of pregnancy [9, 35]. Any surgical intervention may have some unfavorable consequences, which could be better understood by specifying the potential harmful effect on the fetus' health of surgery performed in a pregnant woman during this period.

As many times the diagnosis of ovarian torsion is not confirmed, in our opinion, laboratory investigations have the purpose to help the doctor to reduce the exposure of patients to unnecessary surgical explorations.

Although II-6 seems to be an helpful index in the diagnosis of ovarian torsion, however, under current conditions, it is not useful because it is costly and can not be easily measured [27] in all medical institutions.

Higher utility seems to have IMA. Its determination can be easily done and the results are quickly obtained [28], so that for elevated serum concentrations (≥ 0.7045 ABSU) and suspicion of ovarian torsion, researchers suggest that doctors may decide to perform a diagnostic laparoscopy to exclude torsion [24].

Așa cum de multe ori diagnosticul de torsiune ovariană nu este confirmat, în opinia noastră, investigațiile de laborator au scopul de a ajuta medicul să reducă expunerea pacienților la explorări chirurgicale inutile.

Chiar dacă IL-6 pare a fi un indice de ajutor în diagnosticul torsiunii ovariene, totuși, în condițiile actuale, acesta nu este util, deoarece este costisitor și nu poate fi măsurat cu ușurință [27] în toate instituțiile medicale.

Utilitate mai mare pare să aibă IMA. Determinarea acesteia poate fi ușor făcută, iar rezultatele sunt obținute rapid [28], astfel, încât, în cazul unor concentrații serice crescute ($\geq 0,7045$ ABSU) și suspexție a torsiunii ovariene, cercetătorii sugerează că medicii pot decide să efectueze o laparoscopie diagnostică pentru a exclude torsiunea [24].

Anumite rezultate ale analizelor medicale pot induce doctorul în eroare și pot să-l orienteze spre stabilirea unui diagnostic incorect și, respectiv, pot întârzia tratamentul adecvat. Astfel, putem menționa că prezența piuriei sterile, care ar sugera, inițial, o afecțiune a tractului urinar, se întâlnește și la paciențele cu torsiune ovariană [23].

Leucocitoza în torsiunea ovariană este nespecifică și poate să nu fie prezentă la examinarea inițială [2]. Totuși, ar putea fi un parametru de care să se țină cont în procesul diagnosticării torsiunii [9], iar un NLR >3 pare a fi un marker valoros în cazurile în care stabilirea diagnosticului este dificilă, în literatură menționându-se că acest raport ar trebui luat în considerare atunci când se suspectează boala, valoarea diagnostică a acestuia fiind mult mai mare decât doar aprecierea numărului leucocitelor [25].

Răsucirea ovarului poate provoca ischemia și necroza acestuia [9]. Luând în considerare recomandările în evaluarea urgențelor ginecologice care pun în pericol viața pacienților, testarea hemoglobinei are un rol important [36], deoarece în literatură sunt descrise cazuri de necroză hemoragică a părților implicate în procesul patologic, care au impus efectuarea de transfuzii sanguine [20]. În acest context, atunci când se suspectează diagnosticul de torsiune ovariană, trebuie evaluate, obligatoriu, și hemoglobina. Niveluri scăzute determinate pot fi un semnal de alarmă care să indice la o hemoragie în procesul distrugerii organului.

D-dimerul este un produs ce crește rapid după un eveniment tromboembolic. Acesta a început să fie utilizat pe larg după descoperirea lui ca indicator al ischemiei intestinale și al tulburărilor tromboembolice venoase în toate organele corpului [9]. Constatările cercetărilor paraclinice, cât și clinice, susțin că D-dimerii pot fi utilizați pentru diagnosticarea precoce a torsiunii [9, 15, 17, 34].

În prezent, în torsiunea ovariană, se recomandă ca tactică principală de tratament să fie detorsionarea ovarului torsionat [37]. Însă, după cum a fost menționat anterior, se poate torsiona un ovar sănătos sau ovare cu diferite patologii. În aceste situații, un alt rol al indicilor de laborator, și anume, al markerilor tumorali, ar fi să ajute la luarea deciziei corecte în favoarea păstrării sau înlăturării organului, în situația în care se are în vedere o suspexiune de malignitate.

Some medical analyzes results can confuse the doctor and lead him to establish an incorrect diagnosis and, respectively, to delay the appropriate treatment. Thus, we can mention that the presence of sterile pyuria, which would initially suggest a urinary tract disorder, also occurs in patients with ovarian torsion [23].

Leukocytosis in ovarian torsion is nonspecific and may not be present at the initial examination [2]. However, it could be a parameter to be taken into account in the process of torsion diagnosis [9], and a NLR >3 seems to be a valuable marker in cases where the diagnosis is difficult, the literature mentioning that this ratio should be taken into account when the disease is suspected, its diagnostic value being much higher than just the assessment of the number of leukocytes [25].

Twisting of the ovary can cause its ischemia and necrosis [9]. Taking into account the recommendations in the evaluation of gynecological emergencies that endanger the lives of patients, hemoglobin testing plays an important role [36], because in the literature are described cases of hemorrhagic necrosis of those part involved in the pathological process that have required blood transfusions [20]. In this context, when the diagnosis of ovarian torsion is suspected, hemoglobin must also be evaluated. Determined low levels may be an alarm signal indicating hemorrhage in the destruction organ process.

D-dimer is a product that increases rapidly after a thromboembolic event. It has begun to be widely used after its discovery as an indicator of intestinal ischemia and venous thromboembolic disorder in all organs of the body [9]. The findings of paraclinical and clinical research suggest that D-dimers can be used for early diagnosis of torsion [9, 15, 17, 34].

Nowadays, in ovarian torsion, it is recommended as the main treatment tactic to be the detorsion of the twisted ovary [37]. However, as was mentioned above, a healthy ovary or ovaries with different pathologies can be twisted. In these situations, another role of laboratory indices, namely tumor markers, would be to help to take the right decision in favor of keeping or removing the organ when a malignancy is suspected.

Conclusions

Diagnosis of ovarian torsion, as well as other pathologies, is based on anamnesis, clinical and paraclinical data. Anamnesis and clinical examination data may be nonspecific and can make it difficult to establish a diagnosis. The results of the imaging investigations can be unclear, and the use of laboratory indices in a suspected ovarian torsion comes to help the doctor both to establish the diagnosis and to make a decision regarding the treatment to be given to that patient. However, some data are controversial, and some markers mentioned in this article have been studied more in laboratory animals, requiring further research to confirm or infirm some data present in the specialized literature at this time.

Declaration of conflicting interests

The authors mention no conflicts of interest.

Concluzii

Diagnosticul torsiunii ovariene, la fel ca și al altor patologiilor, se bazează pe anamneză, date clinice și paraclinice. Datele anamnezei și ale examenului clinic pot fi nespecifice și pot face dificilă stabilirea diagnosticului. Rezultatele investigațiilor imagistice pot fi neclare, iar utilizarea indicilor de laborator la suspectarea torsiunii ovariene vine să ajute medicul atât la concretizarea diagnosticului, cât și la luarea unei decizii referitor la tratamentul la care urmează a fi supusă pacienta respectivă. Totuși, unele date sunt controversate, iar unii markeri menționați în acest articol au fost studiați mai mult pe animale de laborator, ceea ce impune cercetări viitoare suplimentare cu scopul de a confirma sau infirma anumite date prezente în literatura de specialitate, la moment.

Declarația de conflict de interes

Autorii menționează lipsa conflictelor de interes.

Contribuția autorilor

Autorii au participat în mod egal la redactarea articolului, versiunea finală fiind acceptată unanim.

Referințe / references

1. Tuncer A., Bozkurt M., Koken T., Dogan N., Pektaş M., Baskin Embleton D. The protective effects of alpha-lipoic acid and coenzyme Q10 combination on ovarian ischemia-reperfusion injury: an experimental study. *Adv. Med.*, 2016; 1-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5002467/>
2. Kives S., Gascon S., Dubuc É., Van Eyk N. Diagnosis and management of adnexal torsion in children, adolescents, and adults. *J. Obstet. Gynaecol. Can.*, 2017; 39 (2): 82-90. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28241927>
3. Zangenen M., Ashoori Barmchi A., Rezaei M., Veisi F. The comparison between the serum level of IL-6 in women with acute ovarian torsion and other causes of lower abdominal pain. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2017; 37 (2): 223-227. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27750486>
4. Vijayalakshmi K., Reddy G., Subbiah V., Sathiya S., Arjun B. Clinicopathological profile of adnexal torsion cases: a retrospective analysis from a tertiary care teaching hospital. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2014; 8 (6): OC04-OC07. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25121032>
5. Childress K., Dietrich J. Pediatric ovarian torsion. *Surg. Clin. North Am.*, 2017; 97(1): 209-221. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27894428>
6. Spinelli C., Piscioneri J., Strambi S. Adnexal torsion in adolescents: update and review of the literature. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2015; 27 (5): 320-325. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26204167>
7. Zucchini S., Marra E. Diagnosis of emergencies/urgencies in gynecology and during the first trimester of pregnancy. *J. Ultrasound*, 2014; 17(1): 41-46. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24616750>
8. Karaman E., Begeer B., Çetin O., Melek M., Karaman Y. Ovarian torsion in the normal ovary: a diagnostic challenge in postmenarchal adolescent girls in the emergency department. *Med. Sci. Monit.*, 2017; 23: 1312-1316. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28296829>
9. Topçu H., İskender C., Ceran U., Kaymak O., Timur H., Uygur D., Danişman N. Evaluation of the diagnostic accuracy of serum D-Dimer levels in pregnant women with adnexal torsion. *Diagnostics*, 2015; 5 (1): 1-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26854140>
10. Wilkinson C., Sanderson A. Adnexal torsion – a multimodality imaging review. *Clin. Radiol.*, 2012; 67 (5): 476-483. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22137723>
11. McCloskey K., Grover S., Vuillermine P., Babl F. Ovarian torsion among girls presenting with abdominal pain: a retrospective cohort study. *Emerg. Med. J.*, 2013; 30 (1): e11-e11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22345311>
12. Bolli P., Schädelin S., Holland-Cunz S., Zimmermann P. Ovarian torsion in children: development of a predictive score. *Medicine*, 2017; 96 (43): 1-4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29069000>
13. Huang C., Hong M., Ding D. A review of ovary torsion. *Tzu-Chi Medical Journal*, 2017; 29 (3): 143-147. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5615993/>
14. Pages-Bouic E., Millet I., Curros-Doyon F., Faget C., Fontaine M., Taourel P. Acute pelvic pain in females in septic and aseptic contexts. *Diagn. Interv. Imaging*, 2015; 96 (10): 985-995. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26441019>
15. Karatas Gurgun A., Kaban I., Aka N., Mentese A., Aker F., Uras A. R. The role of ischemia Modified Albumin and D-dimer as early or

- late biochemical markers in ovarian torsion. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, 2017; 43 (5): 895-901. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28190281>
16. Schuh A., Klein E., Allred R., Christensen A., Brown J. Pediatric adnexal torsion: not just a postmenarchal problem. *J. Emerg. Med.*, 2017; 52 (2): 169-175. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27789114>
 17. Incebiyik A., Camuzcuoglu A., Hilali N., Vural M., Camuzcuoglu H. Plasma D-dimer level in the diagnosis of adnexal torsion. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 2015; 28 (9): 1073-1076. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25007989>
 18. Sasaki K., Miller C. Adnexal torsion: review of the literature. *J. Minim Invasive Gynecol.*, 2014; 21 (2): 196-202. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24126258>
 19. Yildirim A., Yildirim S., Topaloglu N., Tekin M., Kucuk A., Erdem H., Erbas M., Cakir D. Correlation of ischemia-modified albumin levels and histopathologic findings in experimental ovarian torsion. *Turk J. Emerg. Med.*, 2016; 16(1): 8-11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27239631>
 20. Nair S., Oy S., Nayar J. Five year retrospective case series of adnexal torsion. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2014; 8 (12): OC09-OC13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4316300/>
 21. Rey-Bellet Gasser C., Gehri M., Joseph J.-M., Pauchard J.-Y. Is it ovarian torsion? A systematic literature review and evaluation of prediction signs. *Pediatr. Emerg. Care*, 2016; 32: 256-261. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26855342>
 22. Brun J., Fritel X., Aubard Y. *et al.* Management of presumed benign ovarian tumors: updated French guidelines. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2014; 183: 52-58. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25461353>
 23. Poonai N., Poonai C., Lim R., Lynch T. Pediatric ovarian torsion: case series and review of the literature. *Can. J. Surg.*, 2013; 56 (2): 103. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23351494>
 24. Guven S., Kart C., Guven E., Cetin E., Menteşe A. Is the measurement of serum ischemia-modified albumin the best test to diagnose ovarian torsion? *Gynecol. Obstet. Invest.*, 2015; 79 (4): 269-275. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25591981>
 25. Ercan Ö., Köstü B., Bakacak M., Coşkun B., Tohma A., Mavigök E. Neutrophil to Lymphocyte ratio in the diagnosis of adnexal torsion. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015; 8 (9): 16095-16100. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4659007/>
 26. Köleli I. Mean platelet volume in early diagnosis of adnexal torsion. *Balkan Med J.*, 2015; 32 (4): 410. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26740902>
 27. Yilmaz M., Cimilli G., Saritemur M., Demircan F., Isaoglu U., Kisaoglu A., Emet M. Diagnostic accuracy of neutrophil/lymphocyte ratio, red cell distribution width and platelet distribution width in ovarian torsion. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2016; 36 (2): 218-222. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26467739>
 28. Aran T., Guven S., Unsal M., Alver A., Mentese A., Yulug E. Serum ischemia-modified albumin as a novel marker of ovarian torsion: an experimental study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2010; 150 (1): 72-75. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20172646>
 29. Akman L., Erbas O., Terek M., Aktug H., Taskiran D., Askar N. The long pentraxin-3 is a useful marker for diagnosis of ovarian torsion: an experimental rat model. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2016; 36 (3): 399-402. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26470829>
 30. Bakacak M., Köstü B., Ercan Ö., Bostancı M., Kiran G., Aral M., Çiralik H., Serin, S. High-sensitivity C-reactive protein as a novel marker in early diagnosis of ovarian torsion: an experimental study. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 2015; 291(1): 99-104. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25069648>
 31. Smorgick N., Melcer Y., Sarig-Meth T., Maymon R., Vaknin Z., Pansky M. High risk of recurrent torsion in premenarchal girls with torsion of normal adnexa. *Fertil. Steril.*, 2016; 105 (6): 1561-1565. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26926251>
 32. Bharathan R., Ramsawak L., Kelly A. Ovarian torsion: opportunities to improve clinical management. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2012; 32 (7): 683-686. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22943718>
 33. Christopoulos G., Goubet S., Kelly T. Interleukin-6 for the diagnosis of ovarian torsion: a systematic review and meta-analysis. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2013; 33 (5): 438-441. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23815191>
 34. Kart C., Aran T., Guven S., Karahan S., Yulug, E. Acute increase in plasma D-dimer level in ovarian torsion: an experimental study. *Hum. Reprod.*, 2011; 26 (3): 564-568. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21242148>
 35. Yuk J. S., Shin J. Y., Park W. I., Kim D. W., Shin J. W., Lee J. H. Association between pregnancy and adnexal torsion: A population-based, matched case-control study. *Medicine*, 2016; 95 (24): 1-3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27310967>
 36. Polena V., Huchon C., Ramos C. V., Rouzier R., Dumont A., Fauconnier A. Non-invasive tools for the diagnosis of potentially life-threatening gynaecological emergencies: a systematic review. *PloS one*, 2015; 10 (2): e0114189. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25723401>
 37. Laganà A., Sofo V., Salmeri F., Palmara V., Triolo O., Terzić M., Patrelli T., Lukanovic A., Vrtcnik Bokal E., Santoro G. Oxidative stress during ovarian torsion in pediatric and adolescent patients: changing the perspective of the disease. *Int. J. Fertil. Steril.*, 2016; 9 (4): 416-423. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4793162/>

ARTICOL DE SINTEZĂ

Markerii contemporani ai ischemiei miocardului: sinteză de literatură

Tatiana Timercan*¹

¹*Catedra de biochimie și biochimie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova.*

Data primirii manuscrisului: 02.02.2018

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Tatiana Timercan, asist. univ.

Catedra de biochimie și biochimie clinică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

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

e-mail: tatiana.timercan@usmf.md

REVIEW ARTICLE

Current markers of myocardial ischemia: review article

Tatiana Timercan*¹

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

Manuscript received on: 02.02.2018

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Tatiana Timercan, assist. prof.

Chair of biochemistry and clinical biochemistry

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

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

e-mail: tatiana.timercan@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Markerii biochimici clasici nu identifică leziunile ischemice ale miocardului în absența schimbărilor necrotice. În literatură sunt descrise tipurile de modificări ale biomoleculelor induse de ischemia tisulară și/sau de stresul oxidativ, dar nu se știe dacă aceste modificări reflectă veridic amploarea procesului.

Ipoteza de cercetare

Sinteza literaturii în scopul argumentării evaluării albuminei ischemic modificate, produșilor proteici de oxidare avansată și dialdehidei malonice în ischemia miocardului, indusă de stres oxidativ.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Au fost sistematizate datele referitoare la formarea, rolul și modificările albuminei ischemic modificate, produșilor proteici de oxidare avansată și dialdehidei malonice în stres oxidativ. Au fost prezentate argumente despre relevanța evaluării compușilor menționați în calitate de biomarkeri veridici ai ischemiei miocardului, indusă de stres oxidativ.

Rezumat

Introducere. Bolile cardiovasculare sunt o cauză frecventă a deceselor, majoritatea fiind provocate de sindromul coronarian acut, produs de modificările aterosclerotice ale arterelor și ischemia miocardului. Ischemia prelungită induce leziuni ireversibile, manifestate prin necroza (moartea) cardiomiocitelor, definite, clinic, drept infarct miocardic acut. Pentru confirmarea necrozei cardiomiocitelor se utilizează testele biochimice, care permit identificarea markerilor cardiospeci-

What is not known yet, about the topic

Classical biochemical markers do not identify ischemic lesions of the myocardium in the absence of necrotic changes. The literature describes types of changes in biomolecules induced by tissue ischemia and oxidative stress, but it is not known whether these alterations accurately reflect the magnitude of the process.

Research hypothesis

Narrative synthesis of literature in order to argue the evaluation of ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products and malondialdehyde in myocardial ischemia induced by oxidative stress.

Article's added novelty on the scientific topic

Data on synthesis and role of ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products and malondialdehyde in oxidative stress were systematized. Arguments have been presented about the relevance of these compounds assessment as true biomarkers of myocardial ischemia induced by oxidative stress.

Abstract

Introduction. Cardiovascular diseases are the leading cause of deaths, most of which are caused by acute coronary syndrome due to atherosclerotic changes in the arteries and myocardial ischemia. Prolonged ischemia leads to irreversible cell lesions, necrosis and death of cardiomyocytes, clinically defined as acute myocardial infarction. Biochemical tests are used to identify specific cardiomarkers of necrosis and to confirm the diagnosis. Classical markers, T and I troponins, do not

fici. Markerii clasici – troponinele cardiace T și I – nu permit depistarea ischemiei miocardului în absența modificărilor necrotice. Scopul acestui studiu este de a argumenta utilizarea albuminei ischemic modificate, produșilor proteici de oxidare avansată și dialdehidei malonice în calitate de markeri ai ischemiei miocardului induse de stres oxidativ.

Material și metode. În studiu au fost analizate publicațiile științifice internaționale din perioada 2000-2017, precum și câteva articole mai vechi, disponibile în limbile engleză și rusă, din baza de date PubMed. Prin cuvintele-cheie “*cardiac ischemia*”, “*oxidative stress*”, “*ischemia modified albumin*”, “*advanced oxidation protein products*”, “*malondialdehyde*” au fost selectate 66 de articole de referință. În baza lor, a fost efectuată o sinteză narativă de literatură.

Rezultate. Au fost descrise mecanismele de sinteză, argumentate rolul și modificările albuminei ischemic modificate, produșilor proteici de oxidare avansată și a dialdehidei malonice în ischemia cardiacă.

Concluzii. Identificarea ischemiei cardiace la etape inițiale este crucială pentru pacient. Troponinele cardiace, utilizate în prezent, sunt neinformativ pentru depistarea ischemiei în absența necrozei cardiomiocitelor. Albumina ischemic modificată, produșii proteici de oxidare avansată și dialdehida malonică pot fi considerați biomarkeri veridici ai ischemiei miocardului, induse de stresul oxidativ.

Cuvinte cheie: albumină ischemic modificată, produși proteici de oxidare avansată, dialdehidă malonică, ischemie cardiacă, stres oxidativ.

Introducere

Bolile cardiovasculare constituie una din cauzele principale ale deceselor în populația planetei. Conform datelor publicate de Asociația Americană a Cardiologilor (AHA), rata mortalității prin maladii cardiovasculare este în creștere continuă, de la 28,9% (1990) până la 36,3% (estimată pentru 2020). Majoritatea deceselor sunt provocate de sindromul coronarian acut (SCA), cauzat de modificările aterosclerotice ale arterei coronare, care duc la ischemie cardiacă [1].

Ateroscleroza reprezintă o afecțiune proliferativ-inflamatorie de etiologie variată, care include un șir de procese patologice ce afectează metabolismul lipidelor, sistemele cardiovasculare și imun [2].

În 2011, Azizova și colab., au demonstrat că unele procese metabolice (de ex., sinteza ATP în mitocondrii, sinteza prostaglandinelor, căile metabolice la care participă citocromul P₄₅₀) sunt însoțite de formarea radicalilor liberi [3]. Un rol-cheie în dezvoltarea maladiilor cardiovasculare îl are stresul oxidativ.

Stresul oxidativ reprezintă un dezechilibru al sistemelor anti- și pro-oxidante plasmatic și tisulare, cu activitate predominantă a sistemului pro-oxidant [3]. Radicalii liberi atacă proteinele pe întreaga lungime a lanțului polipeptidic, afectează structurile primară, secundară și terțiară, și favorizează agregarea sau fragmentarea moleculei [4].

Albumina serică îndeplinește următoarele funcții: (1) transport, (2) menținerea presiunii coloidal-osmotice, (3)

allow the detection of myocardial ischemia in the absence of necrotic changes.

The research aim is to argue the use of ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products and malondialdehyde as markers of oxidative stress-induced myocardial ischemia.

Material and methods. The study analysed the international scientific publications from 2000-2017, as well as several older articles, available in English and Russian, from the PubMed database. The key words “*cardiac ischemia*”, “*oxidative stress*”, “*ischemia modified albumin*”, “*advanced oxidation protein products*”, “*malondialdehyde*” were used to select 66 reference articles. Based on these articles, narrative synthesis was performed.

Results. The synthesis and role of ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products, and malondialdehyde were described; the changes in cardiac ischemia were established.

Conclusions. Cardiac ischemia identification at early stages is crucial for the patient. The currently used cardiac troponins are non-informative for the detection of ischemia in the absence of cardiomyocyte necrosis. Ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products and malondialdehyde may be considered as novel biomarkers of myocardial ischaemia induced by oxidative stress.

Key words: cardiac ischemia, oxidative stress, ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products, malondialdehyde.

Introduction

Cardiovascular disease is one of the leading causes of death in the population. According to data published by the American Heart Association (AHA), cardiovascular disease mortality rates are rising continuously from 28.9% (1990) to 36.3% (estimated in 2020). Most deaths are caused by acute coronary syndrome (ACS) due to atherosclerotic changes in the coronary artery leading to cardiac ischemia [1].

Atherosclerosis is a proliferative-inflammatory disease of diverse aetiology, which includes a number of pathological processes affecting the lipid metabolism, cardiovascular and immune systems [2].

In 2011, Azizova O. et al. have demonstrated that some metabolic processes (e.g., oxidative phosphorylation, prostaglandin synthesis, metabolic pathways involving the cytochrome P₄₅₀) are accompanied by free radical formation [3]. The published data have confirmed the key role of oxidative stress in the development of cardiovascular diseases.

Oxidative stress presents an imbalance of anti- and pro-oxidant plasma and tissue systems with predominant activity of the pro-oxidant system [3].

Free radicals attack proteins over the full length of the polypeptide chain, affecting primary, secondary and tertiary structures, and causing the molecule aggregation or fragmentation [4].

Serum albumin fulfils the following functions: (1) trans-

protecție antioxidantă și (4) participă în metabolismul NO. Captarea radicalilor liberi induce modificări oxidative cu pierderea funcției de transport a albuminei [4].

Scăderea intensității modificărilor oxidative ale lipidelor și proteinelor reduce riscul complicațiilor și previne dezvoltarea aterosclerozei, iar dinamica markerilor stresului oxidativ poate fi utilizată pentru evaluarea atât a stării pacientului cu ischemie cardiacă, cât și a eficacității tratamentului aplicat [3].

Este cunoscut faptul că diagnosticul ischemiei cardiace se bazează pe simptomele clinice, însoțite de modificările segmentului ST-T pe ECG, care, de regulă, sunt foarte variate și nespecifice. Ischemia prelungită, identificată tardiv, provoacă moartea (necroza) cardiomiocitelor, definită ca infarct miocardic acut (IMA) [5].

Se știe că pentru identificarea IMA, concomitent cu examenul electrocardiografic (ECG), se utilizează testele biochimice, care permit depistarea unor proteine cardiace specifice în serul pacientului, denumite markeri ai IMA. Markerii clasici utilizați pentru stabilirea și/sau confirmarea IMA sunt creatinaza MB (CK-MB) și troponinele T și I (TnT/TnI), ultimele sunt considerate „standardul de aur” în diagnosticul IMA [1]. Rezultatele prezentate de Chawla și colab. în 2006 arată că markerii menționați ai lezării celulare (CK-MB, TnT/TnI) posedă specificitate și sensibilitate înaltă, dar nu permit depistarea ischemiei miocardului în absența necrozei, deci, nu sunt informativi în primele 2-6 ore de ischemie [5]. Din cauza tabloului clinic variat, asociat cu o rată înaltă a mortalității, identificarea precoce a ischemiei cardiace este crucială pentru inițierea la timp a tratamentului și orientarea spre un pronostic mai favorabil al bolii.

Scopul cercetărilor contemporane este de a identifica biomarkeri noi, capabili să reflecte ischemia miocardului la etapa inițială, fapt care ar permite prevenirea sau evitarea leziunilor cardiace ireparabile (necroza) [5].

Material și metode

Studiul a cuprins articolele științifice din baza de date PubMed, publicate în limbile engleză și rusă în perioada 1980-2017. Pentru selectare, au fost folosite cuvintele-cheie „cardiac ischemia”, „oxidative stress”, „ischemia modified albumin”, „advanced oxidation protein products”, „malonic dialdehyde”. La necesitate, pentru a preciza unele noțiuni, au fost consultate surse suplimentare. Au fost selectate 66 de articole cu informație relevantă referitoare la mecanismele de formare, rolul fiziopatologic și modificările albuminei ischemic modificate, produșilor proteici de oxidare avansată și dialdehidei malonice în ischemia cardiacă indusă de stresul oxidativ. Datele obținute au fost analizate și sistematizate.

Rezultate

Albumina ischemic modificată (AIM)

Albumina ischemic modificată (AIM), identificată și descrisă pentru prima dată în anii 90 ai secolului XX, este un biomarker al stresului oxidativ, indus de hipoxie [6], format prin modificarea capătului N-terminal al albuminei serice [7].

Albumina umană reprezintă o proteină multifuncțională a

port, (2) maintenance of colloidal-osmotic pressure, (3) antioxidant protection, and (4) participation in NO metabolism. Free radical capture induces the oxidative changes and loss of albumin transport function [4].

It was supposed that decreasing the intensity of oxidative changes in lipids and proteins reduces the risk of complications and prevents the development of atherosclerosis, and the dynamics of oxidative stress markers can be used to assess both the condition of the patient with cardiac ischaemia, and the effectiveness of the applied treatment [3].

It is well known that the diagnosis of cardiac ischemia is based on the clinical symptoms, accompanied by changes in the ST-T segment on ECG, which are usually very varied and unspecific. Prolonged ischemia, identified lately, causes cardiomyocytes death (necrosis), defined as acute myocardial infarction (AMI) [5].

For AMI identification, simultaneously with the electrocardiographic examination (ECG), are used the biochemical tests, which are allowed the detection in the patient's serum of specific cardiac proteins, called AMI markers. The classic markers used to establish and/or to confirm AMI are creatine kinase MB (CK-MB) and troponins T and I (TnT/TnI), the latter are considered the “gold standard” in the AMI diagnosis [1]. The data presented by Chawla R. et al. in 2006 show that the noted markers of cell damage (CK-MB, TnT/TnI) possess high specificity and sensitivity, but do not allow the detection of myocardial ischemia in the absence of necrosis, so they are not informative in the first 2-6 hours of ischemia [5]. Due to the varied clinical symptoms associated with high mortality rate, the early identification of cardiac ischemia is crucial for timely treatment initiation and favourable disease prognosis.

The aim of current researches is to highlight new biomarkers capable to detect myocardial ischemia at the initial stage, which would prevent the development of irreparable cardiac lesions (necrosis) [5].

Material and methods

The study included the scientific articles available in English and Russian in the PubMed database, published during 1980-2017. The following key words as “cardiac ischemia”, “oxidative stress”, “ischemia modified albumin”, “advanced oxidation protein products”, and “malondialdehyde” were used for the selection. If necessary, additional sources have been searched to clarify some concepts. There were selected 66 articles with relevant information regarding the mechanisms of formation, pathophysiological role and changes of ischemia modified albumin, advanced oxidation protein products and malondialdehyde in cardiac ischemia induced by oxidative stress. The obtained data were analysed and systematized.

Results

Ischemia modified albumin (IMA)

Ischemia modified albumin (IMA), identified and described for the first time in the 1990s of the 20th century, is a biomarker of oxidative stress induced by hypoxia [6], formed by the modification of N-terminal end of serum albumin [7].

sângelui, constituită din 585 de resturi de aminoacizi, cu masa moleculară 66,5 kDa. Se sintetizează în cantități mari în ficat și are perioada de înjumătățire egală cu 19-20 de zile [7, 8]. Capătul N-terminal al albuminei participă la neutralizarea speciilor reactive de oxigen [9] și este locul de fixare al metalelor bivalente (cobalt, cupru, nikel) [10, 11]. În 2001, Bar-Or și colab., au evidențiat că secvența N-terminală aspartat-alanină-histidină-lizină este responsabilă de fixarea Co^{2+} . Modificarea acestui situs prin acetilare sau deleția a trei aminoacizi micșorează capacitatea proteinei de a fixa cobaltul [11].

În studiul efectuat în 2009, s-a demonstrat că, capătul N-terminal al albuminei serice este mai puțin stabil și ușor se supune degradării [7]. Conform rezultatelor prezentate, ischemia (hipoxia, acidoza, speciile reactive de oxigen (cel mai frecvent, radicalul hidroxil [12]), leziunile membranare etc.[13], modifică secvența N-terminală a albuminei umane, astfel, scade capacitatea ei de a fixa metalele [11, 14]. Kumar și colab., în 2008, au evidențiat că afectarea oxidativă a capătului N-terminal are un caracter cumulativ pe fundalul reparației lente [15].

Mecanismul posibil de formare a AIM a fost studiat și descris în 1986 de către Marx și colab. [16]. A fost argumentată ipoteza că ischemia duce la dezvoltarea acidozei locale și eliberarea Co^{2+} (legat slab) din situsul de fixare. Prezența agentului reducător (de exemplu, acidul ascorbic) va favoriza reducerea cobaltului bivalent în cobalt monovalent, care, în continuare, va reacționa cu oxigenul molecular, generând radicalul superoxid liber și Co^{2+} . Sub acțiunea enzimei superoxid-dismutaza (SOD), radicalul superoxid este transformat în peroxid de hidrogen, scindat de catalază. Ionul de Co^{2+} format este imediat captat și fixat (rigid) la capătul N-terminal al albuminei serice. Albumina cu Co^{2+} (legat stabil) este atacată de radicalul hidroxil liber, care provoacă scindarea a trei aminoacizi de la capătul N-terminal și eliberarea ionilor de Co^{2+} [16]. Studiile recente au confirmat parțial implicarea mecanismului menționat în formarea AIM.

În 2007 s-a descris existența a trei situsuri diferite de fixare a metalelor bivalente, două dintre ele cu o afinitate mai mare pentru Co^{2+} , comparativ cu situsul N-terminal [17]. Cercetările realizate au demonstrat că legarea acizilor grași la unul din situsurile descrise are efect alosteric negativ asupra capacității de fixare a Co^{2+} . Este cunoscut faptul, că ischemia cardiacă stimulează lipoliza. A fost lansată ipoteza că legarea acizilor grași la albumină induce unele modificări conformaționale ale situsului N-terminal, care rezultă în micșorarea capacității de fixare a ionilor de Co^{2+} [17].

Sinha și colab. au evidențiat că nivelul AIM crește rapid în ischemia tisulară, atinge vârful la 2-4 ore și scade la valorile inițiale peste 6-12 ore [18]. Studiile efectuate au descoperit o creștere a nivelului seric al AIM peste 6-10 minute de la debutul ischemiei cardiace, cu vârful la 6 ore și scădere rapidă la nivelul inițial peste 12-24 ore [8, 19]. S-a presupus că revenirea rapidă a nivelului AIM la valorile inițiale poate fi explicată atât prin reversibilitatea modificărilor survenite în structura albuminei la înlăturarea radicalilor liberi [18], degradarea proteolitică preponderent a formelor modificate ischemic, cât și prin clearance-ul renal accelerat, indus de modificările conformaționale [7].

Human albumin is a multifunctional blood protein consisting of 585 amino acid residues, with a molecular weight of 66.5 kDa. It is synthesized in large amount in the liver and has a half-life of 19-20 days [7, 8]. The N-terminal end of albumin participates in the neutralization of reactive oxygen species [9] and is the site for attachment of bivalent metals (cobalt, copper, nickel) [10, 11]. In 2001 Bar-Or D. et al. have revealed that the N-terminal aspartate-alanine-histidine-lysine sequence is responsible for Co^{2+} binding. Modification of this site by acetylation or cleavage of three amino acids residues reduces the ability of the protein to bind the cobalt [11].

The study performed in 2009 demonstrated that the N-terminal end of serum albumin is less stable and easily subject to degradation [7]. According to the presented results, ischemia (hypoxia, acidosis, reactive oxygen species, most frequently the hydroxyl radical [12]), membrane lesions etc. [13] alters the N-terminal amino acid sequence of human albumin, thus decreasing the ability to bind the metals [11, 14]. Data published by Kumar A. et al. in 2008 showed that the oxidative damage of the N-terminal end has a cumulative character due to slow repair [15].

The possible mechanism of IMA formation was studied and described in 1986 by Marx et al. [16]. They suggested the hypothesis that ischemia leads to the development of local acidosis and the release of Co^{2+} (weakly bound) from the attachment site. The presence of the reducing agent (e.g., ascorbic acid) will favour the reduction of the bivalent cobalt in monovalent one, which will further react with molecular oxygen, generating the free superoxide radical and Co^{2+} . The enzyme superoxide dismutase (SOD) converts the superoxide radical to hydrogen peroxide, which is cleaved by catalase. The Co^{2+} ion formed is immediately captured and bound (rigidly) at the N-terminus of serum albumin. Albumin with tightly bound Co^{2+} is attacked by the free hydroxyl radical, which leads to the cleavage of three amino acids residues at the N-terminus and the release Co^{2+} ions [16]. Recent studies have partially confirmed the involvement of the described mechanism in IMA formation.

In 2007, there were described three different binding sites for bivalent metals, two of them with a higher affinity for Co^{2+} as compared to the N-terminal site [17]. The performed studies have shown that attachment of the fatty acids to one of the described sites exhibits a negative allosteric effect on the capacity of Co^{2+} binding. It is known that cardiac ischemia stimulates lipolysis. There was hypothesized that the fatty acids binding to the albumin induces some conformational modifications of the N-terminal site, resulting in a decrease in the ability to fix the Co^{2+} [17].

The data published by Sinha et al. confirmed that the IMA level increased rapidly in tissue ischemia, reached the peak at 2-4 hours, and decreased to baseline in 6-12 hours [18]. Recent studies have found an increase of serum IMA in 6-10 minutes after onset of cardiac ischemia, with a peak at 6 hours and a rapid decline to the initial level in 12-24 hours [8, 19]. It was assumed that the rapid return of IMA to the baseline values can be explained by the reversibility of the albumin structure changes in the free radical removal [18]; the predominant proteolytic

Conținutul plasmatic al AIM se modifică mai rapid decât nivelul troponinelor cardiace (TnT și TnI), creatinkinazei MB și peptidelor natriuretice (A și B) [19]. Totodată, AIM posedă o sensibilitate mai înaltă, însă specificitate mai joasă [14], comparativ cu examenul ECG și TnT în diagnosticul SCA [20]. S-a demonstrat că nivelul seric al AIM reflectă amploarea și durata ischemiei cardiace [19].

Creșterea AIM poate fi provocată de spasmul arterelor coronare [20]. În 2007 s-a propus evaluarea nivelului seric al AIM în calitate de biomarker al ischemiei cardiace tranzitorii, induse de coronarospasm [21].

Nivelele serice ale AIM pot fi utilizate în prognosticul bolii [22]. S-a demonstrat asocierea nivelului ridicat al AIM și TnT la internare cu riscul sporit (21%) al complicațiilor cardiace la pacienții cu durere toracică acută [23]; AIM s-a manifestat drept factor de prognostic slab pentru complicațiile cardiace precoce (primele 72 de ore) [24], însă, în 2007, Aparci și colab., au argumentat utilizarea AIM în calitate de factor de prognostic pe termen lung [25].

S-a sugerat că AIM nu este un biomarker strict specific miocardului [26]. Valori crescute de AIM se întâlnesc în diabet, hipertensiune arterială, ateroscleroză, ciroză hepatică, infecții acute, neoplasme, ictus, boli renale [7, 27].

În probele de sânge colectate, AIM este stabilă până la 2 ore la temperatura de +4 – +20°C, și poate fi păstrată în congelator la temperatura de -20°C [25].

În 2003, FDA (*Food and Drug Administration*) a aprobat evaluarea AIM în algoritmul de diagnostic și tratament al IMA [7]. Conform ultimelor date, AIM este unicul parametru de identificare a ischemiei, ajuns la etapa de validare clinică [28].

Prođuși proteici de oxidare avansată (PPOA)

Prođușii proteici de oxidare avansată (PPOA) sunt biomarkerii leziunilor ireversibile ale proteinelor, cauzate de stresul oxidativ [6], care se formează la interacțiunea proteinelor plasmei cu oxidanții ce conțin clor, precum cloramina, acid hipocloric (HOCl) [2].

S-a descoperit că PPOA reprezintă derivații albuminelor serice, la care se referă ditirozina (di-Tyr), pentozidina și prođușii proteici carbonil (C=O reactivi) [29]. Prođușii menționați se formează în stres oxidativ atât sub acțiunea speciilor reactive de oxigen, cât și prin reacția catalizată de mieloperoxidază [2]. În 2011, Miyata și colab. confirmă că, carbonilarea proteinelor este cauzată de: (1) oxidarea directă a resturilor de lizină, arginină, prolină și treonină; (2) acțiunea radicalilor liberi; (3) reacțiile neoxidative ale lipidelor oxidate de grupele carbonil [30]. Autorii Stadtman și Levine au menționat că scindarea proteinelor, alfa-aminarea și oxidarea resturilor de glutamină reprezintă o cale alternativă de formare a compușilor carbonil (C=O) [31]. În 2014, Zurawska-Plaksej și colab., au stabilit că nivelul PPOA crește atât în rezultatul acțiunii directe a speciilor de oxigen reactive (oxidarea radicalilor aminoacizilor), cât și al rearanjării structurale (formarea punților bisulfidice și a legăturilor încrucișate) [6].

Este cunoscut faptul că sinteza sporită a speciilor reactive de oxigen în mitocondrii activează căile pro-inflamatorii și afectează atât structura lipidelor și proteinelor, cât și activita-

degradation of ischemia modified forms, and by accelerated renal clearance induced by conformational changes [7].

Plasma IMA content changes earlier than cardiac troponins (TnT and TnI), creatine kinase MB, and natriuretic peptides (A and B) levels [19]. At the same time, IMA has a higher sensitivity but lower specificity [14], compared to the ECG and TnT evaluation in acute coronary syndrome diagnosis [20]. It has been shown that serum level of IMA reflects the extent and duration of cardiac ischemia [19].

IMA increasing may be caused by coronary artery spasm [20]. It was proposed in 2007 to evaluate the serum level of IMA as a biomarker of transient cardiac ischemia induced by coronary spasm [21].

Serum levels of IMA can be used for the disease prognosis [22]. It was established the association of high IMA and TnT levels at admission with increased risk (21%) of cardiac complications in the patients with acute chest pain [23]. IMA presented as a poor prognostic factor for early cardiac complications (the first 72 hours) [24], but in 2007 Aparci et al. have motivated the using of IMA as a long-term prediction factor [25].

It has been suggested that IMA is not a specific myocardial biomarker [26]. Increased IMA values can be detected in diabetes, hypertension, atherosclerosis, liver cirrhosis, acute infections, neoplasms, stroke, and kidney diseases [7, 27].

In the collected blood samples, the IMA is stable for up to 2 hours at +4-20°C, and can be stored in the freezer at -20°C [25].

In 2003, the Food and Drug Administration (FDA) approved the IMA evaluation in the algorithm for acute myocardial infarction diagnosis and treatment [7]. According to the current data, the IMA is the only parameter for myocardial ischemia identification reached to the clinical validation stage [28].

Advanced oxidation protein products (AOPP)

Advanced oxidation protein products (AOPP) are the biomarkers of irreversible protein damage caused by oxidative stress [6], which are formed by the interaction of plasma proteins with chlorine-containing oxidants such as chloramine, hypochlorous acid (HOCl) [2].

It has been described that AOPP are the derivatives of serum albumin, which includes dithyrosine (di-Tyr), pentosidine and reactive carbonyl compounds [29]. These products are formed in oxidative stress both under the action of reactive oxygen species, and by the reaction catalysed by myeloperoxidase [2]. According to the data presented in 2011 by Miyata et al. the protein carbonylation is caused by: (1) direct oxidation of lysine, arginine, proline and threonine residues; (2) action of free radicals; (3) non-oxidative reactions of lipids oxidized by carbonyl groups [30]. Stadtman and Levine (2003) have noted that protein cleavage, alpha-amination and oxidation of glutamine residues represent an alternative pathway for the formation of carbonyl compounds [31]. In 2014, Zurawska-Plaksej et al. have confirmed that AOPP content increases as the result of the direct action of reactive oxygen species (oxidation of amino acid radicals), as well as structural rearrangement (formation of disulphide bridges and cross-links) [6].

tea enzimelor [30]. Totodată, stresul oxidativ este asociat cu activitatea crescută a metaloproteinazelor [32]. S-a demonstrat că diferite tipuri de reacții de oxidare se petrec simultan, astfel radicalii aminoacizilor din componența proteinelor sunt oxidați cu intensitate variată, fapt care duce la modificarea masei moleculare [33].

Experimental s-a confirmat faptul că modificările oxidative ireversibile generează produși care se scindează mai greu și au perioada de înjumătățire mai lungă [33]. Publicațiile arată că PPOA sunt stabili la temperatura de -20°C - -80°C și pot fi păstrați timp de 6 luni. Perioada de înjumătățire lungă le asigură proteinelor modificate proprietăți de biomarker al stresului oxidativ. Studiile recente au descoperit că la degradarea proteinelor oxidate participă sistemul proteosomal, capabil să recunoască și scindeze proteinele modificate ireversibil [33]. Datorită faptului că mecanismul menționat este caracteristic celulelor localizate în țesuturi și nu celor circulante, unii savanți au presupus că sporirea nivelului seric de PPOA este provocată de acumularea proteinelor modificate atât din cauza degradării defecte, cât și eliminării lente [2].

Stresul oxidativ și inflamația provoacă acumularea PPOA și accelerează aterogeneza [34]. Experimental a fost confirmat că PPOA pot fi utilizați pentru evaluarea intensității stresului oxidativ, fiind biomarkeri veridici care reflectă modificările proteinelor în maladiile aterosclerotice [2].

Acumularea PPOA constituie o bază moleculară nouă pentru inducerea stresului oxidativ, care, ulterior, are un rol cheie în aterogeneză [35]. În 2014, Piwowar a demonstrat că acțiunea detrimentală a PPOA poate fi explicată atât prin alterarea directă, însoțită de modificări funcționale a moleculei proteice, cât și prin activarea receptorilor tip RAGE, localizați pe suprafața macrofagilor/monocitelor, celulelor endoteliale și vasculare, care declanșează căile de semnalizare mediate prin protein-kinaza mitogen activată (MAPK) și factorul nuclear kappa-B (NF- κ B) [36].

Efectul pro-apoptotic al PPOA a fost stabilit experimental și s-a descris mecanismul posibil [37]. PPOA, prin intermediul receptorilor specifici, stimulează sinteza radicalilor superoxid NOX2- și NOX4-dependentă, urmată de activarea căii TRAF3IP2, translocarea în mitocondrie a factorului Bax, eliberarea citocromului c și activarea cascadei caspazice [37]. Este cunoscut faptul că, în stresul oxidativ, speciile reactive de oxigen activează factorul nuclear kappa B (NF- κ B), care induce transcripția unor mediatorii pro-inflamatori cu efect pro-aterogenic, în special, datorită declanșării oxidării LDL, recrutarea leucocitelor și proliferarea celulelor musculare netede. Cercetările recente sugerează că PPOA reprezintă un factor de risc care contribuie la inițierea și progresarea bolii ischemice a cordului [37].

PPOA accelerează oxidarea LDL și formarea de oxLDL, care joacă un rol important în dezvoltarea aterosclerozei [38]; concomitent, PPOA declanșează explozia oxidativă a monocitelor și neutrofilelor umane [39].

Descamps-Latscha și colab., au confirmat că nivelul PPOA corelează cu accidentele cardiovasculare aterosclerotice [40], precum și cu bolile coronariene [41]. A fost demonstrat experimental că nivelul seric crescut de PPOA majorează sem-

It is known that an increased synthesis of reactive oxygen species in mitochondria activates pro-inflammatory pathways and affects the lipid and protein structure, as well as enzyme activity [30]. Also, oxidative stress is associated with the increased activity of metalloproteinases [32]. It was shown that different types of oxidation take place simultaneously, so the amino acid radicals in the protein composition are oxidized with varying intensity, which leads to the molecular weight modification [33].

It was established experimentally that irreversible oxidative changes generate products that are more difficult to cleave and have a longer half-life time [33]. The published data show that AOPPs are stable at -20°C to -80°C , and can be stored for 6 months. The long half-life time provides to the modified protein the typical properties as the biomarker of oxidative stress. Recent studies have found that the degradation of oxidized proteins involves the proteasome system, able to recognize and cleave irreversibly modified proteins [33]. Giving the fact that the described mechanism is characteristic mainly for the tissue cells rather than circulating ones, some scientists have suggested that the increase in serum AOPP content is caused by the accumulation of modified proteins due to both altered degradation and slow elimination [2].

Oxidative stress and inflammation leads to the AOPP accumulation, and accelerate atherogenesis [34]. It was confirmed experimentally that AOPP can be used to assess the intensity of oxidative stress, being reliable biomarkers that reflect protein damage in atherosclerotic diseases [2].

The accumulation of AOPP represents a new molecular basis for the oxidative stress induction, which subsequently plays a key role in atherogenesis [35]. Data presented by Piwowar (2014) have shown that the detrimental action of AOPP can be explained by: (1) the direct alteration of the protein molecule, followed by functional changes; (2) the RAGE receptors activation, which triggers the signalling pathways mediated by the mitogen activated protein kinase (MAPK) and the nuclear factor kappa-B (NF- κ B) [36].

Experimentally was confirmed the pro-apoptotic effect of AOPP, and the possible mechanism was described [37]. According to the data presented, AOPP stimulate the synthesis of NOX2- and NOX4- dependent superoxide radicals, followed by the activation of the TRAF3IP2 pathway, mitochondrial Bax translocation, cytochrome c release, and caspase cascade activation [37]. It is known that in oxidative stress the reactive oxygen species activate nuclear factor kappa-B (NF- κ B), which stimulates the transcription of pro-inflammatory mediators with pro-atherogenic effect, responsible for LDL oxidation, leukocyte recruitment and smooth muscle cell proliferation. Recent studies suggest that AOPP is a risk factor that contributes to the ischemic heart disease onset and progression [37].

AOPP accelerate LDL oxidation and the formation of oxLDL, which has an important role in the development of atherosclerosis [38]; simultaneously AOPP trigger the oxidative burst in human monocytes and neutrophils [39].

The research performed by Descamps-Latscha et al. has confirmed that AOPP content correlates with atherosclerotic cardiovascular accidents [40], and coronary artery diseases

nificativ suprafața plăcilor aterosclerotice [38]; conținutul plasmatic al PPOA corelează semnificativ cu nivelele serice ale glucozei [6], HDL-colesterolului și trigliceridelor [42].

PPOA sunt factori pro-oxidativi importanți, cu efectele caracteristice mediatorilor inflamației; s-a evidențiat corelația dintre nivelele serice ridicate ale PPOA și creșterea cantității factorului de necroză tumorală alfa (TNF α) în plasmă [38].

Acumularea PPOA declanșează stresul oxidativ și inflamația, care, în continuare, induc generarea PPOA prin stimularea leucocitelor și producerea în exces a oxidanților; astfel, sunt amplificate stresul oxidativ și inflamația, care contribuie la aterogeneză [38]. PPOA reprezintă atât biomarkeri ai lezării proteinelor, induse de agenți oxidanți, cât și inductori posibili ai stresului oxidativ [43].

Stresul oxidativ are un rol determinant în leziunile induse de hipoxie-ischemie, manifestate prin generarea, în exces, a speciilor reactive de oxigen [44], care vor reacționa cu majoritatea macromoleculor, preponderent fiind afectate proteinele [6]. Modificările oxidative ale proteinelor sunt cardinale în patogenia și evoluția maladiilor metabolice [45], inclusiv, obezitate, diabet zaharat, dislipidemie, hipertensiune arterială, ateroscleroză [46], boli ischemice, neoplasme [47].

Savanții demonstrează rolul PPOA în procesele inflamatorii, regenerative, de adaptare și transducția intracelulară a semnalelor [44], precum și în calitate de biomarkeri veridici ai stresului oxidativ care reflectă gradul de lezare al proteinelor [36].

Dialdehida malonică (DAM)

Procesul de peroxidare a lipidelor, indus de către oxidanți și stresul oxidativ, generează o cantitate enormă de produși, inclusiv, produși carbonil, cetone și aldehide [48].

În 2013, Volinsky și Kinnuen au stabilit că rata joasă de peroxidare stimulează mecanismele de supraviețuire celulară, sistemele de protecție antioxidantă și răspunsul de adaptare la stres prin activarea în citosol a factorului nuclear eritroid 2 (Nrf2) [49]. După translocarea în nucleu, Nrf2 se unește la promotorul genelor specifice și induce expresia enzimei sistemului antioxidant (catalaza, glutatation peroxidaza, glutatation reductaza, glutatation-S-transferaza etc.) [50].

Ratele medii sau înalte de peroxidare a lipidelor activează factorul nuclear kappa B (NF-kB), care declanșează un răspuns pro-inflamator, mediat prin expresia genelor care codifică TNF α și interleukina 6 (IL-6) [51] și induc moartea celulară prin necroză, apoptoză sau autofagie [52], mecanisme care facilitează dezvoltarea proceselor patologice și/sau accelerează îmbătrânirea [49].

Esterbauer și colab., au constatat că dialdehida malonică (DAM) este produsul final, format atât la peroxidarea enzimatică, cât și neenzimatică a acidului arahidonic și acizilor grași polinesaturați cu catena lungă [53]. Se menționează că, DAM chimic este mai stabilă și difuzează mai ușor prin membrane; totodată, este mai puțin toxică, comparativ cu speciile reactive de oxigen. În 2013, Pizzimenti a argumentat că DAM este o moleculă electrofilă cu reactivitate joasă la pH fiziologic [54]. Experimental, a fost apreciat faptul că scăderea valorilor pH mărește reactivitatea și proprietățile electrofile ale DAM, fa-

[41]. Experimentalmente a fost demonstrat că nivelurile serice ridicate ale AOPP cresc semnificativ suprafața plăcilor aterosclerotice [38]. Studiile recente au găsit că conținutul plasmatic al AOPP corelează cu glucoza [6], HDL-colesterolul și trigliceridele [42].

Conform datelor publicate, AOPP sunt factori oxidativi importanți cu efecte caracteristice mediatorilor inflamației. Studiile recente au evidențiat corelația dintre nivelurile serice ridicate ale AOPP și creșterea cantității factorului de necroză tumorală alfa (TNF α) în plasmă [38].

Accumularea AOPP declanșează stresul oxidativ și inflamația, care, în continuare, induc generarea AOPP prin stimularea leucocitelor și producerea în exces a oxidanților; astfel, sunt amplificate stresul oxidativ și inflamația, care contribuie la aterogeneză [38].

Conform datelor prezentate de Descamps-Latscha et al. (2001) se poate observa că AOPP reprezintă atât biomarkeri ai lezării proteinelor, induse de agenți oxidanți, cât și inductori posibili ai stresului oxidativ [43].

Stresul oxidativ are un rol determinant în leziunile induse de hipoxie-ischemie, manifestate prin generarea, în exces, a speciilor reactive de oxigen [44], care vor reacționa cu majoritatea macromoleculor, predominant afectând proteinele [6]. Modificările oxidative ale proteinelor sunt cardinale în patogenia și evoluția maladiilor metabolice [45], inclusiv, obezitate, diabet, dislipidemie, hipertensiune arterială, ateroscleroză [46], boli ischemice, neoplasm [47].

Conform datelor publicate de Valle-Gotlieb (2010) se poate observa că AOPP reprezintă atât biomarkeri ai lezării proteinelor, induse de agenți oxidanți, cât și inductori posibili ai stresului oxidativ [43].

Recente studii au demonstrat că AOPP reprezintă atât biomarkeri ai lezării proteinelor, induse de agenți oxidanți, cât și inductori posibili ai stresului oxidativ [43].

Malondialdehidă (MDA)

Procesul de peroxidare a lipidelor, indus de către oxidanți și stresul oxidativ, generează o cantitate enormă de produși, inclusiv, produși carbonil, cetone și aldehide [48].

În 2013, Volinsky și Kinnuen au stabilit că rata joasă de peroxidare stimulează mecanismele de supraviețuire celulară, sistemele de protecție antioxidantă și răspunsul de adaptare la stres prin activarea în citosol a factorului nuclear eritroid 2 (Nrf2) [49]. După translocarea în nucleu, Nrf2 se unește la promotorul genelor specifice și induce expresia enzimei sistemului antioxidant (catalaza, glutatation peroxidaza, glutatation reductaza, glutatation-S-transferaza etc.) [50].

Ratele medii sau înalte de peroxidare a lipidelor activează factorul nuclear kappa B (NF-kB), care declanșează un răspuns pro-inflamator, mediat prin expresia genelor care codifică TNF α și interleukina 6 (IL-6) [51] și induc moartea celulară prin necroză, apoptoză sau autofagie [52], mecanisme care facilitează dezvoltarea proceselor patologice și/sau accelerează îmbătrânirea [49].

Conform datelor prezentate de Esterbauer et al. (1991) se poate observa că MDA este produsul final, format atât la peroxidarea enzimatică, cât și neenzimatică a acidului arahidonic și acizilor grași polinesaturați cu catena lungă [53]. Se menționează că, MDA chimic este mai stabilă și difuzează mai ușor prin membrane; totodată, este mai puțin toxică, comparativ cu speciile reactive de oxigen. În 2013, Pizzimenti a argumentat că MDA este o moleculă electrofilă cu reactivitate joasă la pH fiziologic [54]. Experimental, a fost apreciat faptul că scăderea valorilor pH mărește reactivitatea și proprietățile electrofile ale MDA, fa-

vorizează atacul compușilor nucleofili care conțin lizină, arginină, histidină, cu formarea bazelor Schiff (mecanism implicat în oxidarea LDL). Datele prezentate arată că, complexe DAM provoacă apariția legăturilor încrucișate intra- sau intermoleculare și lezarea ireversibilă a funcției ADN sau proteinelor [54].

Sunt menționate proteinele modificate sub acțiunea DAM: (1) factorul de elongare 2 (eEF2), responsabil de deplasarea ribosomului de-a lungul ARNm; (2) factorul H (FH), care participă la reglarea procesului de activare a complementului; (3) anafilotoxina C₃ – componenta pro-inflamatorie a complementului cu rol pro-aterogenic, (4) proteinkinaza C (PKC), implicată în procesele de proliferare, diferențiere, migrare, inflamație și organizare a citoscheletului [55].

Studiile experimentale au elucidat rolul DAM ca fiind o moleculă de semnalizare și regulatorie în: (1) expresia genelor; (2) secreția insulară a insulinei, dependentă de glucoză (calea Wnt); (3) expresia genelor de collagen în hepatocite, prin inducerea genei proteinei de specificitate 1 (Sp1) [53]. Cercetările efectuate de Zarkovic și colab., au argumentat că DAM, generată, preponderent, pe calea neenzimatică, va reacționa și va forma complexe diferite cu proteinele și ADN [55]; complexe DAM provoacă apariția mutațiilor (extinse și/sau punctiforme) [56], rupturi catenare [57], oprirea ciclului celular [58], apoptoză [59].

Griesser și colab. (2009), au descoperit că, *in vivo*, DAM poate fi generată enzimatic ca și produs secundar la biosinteza tromboxanului A₂ [60]. S-a definitivat ipoteza că acidul arahidonic este precursorul principal la sinteza DAM pe calea neenzimatică, dependentă de speciile reactive de oxigen [61]. DAM poate fi metabolizată enzimatic atât prin oxidare, sub acțiunea aldehyd-dehidrogenazei mitocondriale, generând, succesiv, acetaldehidă, acetat, bioxid de carbon și apă [62], cât și sub acțiunea fosfogluco-izomerazei citosolice, cu formare de metilgloxal, care va fi transformat în D-lactat, cu participarea enzimelor sistemului glixalazic [63].

Este cunoscut faptul că DAM este cel mai mutagen produs al peroxidării lipidelor [53]; DAM difuzează ușor prin membrane și modifică covalent proteinele din citosol și/sau nucleu [48].

DAM interacționează cu resturile de lizină din apoB, necesare pentru recunoașterea LDL de către receptorul specific apoB/E, localizat pe suprafața celulelor (cu excepția macrofagilor). Oxidarea LDL le modifică afinitatea pentru receptorii apoB/E, astfel, oxLDL sunt captate doar de către celulele ce posedă receptori de tip "scavenger" (macrofagi, celule musculare netede), cu formarea celulelor spumoase și apariția leziunilor aterosclerotice inițiale [64]. Un alt studiu a elucidat proprietățile aterogene ale oxLDL și rolul lor în procesele inflamator, mitogen și pro-apoptotic [65].

S-a stabilit utilitatea determinării DAM atât în calitate de marker al evoluției procesului aterosclerotic, cât și drept indicator de prognostic al bolilor cardiovasculare, inclusiv, sindromul coronar acut [66]. Multiple studii clinice argumentează faptul că dinamica DAM serică corelează cu evoluția nefavorabilă a bolii [3].

menționat că MDA chimic este mai stabil și se difuzează mai ușor prin membrane; de asemenea, este mai puțin toxic în comparație cu speciile reactive de oxigen. Pizzimenti în 2013 demonstrează că MDA este o moleculă electrophilă cu o reactivitate scăzută la pH fiziologic [54]. Experimentalmente s-a demonstrat că scăderea valorilor pH mărește reactivitatea și proprietățile electrophile ale MDA, susținând atacul compușilor nucleofili (abundant în lizină, arginină, histidină) și formarea bazelor Schiff (mecanism implicat în oxidarea LDL). Datele prezentate arată că MDA adductele induc intra- sau intermoleculare cross-links, și lezarea ireversibilă a funcției ADN și a proteinelor [54].

Proteinele modificate de MDA sunt: (1) factorul de elongare 2 (eEF2) – responsabil pentru mișcarea ribosomului de-a lungul ARNm; (2) factorul H (FH) – implicat în reglarea procesului de activare a complementului; (3) anafilaxin C3 – componenta pro-inflamatorie și pro-aterogenică a complementului; (4) proteinkinaza C (PKC) – implicată în procesele de proliferare, diferențiere, migrare, inflamație și organizarea citoscheletului [55].

Studiile experimentale confirmă că MDA acționează ca moleculă de semnalizare și regulator a următoarelor procese: (1) expresia genelor; (2) secreția insulară a insulinei (calea Wnt); (3) expresia genelor de collagen în hepatocite prin inducerea genei proteinei de specificitate 1 (Sp1) [53]. În studiile recente Zarkovic *et al.* au demonstrat că MDA, generată predominant pe calea neenzimatică, va reacționa și va forma complexe diferite cu proteinele și ADN [55]. MDA adductele induc diferite tipuri de mutații [56], rupturi catenare [57], oprirea ciclului celular [58], și apoptoză [59].

În 2009, Griesser *et al.* au demonstrat că *in vivo* MDA poate fi generată enzimatic ca produs secundar la biosinteza tromboxanului A₂ [60]. Ipoteza că acidul arahidonic este precursorul principal la sinteza DAM pe calea neenzimatică, dependentă de speciile reactive de oxigen [61]. MDA poate fi metabolizată enzimatic atât prin oxidare, sub acțiunea aldehyd-dehidrogenazei mitocondriale, generând, succesiv, acetaldehidă, acetat, bioxid de carbon și apă [62], cât și sub acțiunea fosfogluco-izomerazei citosolice, cu formare de metilgloxal, care va fi transformat în D-lactat de către enzimele sistemului glixalazic [63].

Este cunoscut faptul că DAM este cel mai mutagen produs al peroxidării lipidelor [53]; DAM difuzează ușor prin membrane și modifică covalent proteinele din citosol și nucleu [48].

DAM interacționează cu resturile de lizină din apoB, necesare pentru recunoașterea LDL de către receptorul specific apoB/E, localizat pe suprafața celulelor (cu excepția macrofagilor). Oxidarea LDL le modifică afinitatea pentru receptorii apoB/E, astfel, oxLDL sunt captate doar de către celulele ce posedă receptori de tip "scavenger" (macrofagi, celule musculare netede), cu formarea celulelor spumoase și apariția leziunilor aterosclerotice inițiale [64]. Un alt studiu a elucidat proprietățile aterogene ale oxLDL și rolul lor în procesele inflamator, mitogen și pro-apoptotic [65].

S-a stabilit utilitatea determinării DAM atât în calitate de marker al evoluției procesului aterosclerotic, cât și drept indicator de prognostic al bolilor cardiovasculare, inclusiv, sindromul coronar acut [66]. Multiple studii clinice argumentează faptul că dinamica DAM serică corelează cu evoluția nefavorabilă a bolii [3].

Concluzii

Stresul oxidativ are un rol important în apariția și dezvoltarea aterosclerozei și bolilor cardiovasculare. Speciile reactive de oxigen, generate pe cale enzimatică și/sau neenzimatică, atacă proteinele serice și lipidele membranare, accelerând formarea și acumularea unor compuși oxidativ modificați. Albumina ischemic modificată (AIM) și produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) sunt derivații albuminei serice și reflectă gradul de lezare a proteinelor în ischemie și stres oxidativ. Dialdehida malonică (DAM), produsul final al peroxidării lipidelor, are proprietăți mutagene și aterogene. În ischemia cardiacă au loc modificarea cantității de AIM, PPOA și DAM serice, fapt ce argumentează utilizarea lor în calitate de biomarkei veridici ai ischemiei miocardului, indusă de stres oxidativ.

Declarația de conflict de interes

Autorul declară lipsa conflictului de interese financiare sau nonfinanciare.

Referințe / references

1. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 36: 959-69.
2. Gryszczyńska B., Formanowicz D., Budzy M., Wanic-Kossowska M., Pawliczak E., Formanowicz P., Majewski W., Strzyhowski K., Kasprzak M., Iskra M. Advanced oxidation protein products and carbonylated proteins as biomarkers of oxidative stress in selected atherosclerosis-mediated diseases. *Biomed. Res. Int.*, Volume 2017, Article ID 4975264.
3. Azizova O., Gao L., Dumikyan A., Syrkin A., Baranova O., Berkman E., Aseychev A., Moskvina S., Sergienco V. Prognostic value of dynamic changes of oxidative stress indices in patients with stable coronary heart disease. *Kardiol. serdečno-sosud hir.*, 2011; 1: 4.
4. Зенков Н., Ланкин В., Меньщикова Е. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. Москва, 2001.
5. Chawla R., Goyal N., Calton R., Goyal S. Ischemia Modified Albumin: a novel marker for acute coronary syndrome. *Indian J. Clin. Biochem.*, 2006; 21 (1): 77-82.
6. Zurawska-Plaksej E., Grzebyk E., Marciniak D., Szyman'ska-Chabowska A., Piwowar A. Oxidatively modified forms of albumin in patients with risk factors of metabolic syndrome. *J. Endocrinol. Invest.*, 2014, 37: 819-827.
7. Gaze D. Ischemia Modified Albumin: a novel biomarker for the detection of cardiac ischemia. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 2009; 24 (4): 333-341.
8. Bar-Or D., Winkler J., VanBenthuyzen K., Harris L., Lau E., Hetzel F. Reduced albumin cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin and Troponin I. *Am. Heart J.*, 2001; 141: 985-991.
9. Talwalkar S., Bon Homme M., Miller J., Elin R. Ischemia modified albumin, a marker of acute ischemic events: a pilot study. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2008; 38 (2): 132-7.
10. Hazini A. et al. Investigation of ischemia modified albumin, oxidant and antioxidant markers in acute myocardial infarction. *Advances in Interventional Cardiology*, 2015; 4 (42): 298-303.
11. Bar-Or D., Curtis G., Rao N., Bampos N., and Lau E. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. An insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia. *Eur. J. Biochem.*, 2001; 268 (1): 42-47.
12. Roy D., Quiles J., Gaze D., Collinson P., Kaski J., Baxter G. Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischaemia modified albumin. *Heart*, 2006; 92: 113-114.
13. Erturk E., Cekic B., Geze S., Kosucu M., Coskun I., Eroglu A., Ulusoy H., Mentese A., Karahan C., Kerimoglu S. Comparison of the effect of propofol and N-acetyl cysteine in preventing ischaemia-reperfusion injury. *Eur. J. Anaesthesiol.*, 2009; 26 (4): 279-84.
14. Cui Liyan, Zhang Jie, Wu Yonghua, and Hu Xiaozhou. Assay of ischemia-modified albumin and c-reactive protein for early diagnosis of acute coronary syndromes. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2008; 22: 45-49.
15. Kumar A., Sivakanesan R., Gunasekera S. Ischemia modified albumin a potent marker in acute myocardial infarction in normolipidaemic patients. *Pak. J. Med. Sci.*, 2008; 24 (3): 364-7.
16. Marx G., Chevion M. Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper (II) and ascorbate. *Biochem. J.*, 1986; 236 (2): 397-400.
17. Mothes E., Faller P. Evidence that the principal Co(II)-binding site in human serum albumin is not at the N-terminus: implication

- on the albumin cobalt binding test for detecting myocardial ischemia. *Biochemistry*, 2007; 46 (8): 2267-2274.
18. Sinha M., Gaze D., Tippins J., Collinson P., Kaski J. Ischemia modified albumin is a sensitive marker of myocardial ischemia after percutaneous coronary intervention. *Circulation*, 2003; 107 (19): 2403-5.
 19. Sinha M., Vazquez J., Calvino R., Gaze D., Collinson P., Kaski J. Effects of balloon occlusion during percutaneous coronary intervention on circulating Ischemia Modified Albumin and transmyocardial lactate extraction. *Heart*, 2006; 92 (12): 1852-1853.
 20. Sinha M., Roy D., Gaze D., Collinson P., Kaski J.-C. Role of Ischemia Modified Albumin, a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emerg. Med. J.*, 2004; 21: 29-34.
 21. Cho D., Choi J., Kim S. *et al.* Ischemia-modified albumin is a highly sensitive serum marker of transient myocardial ischemia induced by coronary vasospasm. *Coron. Artery Dis.*, 2007; 18: 83-87.
 22. Sbarouni E., Georgiadou P., Kremastinos D., Voudris V. Ischemia Modified Albumin: is this marker of ischemia ready for prime time use? *Hellenic J. Cardiol.*, 2008; 49: 260-266.
 23. Abadie J., Blassingame C., Bankson D. Albumin cobalt binding assay to rule out acute coronary syndrome. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2005; 35 (1): 66-72.
 24. Worster A., Devereaux P., Heels-Ansdell D., Guyatt G., Opie J., Mookadam F., Hill S. Capability of ischemia modified albumin to predict serious cardiac outcomes in the short term among patients with potential acute coronary syndrome. *CMAJ*, 2005; 172 (13): 1685-1690.
 25. Aparci M., Kardesoglu E., Ozmen N., Ozcan O., Cebeci B., Cingozbay B., Dincturk M. Prognostic significance of ischemia-modified albumin in patients with acute coronary syndrome. *Coron. Artery Dis.*, 2007; 18 (5): 367-373.
 26. Kiyici A., Mehmetoglu I., Karaoglan H., Atalay H., Solak Y., Turk S. Ischemia modified albumin levels in patients with end-stage renal disease patients on hemodialysis: does albumin analysis method affect albumin adjusted ischemia-modified albumin levels? *J. Clin. Lab. Anal.*, 2010; 24 (4): 273-7.
 27. Abboud H., Labreuche J., Meseguer E. *et al.* Ischemia-modified albumin in acute stroke. *Cerebrovasc. Dis.*, 2007; 23: 216-220.
 28. Roy D., Kaski J. High-risk acute coronary syndrome patients and cardiac biomarkers in the emergency department: any role for new biomarkers of myocardial ischaemia? *Eur. Heart J.*, 2007; 28: 2297.
 29. Capeillere-Blandin C., Gausson V., Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochim. Biophys. Acta – Molecular Basis of Disease*, 2004; 1689 (2): 91-102.
 30. Miyata T., Eckardt K., Nangaku M. Transition metals and other forms of oxidative protein damage in renal disease. *Studies on Renal Disorders*, 2011; Humana Press, Totowa, NJ, USA.
 31. Stadtman E., Levine R. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 2003; 25: (3-4): 207-218.
 32. Guzik B., Sagan A., Ludew D. *et al.* Mechanisms of oxidative stress in human aortic aneurysms – association with clinical risk factors for atherosclerosis and disease severity. *Int. J. Cardiol.*, 2013; 168 (3): 2389-2396.
 33. Madian G., Regnier F. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites. *J. Proteome Res.*, 2010; 9 (8): 3766-3780.
 34. Shang X., Fan F., Zhi J. *et al.* Advanced oxidation protein products accelerate atherosclerosis through promoting oxidative stress and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006; 26 (5): 1156-1162.
 35. Himmelfarb J., Stenvinkel P., Ikizler T., Hakim R. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.*, 2002; 62: 1524-1538.
 36. Piwowar A. Biochemical and clinical aspects of advanced oxidation protein products in kidney diseases and metabolic disturbances. *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2014, 68: 179-190.
 37. Valente A., Yoshida T., Clark R., Delafontaine P., Siebenlist U., Chandrasekar B. Advanced oxidation protein products induce cardiomyocyte death via Nox2/Rac1/superoxide-dependent TRAF3IP2/JNK signaling. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013; 60: 125-135.
 38. Shang X., Fan F., Zhi J. *et al.* Advanced oxidation protein products accelerate atherosclerosis through promoting oxidative stress and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006; 26: 1156-1162.
 39. Witko-Sarsat V., Gausson V., Nguyen A.T., Touam M., Druete T., Santangelo F., Descamps-Latscha B. AOPPs-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int.*, 2003; 64: 82-91.
 40. Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V., Nguyen-Khoa T., Nguyen A., Gausson V., Mothu N., London G., Jungers P. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.*, 2005; 45: 39-47.
 41. Kalousova M., Skrha J., Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol. Res.*, 2002; 51: 597-604.
 42. Sebekova K., Boor P., Valachovicova M. *et al.* Association of metabolic syndrome risk factors with selected markers of oxidative status and microinflammation in healthy omnivores and vegetarians. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2006; 50: 858-868.
 43. Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int. Suppl.*, 2001; 78: S108-113.
 44. Valle-Gotlieb M., da Cruz I., Duarte M. *et al.* Associations among metabolic syndrome, ischemia, inflammatory, oxidatives, and lipids biomarkers. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010; 95: 586-591.
 45. Grzebyk E., Piwowar A. Glycooxidative modification of albumin in medical research *Pol. Merkur Lekarski*, 2013; 34: 239-242.
 46. Hopps E., Caimi G. Protein oxidation in metabolic syndrome. *Clin. Invest. Med.*, 2013; 36: E1-E8.
 47. Kaefer M., Piva S., De Carvalho J. *et al.* Association between ischemia modified albumin, inflammation and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Clin. Biochem.*, 2010; 43: 450-454.
 48. Negre-Salvayre A., Coatrieux C., Ingueneau C., Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 153: 6-20.
 49. Volinsky R., Kinnunen P. Oxidized phosphatidylcholines in membrane-level cellular signaling: from biophysics to physiology and molecular pathology. *FEBS J.*, 2013; 280 (12): 2806-2816.

50. De Vries H., Witte M., Hondius D. *et al.* Nrf2-induced antioxidant protection: a promising target to counteract ROS mediated damage in neurodegenerative disease? *Free Radic. Biol. Med.*, 2008; 45 (10): 1375-1383.
51. Baldwin A. Series introduction: the transcription factor NF-kB and human disease. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107 (1): 3-6.
52. Hariharan N., Zhai P., Sadoshima J. Oxidative stress stimulates autophagic flux during ischemia/reperfusion. *Antioxid. Redox. Signal.*, 2011; 14 (11): 2179-2190.
53. Esterbauer H., Schaur R., Zollner H. Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic. Biol. Med.*, 1991; 11 (1): 81-128.
54. Pizzimenti S., Ciamporcerio E., Daga M. *et al.* Interaction of aldehydes derived from lipid peroxidation and membrane proteins. *Front. Physiol.*, 2013; vol. 4, article 242.
55. Zarkovic N., Cipak A., Jaganjac M., Borovic S., Zarkovic K. Pathophysiological relevance of aldehydic protein modifications. *J. Proteomics*, 2013, 92: 239-247.
56. VanderVeen L., Hashim M., Shyr Y., Marnett L. Induction of frameshift and base pair substitution mutations by the major DNA adduct of the endogenous carcinogen malondialdehyde. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100 (24): 14247-14252.
57. Niedernhofer L., Daniels J., Rouzer C., Greene R., Marnett L. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278 (33): 31426-31433.
58. Ji C., Rouzer C., Marnett L., Pietenpol J. Induction of cell cycle arrest by the endogenous product of lipid peroxidation, malondialdehyde. *Carcinogenesis*, 1998; 19 (7): 1275-1283.
59. Willis M., Klassen L., Carlson D., Brouse C., Thiele G. Malondialdehyde-acetaldehyde haptenated protein binds macrophage scavenger receptor(s) and induces lysosomal damage. *Int. Immunopharmacol.*, 2004; 4 (7): 885-899.
60. Griesser M., Boeglin W., Suzuki T., Schneider C. Convergence of the 5-LOX and COX-2 pathways: hemecatalyzed cleavage of the 5S-HETE-derived di-endoperoxide into aldehyde fragments. *J. Lipid Res.*, 2009; 50 (12): 2455-2462.
61. Milne G., Yin H., Morrow J. Human biochemistry of the isoprostane pathway. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283 (23): 15533-15537.
62. Siu G., Draper H. Metabolism of malonaldehyde *in vivo* and *in vitro*. *Lipids*, 1982; 17 (5): 349-355.
63. Agadjanyan Z., Dmitriev L., Dugin S. A new role of phosphoglucose isomerase. Involvement of the glycolytic enzyme in aldehyde metabolism. *Biochemistry*, 2005; 70 (11): 1251-1255.
64. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 20963-20966.
65. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Radic. Biol. Med.*, 2000; 28: 1685-1696.
66. Tsimikas S. Oxidized low-density lipoprotein biomarkers in atherosclerosis. *Curr. Atheroscler.*, 2006; 8: 55-61.



ESEU

Considerații asupra dezvoltării funcționalității sistemului de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile netransmisibile în Republica Moldova

Elena Raevschi ^{*1}, Galina Obreja¹

¹Catedra de medicină socială și management sanitar „Nicolae Testemițanu”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 02.04.2018

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Elena Raevschi, dr. șt. med., conf. univ.

Catedra de medicină socială și management sanitar „Nicolae Testemițanu”

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: elena.raevschi@usmf.md

ESSAY

Considerations on the development of functionality of noncommunicable diseases surveillance system in the Republic of Moldova

Elena Raevschi ^{*1}, Galina Obreja¹

¹Nicolae Testemitanu Chair of social medicine and health management, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 02.04.2018

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Elena Raevschi, PhD, assoc. prof.

Nicolae Testemitanu Chair of social medicine and health management

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: elena.raevschi@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Actualmente, Republica Moldova nu posedă un sistem funcțional de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile netransmisibile. Este imperativă soluționarea problemei științifice aplicative de importanță majoră la nivel populațional, privind consolidarea managementului supravegherii factorilor de risc, în vederea reducerii mortalității cardiovasculare premature și alte boli netransmisibile în Republica Moldova.

Ipoteza de cercetare

În Republica Moldova s-au creat premise reale pentru dezvoltarea funcționalității sistemului național de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare și alte boli netransmisibile.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Analiza de sinteză a progreselor și perspectivelor de dezvoltare a funcționalității sistemului național de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile netransmisibile în Republica Moldova.

Rezumat

Introducere. Decesele premature cauzate de bolile netransmisibile ar putea fi reduse, în mare măsură, prin reducerea factorilor de risc modificabili. OMS a declarat dezvoltarea continuă a funcționalității sistemului de supraveghere ca una

What is not known yet, about the topic

Currently, the Republic of Moldova does not have a functional system to monitor the risk factors for noncommunicable diseases. It is imperative to solve the applicative scientific problem of major importance at populational level, regarding the consolidation of the risk factor surveillance management, in order to reduce the premature mortality due to cardiovascular disease and other noncommunicable diseases in the Republic of Moldova.

Research hypothesis

There are real prerequisites in the Republic of Moldova to develop the functional national surveillance system for cardiovascular disease and other noncommunicable disease risk factors.

Article's added novelty on this scientific topic

A review analysis was performed on the progress and the development perspectives of functionality of the national surveillance system for noncommunicable disease risk factors in the Republic of Moldova.

Abstract

Introduction. According to World Health Organization (WHO) strategies, premature deaths due to noncommunicable diseases could be reduced substantially by reducing modifiable risk factors. WHO declared the continuously development of

din condițiile-cheie pentru asigurarea realizării țintei strategice globale (nr. 1) de reducere relativă de 25% a mortalității premature, cauzate de bolile netransmisibile către anul 2025 („25×25”).

În Republica Moldova, supravegherea și monitorizarea factorilor de risc modificabili nu este, deocamdată, sistematică și integrată, nefiind nici parte componentă a Sistemului Informațional Medical Integrat în resursele informaționale de stat. În acest context, studiul și-a propus drept obiectiv general evidențierea premiselor existente de dezvoltare a funcționalității sistemului de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare și alte boli netransmisibile din Republica Moldova.

Material și metode. S-a efectuat un studiu de sinteză a cadrului de politici de la nivel global și național, însoțit de evaluarea bunelor practici internaționale, privind experiența de supraveghere funcțională a factorilor de risc, testată în timp.

Rezultate. Au fost identificate reperele conceptuale privind abordarea actuală în lume în vederea supravegherii factorilor de risc pentru bolile netransmisibile: (1) cooperarea internațională; (2) asigurarea conformității capacității naționale prin determinarea priorităților locale în acord cu principiul de cost-eficiență maxim posibilă; (3) colaborare intersectorială și multisectorială, în special, la nivelul sistemului de sănătate, centrat pe asistența medicală primară, ca sector de primul contact cu populația. În paralel, rezultatele studiului au evidențiat progresele Republicii Moldova, în vederea fortificării capacității naționale privind răspunsul pentru bolile netransmisibile, elaborării strategiilor naționale în coerență cu cele globale, asigurării consolidării cooperării intersectoriale și multisectoriale, optimizării resurselor instituționale și umane în sistemul de sănătate sub aspect al prevenției și controlului bolilor netransmisibile.

Concluzii. În Republica Moldova există premise pentru dezvoltarea funcționalității sistemului de supraveghere a factorilor de risc, determinate de progresele realizate, alături de rezerve de perspectivă, privind continua îmbunătățire prin ajustarea bunelor practici internaționale.

Cuvinte cheie: sistem de supraveghere funcțional, factori de risc, boli netransmisibile, Republica Moldova.

Introducere

Bolile cardiovasculare și alte boli netransmisibile (BNT) au fost recunoscute unanim ca provocarea prioritară a sănătății publice a sec. XXI, atât la nivel global, cât și cel național [1, 2, 3, 4]. Ratele standardizate ale mortalității prin bolile aparatului circulator sunt de circa 4 ori mai înalte în Republica Moldova, comparativ cu ratele respective occidentale [3, 5]. Pentru perioada 2003-2015, maladia cardiovasculară prioritară a identificat tendințe de întinerire, în special, în cazul bolii cardiace ischemice, care a demonstrat o evoluție procentuală în creștere de +10,7% a deceselor premature, alături de evoluția procentuală în descreștere de (-11,6%) a mortalității sub aspect clasic [3].

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a remarcat redu-

the surveillance system's functionality as one of the key conditions in reaching the global strategic target (no. 1) on 25% relative reduction of premature mortality due to noncommunicable diseases by 2025 (“25×25”).

In the Republic of Moldova, surveillance and monitoring of modifiable risk factors is not systematic nor integrated, being neither part of the Integrated Medical Information System within the state information resources. In this context, the study had as a general objective: to highlight the existing prerequisites for the development of the functional surveillance system for cardiovascular disease and other noncommunicable disease risk factors in the Republic of Moldova.

Material and methods. A review study of the global and national policy framework was performed, accompanied by the evaluation of good international practice on risk factors surveillance functionality, proven over time.

Results. Conceptual milestones on current global approaches to the surveillance of noncommunicable disease risk factors have been identified: (1) international cooperation; (2) ensuring national capacity compliance by determining local priorities in accordance with the principle of maximum possible cost-effectiveness; (3) cross-sectoral and multisectoral collaboration, particularly at the level of health system, focused on primary health care, as the sector of first contact with the population. In parallel, the study results highlighted the progress of the Republic of Moldova in strengthening national capacities to respond to noncommunicable disease challenges, to develop national strategies coherent with global ones, to ensure consolidation of cross-sectoral and multisectoral cooperation, to optimise institutional and human resources within the health system in order to prevent and control noncommunicable diseases.

Conclusions. There are prerequisites in the Republic of Moldova to develop the functional risk factor surveillance system, determined by the accomplished progress along with some perspective limitations regarding continuous improvement through good international practice adjustment.

Key words: functional surveillance system, risk factors, noncommunicable diseases, Republic of Moldova.

Introduction

Cardiovascular disease and other noncommunicable diseases (NCD) have been unanimously recognised as a priority public health challenge of 21st century, both at global and national level [1, 2, 3, 4]. Standardised mortality rates due to diseases of circulatory system are four times higher in the Republic of Moldova as compared with irrespective Western rates [3, 5]. In the period of 2003-2015 years, rejuvenation tendencies have been identified for the priority cardiovascular disease, particularly for ischemic heart disease, which showed an increasing percentage evolution of premature deaths by 10.7%, along with a decreasing percentage evolution (-11.6%) in classic mortality [3].

World Health Organization noted the significant reduction in premature mortality caused by noncommunicable diseases

cerea semnificativă a deceselor premature cauzate de bolile netransmisibile în mai multe țări cu venit înalt, datorită politicilor guvernamentale, care au contribuit la adoptarea unui stil de viață mai sănătos, promovarea unei asistențe medicale echitabile și dezvoltarea continuă a funcționalității sistemului de supraveghere. Fapt nominalizat de Dr. Margaret Chan, director general al Organizației Mondiale a Sănătății, ca imperativ pentru schimbarea favorabilă în contextul mortalității evitabile, fiind necesar de susținut și accelerat în țările dezvoltate, și cât mai repede de pornit în țările cu venit mediu și redus [4]. În Republica Moldova, până-n prezent, rămâne nesoluționată problema de existență a sistemului funcțional de supraveghere și monitorizare a bolilor netransmisibile [6, 7, 8]. Supravegherea și monitorizarea factorilor de risc modificabili nu este sistematică și integrată, nefiind nici parte componentă a Sistemului Informațional Medical Integrat în resursele informaționale de stat din Republica Moldova [7, 9, 10].

Luând în considerare evoluția în creștere a mortalității în vârsta productivă și, în condiția când OMS a declarat despre rolul vital al sistemelor de supraveghere funcționale în realizarea țintei strategice globale (nr. 1) de reducere relativă de 25% a mortalității premature cauzate de bolile netransmisibile către anul 2025 („25×25”) [4], problema dezvoltării și, ca urmare, existenței unui sistem de supraveghere, capabil să monitorizeze și evalueze factorii de risc pentru maladiile cardiovasculare și alte BNT în Republica Moldova, s-a constatat a fi o problemă de importanță majoră aplicativă, care necesită soluționare prin fundamentare științifică, și vine în acord cu Strategia Națională de Sănătate Publică (2014-2020) [7], Strategia Națională de prevenire și control al bolilor netransmisibile (2012-2020) [11] și Programul Național de prevenire și control al bolilor cardiovasculare (2014-2020) [12].

În acest context, scopul studiului a fost de a efectua analiza de sinteză a progreselor și perspectivelor de dezvoltare a funcționalității sistemului național de supraveghere, pentru a evidenția premisele existente de dezvoltare a funcționalității sistemului de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare și alte boli netransmisibile din Republica Moldova.

Material și metode

S-a efectuat analiza de sinteză a cadrului de politici global și național privind prevenția și controlul bolilor netransmisibile, precum și a bunelor practici internaționale de supraveghere a factorilor de risc, funcțională în timp.

Rezultate

Abordări actuale în lume privind supravegherea factorilor de risc

Organizația Mondială a Sănătății în comunicatele recente declară, că reducerea poverii bolilor cardiovasculare și a altor boli netransmisibile este o prioritate de sănătate la nivel global, fiind o condiție necesară pentru dezvoltarea durabilă a societății. Bolile netransmisibile sunt responsabile pentru circa fiecare două din trei decese din lume, și bolile cardiovasculare constituie 46% din ele. Aproape trei pătrimi din decese

in many high-income countries due to the government policies that contributed to a healthier lifestyle, promotion of an equitable access to medical care and a continuously development of the functional surveillance system. This fact was mentioned by Dr Margaret Chan, the Director-General of the World Health Organization, as an imperative for the favourable change in the context of avoidable mortality, that need to be sustained and accelerated in developed countries and to star as fast as possible in middle and low-income countries [4]. In the Republic of Moldova, the existence issue of a functional surveillance and monitoring system for noncommunicable diseases is still unresolved [6, 7, 8]. The surveillance and monitoring of modifiable risk factors is not systematic and integrated nor being part of the Integrated Medical Information System within the state information resources of the Republic of Moldova [7, 9, 10].

Taking into account the increasing mortality trend at the productive age and the situation when WHO declared the vital role of functional surveillance system in reaching the global strategic target (no. 1) on a 25% relative reduction in premature mortality due to noncommunicable diseases by 2020 (“25×25”) [4], the issue of development and consequently existence of a surveillance system able to monitor and evaluate cardiovascular disease and other NCDs risk factors in the Republic of Moldova was found to be of a major applicative importance that need to be resolved by scientific substantiation and this is in line with the National Public Health Strategy (2014-2020) [7], the National Strategy on Prevention and Control of Noncommunicable Diseases (2012-2020) [11] and the National Program on Cardiovascular Disease Prevention and Control (2014-2020) [12].

In this context, the aim of the study was to perform a review analysis of the progress and the development perspectives of the national surveillance system functionality in order to highlight the existing prerequisites to the development of functional surveillance system for cardiovascular disease and other noncommunicable disease risk factors in the Republic of Moldova.

Material and methods

A review analysis of the global and national policy framework on noncommunicable disease prevention and control was performed, as well as of good international practice on risk factors surveillance, proven over time.

Results

Current worldwide approaches on risk factors surveillance

In its recent releases, World Health Organization states that reducing the burden of cardiovascular disease and other noncommunicable diseases is a global health priority and a condition necessary for the sustainable development of society. Noncommunicable diseases are responsible for about two out of every three deaths in the world, and cardiovascular disease account for 46% of them. Almost three quarters of deaths due to noncommunicable diseases (28 millions) and most premature deaths (82%) occur in middle and low-income coun-

se prin bolile netransmisibile (28 de milioane) și majoritatea deceselor premature (82%) se produc în țările cu venit mediu și redus [4]. Estimările OMS pentru 2011-2025 identifică pierderile economice cumulative, cauzate de bolile netransmisibile în țările cu venit mediu și redus, constată costuri de circa 7 trilioane de dolari SUA, fiind o provocare dură pentru dezvoltarea țării și depășirea sărăciei [4]. Astfel, maladia cardiovasculară prioritară și alte boli netransmisibile au fost determinate ca bariere-cheie, în vederea prosperității și dezvoltării durabile [4].

Cooperarea internațională

Cooperarea internațională a devenit o necesitate obiectivă, ce stă la baza eforturilor globale, privind combaterea maladiei cardiovasculare prioritare și a altor boli netransmisibile, care prevede elaborarea strategiilor globale cu o eventuală *ajustare la nivel național*. Recomandările Organizației Mondiale a Sănătății pentru țările participante sunt de a determina prioritățile locale în acord cu principiu de cost-eficiență maxim posibilă (*"best buys"*) [4, 13]. Astfel, țările participante, în special, cu venit mediu și redus, au posibilitatea de a stabili ținte accesibile și prioritare pentru condițiile locale, dar coerente celor de la nivel global. Acest fapt este de contribuție crucială, în vederea îmbunătățirii în comun a situației privind prevenția și controlul maladiei cardiovasculare prioritare și alte boli netransmisibile la nivel global și național.

Abordarea de cooperare, la fel, rămâne să fie de actualitate importantă pentru structurile și procesele existente, atât la nivel global, cât și cel național, prin asigurarea *colaborării intersectoriale* (între sectoare) și *multisectoriale* (pe interiorul sectorului). Astfel, cooperarea pe verticală și orizontală se identifică a fi imperativă pentru un efort de eficiență și eficacitate optimă, privind prevenția și controlul maladiilor cardiovasculare și a altor boli netransmisibile pentru toate nivelele. În contextul prevenției primare, se menționează importanța fortificării și cooperării intersectoriale și multisectoriale la nivel de țară și, în special, la nivelul sistemului de sănătate cu accent pe asistența medicală primară, ca sector de prim-contact cu populația [4].

Investițiile adecvate în sistemul de sănătate, în comun cu fortificarea resurselor instituționale, umane și financiare, rămân să fie cruciale pentru îmbunătățirea situației privind bolile netransmisibile, inclusiv, maladia cardiovasculară prioritară.

Asigurarea funcționalității sistemelor naționale de supraveghere

Asigurarea funcționalității sistemelor naționale de supraveghere, integrat în Sistemul Informațional Medical, capabil să raporteze cauzele de deces și monitorizarea factorilor de risc, se identifică a fi *una din acțiuni-cheie* privind realizarea țintei globale nr. 1, în vederea reducerii relative a mortalității premature cu 25% prin maladiile cardiovasculare, cancer, boli cronice pulmonare și diabet către anul 2025 („25×25”) prin reducerea factorilor de risc modificabili: consumul de tutun, inactivitatea fizică insuficientă, regimul alimentar nesănătos, consumul nociv de alcool, obezitatea, tensiunea arterială ridicată, hipercolesterolemia și hiperglicemia [4].

În cazul maladiilor cronice, din motivul duratei îndelunga-

tries [4]. WHO estimates for 2011-2025 identified the cumulative economic losses caused by noncommunicable diseases in middle and low-income countries, that account for about US\$ 7 trillion, being a difficult challenge for country development and poverty overcoming [4]. Thus, priority cardiovascular disease and other noncommunicable disease have been identified as the key barrier to prosperity and sustainable development [4].

International cooperation

International cooperation become an objective necessity underpinning global efforts to fight priority cardiovascular disease and other noncommunicable diseases, that provides for the development of global strategies with an eventual *adjustment at national level*. World Health Organization recommends to member-states to determine local priorities based on the principle of maximal cost-effectiveness (*"best buys"*) [4, 13]. Thus, member-states, particularly middle and low-income countries, have the opportunity to establish affordable and priority targets for local conditions, but consistent with those agreed at the global level. This is of crucial contribution to jointly improve the prevention and control situation of priority cardiovascular disease and other noncommunicable diseases both at global and national level.

The cooperation approach also remains important for existing structures and processes both at global and national level by ensuring *intersectoral* (cross-sectoral) and *multisectoral* (within sector) *collaboration*. Thus, vertical and horizontal cooperation was identified as imperative for an optimal efficiency and effectiveness effort on prevention and control of cardiovascular disease and other noncommunicable diseases at all levels. In the context of primary prevention, the importance of cross-sectoral and multisectoral cooperation and its strengthening at country level should be stressed, and particularly at the level of health sector focusing on primary health care as the sector of the first contact with population [4].

Appropriate investments in health system, along with the strengthening of institutional, human and financial resources, remain crucial to improving the noncommunicable diseases situation, including priority cardiovascular disease.

Ensuring the functionality of national surveillance system

Ensuring the functionality of national surveillance system, integrated into the Medical Information System, able to report causes of death and to monitor the risk factors is identified as one of the key actions in reaching the global target no. 1 on a 25% relative reduction of premature mortality due to cardiovascular disease, cancer, chronic pulmonary disease and diabetes by 2025 (25×25) by reducing modifiable risk factors: tobacco consumption, insufficient physical activity, unhealthy diet, harmful use of alcohol, obesity, raised blood pressure, hypercholesterolemia and hyperglycaemia [4].

In case of chronic disease, due to the long duration associated with the development of disease, monitoring and evaluating the outcome rates only, limits in time the primary prevention actions [3, 14]. Thus, the World Health Organization's global strategy on priority noncommunicable disease surveillance is focused on risk factors contributing to their

te, asociate dezvoltării bolii, monitorizarea și evaluarea numai a ratelor de rezultat limitează în timp acțiunile în vederea prevenției primare [3, 14]. Astfel, strategia globală a Organizației Mondiale a Sănătății privind supravegherea bolilor netransmisibile prioritare este centrată pe factorii de risc, care contribuie la provocarea lor. Prevenția primară este determinată a fi punctul-cheie pentru controlul maladiei cardiovasculare prioritare și alte boli netransmisibile [4, 14]. În rând cu aceasta, intervențiile prin intermediul factorilor de risc sunt identificate ca esențiale pentru prevenția bolilor netransmisibile prioritare. Din acest motiv, supravegherea factorilor de risc devine o condiție și necesitate obiectivă în vederea realizării țintei globale nr. 1 („25×25”) de reducere a mortalității premature prin reducerea factorilor de risc modificabili. Abordarea de *supraveghere a factorilor de risc, alături de supravegherea bolii* furnizează dovezi obiective pentru ghidarea deciziilor privind politicile și programele de prevenție și control, și promovarea sănătății, alături de planificarea serviciilor de sănătate, determinarea priorităților sănătății publice și monitorizarea eficacității de durată a eforturilor privind prevenția și controlul maladiei cardiovasculare și alte boli netransmisibile.

Atunci, când multe țări, în special, cu venit mediu și redus, nu dispun de un sistem național de supraveghere a factorilor de risc funcțional, în vederea realizării țintei globale nr. 1 „25×25” [4, 6], Organizația Mondială a Sănătății acoperă acest gol prin sprijinirea statelor-membre (țări participante) în efectuarea studiilor de prevalență a factorilor de risc (STEPS), planificate pentru o periodicitate de 5 ani [15].

Abordarea supravegherii în trepte (STEPS) a factorilor de risc pentru bolile netransmisibile, dezvoltată și ghidată de Organizația Mondială a Sănătății, contribuie la faptul că țările încep o colectare consistentă a informației standardizate, de precizie înaltă, privind factorii de risc prioritari la nivel de țară [16]. În acest context, perspectivele sprijinului tehnic al OMS pentru țările participante țin de crearea bazelor de date la nivel de populație, comparabile la nivel global, analizei tendințelor în evoluție a factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare și alte boli netransmisibile din lume și elaborarea politicilor și strategiilor bazate pe dovezi. Astfel, realizarea studiului STEPS, ghidat de Organizația Mondială a Sănătății este un punct de pornire în dezvoltarea experienței de supraveghere standardizată și sistematică în țară, cu perspectiva de a iniția activități proprii, în vederea sporirii funcționalității sistemului național de supraveghere și control al bolilor cronice netransmisibile, pentru a fi capabil să monitorizeze și evalueze situația în funcție de necesitățile locale, atât pentru factorii de risc, cât și boală [17].

Bunele practici internaționale demonstrează experiență, testată în timp, privind un sistem funcțional de supraveghere al factorilor de risc, bazat pe supraveghere standardizată, de continuitate sistematică, a factorilor de risc comportamentali [18, 19, 20]. Abordarea nominalizată permite sporirea funcționalității procesului de supraveghere a factorilor de risc prin asigurarea flexibilității și utilității în timp, conforme necesităților în continua schimbare a sistemului de sănătate, în vederea direcționării deciziilor pentru planificare, implementare și evaluare a politicilor pentru prevenție și control al maladiei

occurrence. Primary prevention is determined to be the key point to control the priority cardiovascular disease and other noncommunicable diseases [4, 14]. Additionally, interventions on risk factors are identified as essential for the prevention of priority noncommunicable diseases. For this reason, surveillance of risk factors becomes a condition and an objective need to achieve the global target no. 1 (“25×25”) on reducing the premature mortality by reducing modifiable risk factors. *Risk factor surveillance approach* along with *disease surveillance* provides objective evidence for decision guidance on prevention and control policies and programs, and health promotion along with the health service planning, determining of public health priorities and monitoring of sustainable effectiveness of efforts to prevent and control cardiovascular disease and other noncommunicable diseases. When many countries, particularly middle and low-income, do not have a functional national risk factor surveillance system, in order to achieve global target no. 1 “25×25” [4, 6], World Health Organization covers this gap by supporting member-states (participant countries) in performing the prevalence studies on risk factors (STEPS), planned with a 5-year periodicity [15].

The WHO STEPwise approach (STEPS) to noncommunicable disease risk factors surveillance, developed and guided by the World Health Organization, contributes to the initiation of the country’s consistent collection of standardized data of high accuracy, on priority risk factors at the country level [16]. In this context, the WHO technical support perspectives for participating countries are to create globally comparable population databases, analyse the trend evolution for cardiovascular disease and other noncommunicable diseases risk factors in the world and development of evidence-based policies and strategies. Thus, the STEPS survey guided by World Health Organization is a starting point in developing the country’s standardised and systematic surveillance system, with a perspective to initiate the own activities in order to increase the national surveillance and control system for noncommunicable chronic disease, to be able to monitor and evaluate the situation according to local needs, both for risk factors and disease [17].

Good international practice demonstrates a time-proven experience on a functional risk factor surveillance system based on systematic ongoing standardised surveillance of behavioural risk factors [18, 19, 20]. The above-mentioned approach allows for increasing the functionality of risk factors surveillance process by ensuring the flexibility and utility over time, according to the continuously changing needs of the health system, in order to direct the decisions about planning, implementation and evaluation of prevention and control policies for cardiovascular disease and other noncommunicable disease, both at country and local level [21].

Given the fact that behavioural risk factors typically precede metabolic changes, risk factor systematic ongoing surveillance system, focused on behavioural dimension provides additional confidence for prevention and control of cardiovascular disease modifiable risk factors on both components: behavioural and biologic (metabolic).

Surveillance is a system of ongoing and systematic collec-

cardiovasculare și alte boli netransmisibile, atât la nivel de țară, cât și în teritorii [21].

În condiția faptului cunoscut, că factorii comportamentali, de regulă, precedă schimbările metabolice, supravegherea de continuitate sistematică a factorilor de risc, centrată pe dimensiunea comportamentală, oferă un plus de siguranță în prevenirea și controlul factorilor modificabili pentru bolile cardiovasculare pe ambele componente: comportamentală și biologică (metabolică).

Supravegherea este un sistem de colectare continuă și sistematică, prelucrare, analiză, interpretare și difuzare a datelor despre starea de sănătate a populației și factorii, care o determină pentru planificarea, implementarea și evaluarea politicilor de sănătate publică. Caracteristicile de bază ale unui sistem de supraveghere funcțional sunt [21]:

- 1) *Abordare de sistem*: supravegherea trebuie să fie bazată pe proceduri standardizate, care definesc exact „ce”, „cum”, „când” și „de ce” se identifică în cadrul procesului de colectare, analiză și difuzare a datelor.
- 2) *Flux temporal continuu al informației*: este importantă periodicitatea sistematică a supravegherii, care necesită asigurarea continuității de colectare a datelor.
- 3) *Coerență cu intervenții și politici*: monitorizarea trebuie să se bazeze pe necesitățile de informare ale sistemului de sănătate și să asigure informarea continuă în funcție de schimbări.

Discuții

În contextul abordărilor actuale privind supravegherea factorilor de risc, analiza situației actuale în Republica Moldova constată un șir de premise, în vederea dezvoltării funcționalității sistemului de supraveghere a factorilor de risc.

Aliniindu-se la eforturile globale privind prevenția și controlul bolilor cardiovasculare și alte boli netransmisibile, Republica Moldova și-a asumat angajamente de a reduce mortalitatea prematură și factorii de risc privind bolile netransmisibile pentru anii 2012-2020, care au ținut cont de direcțiile și recomandările OMS, privind asigurarea realizării obiectivelor naționale coerente cu cele globale, stipulate în politicile publice la nivel de țară [7, 11, 22].

Sprijinul Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) prin ghidarea în efectuarea studiului de prevalență STEPS a contribuit la inițierea creării bazei de date standardizate la nivel de populație în Republica Moldova, comparabile pentru evaluarea tendințelor factorilor de risc bolilor netransmisibile, inclusiv cardiovasculare, la nivel global și dezvoltarea politicilor și strategiilor în sănătate bazate pe dovezi [17]. În acest context, dovezile studiului STEPS au fost utilizate pentru elaborarea *Planului național de acțiuni pentru anii 2016-2020 privind implementarea Strategiei naționale de prevenire și control al bolilor netransmisibile pe anii 2012-2020*, inclusiv, stabilirea țintelor naționale [22]. Implementarea supravegherii prin abordarea STEPS (OMS) este un progres esențial, determinat de tranziția Republicii Moldova de la sondaje nesistematice și metodologic neuniforme la supraveghere sistematică standardizată, însă de caracter intermitent (periodicitate de circa 5

tion, processing, analysis, interpretation and dissemination of data about population health and its determinant factors for public health policy planning, implementation and evaluation. The main features of a functional surveillance system are [21]:

- 1) *System approach*: surveillance should be based on standardised procedures that define exactly “what”, “how”, “when” and “why” is to be identified in the process of data collection, analysis and dissemination.
- 2) *Time-ongoing flow of information*: systematic periodicity of surveillance is important, and require the ongoing data collection.
- 3) *Coherence with interventions and policies*: monitoring should be based on the information needs of health system and to ensure ongoing information depending on the changes.

Discussion

In the context of current approaches to risk factor surveillance, the analysis of current situation in the Republic of Moldova reveals a number of prerequisites, in order to develop the functional risk factors surveillance system.

Aligning to global efforts on prevention and control of cardiovascular disease and other noncommunicable diseases, the Republic of Moldova has committed to reduce the premature mortality and noncommunicable disease risk factors during 2012-2020, which have considered WHO directions and recommendations to ensure the achievement of national targets consistent with the global ones, stipulated in the country's public policy documents [7, 11, 22].

The World Health Organization support by guiding in performing the STEPS prevalence survey has contributed to the initiation of a standardized population database in the Republic of Moldova for the global comparable evaluation of trends in risk factors for noncommunicable diseases, including cardiovascular disease, and to the development of evidence-based policies and strategies [17]. In this context, the evidence from STEPS survey was used to develop the *National Action Plan for 2016-2020 on the implementation of National Strategy on Noncommunicable Disease Prevention and Control for 2012-2020*, including the setting of national targets [22]. Implementation of the WHO STEPS approach to surveillance is an essential progress, due to the transition of the Republic of Moldova from non-systematic and methodologically non-uniform surveys to standardised systematic surveillance, of intermittent nature (with five years periodicity), but of a major importance and with substantial contribution to the development of standardised surveillance experience in the Republic of Moldova, which does not have a functional national surveillance system [8, 23, 24].

The WHO STEP-wise approach to surveillance is by application systematic and intermittent with time-intervals that create a time gap, thus not fully ensuring the time-continuous flow of information.

The experience of good international practice on existing functional systems of ongoing surveillance of behavioural risk factors, proved over time, represented by US BRFSS: *Behav-*

ani), dar fiind de importanță majoră și de contribuție substanțială pentru dezvoltarea experienței de supraveghere standardizată în Republica Moldova, care nu dispune de un sistem de supraveghere național funcțional [8, 23, 24].

Abordarea prin supravegherea STEPS (OMS) este după caracter de aplicare sistematică intermitentă cu intervale de timp, care creează decalaj temporal, care nu asigură pe deplin fluxul temporal continuu al informației.

Experiența bunelor practici internaționale privind sisteme funcționale existente, testată în timp, în domeniul supravegherii continue a factorilor de risc comportamentali, reprezentate de Sistemul de supraveghere al factorilor de risc din SUA (BRFSS: *Behavioral Risk Factor Surveillance System*, 1984), Sistemul de supraveghere rapidă al factorilor de risc din Canada (RRSS: *Rapid Risk Factor Surveillance System*, 1999) și Sistemul de supraveghere al factorilor de risc din Italia (PASSI: *Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia*, 2007) [18, 19, 20] este contributivă pentru identificarea punctelor tari și slabe, oportunităților și riscurilor pentru un sistem de supraveghere a factorilor de risc funcțional și eficient.

În rând cu acesta, pentru perspectiva de fortificare a capacității naționale de combatere a bolilor cardiovasculare și alte boli netransmisibile de importanță majoră, sunt importante reformele recente efectuate în cadrul supravegherii de stat a sănătății publice din Republica Moldova. Astfel, crearea Agenției Naționale pentru Sănătate Publică [25] contribuie la fortificarea resurselor instituționale, umane și financiare, fiind substanțială pentru consolidarea infrastructurii, cooperării intersectoriale și multisectoriale, necesare pentru fortificarea prevenției și controlului bolilor cardiovasculare și alte boli netransmisibile în Republica Moldova [26]. Constatările nominalizate, luate împreună cu delimitarea clară a funcției de supraveghere de alte funcții ale Agenției Naționale pentru Sănătate Publică (inspecție, acreditare, siguranța ocupațională etc.) [26], sunt o premisă-cheie pentru îmbunătățirea continuă a supravegherii de stat, consolidând, totodată, și perspectiva de instituire a unui sistem național funcțional de supraveghere a bolii și factorilor de risc în Republica Moldova, condiție necesară pentru realizarea țintelor naționale privind prevenția și controlul bolilor cardiovasculare și alte boli netransmisibile.

Agenția Națională pentru Sănătate Publică este instituția principală responsabilă pentru dezvoltarea și implementarea sistemului de supraveghere la nivel național, monitorizarea și evaluarea programelor și planurilor de acțiuni naționale, instruirea personalului și asigurarea suportului metodologic [26]. În cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică este organizată Direcția prevenire și controlul bolilor netransmisibile. La fel, în structura organizatorică a fiecărei subdiviziuni teritoriale (10 Centre de Sănătate Publică) este prevăzută Direcția controlul bolilor netransmisibile și promovarea sănătății. Necesitatea unui sistem funcțional de supraveghere este discutată de mai mult timp, însă până acum nu a fost stabilit. Este important de menționat, că sistemul de supraveghere al factorilor de risc pentru bolile netransmisibile, inclusiv maladia cardiovasculară prioritar, rămâne să fie încă o provocare pentru Republica Moldova [23, 27, 28].

Nu în ultimul rând, existența bazei de date în permanentă

ioural Risk Factor Surveillance System (1984), Canada's RRSS: *Rapid Risk Factor Surveillance System* (1999) and Italy's *Risk Factor Surveillance System* (PASSI: *Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia*, 2007) [18, 19, 20] contributes to the identification of strengths and weaknesses, opportunities and risks for a functional and efficient risk factors surveillance system.

Along with this, the recent reforms within the state public health surveillance in the Republic of Moldova are too important from the perspective of strengthening national capacities to fight cardiovascular disease and other noncommunicable diseases of major importance. Thus, creation of the National Public Health Agency [25] contributes to the strengthening of institutional, human and financial resources, being substantial for the fortification of the infrastructure, the cross-sectoral and multisectoral cooperation needed to strengthen prevention and control of cardiovascular disease and other noncommunicable diseases in the Republic of Moldova [26]. The nominated findings, taken together with the clear delineation of the surveillance function from other functions of the National Public Health Agency (inspection, accreditation, occupational safety etc.) [26], are a key prerequisite for continuous improvement of the state surveillance, while strengthening also the prerequisites of establishing a functional national disease and risk factor surveillance system in the Republic of Moldova, a prerequisite for achieving the national targets on prevention and control of cardiovascular disease and other noncommunicable diseases.

The National Public Health Agency is the main institution responsible for the development and implementation of the national surveillance system, monitoring and evaluation of national programs and action plans, training of staff and providing methodological support [26]. Within the National Public Health Agency, the Directorate on Prevention and Control of Noncommunicable Diseases is organized. Similarly, in the organizational structure of every territorial subdivision (10 Centers of Public Health) the Directorate for Control of Noncommunicable Diseases and Health Promotion is provided. The need for a functional surveillance system has been discussed for a long time but the system has not yet been established. It is important to note that the risk factor surveillance system for noncommunicable diseases including priority cardiovascular disease, is still a challenge for the Republic of Moldova [23, 27, 28].

Last but not least, the existence of the permanently updated (quarterly) database of the Information System "*Registry of individuals registered at the family physician within the medical institution providing primary health care within the system of compulsory health insurance*" [29] in interoperability with the Automated Information System Primary Health Care (SIA AMP) will facilitate functionality of the ongoing systematic surveillance of behavioural risk factors. It is important that registration is mandatory, regardless of the individuals' health insurance, thus covering the entire population of the country.

A major importance prerequisite for the development of management of risk factor surveillance in the Republic of Moldova is the operation of Integrated Medical Information

actualizare (trimestrial) a Sistemului informațional „Registrul persoanelor înregistrate la medicul de familie din cadrul instituției medico-sanitare ce prestează asistență medicală primară în sistemul asigurării obligatorii de asistență medicală” [29], în interoperabilitate cu Sistemul Informațional Automatizat Asistența Medicală Primară (SIA AMP) va facilita asigurarea funcționalității supravegherii sistematic continue a factorilor de risc comportamentali. Este important că, înregistrarea respectivă este obligatorie, indiferent de asigurarea medicală a persoanei, astfel, acoperă toată populația din țară.

O premisă de importanță majoră pentru dezvoltarea managementului supravegherii factorilor de risc în Republica Moldova este funcționarea Sistemului Informatic Medical Integrat (SIMI), care este destinat colectării și procesării datelor despre evenimentele din sistemul de sănătate pentru a fi utilizate în procesul de luare a deciziilor, inclusiv, despre prevenția bolilor, unul din conturile funcționale ale sistemului, fiind starea sănătății. Sistemului Informațional Medical Integrat (SIMI) existent, care este adaptabil și sensibil, astfel, deschis pentru dezvoltare, este contributiv pentru integrarea supravegherii continue a factorilor de risc comportamentali [9].

Promovarea sănătății, protecția sănătății și prevenția bolilor fac parte din domeniile prioritare de intervenție, care sunt determinate, în mare parte, de realizările supravegherii sănătății populației, nominalizate ca primul din domeniile prioritare stabilite. Astfel, pentru a asigura realizările ce țin de mai multe domenii prioritare de intervenții, identificate de Strategia națională de sănătate publică, ar trebui pus în aplicare un sistem funcțional de supraveghere a boilor netransmisibile și factorilor de risc care le determină [7].

Concluzii

Concepute împreună, (1) fortificarea capacității naționale privind răspunsul pentru bolile netransmisibile, (2) existența strategiilor naționale, elaborate în coerență cu cele globale, însoțite de ținte naționale ajustate sub aspect al necesităților și posibilităților locale, care prevăd (3) asigurarea consolidării cooperării intersectoriale și multisectoriale, alături de (4) optimizarea resurselor instituționale și umane, efectuate recent în sistemul de sănătate al Republicii Moldova, constituie oportunități interne și externe pentru dezvoltarea funcționalității sistemului național de supraveghere a factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare și alte boli netransmisibile.

Perspectiva de dezvoltare de mai departe a funcționalității sistemului național de supraveghere a factorilor de risc din Republica Moldova, în baza bunelor practici internaționale de monitorizare continuă a factorilor de risc comportamentali, este o rezervă reală de viitor.

Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

Contribuțiile autorilor

Autorii în egala măsură au contribuit la realizarea studiului și la elaborarea manuscrisului.

System (SIMI), which is designed to collect and process data about health system events for the use in decision making, including prevention of diseases, one of the functional accounts of the system, being the state of health. The existing Integrated Medical Information System (SIMI), which is adaptable and responsive, and thus open to development, will contribute to the integration of the ongoing behavioural risk factor surveillance [9].

Thus, in order to ensure the achievements in several priority areas of intervention identified within the National Public Health Strategy, a functional surveillance system for noncommunicable diseases and their risk factors should be implemented [7].

Conclusions

Designed together, (1) strengthening the national capacities on noncommunicable disease response, (2) the existence of national strategies developed in coherence with the global ones, accompanied by national targets adjusted to local needs and possibilities, providing for (3) the consolidation of intersectoral and multisectoral cooperation, together with (4) the optimization of the institutional and human resources, recently done within the health system of the Republic of Moldova, are internal and external opportunities for the development of functional national surveillance system for cardiovascular disease and other noncommunicable disease risk factors.

The perspective for the future development of the functional national risk factors surveillance system in the Republic of Moldova, based on good international practice of ongoing monitoring of behavioural risk factors, is a real reserve for the future.

Declaration of conflict of interest

Nothing to declare.

Authors' contribution

Authors equally contributed in the study and writing of the manuscript.

Referințe / references

1. Popovici M., Vataman E. Alinierea necesităților de combatere a bolilor cronice la prioritățile serviciului de sănătate și dezvoltare din Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*, 2010; 2 (25): 7-14.
2. Raevschi E., Tintiuc D. Sănătatea cardiovasculară ca problemă medico-socială în Republica Moldova. *Proceedings of 34th American Romanian Academy of Arts and Sciences (ARA)*. Bucharest, Romania, 2010; p. 591-593.
3. Raevschi E. Mortalitatea cardiovasculară prematură în Republica Moldova. Chișinău: Elan Poligraf, 2017. 162 p.
4. World Health Organization (WHO). Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva, 2014. Disponibil la adresa: [http://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/en/]. Accesat pe: 20.10.2017.
5. Penina O., Raevschi E. Оценка возрастнo-причинных групп риска избыточной смертности в Республике Молдова. *Бюллетень национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н.А. Семашко, научно-практический журнал*, Москва, 2017; 1: 220-225.
6. World Health Organization (WHO) Regional Office for Europe. Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles, 2014. Disponibil la adresa: [http://www.euro.who.int/en/countries/republic-of-moldova/data-and-statistics/ncd-country-profile-2014-republic-of-moldova]. Accesat pe: 15.01.2018.
7. Strategia națională de sănătate publică pentru anii 2014-2020. Hotărârea Guvernului nr. 1032 din 20.12.2013. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 27.12.2013, nr. 304-310, art. nr. 1139. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/index.php?action=view&view=doc&lang=1&id=350833]. Accesat pe: 04.03.2018.
8. Raevschi E. Behavioral risk factor surveillance system development in the Republic of Moldova. In: *29th International Academic Conference. International Institute of Social and Economics Sciences*. Rome, Italy, 2017, p. 106-115.
9. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr. 1128 din 14 octombrie 2004 cu privire la aprobarea Concepției Sistemului Informațional Medical Integrat. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 29.10.2004, nr. 193-198, art. nr. 1333. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/md/326162/]. Accesat pe: 18.02.2018.
10. Raevschi E. Supravegherea factorilor de risc responsabili de dezvoltarea bolilor cardiovasculare în Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale*. Chișinău, 2016; 2 (51): 97-104.
11. Strategia națională de prevenire și control a bolilor netransmisibile pe anii 2012-2020. Hotărârea parlamentului nr. 82 din 12 aprilie 2012. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 22.06.2012, nr. 126-129, art. nr. 412. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/index.php?action=view&view=doc&lang=1&id=343682]. Accesat pe: 27.10.2017.
12. Programul național de prevenire și control al bolilor cardiovasculare pentru anii 2014-2020. Hotărârea Guvernului nr. 300 din 24 aprilie 2014. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 06.05.2014, nr. 104-109, art. nr. 327. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/index.php?action=view&view=doc&lang=1&id=352739]. Accesat pe: 27.10.2017.
13. World Health Organization and World Economic Forum. From burden to "best buys": reducing the economic impact of noncommunicable diseases in low- and middle- income countries. Geneva, 2011. Disponibil la adresa: [http://www.who.int/nmh/publications/best_buys_summary.pdf]. Accesat pe: 27.10.2017.
14. McQueen D., Puska P. Global behavioral risk factor surveillance. *Springer Science & Business Media*, New York, 2003; 255 p.
15. World Health Organization (WHO). Stepwise approach to surveillance (STEPS). Disponibil la adresa: [http://www.who.int/ncds/surveillance/steps/en/]. Accesat pe: 04.03.2018.
16. World Health Organization (WHO). Integrated surveillance of noncommunicable diseases (INCD). An European Union – WHO project, 2015. Disponibil la adresa: [http://ec.europa.eu/health/indicators/docs/incd_en.pdf]. Accesat pe: 12.10.2017.
17. World Health Organization (WHO). Prevalence of noncommunicable disease risk factor in the Republic of Moldova STEPS 2013. Regional Office for Europe. Denmark, 2014. Disponibil la adresa: [http://www.ms.gov.md/sites/default/files/prevalence_of_noncommunicable_disease_risk_factors_in_republic_of_moldova_steps_report_2013.pdf]. Accesat pe: 27.03.2017.
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Behavioral Risk Factor Surveillance System (BRFSS). Disponibil la adresa: [https://www.cdc.gov/brfss/index.html]. Accesat pe: 25.03.2018.
19. Istituto Superiore di Sanita. Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia (PASSI). Disponibil la adresa: [http://www.epi-centro.iss.it/passi/]. Accesat pe: 25.03.2018.
20. Rapid Risk Factor Surveillance System (RRFSS). Disponibil la adresa: [http://www.rffss.ca]. Accesat pe: 25.03.2018.
21. Istituto Superiore de Sanita. PASSI (Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia): an Italian behavioral risk factor system. Coordinating technical group of the behavioral risk factor system, 2007. 228 p. Disponibil la adresa: [http://www.iss.it/binary/publ/cont/07-30.1195128446.pdf]. Accesat pe: 21.01.2018.
22. Planul național de acțiuni pentru anii 2016-2020 privind implementarea Strategiei naționale de prevenire și control a bolilor netransmisibile pe anii 2012-2020. Hotărârea Guvernului nr. 403 din 06.04.2016. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 15.04.2016, nr. 100-105, art. nr. 464. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/index.php?action=view&view=doc&lang=1&id=364230]. Accesat pe: 27.10.2017.
23. Pautz L., Raevschi E., Patel A., Ciubotaru E. Development of behavioral risk factors surveillance system management in the Republic of Moldova based on the U.S. BRFSS Standards. *International Journal of Business and Management Invention*, 2016; 5 (7): 33-36.
24. Raevschi E. The burden of cardiovascular modifiable risk factors in Republic of Moldova. *Acta Medica Transilvanica XVII*. Sibiu, Romania, 2012; II (3): 151-153.
25. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr. 704 din 06.09.2017 cu privire la crearea Agenției Naționale pentru Sănătate Publică și reorganizarea unor persoane juridice. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 06.09.2017, nr. 329, art. nr. 809. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/md/371297/]. Accesat pe: 03.03.2018.
26. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr. 1090 din 18.12.2017 cu privire la organizarea și funcționarea Agenției Naționale pentru Sănătate Publică. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 20.12.2017, nr. 440, art. nr. 1214. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/md/%20373337/]. Accesat pe: 03.03.2018.
27. Raevschi E., Ababii I., Obreja G. Suggestions on strengthening of noncommunicable diseases risk factors surveillance management in the Republic of Moldova. *Acta Medica Transilvanica*. Sibiu, Romania, 2017; 22 (4): 1-4.
28. Raevschi E., Ababii I., Vataman E. Management of Delphi Study regarding the development of ongoing behavioral risk factor surveillance system in the Republic of Moldova. *The Moldovan Medical Journal*. Chișinău, 2017; 60 (3): 54-57.
29. Regulamentul privind înregistrarea persoanei la medicul de familie din instituția medico-sanitară ce prestează asistență medicală primară în cadrul asigurării obligatorii de asistență medicală. Ordin comun al Ministerului Sănătății și Companiei Naționale de Asigurări în Medicină nr. 1087/721 din 30 decembrie 2016. *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 27.01.2017, nr. 24-29, art. no. 84. Disponibil la adresa: [http://lex.justice.md/md/368605/]. Accesat pe: 10.01.2018.

PREZENTARE DE CAZ

Disgerminom ovarian la adolescentă cu sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser

Victor Ciobanu¹, Ana Mișina², Patricia Harea²,
Virgil Petrovici³, Irina Cuțitari⁴

¹Catedra de obstetrică-ginecologie nr. 2, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Secția de ginecologie chirurgicală, Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova;

³Secția de morfologie, Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova;

⁴Catedra de radiologie și imagistică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data depunerii manuscrisului: 10.04.2018

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

Autor corespondent:

Patricia Harea, doctorand

Secția de ginecologie chirurgicală

Institutul Mamei și Copilului

str. Burebista 93, Chișinău, Republica Moldova, MD-2028

e-mail: quadricia@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Incidența sindromului Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser este de 1:4.500 fetițe nou-născute, iar tumorile ovariene la acest grup de paciente este cazuistic.

Ipoteza de cercetare

Prezentare de caz clinic rar, documentat, de disgerminom ovarian la o adolescentă de 14 ani cu sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. Este prezentată revista literaturii a tumorilor ovariene în acest sindrom.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Cazul prezentat este al patrulea descris de tumori ovariene, depistate la copii și adolescente cu sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser și al treilea de disgerminom la această categorie de pacienți, publicate, anterior, în literatura din străinătate.

Rezumat

Introducere. Sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) prezintă o anomalie congenitală multifactorială a ducturilor Mülleriene care se caracterizează prin: (a) agenezia a 2/3 superioare a vaginului, în combinație cu anomalia uterului (de la rudimente uterine cavitate/necavitate, până

CASE REPORT

Ovarian dysgerminoma at adolescent with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome

Victor Ciobanu¹, Ana Misina², Patricia Harea²,
Virgil Petrovici³, Irina Cutitari⁴

¹Chair of obstetrics and gynecology no. 2, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²The surgical gynecology section, Mother and Child Institute, Chisinau, Republic of Moldova;

³Morphology section, Mother and Child Institute, Chisinau, Republic of Moldova;

⁴Chair of radiology and imaging, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 10.04.2018

Accepted for publication on: 21.05.2018

Corresponding author:

Patricia Harea, PhD fellow

The surgical gynecology section

Mother and Child Institute

93, Burebista str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2028

e-mail: quadricia@gmail.com

What is not known yet, about the topic

The incidence of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome is 1:4.500 new-born girls, and ovarian tumours in this group of patients are casuistic.

Research hypothesis

Clinical rare case presentation, documented by ovarian dysgerminoma in a 14-year-old adolescent with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome. Is presented the literature review of ovarian tumors in this syndrome.

Article's added novelty on this scientific topic

The presented case is the fourth case of ovarian tumours, detected in children and adolescents with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and the third case of dysgerminoma in this category of patients, previously published in foreign literature.

Abstract

Introduction. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome (MRKH) presents a multifactorial congenital abnormality of Müllerian's ducts characterized by: (a) agenesis of the 2/3 superior part of vagina in combination with uterine anomaly (from cavitary/noncavitary uterine rudiments to the total lack

la lipsa totală a uterului); (b) ovare și trompe uterine normal dezvoltate și funcționale; (c) caracteristici sexuale secundare normale și cariotip feminin (46, XX).

Material și metode. Prezentarea cazului clinic propriu. În literatura de specialitate sunt descrise doar cazuri clinice unice.

Rezultate. Este prezentat cazul unei adolescente de 14 ani cu sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser, diagnosticată cu disgerminom ovarian și revista literaturii la acest subiect.

Concluzii. Tumorile ovariene în sindromul MRKH se referă la o patologie ginecologică destul de rar întâlnită și trebuie să fie luate în considerație în diagnosticul diferențial al formațiunilor de volum ale cavității abdominale în cazul acestei malformații.

Cuvinte cheie: ovar, tumorile maligne ale celulelor germinale, sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser.

Introducere

Sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) prezintă o anomalie congenitală multifactorială a ducturilor Mülleriene care se caracterizează prin: (a) agenezia a 2/3 superioare a vaginului, în combinație cu anomalia uterului (de la rudimente uterine cavitate/necavitate până la lipsa totală a uterului); (b) ovare și trompe uterine normal dezvoltate și funcționale; (c) caracteristici sexuale secundare normale și cariotip feminin (46, XX) [1-3]. Actualmente, se deosebesc două subtipuri ale sindromului MRKH: cel clasic (tipul I) și cel neclasic (tipul II). În cadrul tipului I, este afectată doar partea caudală a ductului Müllerian după varianta simetrică, în legătură cu ce lipsește uterul și 2/3 superioare ale vaginului; ovarele și trompele uterine sunt normal dezvoltate, malformații extragenitale nu se constată. Tipul II al sindromului MRKH se manifestă prin hipoplazia asimetrică a rudimentelor uterine, cu sau fără displazia trompelor uterine și, foarte des, se asociază cu anomalii concomitente ale ovarelor și tractului urinar. În cea mai complexă malformație, cunoscută ca sindromul MURCS – (M)üllerian, (R)enal, (C)ervicothoracic (S)omite se întâlnește combinația dintre agenezia utero-vaginală cu anomaliile renale, osoase (mai des, cele vertebrale) și cardio-vasculare [1, 4].

Supravegherea sistematică și de durată a pacientelor cu sindromul MRKH a demonstrat apariția potențială a proceselor patologice în rudimentele uterine, ovare și trompele uterine [5, 20]. Cea mai frecventă patologie în sindromul MRKH este leiomiomul rudimentelor uterine, iar tumorile ovariene se întâlnesc destul de rar. În literatura de specialitate sunt descrise doar cazuri clinice unice [6-22]. Până în prezent, lipsesc dovezi științifice care ar demonstra că anomaliile ducturilor Mülleriene pot fi un factor de risc în dezvoltarea tumorilor ovariene [12, 20]. În legătură cu raritatea tumorilor ovariene în sindromul MRKH, prezentăm următorul caz clinic.

Prezentarea de caz

Pacienta S., 14 ani, a fost internată în secția de chirurgie pediatrică cu dureri în regiunea hipogastrică, mărirea abdomenului în volum, amenoree primară. Palpator se aprecia o for-

of uterus); (b) normally developed and functional ovaries and fallopian tubes; (c) normal secondary sexual characteristics and female karyotype (46, XX).

Material and methods. Presenting your own clinical case. Only unique clinical cases are described in the specialty literature.

Results. Is presented the case of a 14-year-old teenager with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome, diagnosed with ovarian disgerminoma and the literature review on this subject.

Conclusions. Ovarian tumours in MRKH syndrome refer to a rather rarely encountered gynecological pathology and should be considered in the differential diagnosis of abdominal cavity volume formations in this malformation.

Key words: ovary, malignant germ cell tumours, Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome.

Introduction

Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome (MRKH) presents a multifactorial congenital abnormality of Müllerian's ducts characterized by: (a) agenesis of the 2/3 upper vagina in combination with uterine anomaly (from cavitary/noncavitary uterine rudiments to the total lack of uterus); (b) normally developed and functional ovaries and fallopian tubes; (c) normal secondary sexual characteristics and female karyotype (46, XX) [1-3]. Currently, there are two subtypes of MRKH syndrome: classical (type I) and non-classical (type II). In Type I only the caudal part of the Müllerian duct is affected by the symmetrical variant, in relation to the missing uterus and 2/3 the upper vagina, the ovaries and the fallopian tubes are normally developed, extragenital malformations are not found. Type II of MRKH syndrome is manifested by asymmetric hypoplasia of uterine rudiments, with or without dysplasia of the uterine tubes and is very often associated with concomitant abnormalities of the ovaries and urinary tract. In the most complex malformation known as MURCS – (M)üllerian, (R)enal, (C)ervicothoracic (S)ndrome, there is a combination of utero-vaginal agenesis with renal, bone (more often vertebral) – and cardiovascular abnormalities [1, 4].

Systematic and long-term surveillance of patients with MRKH syndrome, has demonstrated the potential occurrence of pathological processes in the uterine, ovarian and fallopian tubes [5, 20]. The most common pathology in MRKH syndrome is leiomyoma of uterine rudiments and ovarian tumours are rarely encountered, and only specialized clinical texts [6-22] are described in the literature. To date, there is no scientific evidence to prove that Müllerian duct abnormalities may be a risk factor in the development of ovarian tumours [12, 20]. Concerning the rarity of ovarian tumours in MRKH syndrome, we present the following clinical case.

Case presentation

Patient S., 14 years old, was admitted to the paediatric surgery department with hypogastric pain, increased abdominal volume, and primary amenorrhoea. At palpation appreciates a

mașiune tumorală, dur-elastică, mobilă, sensibilă la palpare. Organele genitale externe corect dezvoltate, intrarea în vagin lipsea. La examenul rectal, uterul nu se palpa, se aprecia o formațiune dur-elastică, mobilă, sensibilă, fără a putea determina originea provenirii ei. La examenul ultrasonografic (USG): uterul nu se vizualiza, în cavitatea abdominală, la nivelul ombilicului, se determina o structură hipocogenă, neomogenă, vascularizată în interior, de 111×61 mm, cu sectoare transonice interne, intens vascularizate. Pentru precizarea diagnosticului, a fost efectuată imagistica prin rezonanță magnetică (IRM), unde s-a constatat: formațiune de volum în cavitatea bazinului mic, cu răspândire intraabdominală, cu dimensiunile 115,3×75,2×82 mm, structură neomogenă, hipocogenă. S-a presupus diagnosticul de gangliom, neuroblastom, neurofibrom. Uterul nu s-a vizualizat (Figura 1).

tough-elastic, mobile, and sensitive at palpation tumour. External genitalia normally developed, the entry into the vagina was lacking. At the rectal exam, the uterus does not flicker, appreciates a tough-elastic, mobile, sensitive tumour, without being able to determine its origin. On the ultrasound examination (USG): the uterus is not visualized, in the abdominal cavity at the level of the umbilicum, was determined a hypoechoic, non-homogeneous structure, vascularised in interior 111×61 mm, with internal transonic segments, intense vascularised. Magnetic Resonance Imaging (MRI) was performed to specify the diagnosis, where was determined a volume formation in the small basin cavity with intraabdominal spread with dimensions 115.3×75.2×82 mm, a non-homogeneous, hypoechoic structure. It was supposed a ganglioma, neuroblastoma, neurofibroma. The uterus was not viewed (Figure 1).



Fig. 1 IRM: (a) proiecție frontală, (b) proiecție sagitală: formațiune solidă a pelvisului (*).

Fig. 1 MRI: (a) frontal projection, (b) sagittal projection: solid pelvis formation (*).

Analizele hormonale au constatat valorile: FSH – 34,9 U/l (norma 3,0-12,0 U/l); testosteron – 0,6 ng/ml (norma 0,2-1,0 ng/ml); prolactina – 19,4 ng/ml (norma 1,2-19,5 ng/ml); kariotipul pacientei 46 (XX). Au fost examinați markerii oncologici: CA 125 – 16,9 U/ml (0-35 U/ml) și CEA – 0,227 ng/ml (0-4,7 ng/ml). Pentru a stabili originea formațiunii, s-a efectuat laparoscopie diagnostică, la care s-a constatat lipsa uterului (reprezentat prin două rudimente uterine), ovarele cu formațiuni chistice bilaterale: din stânga 15×15 cm, cu multiple vilozități, din dreapta – 5×5 cm, de tip folicular. S-a efectuat conversie în laparotomie mediană, cu ovariectomie bilaterală. Intraoperator, s-au confirmat datele laparoscopice ale tumorii, manifestându-se, în aspect general-nodular, cu suprafețe neregulate, de consistență variabilă (Figura 2).

Perioada postoperatorie a decurs fără particularități, pacienta a fost externată la domiciliu la a 7-ea zi. La examinarea microscopică, parenchimul tumorii a fost constituit din celule mari, cu aspecte morfo-patologice rotunde, ovale și/sau poligonale, cu nucleu moderat hiper-crom și citoplasma ușor spumoasă, clară, de origine germinativă; frecvent s-au manifestat în focare sau fâșii celulare printre stroma abundentă,

Hormonal analyzes found the following values: FSH – 34.9 U/l (standard 3.0-12.0 U/l); testosterone – 0.6 ng/ml (standard 0.2-1.0 ng/ml); prolactin – 19.4 ng/ml (standard 1.2-19.5 ng/ml); the patient's karyotype 46 (XX). The oncological markers were examined: CA 125 – 16.9 U/ml (0-35 U/ml) and CEA – 0.227 ng/ml (0-4.7 ng/ml). To determine the origin of the formation was performed diagnostic laparoscopy, in which was determined the lack of the uterus (present through two uterine rudiments), the ovaries with bilateral cystic formations: from the left 15×15 cm with multiple villous, on the right 5×5 cm, follicular type. Conversion was performed in medial laparotomy with bilateral ovariectomy. Intraoperatively, the laparoscopic data of the tumour was confirmed, showing nodular general appearance with irregular, variable consistency surfaces (Figure 2).

The postoperative period was without any particularities, the patient was discharged at home at 7 days. In the microscopic examination, the tumour parenchyma consisting of large cells with round, oval and/or polygonal morpho-pathogenetic aspects, with moderate hyperchromic nucleus and a slightly foamy, clear, of germinative origin cytoplasm have

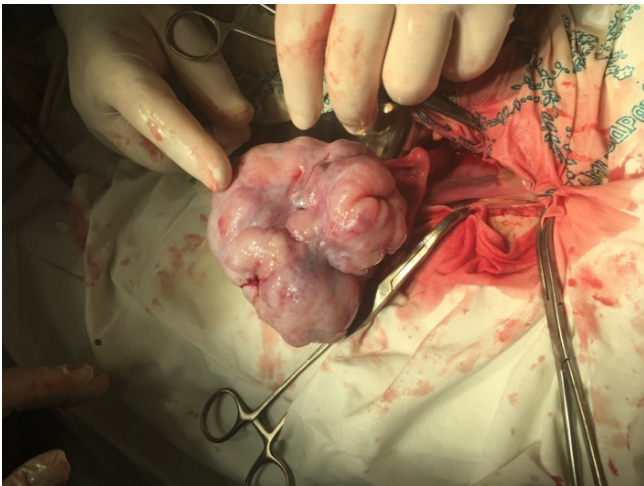


Fig. 2 Disgerminom ovarian (aspect intraoperatoriu).

Fig. 2 Ovarian dysgerminoma (intraoperative aspect).

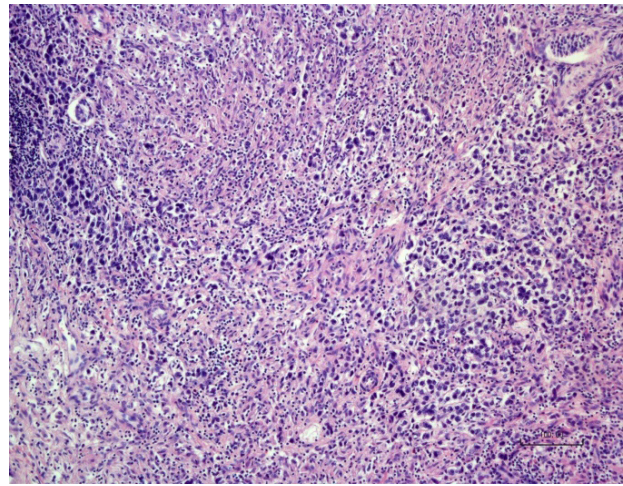


Fig. 3 Disgerminom ovarian. Aspect microscopic, de ansamblu, al componentei celular-stromale tumorale ($\times 100$. Colorație H&E).

Fig. 3 Ovarian dysgerminoma. Microscopic overall appearance of the cellular-stromal tumor component ($\times 100$. H & E staining).

fibrilar-fibroasă și/sau hialinizată. Astfel, asamblajul celular germinativ și stromal al tumorii, în metoda convențională, este sugestiv pentru disgerminom (Figura 3). La examenul imunohistochimic, s-a stabilit: (1) expresie membranoasă moderată și slabă (m++/+) și citoplasmatică (cyt++/+), expresia la (PLAP) (Figura 4); (2) expresie difuză membranoasă la CD 117 (m++) (Figura 5). Așadar, datele microscopiei cu lumină și profilul imunohistochimic totalmente corespundeau caracteristicilor disgerminomului ovarian.

Ulterior, pacienta a urmat șase cure de chimioterapie. Peste 11 luni, a fost internată în secția de ginecologie cu tumoare în regiunea trompei uterine stângi, depistată la examenul USG. A fost efectuată laparotomie mediană, cu tubectomie bilaterală. Perioada postoperatorie fără particularități, externată la a 7-ea zi după intervenție. Rezultatul histologic – țesut nodular leiomiomatos.

been frequently manifested in foci or cellular strips among abundant fibrillary-fibrous stroma and/or hyalinized. So, germinative and stromal cellular assemblage of the tumour in the conventional method is suggestive for dysgerminoma (Figure 3). The immunohistochemical examination established: (1) moderate and mild membrane expression (m++/+) and cytoplasmic (cyt++/+) expression in (PLAP) (Figure 4); (2) diffuse membrane expression at CD 117 (m++) (Figure 5). So the light microscopy data and the immunohistochemical profile, totally corresponded to the characteristics of ovarian dysgerminoma.

Further the patient followed six chemotherapy courses. Over 11 months she was admitted to the gynecology section with tumour in the left uterine tube region, determined by USG exam. Was performed median laparotomy with bilateral tubectomy. Postoperative period without particularities, dis-

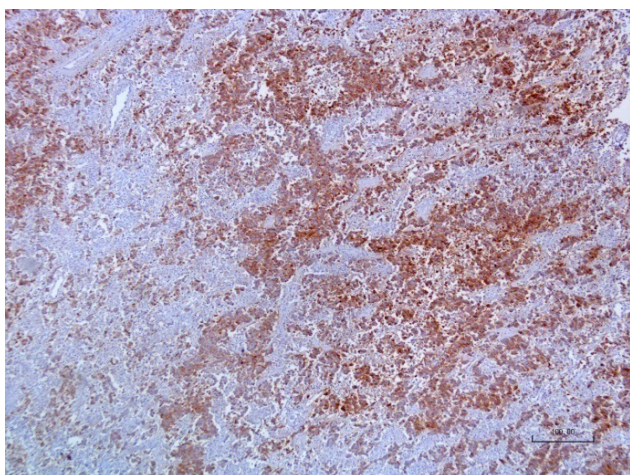


Fig. 4 Imunohistochimia (PLAP): expresie membranoasă difuză moderată și slabă, și expresie citoplasmatică (DAB $\times 4$).

Fig. 4 Immunohistochemistry (PLAP): moderate and weak diffuse membrane expression and cytoplasmic expression (DAB $\times 4$).

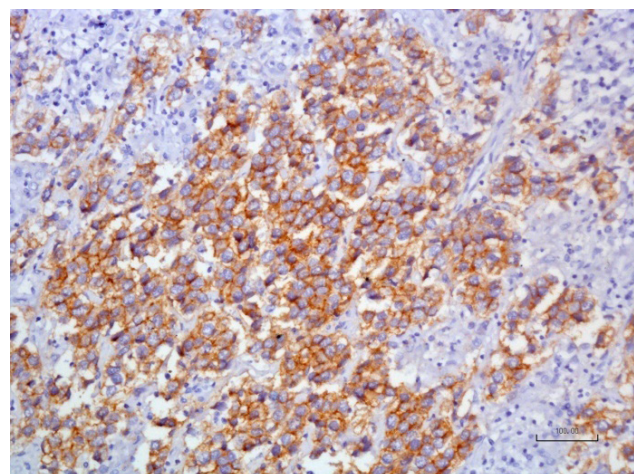


Fig. 5 Imunohistochimia (CD 117): expresie membranoasă difuză (DAB $\times 20$).

Fig. 5 Immunohistochemistry (CD 117): diffuse membrane expression (DAB $\times 20$).

Discuții

Analizând datele literaturii, a fost stabilit că tumorile ovariene sunt o patologie destul de rar întâlnită la pacientele cu sindromul MRKH [5]. Până în prezent, în literatura din străinătate au fost publicate doar optsprezece cazuri de tumori ovariene în combinație cu anomalii ale ductului Müllerian. Caracteristica generală a acestor cazuri publicate este prezentată în Tabelul 1. Vârsta medie a pacientelor cu tumori ovariene și sindromul MRKH a variat într-un diapazon destul de larg, de la 4 [8] până la 79 de ani [7]. Trebuie de menționat faptul că tumorile ovariene la copii și adolescente cu sindromul MRKH au fost raportate doar în trei cazuri [8, 11, 19]. În celelalte cazuri, numărul de observații au fost analogice la femeile de vârstă reproductivă [6, 9, 12, 15-17, 22] și în perioada de postmenopauză [7, 10, 13, 14, 18, 20, 21]. Ar trebui considerat destul de interesant fenomenul apariției tumorilor ovariene la pacientele cu sindromul MRKH familial [12, 17, 21].

Simptomele principale ale tumorilor ovariene la această categorie de paciente au fost: durerile pelviene (abdominale) [10, 12, 13, 15, 16, 18, 19, 20], mărirea în volum a abdomenului [11, 15, 21], formațiune palpabilă în bazinul mic [6, 8, 11, 15, 18, 20] și prezența ascitei [21].

Pentru diagnosticul tumorilor ovariene la pacientele cu sindromul MRKH, au fost folosite metode radiologice: USG, TC și IRM. Trebuie de menționat faptul că, în majoritatea cazurilor, aceste metode au fost combinate [8, 10-16, 18, 20, 21]. Suplimentar la diagnosticul radiologic și pentru stratificarea tumorilor ovariene, a fost utilizat un spectru destul de larg al markerilor tumorali (CA-125, AFP, β -hCG, CEA) [11, 12, 15, 20, 21]. Într-un șir de publicații, se menționează creșterea CA-125 (de la 127 până la 18.700 U/mL) [11, 12, 15, 16, 21] și al AFP (de la 75,9 până la 13.507 ng/mL) [8, 11].

În majoritatea cazurilor, tumorile erau unilaterale [7-14, 16-18] și doar în patru dintre ele, au fost tumori ovariene bilaterale [6, 15, 19, 20]. În cadrul tumorilor unilaterale, s-a constatat localizarea lor preponderentă pe stânga [9, 11, 12, 14, 17, 18, 21, 22], decât pe dreapta [8, 13]. Ținând cont de variabilitatea situației și numărul ovarelor în sindromul MRKH, ar trebui să fie considerate logice observațiile referitor la dezvoltarea tumorilor în ovarul suplimentar [16] și cel ectopic [10].

În cadrul efectuării intervențiilor chirurgicale, de regulă, s-a efectuat laparotomia [6, 8, 10-16, 18-21] și doar în două cazuri au fost utilizate tehnologiile laparoscopice [17, 22]. Trebuie de menționat, că intervențiile laparoscopice nu se deosebeau de cele clasice și se efectuau cu luarea în considerație a tuturor principiilor oncologice. Volumul intervenției chirurgicale în cadrul tumorilor ovariene și sindromul MRKH a inclus: salpingoovarectomie (inclusiv, bilaterală) [6, 8, 11, 12, 18-20, 22], în combinație cu histerectomie (extirparea rudimentelor uterine) [13, 15], extirparea omentului mare (omentectomie) [12, 15, 21], în combinație cu rezecția intestinului subțire și gros, eviscerarea pelvisului și limfodisecție [14, 16]. Într-o serie de cazuri, tratamentul chirurgical s-a combinat cu chimioterapie [11, 12, 14, 15, 16, 21].

În cadrul examenului histologic al tumorilor ovariene maligne în sindromul MRKH [6, 7, 8, 11, 12, 14-21], au fost înre-

charged 7 days after surgery. Histological result – leiomiomatous nodular tissue.

Discussion

Analyzing the literature data, it was established that ovarian tumours are a very rare pathology in patients with MRKH syndrome [5]. Up to now, only 18 episodes of ovarian tumours have been published in foreign literature, combined with Müllerian duct abnormalities, and the general characteristic of these patients is shown in Table 1. The mean age of patients with ovarian tumours and MRKH varied in a diapason quite wide, from 4 [8] to 79 years [7]. It should be noted that ovarian tumours in children and adolescents with MRKH syndrome were reported only in three cases [8, 11, 19]. In the other cases the number of observations was analogous to women of reproductive age [6, 9, 12, 15-17, 22] and postmenopausal [7, 10, 13, 14, 18, 20, 21]. The phenomenon of ovarian tumours in patients with familial MRKH syndrome should be considered quite interesting [12, 17, 21].

The main symptoms of ovarian tumours in this category of patients were pelvic pain (abdominal) [10, 12, 13, 15, 16, 18, 19, 20], abdominal increase in volume [11, 15, 21] palpable tumour in the small basin [6, 8, 11, 15, 18, 20] and the presence of ascitis [21].

For diagnosis of ovarian tumours in patients with MRKH syndrome, were used radiological methods: USG, TC and MRI. It should be noted that in most cases these methods have been combined [8, 10-16, 18, 20, 21]. In addition to radiographic diagnosis and stratification of ovarian tumours, a fairly wide spectrum of tumour markers (CA-125, AFP, β -hCG, CEA) [11, 12, 15, 20, 21] was used. In a series of publications, the increase in CA-125 (from 127 to 18,700 U/ml) [11, 12, 15, 16, 21] and AFP (from 75.9 to 13,507 ng/ml) [8, 11].

In most cases the tumours were unilateral [7-14, 16-18] and only four of them were bilateral ovarian tumours [6, 15, 19, 20]. In the unilateral tumours, their predominant localization was found on the left [9, 11, 12, 14, 17, 18, 21, 22], than on the right [8, 13]. Taking into account the variability of the situation and the number of ovaries in MRKH syndrome, observations should be made as to the development of tumours in the extra ovary [16] and the ectopic [10].

In surgery, laparotomy [6, 8, 10-16, 18-21] was performed as a rule, and laparoscopic technologies were used only in two cases [17, 22]. It should be noted that the laparoscopic interventions did not differ from the classical ones and were performed with consideration of all the oncological principles. The volume of surgical intervention in ovarian tumours and MRKH syndrome included: salpingo-ovarectomy (including bilateral) [6, 8, 11, 12, 18-20, 22] in combination with hysterectomy (removal of uterine rudiments) [13, 15], extirpation [12, 15, 21], in combination with the thin and thick intestinal resection, pelvis evisceration and lymphodisection [14, 16]. In a number of cases, surgical treatment was combined with chemotherapy [11, 12, 14, 15, 16, 21].

In the histological examination of malignant ovarian tumours in MRKH syndrome [6, 7, 8, 11, 12, 14-21] were record-

Tabelul 1. Caracteristica generală a pacientelor cu tumori ovariene în sindromul MRKH.

Autorul, anul	Vârsta, ani	Metodele de diagnostic	Dimensiunile tumorii (cm), lateralitatea	Volumul intervenției chirurgicale	Histologia
Larsen E. <i>et al.</i> (1992)	34	NA	10×5; 9×5; bilateral	Laparotomie; SOEB	Tumoare din celulele Sertoli; cistadenofibrom mucinos borderline
Pommerenke F. <i>et al.</i> (1994)	79	NA	NA	NA	Tumoare din celulele Sertoli
Tsaur G. <i>et al.</i> (1995)	4	USG, TC, MO	9,8×5; dextra	Laparotomie; SOE	Teratom imatur
Savov I. <i>et al.</i> (1995)	44	NA	NA; sinistra	NA	Tumoare Brenner
Rodríguez E. <i>et al.</i> (1998)	55	TC	11×7×5; ectopia ovarului în omentul mare	Laparotomie; extirparea tumorii	Cistadenom seros
Takeuchi K. <i>et al.</i> (2006)	8	USG, IRM, MO	10; sinistra	Laparotomie; SOE	Tumoare a sacului vitelin
Mishina A. <i>et al.</i> (2007)	35	USG, MO	20×15×10; sinistra	Laparotomie; SOEB + O	Disgerminom
Fukuda J. <i>et al.</i> (2010)	50	TC, IRM, MO	15; dextra	Laparotomie; HE+ SOEB	Cistadenom mucinos
Bailey A. <i>et al.</i> (2010)	61	USG, TC	8,1×7; sinistra	Laparotomie; HE + SOEB + O + rezecția intestinului subțire și porțiunii drepte a intestinului gros	Cancer papilar seros, stadiul IIIc
Kavallaris A. <i>et al.</i> (2011)	48	USG, TC, MO	103×2; 8×3×1,5; bilateral	Laparotomie; HE+SOEB+O	Cancer ovarian epitelial gr. III
Bae H. <i>et al.</i> (2013)	31	USG, TC, MO	25; ovar pelvian suplimentar	laparotomie, eviscerarea pelvisului + omentectomie + rezecția sigmei + limfodisecție pelviană	Carcinom papilar seros
Mishina A. (2015)	38	USG, TC, MO	10,7×8,7×9,3; sinistra	Laparoscopie; SOE	Tumoare din celulele Sertoli-Leydig
Nusrath S. <i>et al.</i> (2016)	65	TC	12×10; sinistra	Laparotomie SOE	Carcinom endometrial (FIGO gr. I)
Padrón-Arredondo G. <i>et al.</i> (2017)	10	NA	20×12×10; bilateral	Laparotomie SOEB	Disgerminom
Juusela A. <i>et al.</i> (2017)	72	USG, MO	17,8×13,4×16; bilateral	Laparotomie SOEB	Tumoare din celulele Sertoli-Leydig
Huepenbecker S. <i>et al.</i> (2017)	64	USG, TC	NA; sinistra	Laparotomie SOEB + O	Adenocarcinom seros grad înalt (gr. 3C)
Huepenbecker S. <i>et al.</i> (2017)	63	TC, MO	NA; sinistra	Laparotomie SOE + O + citoreducere	Carcinom seros tubar intraepitelial gr. 3
Miao Y. <i>et al.</i> (2018)	29	USG, TC, IRM	10,9×9,2×7,4; sinistra	Laparoscopie; SOE	Cistadenofibrom papilar
Ciobanu V. (<i>cazul prezent</i>)	14	USG, IRM, MO	15; dextra	Laparotomie; OE	Disgerminom

USG – ultrasonografie, TC – tomografie computerizată, IRM – imagistica prin rezonanță magnetică, MO – markerii oncologici, SOE – salpingoovarectomie, SOEB – salpingoovarectomie bilaterală, HE – histerectomie, O – omentectomie, OE – ovariectomie.

Table 1. General characteristics of patients with ovarian tumours in MRKH Syndrome.

Author, year	Age, y.o.	Diagnostic methods	Tumour dimensions (cm), laterality	Volume of surgical intervention	Histology
Larsen E. <i>et al.</i> (1992)	34	NA	10.5×9.5; bilateral	Laparotomy; SOEB	Tumour from Sertoli cells, mucinous borderline cystadenofibroma
Pommerenke F. <i>et al.</i> (1994)	79	NA	NA	NA	Tumour from Sertoli cells
Tsaur G. <i>et al.</i> (1995)	4	USG, CT, MO	9×8.5×5; dextra	Laparotomy; SOE	Immature teratoma
Savov I. <i>et al.</i> (1995)	44	NA	NA; sinistra	NA	Brenner tumour
Rodríguez E. <i>et al.</i> (1998)	55	CT	11×7×5; ovary ectopia in the large oment	Laparotomy; tumour extirpation	Serosus cystadenom
Takeuchi K. <i>et al.</i> (2006)	8	USG, MRI, MO	10; sinistra	Laparotomy; SOE	Vitelin sac tumour
Mishina A. <i>et al.</i> (2007)	35	USG, MO	20×15×10; sinistra	Laparotomy; SOEB + O	Dysgherminoma
Fukuda J. <i>et al.</i> (2010)	50	CT, MRI, MO	15; dextra	Laparotomy; HE + SOEB	Mucinous cystadenom
Bailey A. <i>et al.</i> (2010)	61	USG, CT	8.1×7.0; sinistra	Laparotomy; HE + SOEB + O+ resection of the small intestine and the right side of the large intestine	Serosus papillar cancer (stage 3c)
Kavallaris A. <i>et al.</i> (2011)	48	USG, CT, MO	10×3×2 and 8×3×1.5; bilateral	Laparotomy; HE + SOEB + O	Ovarian epithelial cancer gr. 3
Bae H. <i>et al.</i> (2013)	31	USG, CT, MO	25; extra pelvic ovary	Laparotomy; pelvic evisceration, omentectomy + sigma resection + pelvic lymphodisection	Serosus papilla carcinoma
Mishina A. (2015)	38	USG, CT, MO	10.7×8.7×9.3; sinistra	Laparoscopy; SOE	Tumour from Sertoli-Leydig cells
Nusrath S. <i>et al.</i> (2016)	65	CT	12×10; sinistra	Laparotomy; SOE	Endometrial carcinoma (FIGO gr. I)
Padrón-Arredondo G. <i>et al.</i> (2017)	10	NA	20×12×10; bilateral	Laparotomy; SOEB	Dysgherminoma
Juusela A. <i>et al.</i> (2017)	72	USG, MO	17.8×13.4×16.0; bilateral	Laparotomy; SOEB	Tumour from Sertoli-Leydig cells
Huepenbecker S. <i>et al.</i> (2017)	64	USG, TC	NA; sinistra	Laparotomy; SOEB + O	Serosus adenocarcinoma advanced stage (gr. 3C)
Huepenbecker S. <i>et al.</i> (2017)	63	CT, MO	NA; sinistra	laparotomy SOE + O + citoreduction	Intraepitelial serous tubular carcinoma gr. 3
Miao Y. <i>et al.</i> (2018)	29	USG, CT, MRI	10.9×9.2×7.4; sinistra	Laparoscopy; SOE	Papillar cystadenofibroma
Ciobanu V. (<i>present case</i>)	14	USG, MRI, MO	15; dextra	Laparotomy; OE	Dysgherminoma

USG – ultrasonography, TC – computed tomography, MRI – magnetic resonance imaging, MO – markers oncology, SOE – salpingoovarectomy, SOEB – bilateral salpingoovarectomy, HE – hysterectomy, O – omentectomy, OE – ovariectomy.

gistrate mult mai des decât cele boderline [6, 18] și benigne [9, 10, 13]. Analiza formelor morfologice ale tumorilor ovariene la copii și adolescente a demonstrat predominarea tumorilor germinogene, inclusiv, a tertaoamelor imature [8], tumorilor sacului vitelin [11] și disgerminomului [19], ceea ce a fost demonstrat și în cazul clinic prezent.

Prognosticul în cazul tumorilor ovariene în sindromul MRKH este foarte greu de apreciat, fiind cauzat de raritatea acestei patologii și de o durată foarte scurtă de supraveghere a acestor paciente pe un termen de până la un an [6, 22] și de la 1 până la 2 ani [11, 12, 15, 16, 21]. În majoritatea cazurilor, se menționează lipsa recidivelor după tratamentul chirurgical și cel combinat, cu excepția unui caz de adenocarcinom, care a necesitat efectuarea chimioterapiei [21].

Așadar, în contextul celor prezentate, trebuie de remarcat faptul că, acest caz prezentat de tumoră ovariană la o adolescentă, este cel de al patrulea publicat în literatura de specialitate la pacientele cu sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser și al treilea caz de disgerminom ovarian în această anomalie rară, publicat anterior în literatura de specialitate.

Concluzii

Tumorile ovariene în sindromul MRKH se referă la o patologie ginecologică destul de rară și trebuie să fie luate în considerație în diagnosticul diferențial al formațiunilor de volum ale cavității abdominale în cazul acestei malformații. Având în vedere caracteristicile principale ale sindromului MRKH, supravegherea clinică și radiologică îndelungată a pacienților cu sindrom MRKH trebuie considerată a fi justificată.

Declarația conflictului de interese

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

Conceptia și design-ul studiului: VC, AM, PH, VP, IC; achiziția de date: VC, AM, PH, VP, IC; analiza și interpretarea datelor: VC, AM, PH, VP, IC; elaborarea manuscrisului: VC, AM, PH, VP, IC; revizuirea semnificativă a manuscrisului, cu implicare intelectuală importantă: VC, AM, PH, VC, IC. Toți autorii au citit și aprobat versiunea finală a manuscrisului.

ed much more often than borderline [6, 18] and benign ones [9, 10, 13]. The analysis of morphological forms of ovarian tumours in children and adolescents has demonstrated the predominance of germinogenic tumours, including immature teratomas [8], vitelin sac tumours [11] and dysgerminoma [19], which has been demonstrated in the present clinical case.

The prognosis for ovarian tumours in MRKH syndrome is very difficult to appreciate due to the rarity of this pathology and a very short duration of surveillance for these patients for up to one year [6, 22] and from 1 to 2 years [11, 12, 15, 16, 21]. In most cases, there is a lack of relapses after surgical and combined surgery, except for a case of adenocarcinoma requiring chemotherapy [21].

Therefore, in the context of the presentations, it should be noted that the given case of ovarian cancer in an adolescent is the fourth published in the literature with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and the third case of ovarian dysgerminoma in this rare abnormality, previously published in the literature.

Conclusions

Ovarian tumours in MRKH syndrome refer to a very rare gynecological pathology and should be considered in the differential diagnosis of abdominal cavity volume formations in this malformation. Given the main features of MRKH syndrome, long-term clinical and radiological monitoring of patients with MRKH syndrome should be considered justified.

Declaration of conflict of interests

Author declare lack of any conflict of interests, financial or nonfinancial, associated with this study.

Author's contribution

Concept and design of the study: VC, AM, PH, VP, IC; data acquisition: VC, AM, PH, VP, IC; data analysis and interpretation: VC, AM, PH, VP, IC; elaboration of the manuscript: VC, AM, PH, VP, IC; significant revision of the manuscript with important intellectual involvement: VC, AM, PH, VC, IC. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Referințe / references

1. Choussein S., Nasioudis D., Schizas D., Economopoulos K. Mullerian dysgenesis: a critical review of the literature. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017; 295 (6): 1369-1381.
2. Committee on Adolescent Health Care. ACOG Committee Opinion No. 728: Müllerian Agenesis: Diagnosis, Management, and Treatment. *Obstet. Gynecol.*, 2018; 131 (1): e35-e42.
3. Ledig S., Wieacker P. Clinical and genetic aspects of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Med. Genet.*, 2018; 30 (1): 3-11.
4. Kapczuk K., Iwaniec K., Friebe Z., Kędzia W. Congenital malformations and other comorbidities in 125 women with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2016; 207: 45-49.
5. Mișina A. Patologia rudimentelor uterine, ovarelor și trompelor în sindromul Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. *Archives of the Balkan Medical Union*, 2015; 50 (nr. 2, suppl. 1): 110-115.
6. Larsen E. et al. Bilateral ovarian tumors in a woman with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Adolescent and Pediatric Gynecology*, 1992; 5 (3): 198-200.
7. Pommerenke F., Tessmann D., Meyer K. Giant Sertoli cell tumor of the ovary in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Zentralbl Gynakol.*, 1994; 116 (5): 295-300.
8. Tsaur G., Lee M., Su S., Wu M., Huang T. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome with immature teratoma of the ovary at age 4 years. *Gynecol. Oncol.*, 1995; 56 (3): 456-9.
9. Savov I., Shterianov Ch., Daneva R. Combined neoplasms in the Mayer-Rokitansky-Küster syndrome. *Akush Ginekol (Sofia)*, 1995; 34 (2): 60-2.
10. Rodríguez E., Pombo F., Alvarez C., Arnal F. Tumor in ectopic omental ovary in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: CT findings. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1998; 22 (5): 758-9.
11. Takeuchi K., Oomori S., Oda N., Maeda K., Kaji Y., Maruo T. Coexistence of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and yolk sac tumor of the ovary in a prepubertal girl. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 2006; 85 (2): 245-7.
12. Mishina A., Gladun E., Petrovici V., Iakovleva I. Ovarian dysgerminoma in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2007; 131 (1): 105-106.
13. Fukuda J., Kumazawa Y., Fujimoto T., Tanaka T. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome complicated by either uterine leiomyoma or ovarian tumor. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2010; 36 (1): 191-4.
14. Bailey A. Anomalous vasculature in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil. Steril.* 2010; 94 (1): 350. e1-4.
15. Kavallaris A., Sait K., Marar E., Shakra R., Diedrich K. Ovarian cancer and Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Gynecol Surg.*, 2011; 8 (2): 197-199.
16. Bae H., Ryu M., Kim I., Kim S., Song J. Cancer of the supernumerary ovary in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome: a case report. *Oncol. Lett.*, 2013; 5 (2): 598-600.
17. Mishina A. Laparoskopicheskoe lechenie opuholi yaichnika iz kletok Sertoli-Lejdiga pri sindrome Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. *Bukovins'kij Medichnij Visnik*, 2015; Tom 19, nr.4 (76), s. 258-261. (in rus.).
18. Nusrath S., Goel V., Varma P., Pawar S., Murthy S., Raju K. Ovarian cancer and Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome a rare combination. *Indian J. Gynecol. Oncolog.*, 2016; 14 (2): 30.
19. Padrón-Arredondo G., Rojo Oramas A., Canto Baqueiro B. Ovary dysgerminoma in girl of 10 years-old associate with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome (MRKH) Type 1. A unusual condition. *Clinical Case. J. Clin. Case Stu.*, 2017; 2 (2): 1-4.
20. Juusela A., Naghi I., Thani S. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome with bilateral ovarian Sertoli cell tumors: review of the literature and report of a rare case. *Female Pelvic Med. Reconstr. Surg.*, 2017 Sep 15. (in press).
21. Huepenbecker S., Divine L., Chu C., Mutch D. Two sisters with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and serous adenocarcinoma of the ovary. *Gynecol. Oncol. Rep.*, 2017; 22: 13-15.
22. Miao Y., Wen J., Huang L., Wu J., Zhao Z. Diagnosis and management of ovarian tumor in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. *Biomed. Res. Int.*, 2018; 2018: 2369430.

IMAGINI DIN PRACTICA CLINICĂ

Complicație pulmonară după vertebroplastie percutanată

Victor Botnaru¹, Oxana Munteanu¹, Aliona David²,
Diana Calaraș¹

¹Disciplina pneumologie și alergologie, Departamentul medicină internă, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 09.04.2018

Data acceptării spre publicare: 05.06.2018

Autor corespondent:

Oxana Munteanu, dr. șt. med., conf. univ.

Disciplina de pneumologie și alergologie

Departamentul 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: oxana.munteanu@usmf.md

Pacientă de 59 de ani, pensionară, trimisă pentru consult pneumologic în mai 2015 de medicul de familie din cauza apariției dispneei, febră până la 38°C, tuse și junghi toracic bilateral. Anamnezic, pe 17.02.2015, operată pentru hernie de disc și hemangiom vertebral cu vertebroplastie percutanată a corpului vertebrei L2 cu ciment acrilic. Radiografia toracelui la a 5 zi după intervenție a pus în evidență semne de embolism pulmonar cu materialul utilizat pentru vertebroplastie, dar pacienta fiind fără simptome pulmonare a fost externată cu recomandări de monitorizare la locul de trai, fără diagnostic de embolism pulmonar și teste pentru aprecierea severității acestuia.

Simptomele pulmonare au apărut peste 2 săptămâni de la efectuarea vertebroplastiei, a urmat 2 cure de antibioticoterapie. HRCT pulmonară (Figura 2 A-E), efectuată la 2,5 luni de la episodul de embolism, a demonstrat prezența embolilor cu ciment acrilic în ambii pulmoni, cu implicarea arterelor lobare, segmentare și subsegmentare. Aspectul mozaic al țesutului pulmonar (alternarea ariilor cu opacități tip sticlă mată cu arii de țesut cu transparență păstrată) în ambele hemitorace, vine să ilustreze defecte importante ale perfuziei pulmonare. Imagistul a interpretat leziunile identificate ca fibroză postinflamatorie și calcinate posttuberculoase, iar medicul de familie, în acest context, a suspectat o posibilă reactivare a tuberculozei și a solicitat consultul pneumologului care a diagnosticat embolia pulmonară cu polimetil metacrilat.

IMAGES FROM CLINICAL PRACTICE

Pulmonary complication after percutaneous vertebroplasty

Victor Botnaru¹, Oxana Munteanu¹, Aliona David²,
Diana Calaraș¹

¹Division of pneumology and allergology, Department of internal medicine, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²„Chiril Draganiuc” Institute of phthysiopneumology, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 09.04.2018

Accepted for publication on: 05.06.2018

Corresponding author:

Oxana Munteanu, PhD., assoc. prof.

Division of pneumology and allergology

Department of internal medicine

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: oxana.munteanu@usmf.md

A 59-year-old woman, retiree, was sent to a pneumologist in May 2015 by the family physician, due to dyspnea, fever 38°C, cough and chest pain. In February 2015, she has undergone a percutaneous surgery for a herniated disk and vertebroplasty for L2 vertebral body hemangioma using acrylic filler. The chest radiography at 5 days after surgery revealed signs of pulmonary embolism with bone cement used for vertebroplasty, but as the patient had no pulmonary symptoms, she was discharged for family physician follow up, with neither pulmonary embolism in her diagnosis nor having any tests assessing the severity of this complication.

She started having symptoms in 2 weeks after the surgery and she has been treated with 2 antibiotic courses. Chest HRCT (Figure 2 A-E) performed at 2.5 months after the embolism episode revealed the presence of acrylic cement emboli in lobar, segmental and subsegmental pulmonary arteries in both lungs. The mosaic attenuation of the lung parenchyma (patchwork of regions with different pulmonary attenuation) in both hemithoraces suggests, in this case, significant defects in lung perfusion. Nevertheless, the imagist considered the lesions as posttuberculous calcifications and post inflammatory fibrosis. The family physician suspecting a possible reactivation of TB, sent the patient to the pneumologist, who diagnosed the pulmonary embolism with polymethyl methacrylate.

Întrebări:

- 1) Ce modificări sunt identificate la RMN coloanei vertebrale la o pacientă cu sindrom algic în regiunea lombară în Figura 1 A-C?
- 2) Ce intervenție a fost efectuată și care complicații au survenit conform leziunilor identificate în Figura 1 D?
- 3) Descrieți modificările patologice din Figura 1 E. Ce complicație traduc acestea și care este tactica de tratament?

Questions:

- 1) What changes can be seen on the spine MRI imaging (Figure 1 A-C) in a patient with lumbalgia?
- 2) What kind of surgery has been performed and which complications have occurred considering the lesions identified in Figure 1 D?
- 3) Describe the abnormalities identified in Figure 1 E. What complications do they suggest and what are the treatment options?

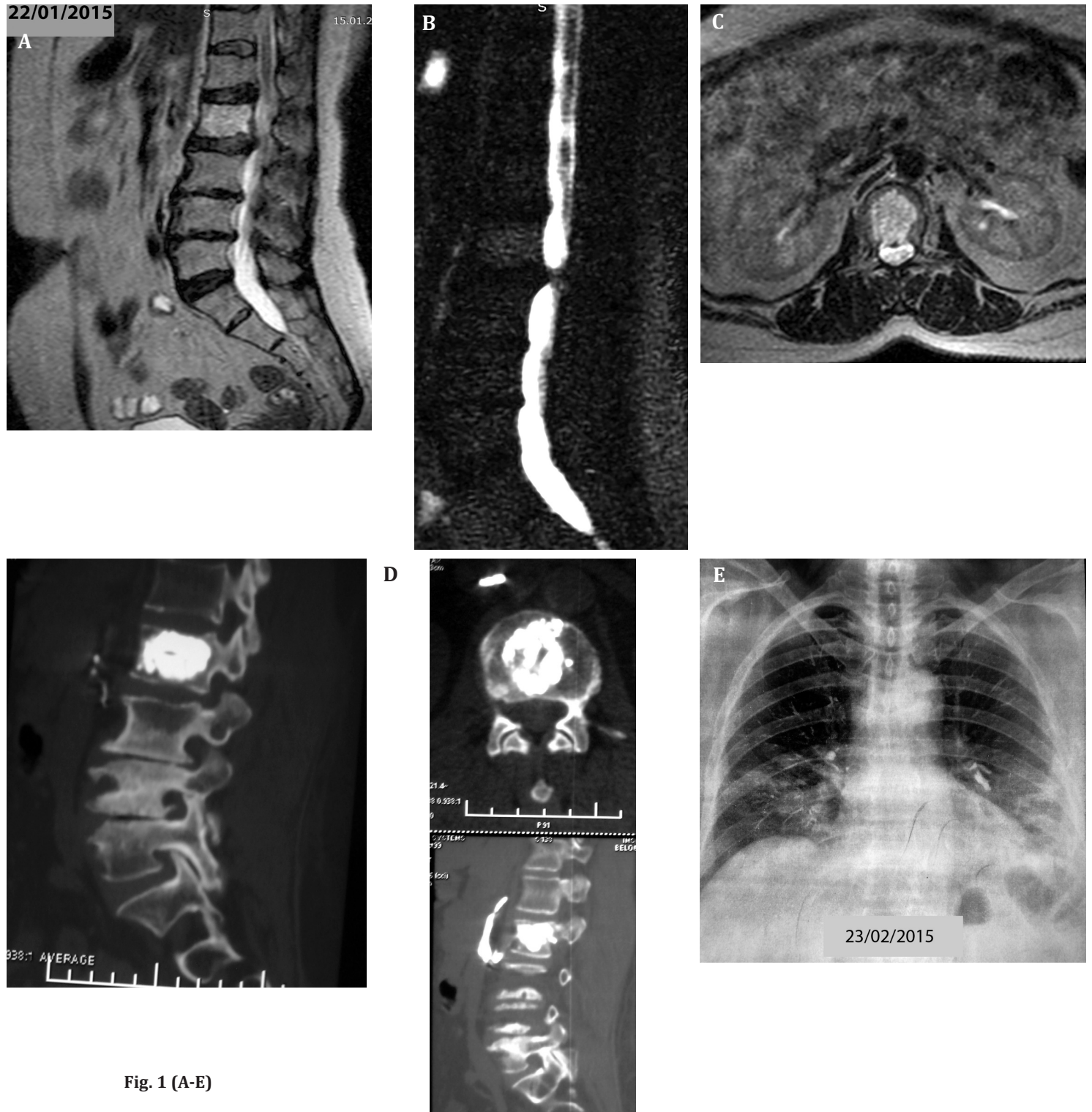


Fig. 1 (A-E)

Răspunsuri:

1) Stenoză de canal medular regiunea lombară L2-L3, hernie de disc L2-L3, hemangiom în corpul vertebrei L2.

2) Laminectomie L2, disc-ectomie L2-L3, vertebroplastie percutanată a corpului vertebrei L2 cu ciment acrilic (polimetil metacrilat). Embolizarea sinusurilor venoase și a venelor paravertebrale cu ciment acrilic.

3) Radiografia toracelui în incidență postero-anterioară prezintă micșorarea câmpurilor pulmonare bilateral, cu ascensionarea ambelor hemidiafragme până la coasta V. Opacități ovoide, de intensitate supracostală în regiunea parahilară bilateral, ce traduc embolizarea arterelor pulmonare lobare și multiple opacități liniare în ambele hemitorace de intensitate supracostală, ce respectă traiectul vaselor pulmonare și traduc embolizarea acestora cu material utilizat pentru vertebroplastie. Actualmente, nu există un ghid de management al embolismul pulmonar cu materialul utilizat pentru vertebroplastie (lipsește studiul ce ar compara diverse strategii terapeutice). Mai multe publicații recomandă utilizarea anticoagulantelor (heparină, urmată de warfarină) în cazul pacienților simptomatici cu embolie periferică (în baza radiografiei toracice) sau la cei cu embolie centrală, asimptomatici pentru o perioadă de 3-6 luni după episodul de embolism. În cazurile cu embolism central și prezența simptomelor, se va considera posibilitatea embolectomiei percutanate.

Discuții

Vertebroplastia percutanată (descrisă de către Galibert și colab. în 1987) a câștigat popularitate în ultimii 30 de ani și este utilizată, mai frecvent, la pacienții vârstnici cu osteoporoză, în scopul reducerii durerii și prevenirii distrugerii complete a corpului vertebral, precum și în tratamentul fracturilor vertebrale tasate din osteoporoză sau metastaze osteolitice.

Hemangioamele vertebrale sunt considerate tumori spinale benigne, frecvente (cu incidență globală de 10-12% în populația generală) și sunt caracterizate de o proliferare benignă a unor cavități relativ mari, tapetate cu endoteliu și cu conținut sangvin. Rareori simptomatice, hemangioamele vertebrale sunt, de obicei, descoperite întâmplător la radiografii, prin aspectul lor caracteristic de butoi cu straturi verticale proeminente, datorită trabeculelor corporale vertebrale îngroșate. Aceste leziuni sunt, de regulă, limitate la corpul vertebral și sunt ușor diagnosticate la RMN prin aspect pestriț și hipersemnal T1 și T2 (Figura 1 A, C).

Printre complicațiile vertebroplastiei, extravazarea cimentului este considerată a fi una severă, cu risc de embolizare atât a plexului venos paravertebral și a venelor paravertebrale, cât și a vaselor pulmonare. Printre factorii ce determină dezvoltarea acestei complicații sunt: vâscozitatea joasă a cimentului, particularitățile patului vascular regional, amplasarea capătului distal al acului de puncție, prezența defectelor în peretele corpului vertebral. Incidența raportată a emboliei pulmonare cu ciment acrilic după vertebroplastie variază de la 2,1% la 26% (variațiile mari fiind dependente și de tehnicile radiologice diferite pentru identificarea emboliilor pulmonari: CT sau radiografie). Majoritatea pacienților cu embolie

Answers:

1) Lumbar spinal canal stenosis at the level of L2-L3, herniating disc at L2-L3, hemangioma in L2 vertebral body.

2) Laminectomy of L2, discectomy L2-L3, percutaneous vertebroplasty of L2 vertebral body with acrylic cement (polymethyl methacrylate). Embolisation of venous sinuses and paravertebral veins with acrylic cement.

3) The postero-anterior chest radiography shows bilateral reduction of the pulmonary fields with both hemidiaphragms elevation to the level of 5th rib. Oval-shaped dense opacities in the perihilar region and multiple linear opacities of increased density on both sides along the vascular structures, which suggest lobar pulmonary arteries embolization with the filler material used for vertebroplasty. Currently, there aren't any evidence based recommendations on management strategies of pulmonary embolism due to filler materials used in vertebroplasty. Several publications recommend the use of anticoagulants (heparin followed by warfarin) for a period of 3-6 months after the embolic episode in symptomatic patients with radiological signs of peripheral pulmonary embolism or in asymptomatic patients with central pulmonary embolism. In case of central pulmonary embolism and the presence of symptoms, percutaneous embolectomy should be considered.

Discussion

Percutaneous vertebroplasty (described by Galibert et al. in 1987) has gained popularity over the last 30 years and it is used more frequently in elderly patients with osteoporosis to reduce pain and prevent complete destruction of the vertebral body as well as in the treatment of vertebral compression fracture due to osteoporosis or osteolytic metastasis.

Vertebral hemangiomas are common benign spinal lesion (with an incidence of 10-12% in the general population worldwide) and are characterized by a benign proliferation of relatively large endothelium-plated cavities, with blood content. Rarely symptomatic, vertebral hemangiomas are usually an incidental finding on routine radiographs of the spine, with their characteristic „corduroy cloth” appearance with prominent vertically-oriented layers, due to thickened vertebral body trabeculae. These lesions are usually limited to the vertebral body and are easily diagnosed on MRI with its common feature of speckled appearance and high intensity signal in T1 and T2 sequences (Figure 1 A, C).

Among the possible adverse events associated with vertebroplasty, filler extravasation is considered a severe complication with an increased risk of embolization of both paravertebral venous plexus, paravertebral veins and pulmonary vessels. Factors associated with this complication are: low viscosity of the filler cement, individual regional vascularisation features, placement of the distal end of the puncture needle, presence of defects in the wall of the vertebral body. The reported incidence of pulmonary embolism with acrylic cement after vertebroplasty ranges from 2.1% to 26% (large variations being dependent on different radiological techniques for the identification of pulmonary embolisms: CT or radiography). Most patients with cement pulmonary embolism are

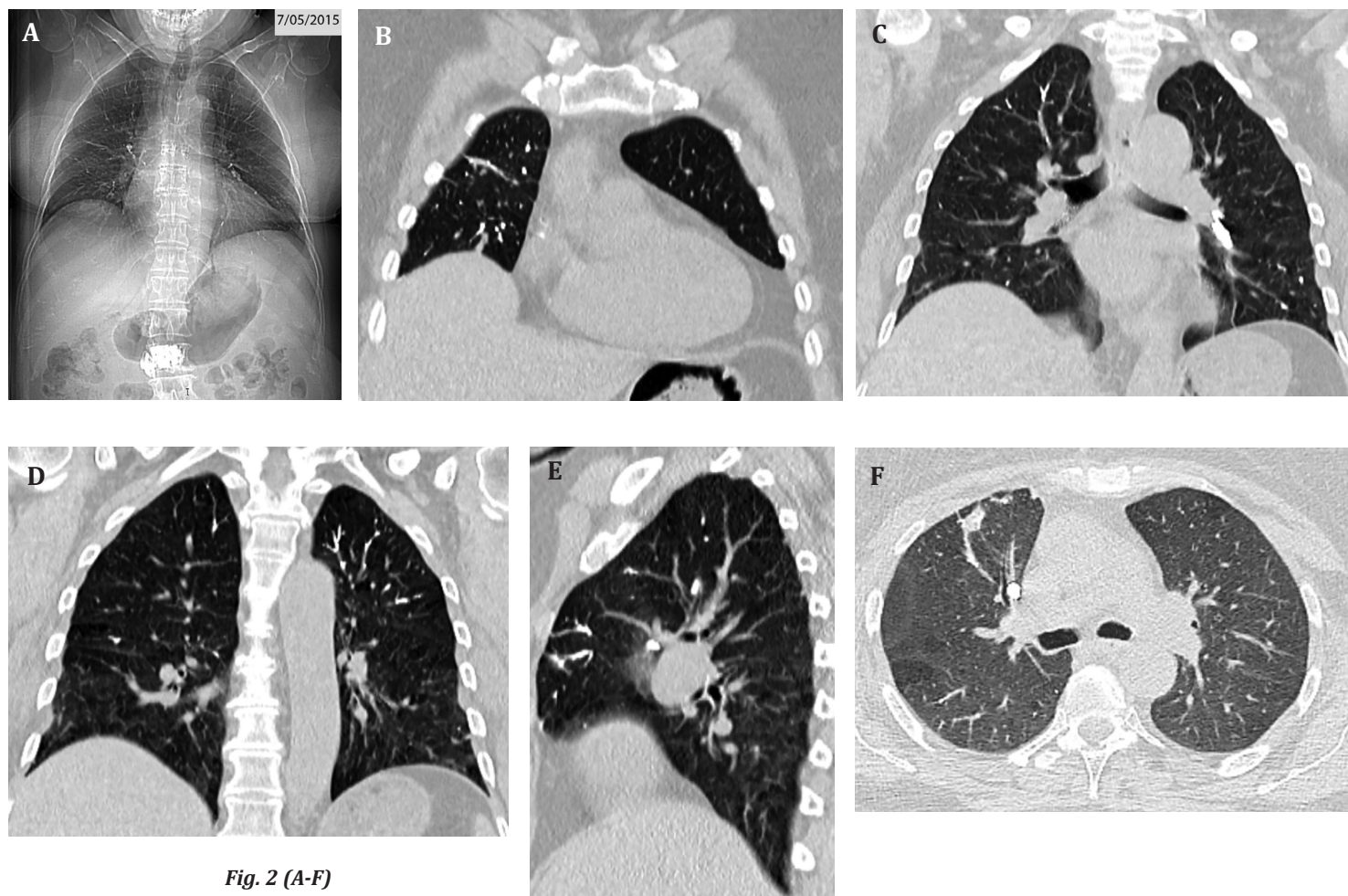


Fig. 2 (A-F)

pulmonară cu ciment sunt asimptomatici, dar manifestările sunt dependente de cantitatea de substanță embolizantă. Cele mai frecvente simptome sunt durerea toracică și dispneea, rareori – sindromul de detresă respiratorie acută. Mai frecvent, simptomele apar mai târziu, uneori săptămâni sau luni după vertebroplastie, ca și în cazul prezentat.

asymptomatic, but the manifestations are dependent on the amount of embolized substance. The most common symptoms are chest pain and dyspnea, rarely acute respiratory distress syndrome. More often, the symptoms appear later, sometimes weeks or months after vertebroplasty as in the presented case.

Referințe / references

- Galibert P, Deramond H, Rosat P. *et al.* Preliminary note on the treatment of vertebral angioma by percutaneous acrylic vertebroplasty. *Neurochirurgie*, 1987; 33: 166-168.
- Hao J, Hu Z. Percutaneous cement vertebroplasty in the treatment of symptomatic vertebral hemangiomas. *Pain physician*, 2012; 15 (1): 43-9.
- Luetmer M, Bartholmai B, Rad A. *et al.* Asymptomatic and unrecognized cement pulmonary embolism commonly occurs with vertebroplasty. *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, 2011; 32: 654-657.
- Rothermich M, Buchowski J, Bumpass D. *et al.* Pulmonary cement embolization after vertebroplasty requiring pulmonary wedge resection. *Clinical orthopaedics and related research*, 2014; 472 (5): 1652-7.
- Krueger A, Bliemel C, Zettl R. *et al.* Management of pulmonary cement embolism after percutaneous vertebroplasty and kyphoplasty: a systematic review of the literature. *Eur. Spine J.*, 2009; 18: 1257-1265.

Revista de Științe ale Sănătății din Moldova

Moldovan Journal of Health Sciences

Ghidul autorului

Criteria pentru publicare

Articolele originale trebuie să conțină cercetări noi (originale), rezultatele cărora contribuie la acumularea de noi cunoștințe în domeniul publicat și cu condiția că rezultatele prezentate nu au mai fost publicate înainte sau nu sunt depuse, în paralel, la o altă revistă, în vederea publicării.

Manuscrisele prezentate trebuie să corespundă standardelor STROBE (<http://www.strobe-statement.org>).

Prezentarea manuscrisului

Manuscrisele trebuie să fie prezentate doar în formă electronică, în limba română sau engleză. Dacă manuscrisul a fost depus doar în limba română, odată ce a trecut procedura de recenzare internă, acesta va fi tradus integral de către autori în limba engleză, pentru a putea trece procedura de recenzare externă. În același manuscris se permite utilizarea *US English* sau *British English*, dar nu mixt. Varianta tipărită (hârtie) nu va fi acceptată. Doar autorul corespondent va putea depune manuscrisul la redacție; tot el va deține responsabilitatea completă de procesul de depunere, de corespondența cu redacția pe durata procesului de publicare.

Procesul de publicare poate fi amânat, întrerupt sau anulat, la discreția autorului corespondent. Odată manuscrisul depus, autorul corespondent va primi un cod electronic de identificare a manuscrisului, pe care îl va folosi în corespondența ulterioară cu redacția.

În scopul menținerii integrității editoriale și a standardelor internaționale de calitate, Redacția *Moldovan Journal of Health Sciences – Revista de Științe ale Sănătății din Moldova* utilizează un sistem de detectare a plagiatului și va supune manuscrisul unei verificări antiplagiat. Depunerea manuscrisului pentru publicare înseamnă, implicit, acordul tuturor autorilor cu verificarea lui antiplagiat. În cazul suspectării că manuscrisul depus a încălcat politicile de publicare, acesta poate fi suspendat sau respins, indiferent de etapa procesului de publicare.

Scrisoarea de însoțire

La depunere, autorul corespondent va anexa la manuscris o scrisoare de însoțire. Formularul tipizat al Scrisorii de însoțire este oferit de către Redacție. Scrisoarea de însoțire include: (1) titlul manuscrisului; (2) o scurtă descriere despre relevanța manuscrisului pentru scopul promovat de Revistă; (3) contribuțiile aduse de manuscris pentru domeniul său; (4) modul în care manuscrisul adaugă valoare la literatura științifică de specialitate; (5) numele și semnăturile tuturor coautorilor; (5) datele complete de contact ale Autorului corespondent, cu menționarea instituției și adresei instituționale, nr. de telefon, nr. de fax și adresa e-mail.

În scrisoarea de intenție, Autorul corespondent trebuie să indice

Instructions for Authors

Criteria for publication

Original articles should contain new (original) results, which bring new knowledge in the field. The submitted manuscripts should contain data unpublished before and not submitted in parallel for publication to another journal.

Manuscripts submitted must meet STROBE standards (<http://www.strobe-statement.org>).

Manuscript submission

Manuscripts must be submitted only in electronic form in Romanian or English. Once past the internal reviewing procedure, the manuscript was submitted only in Romanian will be fully translated by the authors in English to pass the external reviewing procedure. In the manuscript are allowed to use U.S. English or British English, but not mixed. Printed version (paper) will not be accepted. Only the corresponding author may submit the manuscript. The corresponding author holds full responsibility of the submission and correspondence with the editor during reviewing and publication process.

The publication of the manuscript may be postponed, stopped or canceled at the request of the corresponding author. Once the manuscript is submitted, the corresponding author will receive an electronic identification code of the manuscript, which should be used for subsequent correspondence with the editor.

In order to maintain editorial integrity and international quality standards, editor of the *Moldovan Journal of Health Sciences* reserves the right to use a plagiarism detection system. Thus the submitted manuscript will be checked for plagiarism. Manuscript submission involves agreement of all coauthors for checking for plagiarism. If the submitted manuscript violates copyright policies; it can be suspended or dismissed, regardless of the stage of the publishing process.

Cover letter

A submitted manuscript should be accompanied by a Cover letter. A template of Cover letter is provided by editor. Cover letter should include: (1) the title of the manuscript; (2) a short statement regarding the relevance of the manuscript for the journal proposes; (3) contributions of the manuscript for to field; (4) what is the added value of the manuscript to the already published scientific literature; (5) the names and signatures of all coauthors; (5) the full contact details of corresponding author, indicating the institution and institutional address, no. telephone, no. fax and e-mail.

In the Cover letter, the corresponding author should clearly indicate that: (1) the paper contain original data; (2) the paper has not been published before; (3) the manuscript is not submitted for publication to another journal; (4) all authors have contributed to the manuscript; (5) the informed consent were obtained from all study

în mod clar că: (1) lucrarea menționată este originală; (2) lucrarea menționată nu a fost publicată anterior; (3) lucrarea menționată nu este depusă pentru publicație în altă revistă; (4) toți autorii subsemnați au contribuit la elaborarea manuscrisului; (5) de la subiecții incluși în studiu a fost obținut consimțământul informat; (6) toți autorii subsemnați au aprobat versiunea finală a manuscrisului; (7) acordul implicit de verificare antiplagiat al manuscrisului; (8) au fost declarate orice potențiale conflicte de interes. De asemenea, Autorul corespondent poate include orice informație suplimentară în Scrisoarea de intenție, dacă consideră că aceasta poate fi utilă pentru Redacție.

Consimțământul informat

Orice manuscris care comunică rezultate experimentale, obținute de la subiecți umani, trebuie să fie bazat pe studii, în care a fost obținut consimțământul informat de la subiect (ți) și/sau tutore (i). În scrisoarea de intenție, autorul corespondent trebuie să indice în mod clar obținerea consimțământului informat. În caz de necesitate, Redacția este în drept să solicite probe suplimentare, care atestă obținerea consimțământului informat.

Comitetul de Etică

Pentru orice studiu experimental, efectuat pe oameni sau animale, este necesar de a menționa evaluarea etică a proiectului de cercetare. În acest sens, în articol vor fi menționate numărul procesului verbal și data ședinței Comitetului de Etică, când a fost aprobat proiectul de cercetare.

Permisuni

În conformitate cu ghidurile Comitetului Internațional al Editorilor Revistelor Medicale (*ICMJE Guidelines*), în cazul când în manuscrisul prezentat este folosită sau reprodușă o informație publicată anterior, sau un material cu drepturi de autor, este de responsabilitatea Autorului corespondent să obțină permisiunea în scris a deținătorului de drepturi (*Copyright*) și să citeze corect sursa originală. Cu scopul de a menține transparența, se recomandă ca această permisiune, sub formă de copie, să fie depusă împreună cu manuscrisul.

Fotografiile cu pacienți identificabili

În conformitate cu ghidurile internaționale ale Comitetului de Etică a Publicațiilor (*COPE Guidelines*), în cazul când în imaginile prezente în manuscris (fotografii, radiograme, rezultate de laborator, rezultatele investigațiilor paraclinice, înregistrări video sau sonore ș. a.) o persoană este identificabilă fizic, de la aceasta trebuie obținută o permisiune în scris de utilizare a imaginii date. Se recomandă ca permisiunea dată să fie depusă împreună cu manuscrisul, iar în manuscris să fie stipulat în mod clar, că această permisiune a fost obținută.

Specificarea medicamentelor și dispozitivelor

În manuscris se vor utiliza nume generice de medicamente, urmate, dacă este cazul, de denumirea lor comercială între paranteze. Pentru medicamente și dispozitive, includeți numele producătorului și localizarea acestuia (țara de origine).

Formatul fișierelor

Se acceptă următoarele formate de text pentru manuscrisul principal: Microsoft Word (97, 2003, 2007, 2010) și formatele „.rtf”, „.doc”, „.docx”. Se acceptă următoarele formate pentru imagini: „.jpeg”, „.tiff”, „.eps”, „.ppt”, „.pptx”. Este posibil ca imaginile articolului să fie transmise în format „.ppt” sau „.pptx” (o imagine – un slide). Calitatea imaginilor, indiferent de format, trebuie să fie, minim: pentru desene – 800 dpi, pentru imagini cu detalii fine – 1000 dpi, pentru imagini alb-negru – de 300 dpi.

subjects (6) all coauthors approved the final version of the manuscript; (7) agreement for checking of the manuscript for plagiarism; (8) any potential conflicts of interest were disclosed. Corresponding author may include in the Cover letter any other additional information which could be useful for the editor.

Informed consent

Manuscripts that report experimental results obtained on human subjects must be based on studies in which informed consent was obtained from study subjects and/or their legal representative. The corresponding author should clearly indicate in his letter of intention about the obtaining of the informed. Editor reserved the right to request additional evidence attesting the obtaining of the informed consent.

Ethic Committee

For any experimental study conducted on humans or animals, it is necessary to mention in the article the ethical evaluation of the research project (such as date of evaluation and reference number of approval).

Permissions

In accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journals Editors (*ICMJE Guidelines*) if the submitted manuscript used or reproduced information/material previously published or copyrighted is the responsibility of the corresponding author to obtain a written permission from the owner of the copyright and properly cite the original source. In order to maintain transparency, it is recommended to submit the permission, as a copy, along with the manuscript.

Pictures

In accordance with international guidelines of the Publications Committee of Ethics (*COPE Guidelines*), if the manuscript contains pictures (photographs, radiograms, laboratory results, results of laboratory investigations, videos or sound etc.) which allows physical identification of the person, it must be obtained a written permission for the use of the image data. It is recommended to submit the permission along with the manuscript. Also in the manuscript text should be clearly stated that permission was obtained.

Drugs and devices specifications

In manuscript generic names of drugs, followed by their trade name in parentheses (if appropriate) should be used. For drugs and devices, manufacturer's name and location (country of origin) should be mentioned.

Files format

The following file formats for manuscript text are accepted: Microsoft Word (97, 2003, 2007, 2010) “.rtf”, “.doc”, “.docx”. Pictures should be submitted in one of the following formats: “.jpeg”, “.tiff”, “.eps”, “.ppt”, “.pptx”. The images could be transmitted also, in a format item “.ppt” or “.pptx” (one image – one slide). Scanning resolution should be as follows: drawings – at least 800 dpi, fine line images – 1000 dpi and greyscale images – at least 300 dpi.

Structure of the manuscript

Moldovan Journal of Health Sciences follows STROBE recommendations for reporting observational biomedical research studies. To facilitate the development of the manuscript, please consult this information available online at www.strobe-statement.org.

The volume of the manuscript text should not exceed 6000 words.

Structura manuscrisului

Publicația Periodică *Moldovan Journal of Health Sciences – Revista de Științe ale Sănătății din Moldova* respectă recomandările STROBE de raportare a cercetărilor observaționale biomedicale. Pentru a vă ușura procesul de elaborare și structurare a manuscrisului, vă recomandăm să consultați informația respectivă, disponibilă online, pe site-ul www.strobe-statement.org.

Volumul textului unui manuscris nu trebuie să depășească 6000 de cuvinte. Cu toate că numărul figurilor și tabelelor în manuscris rămâne la discreția autorilor, se recomandă ca numărul lor să fie limitat la 5, pentru a nu reduce din lizibilitatea articolului pe paginile Revistei.

Structura unui articol original trebuie să respecte următoarea consecutivitate:

- Titlul lung (formulat în conformitate cu ghidurile STROBE)
- Numele și prenumele complete ale autorului (autorilor)
- Afilierile autorului (autorilor)
- Datele de contact ale autorului corespondent
- Titlul scurt (va fi utilizat în calitate de colontitlu pe paginile Revistei)
- Elementele scoase în evidență din articol:
 - Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat (descriș în 1-3 fraze)
 - Ipoteza de cercetare (formulată în 1-2 fraze)
 - Noutatea adusă de articol literaturii științifice din domeniu (limitată la 1-3 fraze).
- Rezumatul articolului (compus din: introducere, materiale și metode, rezultate, concluzii), limitat la maximum 350 de cuvinte.
- Cuvinte cheie
- Introducere
- Materiale și metode
- Rezultate
- Discuții
- Concluzii
- Lista abrevierilor utilizate (dacă este cazul)
- Declarația de conflict de interese
- Contribuțiile autorilor
- Mulțumiri și finanțare (dacă este cazul)
- Referințe bibliografice
- Tabele și legende la tabele (dacă este cazul)
- Ilustrații și figuri (dacă este cazul)
- Legendele figurilor (dacă este cazul)
- Descrierea datelor suplimentare, anexe (dacă este cazul)

Pe pagina de titlu a manuscrisului trebuie să fie prezente următoarele elemente:

- **Titlul manuscrisului:** formulat în conformitate cu ghidurile STROBE, trebuie să fie laconic, relevant pentru conținutul manuscrisului, să reflecte tipul (*design*-ul) studiului și să nu depășească 25 de cuvinte. Nu se admit prezența abrevierilor în titlu.
- **Titlul scurt** (ce va fi utilizat drept colontitlu pe paginile Revistei) reprezintă o versiune scurtă, de esență, a titlului complet. Va fi limitat la 40 de caractere, inclusiv spațiile.
- **Numele autorului (autorilor).** Autori sunt numiți doar acele persoane, care au avut o contribuție substanțială la lucrare. Exemple de contribuție esențială la lucrare sunt: elaborarea *design*-ului studiului, recrutarea pacienților, participarea în colectarea datelor, analiza datelor, interpretarea rezultatelor, scrierea propriu-zisă a articolului, realizarea tehnică a testelor, investigațiilor, realizarea imaginilor, formularea concluziilor. Pot fi citați până la 10 autori individuali. În ca-

Although, the number of figures and tables in the manuscript is at the discretion of the authors, in order to not reduce article legibility it is recommended to limit their number to five.

Structure of original article must comply with the following sequence:

- Full title (according to the STROBE guidelines)
- Full authors' name
- Authors' affiliations
- Contact details of corresponding author
- Short title (to be used as a running head on the journal)
- Article highlights:
 - What is not yet known on the issue addressed in the submitted manuscript (described in 1-3 sentences)
 - The research hypothesis (described in 1-2 sentences)
 - The novelty added by manuscript to the already published scientific literature (limited to 1-3 sentences).
- Abstract (consisting of background, materials and methods, results and conclusions), to not exceed 350 words.
- Keywords
- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussions
- Conclusions
- List of abbreviations used (if applicable)
- Declaration of conflict of interests
- Authors' contributions
- Acknowledgements and funding (if applicable)
- References
- Tables and tables' captions (if applicable)
- Pictures and figures (if applicable)
- Figures' legends (if applicable)
- Description of additional data, appendices (if applicable)

The cover page of the manuscript should include:

▪ **Title of the manuscript:** written according to the STROBE guidelines, should be concise, relevant to the content of the manuscript, and reflect the study design. The title length should not exceed 25 words. It is not allowed the presence of abbreviations in the title.

▪ **Short title:** (to be used as a running title) is a short version of the essential of the full title. Short title will be limited to 40 characters, including spaces.

▪ **Author(s) name:** Authors list must include only those persons who had a substantial contribution to the work. Examples of essential contribution to the work are: developing of the study design, patients recruitment, participation in data collection, data analysis, interpretation of results, writing of the manuscript, performing of the tests, pictures taking, drawing conclusions. The authors list should not exceed 10 persons. If the research group exceed 10 individual authors, in the "Authors name" section first two will be cited, all others should be mentioned at the end of the article, in the "Acknowledgements and funding" section.

Members of the research group who do not meet the formal criteria of the authorship, but have had some contribution to the paper, may be mentioned in the "Acknowledgements and funding" section.

Note: To differentiate the corresponding author, as well as authors who have an equal contribution to the work, using special

zul când grupul de lucru depășește 10 autori individuali, vor fi citați în secțiunea „Numele și prenumele autorilor” doar primii doi, iar restul vor fi menționați la sfârșitul articolului, la secțiunea „Mulțumiri și finanțare”.

Membrii grupului de lucru, care nu îndeplinesc criteriile formale de autor enumerate, dar au avut o oarecare contribuție la lucrare, pot fi menționați în secțiunea „Mulțumiri și finanțare”.

Notă: Pentru a diferenția autorul corespondent și autorii care au contribuit în aceeași măsură la lucrare, folosiți caractere speciale, ca exponenți, la sfârșitul numelor lor:

(*) – pentru Autorul corespondent;

(†) – pentru Autorii care au avut o contribuție egală.

(De exemplu: Adrian Belii*, Adrian Belii†)

Nu se vor menționa gradele și titlurile științifice și cele științifico-didactice.

▪ **Afilieri.** Afilieră autorilor se va scrie după secțiunea „Numele autorului (autorilor)”. În acest sens, se va menționa numele complet al instituției de afiliere a autorului (autorilor), localitatea și țara.

Afilieră se marchează cu cifre arabe, în superscript (de exemplu: Adrian Belii¹)

▪ **Elementele scoase în evidență din articol:**

- Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat (descriș în 1-3 fraze)
- Ipoteza de cercetare (formulată în 1-2 fraze)
- Noutatea adusă de articol literaturii științifice din domeniu (limitată la 1-3 fraze).

Din pagină nouă:

Rezumatul

Rezumatul trebuie să fie scris la timpul trecut, persoana a treia. Acesta trebuie să ofere un sumar concis al scopului, obiectivelor, rezultatelor semnificative și concluziilor studiului, în limitele la 350 de cuvinte, organizate în următoarele secțiuni:

- **Introducere** – unde se va reflecta, pe scurt, contextul și scopul principal al studiului;
- **Material și metode** – cum a fost realizat studiul și ce teste statistice au fost aplicate;
- **Rezultate** – prezintă rezultatele principale ale studiului;
- **Concluzii** – o scurtă trecere în revistă a constatărilor făcute, cu posibile implicări pentru studii ulterioare.

Nu utilizați abrevieri și citații în rezumatul articolului.

Cuvintele cheie

Enumerați 4-10 cuvinte cheie, care sunt reprezentative pentru conținutul articolului. Pentru a ușura găsirea articolului Dvs. de către motoarele de căutare ale bazelor de date, folosiți termeni recomandați din lista de titluri cu subiect medical de pe <http://nlm.nih.gov/mesh>.

Înregistrarea trialului clinic

În caz dacă articolul Dvs. comunică rezultatele unui trial clinic, vă rugăm să indicați Registrul trialului și numărul unic de înregistrare a trialului.

Exemplu: „*Current Controlled Trials ISRCTN61362816*”. Atenție! Nu trebuie să existe niciun spațiu între literele și cifrele numărului unic de înregistrare a trialului. Pentru mai multe informații, va rugăm să accesați <http://www.isrctn.org> (*International Standard Randomised Controlled Trial Number*) și <http://www.icmje.org> (*International Committee of Medical Journal Editors*).

characters as a superscript index at the end of their names is recommended:

(*) – Corresponding author;

(†) – Authors with equal contribution.

(e.g. Adrian Belii*, Adrian Belii†)

▪ **Affiliation:** Please state the full name of institution, city and country to which the author(s) is affiliated. Affiliation should be marked with Arabic numerals in superscript after the author(s) name (e.g. Adrian Belii¹)

▪ **Article highlights:**

- What is not yet known on the issue addressed in the submitted manuscript (described in 1-3 sentences)
- The research hypothesis (described in 1-2 sentences)
- The novelty added by manuscript to the already published scientific literature (limited to 1-3 sentences).

From new page:

Abstract

The abstract should be written using the past tense, third person. It should provide a concise summary of the purpose, objectives, significant results and conclusions of the study. The summary text should not exceed 350 words organized into the following sections:

- **Introduction** – reflect in short the context and purpose of the study;
- **Material and methods** – describe how the study was conducted and specify the applied statistics;
- **Results** – present the key results of the study;
- **Conclusions** – a brief overview of the findings, with possible implications for further studies.

Do not use abbreviations or citations in the abstract of the article.

Key words

List 4-10 keywords that are representative for the contents of the article. To facilitate finding of your article by search engines of electronic databases, use MESH keywords list (available on <http://nlm.nih.gov/mesh>).

Registered clinical trial

In case if your article reported the results of a clinical trial, please indicate Trial Register and the unique registration number of the trial.

E.g.: “Current Controlled Trials ISRCTN61362816”

Attention! There should be no space between letters and numbers of the unique record number of the trial. For more information, please visit <http://www.isrctn.org> (International Standard Randomized Controlled Trial Number) and <http://www.icmje.org> (International Committee of Medical Journal Editors).

From new page:

Introduction

The Introduction section should be written using past tense, third person, and should:

- provide information that would allow readers outside of the field to enter the context of the study, to understand its meaning;
- define the problem addressed and explain why it is important;
- include a brief review of recent literature in the field;
- mention any controversy or disagreement existing in the field;
- formulate research hypothesis and present the main and secondary assessed outcomes;

Din pagină nouă:**Introducerea**

Introducerea, scrisă la timpul trecut, persoana a treia, trebuie:

- să ofere informații care ar permite cititorilor din afara domeniului să intre în contextul studiului, să-i înțeleagă semnificația;
- să definească problema abordată și să explice de ce aceasta este importantă;
- să includă o scurtă trecere în revistă a literaturii recente din domeniu;
- să menționeze orice controverse sau dezacorduri relevante în domeniu;
- să formuleze ipoteza de cercetare și să prezinte parametrul principal și cei secundari de rezultat;
- să concludă cu scopul lucrării și cu un comentariu care să ateste dacă scopul propus a fost atins.

Material și metode

În secțiunea „Materiale și metode” trebuie să fie descrise cu detalii suficiente procedurile efectuate. Aici se vor menționa protocoalele detaliate privind metodele utilizate precum și informații justificative. Se vor include: *design*-ul studiului, descrierea participanților și materialelor implicate, descrierea clară a tuturor intervențiilor și comparațiilor efectuate, precum și testele statistice aplicate. Se vor specifica denumirile generice de medicamente. Atunci când în cercetare sunt folosite branduri, se indică în paranteze denumirea lor comercială. În cazul studiilor pe subiecți umani sau pe animale, trebuie să fie menționată aprobarea etică (data și nr. procesului verbal al ședinței Comitetului de Etică, președintele CE și denumirea instituției, în cadrul căreia activează CE), precum și consimțământul informat al persoanelor.

Rezultate

Rezultate și discuțiile vor fi prezentate în secțiuni separate.

Autorii trebuie să prezinte rezultate clare și exacte. Rezultatele prezentate trebuie explicate (nu justificate sau comparate, în această secțiune) cu constatări fundamentale, evident, referitoare la ipoteza care a stat la baza studiului. Rezultatele trebuie redată concis și logic, cu accentuarea celor noi.

Discuții

Se va descrie impactul, relevanța și semnificația rezultatelor obținute în domeniul respectiv. Rezultatele obținute se vor compara cu cele provenite din studiile anterioare din domeniu și se vor trasa potențiale direcții viitoare de cercetare. Discuțiile trebuie să conțină interpretări importante ale constatărilor și rezultatelor, în comparație cu studiile anterioare. De asemenea, se vor menționa limitele studiului și factorii potențiali de *bias*.

Concluzii

Această secțiune trebuie să concludă laconic întregul studiu și să specifice, care este plus-valoarea adusă la informațiile disponibile despre subiectul abordat. În concluzii nu se vor oferi informații noi și nu se vor dubla (repetă) cele prezentate în secțiunea „Rezultate”.

Abrevieri

Folosii numai abrevieri standard. De asemenea, pot fi formulate și alte abrevieri, cu condiția că acestea vor fi descifrate în text atunci când sunt utilizate pentru prima dată. Abrevierile din figuri și tabele vor fi descifrate în legendă. Abrevierile trebuie folosite cât mai rar posibil.

- conclude with the research’ propose and a short comment whether the purpose has been achieved.

Material and methods

“Materials and methods” section should present în sufficient details all carried out procedures. Here should be described protocols and supporting information on the used methods. It will include study design, subjects’ recruitment procedure, clear description of all interventions and comparisons and applied statistics. În the manuscript text the generic names of drugs should be used. When drug brands are used their trade name will be shown în parentheses. For studies on humans or animals a statement about ethical approval and informed consent of study subjects should be include. Please specify date and number of Ethics Committee (EC) decision, chair of the EC as well as institution within EC is organized.

Results

Results and discussion should be presented în separate sections. Authors must present results în a clear and accurate manner. Results should be explained (not justified or compared în this section) and include fundamental statements related to hypothesis behind the study. The results should be presented concisely and logically, emphasizing on new original data.

Discussion

Describe the impact, relevance and significance of the obtained results for the field. The results are compared with those from previous publications and draw potential future research directions. Discussions should include important interpretations of the findings and results compared with previous studies. Also, study limitations and potential bias should be mentioned.

Conclusions

This section should conclude laconically entire study, and highlight the added-value brought on the studied issue. The conclusions should not provide new information or double (repeat) those presented în the “Results” section.

Abbreviations

Use only standard abbreviations. Other abbreviations may be defined and provided when are used for the first time în the manuscript. Abbreviations în the figures and tables will be explained în legend. Abbreviations should be used as rare as possible.

Declaration of conflict of interests

Following publication, persons or organizations involved în the study become public and thus their reputation may be influenced. Therefore, authors must disclose financial and non-financial relationship with people or organizations and to declare conflicts of interest related to the data presented în the manuscript. În accordance with the ICMJE guidelines, authors must fulfill a statement of conflicts of interest, which will be published at the end of the article.

Complementing the declaration of conflicts of interest the following will be taken into consideration

For financial conflicts of interest

- specify whether any organization has financial relationship with research presented în the manuscript, including funding, salary, reimbursements;
- mentioned, if the article has any impact on the eventually in-

Declarația de conflict de interese

După publicare, persoanele sau organizațiile implicate în studiu vor deveni publice și astfel poate fi influențată reputația lor. Prin urmare, autorii trebuie să dezvăluie relația financiară sau non-financiară cu persoane sau organizații și să declare conflictele de interese pentru datele și informațiile prezentate în manuscris. În conformitate cu ghidurile ICMJE, Autorul (autorii) trebuie să completeze o declarație privind Conflictele de interese, care va fi prezentată la sfârșitul articolului publicat.

Completând declarația referitoare la Conflictele de interes, se vor lua în considerație:

Pentru Conflicte de interese financiare

- specificați dacă vreo organizație are relație financiară cu lucrarea științifică reflectată în manuscris, inclusiv de finanțare, salariu, rambursări;
- menționați, dacă articolul are un impact asupra organizației date, ce ar genera pierderi sau profituri după publicare, în prezent sau în viitor;
- autorul (autorii) trebuie să precizeze dacă dețin cote de proprietate în orice organizație care ar putea să suporte pierderi sau să aibă profituri după publicare, în prezent sau în viitor. De asemenea, se recomandă să se specifice dacă autorul (autorii) dețin(e) sau aplică pentru orice drepturi de proprietate (brevet) în legătură cu conținutul utilizat în manuscris;
- precizați dacă există oricare alte conflicte de interese.

Pentru Conflicte de interese non-financiare

- Vă rugăm să specificați oricare conflicte de interese non-financiare legate de politică, individuale, religioase, ideologice, educaționale, raționale, comerciale etc., care au legătură cu manuscrisul.

Contribuția autorilor

Această secțiune a manuscrisului are rolul de a specifica contribuția și gradul de implicare a fiecărui autor. În acest sens, vă rugăm să respectați formatul exemplului propus: „*HW a conceput studiul, a participat la design-ul studiului și a ajutat la redactarea manuscrisului. MG a efectuat procesarea exemplarelor, a metodelor de cultură ale țesutului și a elaborat manuscrisul. TK a efectuat testele de imunofluorescență. PN a participat la colorarea probelor și la analiza citometrică prin flux. AR a participat la elaborarea design-ului studiului și a efectuat analiza statistică. Manuscrisul final a fost citit și aprobat de către toți autorii*”.

Fiecare Autor trebuie să aibă o contribuție individuală în desfășurarea cercetării, pregătirii manuscrisului și publicării lucrării. Un Autor trebuie să contribuie semnificativ la conceptul și design-ul lucrării, la efectuarea procedurilor experimentale, la colectarea datelor, la compilarea, analiza, interpretarea și validarea rezultatelor.

Conform recomandărilor Comitetului Internațional al Editorilor Revistelor Medicale, ICMJE, (www.icmje.org), drept autor poate fi considerată persoana care se încadrează în toate cele 4 criterii:

1. a adus o contribuție individuală substanțială concepției, elaborării design-ului cercetării, sau a colectat, analizat sau interpretat datele;
2. a elaborat manuscrisul sau l-a revăzut în mod critic, aducând o contribuție intelectuală importantă;
3. a aprobat versiunea finală a manuscrisului, gata pentru publicare;
4. este de acord să fie responsabilă pentru toate aspectele legate de cercetarea efectuată și de manuscrisul depus pentru publicare și să dea asigurare, că toate întrebările referitoare la

involved organization and could generate losses or profits after publication, now or in the future;

- authors must indicate if they have shares ownership in any organization that may incur losses or take profits after publication, now or in the future. Also, you should specify whether the author (s) own (s) or apply to any property rights (patent) on the content used in the manuscript;
- indicate if there are any other conflicts of interest.

For non-financial conflicts of interest

- Please specify any non-financial conflicts of interest: political individual, religious, ideological, educational, rational, commercial etc. related to manuscript.

Authors' contributions

This section of the manuscript is to specify the input and involvement of each author. In this regard, please follow the suggested format: “*HW conceived the study and participated in study design and helped drafting the manuscript. MG performed the processing of specimens and tissue culture methods and drafted the manuscript. TK performed immunofluorescence tests. PN participated in staining and flow-cytometry. AR participated in the study design and performed the statistical analysis. Final manuscript was read and approved by all authors*”.

Each author must have an individual contribution to the research, manuscript preparation and work publication. An author should contribute substantially to one of the following: the concept and design of the work, performing of the experimental procedures, data collection, compilation, analysis, interpretation and validation of results.

According to the International Committee of Medical Journals Editors, ICMJE (www.icmje.org), as author may be a person who fit all four of following criteria:

1. has made a substantial personal contribution in designing, developing research protocol, or collected, analyzed and interpreted data;
2. developed or reviewed critically the manuscript bringing a significant intellectual contribution;
3. approved the final version of the manuscript ready for publication;
4. agrees to be responsible for all aspects of the conducted research and submitted manuscript and to assure that all questions relating to accuracy or completeness of the work was adequately assessed and resolved.

Note: Persons who have contributed to the work, but not fit the four criteria mentioned above cannot be considered as authors. Their contribution will be mentioned in the “Acknowledgment and funding section” of the manuscript. Also, people who have only been involved in data collection, monitoring, technical assistance and funding, are not eligible as coauthors, but they may be mentioned in the “Acknowledgements and funding” section. Mere position of head of unit, department or institution, on which the research was conducted, without fulfilling all four ICMJE criteria, doesn't provide the right to be a coauthor of the work.

Acknowledgements and funding

People who contributed to the study design, data collection, analysis and interpretation, manuscript preparation and editing, offered general or technical support, contributed with essential materials to the study, but do not meet ICMJE authorship criteria will not be

acuratețea sau integritatea lucrării vor investiga și rezolvate în mod corespunzător.

Notă: Persoanele, care au contribuit la realizarea lucrării, însă nu se încadrează în toate cele 4 criterii enunțate mai sus, nu pot fi considerate drept autori; contribuția acestora va fi menționată în secțiunea „mulțumiri și finanțare” a manuscrisului. De asemenea, persoanele care au fost implicate doar în colectarea datelor, supraveghere, asistență tehnică și finanțare, nu dețin drept de Autor, dar ei pot fi menționați în secțiunea „mulțumiri și finanțare”. Simpla deținere a funcției de șef de unitate, departament sau instituție, în cadrul căreia s-a efectuat cercetarea, fără îndeplinirea tuturor celor 4 recomandări ale ICMJE, nu oferă dreptul de a fi (co)autor al lucrării.

Mulțumiri și finanțare

Persoanele care au contribuit la elaborarea *design*-ul studiului, colectarea datelor, analiza și interpretarea acestora, la pregătirea manuscrisului și la redactarea lui critică, au oferit suport general sau tehnic, au contribuit cu materiale esențiale pentru studiu, dar care nu îndeplinesc criteriile ICMJE de Autor, nu vor fi considerate drept Autori, dar contribuția lor va fi menționată în secțiunea „mulțumiri și finanțare”. Tot în această secțiune se vor menționa sursele de finanțare ale lucrării. Menționarea persoanelor fizice sau juridice, care au contribuit la realizarea lucrării și manuscrisului, poate fi făcută doar după obținerea unei permisiuni de la fiecare dintre ele.

Tabelele

Fiecare tabel va fi creat cu dublu-spațiere și amplasat pe o pagină separată, după textul manuscrisului. Enumerarea tabelelor va fi consecutivă, cu cifre arabe, în ordinea primei lor citări în text, scris cu caractere grase (**bold**), alinierea – pe stânga, deasupra tabelului. Fiecare tabel va avea un titlu laconic, care va fi scris cu caractere normale (regular) sub numărul tabelului. Nu utilizați caractere bold în interiorul tabelului. Urmați exemplul prezentat:

Tabelul 1. Evenimente adverse intra-anestezice și imediat post-extubare

	Lot experimen- tal (n=100)	Lot control (n=100)	p
Disritmii	6,0%	3,0%	0,49
Instabilitate hemodinamică	7,0%	1,0%	0,034
Trezire prelungită*	11,0%	4,0%	0,19
GVPO† post-extubare	8,0%	27,0%	0,007
Durere intensă la trezire	17,0%	19,0%	1,0

Notă: * – trezire neobișnuit de lentă, după ce concentrația cerebrală a reziduurilor de anestezice a trecut sub pragul de inducere a hipnozei; † – greață și vomă postoperatorie. Analiza statistică utilizată: testul Fisher.

Legendele și notele explicative vor fi făcute sub tabel. Toate abrevierile non-standard se vor explica în notele de subsol, folosind următoarele simboluri, în următoarea ordine: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, §§, ||||, ¶¶ etc.

Menționați, de asemenea, testele statistice aplicate și tipul de date prezentate. Asigurați-vă că fiecare tabel este citat în text. Dacă utilizați date din altă sursă publicată sau nepublicată, trebuie să obțineți permisiunea și să declarați pe deplin sursa sub tabel.

considered as authors, but their contribution will be mentioned in section “Acknowledgements and funding”. Also in this section must be specified the sources of work funding. Mention of persons or institutions who have contributed to the work and manuscript can be made only after obtaining permission from each of them.

Tables

Content of each table should be double-spaced and placed on a separate page after the text of the manuscript. Tables numbering will be done using consecutive Arabic numerals in the order of their first citation in the text; it should be written in bold, align to left and place above the table. Each table should have a concise title that will be written in bold (regular) under table number. Do not use bold within the table. Please follow the example:

Table 1. Intra-anesthetic and immediately post-extubation adverse events

	Experimental Cohort (n=100)	Control Cohort (n=100)	p
<i>Dysrhythmia</i>	6.0%	30%	0.49
Hemodynamic instability	7.0%	1.0%	0.034
Prolonged awakening*	11.0%	4.0%	0.19
PONV† post-intubation	8.0%	27.0%	0.007
Strong pain on awakening	17.0%	19.0%	1.0

Note: * – Unusually slow awaking, after that cerebral concentration of the anesthetic reach the under hypnotic level; † – postoperative nausea and vomiting. Used statistical analysis: Fisher’s exact test.

Legends and notes will be placed under the table. All non-standard abbreviations should be explained in footnotes, using the following symbols, in the following order: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, §§, ||||, ¶¶ etc.

Applied statistical tests and the type of presented data should be also mentioned. Make sure that each table is cited in the text. If you use data from another published or unpublished source, you must obtain permission and cited the source below the table.

Figures

Figures will be included in the main manuscript, and also submitted as separate files. The manuscript figures should be presented, each one on a separate page and should be numbered consecutively with Arabic numerals in the order of their citation in the text. Figure numbering will be written abbreviated (**Fig. 1**), using bold fonts, left alignment, and placed under the figure. Each figure should have a laconic title that will be written using regular font and placed in the right of the figure’s number.

Figures’ quality should assure the visibility of details. Pictures of persons potentially identified must be accompanied by written permission to use it. If a figure has been previously published, please cite the original source and submit the written permission to reproduce the figure from the copyright owner. Permission can be taken from both the author and the publisher, except the documents of public domain.

For figures, the following file formats are accepted:

- TIFF
- JPEG
- EPS (preferred format for diagrams)

Figurile

Figurile vor fi prezentate atât în manuscris, cât și pe fișiere separate. În manuscris, figurile vor fi prezentate după textul lucrării, fiecare pe pagină separată și vor fi numerotate consecutiv, cu cifre arabe, în ordinea citării lor în text. Numerotarea va fi scrisă abreviat (**Fig. 1**), cu caractere grase (**bold**), alinierea – pe stânga, sub figură. Fiecare figură va avea un titlu laconic, care va fi scris cu caractere normale (regular) în dreptul numerotării.

Figurile trebuie să fie calitative, vizibile în detaliu. Fotografiile cu persoane potențial identificabile trebuie să fie însoțite de permisiunea scrisă de a utiliza fotografia. În caz contrar, fața persoanelor trebuie acoperită cu o bandă neagră. În cazul în care o figură a fost publicată anterior, faceți referință la sursa originală și prezentați permisiunea scrisă de la deținătorul drepturilor de autor pentru a reproduce figura. Permisiunea poate fi luată atât de la autorul figurii, cât și de la editor, cu excepția documentelor din domeniul public.

Pentru figuri, sunt acceptate următoarele formate de fișiere:

- TIFF
- JPEG
- EPS (format preferat pentru diagrame)
- PowerPoint (figurile trebuie să fie de mărimea unui singur diapozitiv)

Titlul fișierului va consta din numărul figurii și un titlu scurt, identificabil.

Legendele figurilor

Legenda figurii va fi scrisă în continuare, imediat după titlul figurii. Descrierea figurii nu trebuie să repete descrierea din textul manuscrisului. Când sunt folosite simboluri, săgeți, numere sau litere pentru a identifica, descrie părți ale ilustrațiilor, identificați-le și explicați-le pe fiecare în mod clar în legendă. Explicați scala internă și identificați metoda de colorare în microfotografii.

Vă rugăm să rețineți că este de responsabilitatea autorului (autorilor) de a obține permisiunea de la deținătorul drepturilor de autor pentru a reproduce figuri sau tabele care au fost publicate anterior în altă parte. Imaginile color vor fi tipărite din contul autorilor.

Referințele bibliografice

Toate referințele bibliografice trebuie să fie numerotate consecutiv, între paranteze pătrate [], în ordinea în care sunt citate în text. Citatele de referință nu trebuie să apară în titluri sau subtitluri. Fiecare referință trebuie să aibă un număr individual. Citările multiple din cadrul unui singur set de paranteze trebuie să fie separate prin virgulă și spațiu. În cazul în care există trei sau mai multe citări secvențiale, acestea ar trebui să fie indicate sub formă de serie. Exemplu: [1, 5-7, 28].

Vă rugăm să evitați folosirea excesivă a referințelor. În cazul în care se folosesc sisteme automate de numerotare, numerele de referință trebuie să fie finalizate, iar bibliografia trebuie formatată complet înainte de depunere. Lista de referință trebuie să conțină toți autorii. Abrevierea revistelor trebuie să fie în conformitate cu Index Medicus / MEDLINE. Pot fi citate doar articolele sau rezumatele care au fost publicate și care sunt disponibile, accesibile prin intermediul serverelor publice. Orice rezumate sau articole nepublicate sau cu caracter personal nu trebuie să fie incluse în lista de referință, dar pot fi incluse în text și citate în mod corespunzător, indicând cercetătorii implicați. Obținerea permisiunii printr-o scrisoare de la autori pentru a le cita comunicările sau datele nepublicate sunt în responsabilitatea autorului corespondent al articolului.

Formatul referințelor

Autorii sunt rugați să furnizeze cel puțin un link pentru fiecare referință bibliografică (preferabil PubMed).

- PowerPoint (figures should be of the size of a single slide)

The file title should include the figure number and an identifiable short title.

Figures' legends

Figure's legend should be written immediately after the figure's title. Figure's description should not repeat the description in the text of the manuscript. When used symbols, arrows, numbers or letters to describe parts of the figure, explain clearly each one of them in the legend. Explain the internal scale and identify the staining method of the photomicrographs.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures or tables that have been published previously elsewhere. Color images will be printed at the expense of the manuscript authors.

References

All references must be numbered consecutively, in square brackets [], in the order they are cited in the text. Reference citations should not appear in titles or subtitles. Each reference should have an individual number. Multiple citations within a single set of brackets must be separated by commas and spaces. If there is a sequence of three or more citations, they have to be given as a range (e.g. [1, 5-7, 28]).

Please avoid excessive use of references. If an automatic system of citation is used, reference numbers must be finalized and the bibliography must be fully formatted before submission. Reference list should include all authors. Journals' abbreviation must be in accordance with Index Medicus/MEDLINE. It may be cited only articles or abstracts that have been published and are available through public servers. Any abstracts or unpublished data or personal items should not be included in the reference list, but may be included in the text and cited accordingly, indicating the involved researchers. It is of manuscript authors' responsibility to obtain the permission to refer to unpublished data.

References format

Authors are asked to provide at least one link for each citation (preferably PubMed).

○ Journal article reference

Surname and initials of the author(s), separated by commas (regular). Title of article (regular). Abbreviated name of the journal (in italics), followed by the year, volume number: pages number (regular). Articles in press should be specified as "***In press***" (italic, bold), after the pages number. All the authors should be listed.

e.g.: "1. Belii A., Cobăletchi S., Casian V., Belii N., Severin G., Chesov I., Bubulici E. Les aspects pharmaco-economiques dans la gestion de la douleur périopératoire. Mise au point. *Ann Fr Anesth Réanim*, 2012; 31: 60-66. "

○ Book reference

Surname and initials of the author (s), separated by commas (regular). Title of chapter (regular) (cited page(s) number). In: Title of book. Details of the editor, publisher, place, year of publication.

e.g. "Belii A. Risk management and patient safety version anesthesia and intensive care unit (p. 115-134). In: Recommendations and Protocols in Anesthesia, Intensive care and Emergency medicine. Editors: Sandesc D., Bedreag O., Papurica M. Ed. Mirton, Timisoara, Romania, 2010".

○ *Referință la revistă*

Numele și inițialele autorului sau al autorilor, separate prin virgulă (regular). Titlul articolului (regular). Forma abreviată a denumirii revistei (italice), urmat de anul, numărul volumului: numărul paginilor (regular). Articolele în curs de publicare citate vor fi menționate cu „*In press*” (italic, bold), după numărul paginilor. Se vor menționa toți autorii articolului.

Ex: „1. Belii A., Cobălețchi S., Casian V., Belii N., Severin G., Chesov I., Bubulici E. Les aspects pharmaco-economiques dans la gestion de la douleur periopératoire. Mise au point. *Ann Fr Anesth Réanim*, 2012; 31: 60-66.”

○ *Referință la carte*

Numele și inițialele autorului sau al autorilor, separate prin virgulă (regular). Titlul capitoului (regular) (numărul paginii sau paginilor citate). În: Titlul cărții. Detalii privind Editorul. Editura, locul, anul editării.

Ex: „1. Belii A. Gestiunea riscului și siguranța pacientului în anestezie și terapie intensivă (p. 115-134). În: Recomandări și protocoale în anestezie, terapie intensivă și medicină de urgență. Editori: Săndesc D., Bedreag O., Păpurică M. Ed. Mirton, Timișoara, România, 2010.”

○ *Referință la Web*

Numele și inițialele autorului sau al autorilor, separate prin virgulă, sau denumirea deținătorului de drept de autor (regular). Titlul. Numele site-ului. Disponibil la adresa: [URL]. Accesat pe: data.

Exemplu: „Agency For Healthcare Research and Quality (AHRQ). Production pressures. WebM&M. Disponibil la adresa: [http://webmm.ahrq.gov/case.aspx? caseID=150]. Accesat pe: 18.06.2010.”

Pentru precizări și informații suplimentare:

Adrian Belii, dr. hab. șt. med., prof. univ.,
Redactor-șef
tel: +373 79579474
e-mail: editor.mjhs@usmf.md

○ *Web reference*

Name and initials of the author(s), separated by commas, or Copyright holder (regular). Title. Site Name. Available at: [URL]. Accessed: date.

E.g.: “Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ). Production Pressures. WebM & M. Available at: [http://webmm.ahrq.gov/case.aspx? caseID = 150]. Accessed on: 18.06.2010”.

For more details, please contact:

Adrian Belii, PhD, university professor
Editor-in-chief
tel: +373 79579474
e-mail: editor.mjhs@usmf.md

SCRISOARE DE ÎNSOȚIRE

Titlul manuscrisului: _____

Relevanța manuscrisului pentru scopul promovat de Revistă: _____

Ce aduce nou manuscrisul domeniului (specialității) în care este publicat: _____

Modul în care manuscrisul adaugă valoare la literatura științifică de specialitate: _____

Noi, autorii subsemnați ai manuscrisului, declarăm că (bifați):

- lucrarea menționată este originală;
- lucrarea menționată nu a fost publicată anterior;
- lucrarea menționată nu este depusă pentru publicare în altă revistă;
- toți autorii subsemnați au contribuit la elaborarea manuscrisului;
- de la subiecții incluși în studiu a fost obținut consimțământul informat;
- toți autorii subsemnați au aprobat versiunea finală a manuscrisului;
- suntem de acord cu verificarea antiplagiat a manuscrisului;
- au fost declarate orice potențiale conflicte de interes.

Prin prezenta, autorii sunt de acord să transfere drepturile de proprietate (copyright) *Revistei de Științe ale Sănătății din Moldova – Moldovan Journal of Health Sciences*, în caz că manuscrisul va fi publicat.

Autorii (nume, prenume complet, semnătură):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____

Locul și data: _____

Datele de contact ale autorului corespondent:

Instituția: _____

Adresa: _____

e-mail: _____

tel./fax: _____

Vă rugăm să transmiteți acest formular completat și scanat pe adresa: editor.mjhs@usmf.md

DECLARAȚIA AUTORILOR

Titlul manuscrisului: _____

Toate persoanele care îndeplinesc criteriile de autor sunt menționate drept autori. Toți autorii certifică faptul că au participat suficient elaborarea lucrării, încât să își asume responsabilitatea publică pentru conținutul remis, inclusiv pentru concept, design, analiză, scris sau revizuire a manuscrisului. Mai mult decât atât, fiecare autor certifică faptul că acest material sau un material similar nu a fost și nu va fi propus spre publicare sau publicat în orice altă ediție periodică, înainte de apariția lui în Revista de Științe ale Sănătății din Moldova.

Contribuția autorilor:

Vă rugăm să indicați contribuțiile specifice efectuate de fiecare autor (înscrieți inițialele autorilor, urmate de numele lor, de exemplu: A. Belîi, Gh. Rojnovceanu). Numele fiecărui autor trebuie să apară cel puțin o dată în fiecare dintre cele trei categorii, menționate mai jos.

Categoria 1

Concepția și design-ul studiului: _____, _____, _____, _____;

Achiziția de date: _____, _____, _____, _____;

Analiza și/sau interpretarea datelor: _____, _____, _____, _____.

Categoria 2

Elaborarea (drafting-ul) manuscrisului: _____, _____, _____, _____;

Revizuirea semnificativă a manuscrisului, cu implicare intelectuală semnificativă: _____, _____.

Categoria 3

Aprobarea versiunii „gata pentru tipar” a manuscrisului (trebuie menționate numele tuturor autorilor):

_____, _____, _____, _____, _____,

_____, _____, _____, _____, _____.

Mulțumiri:

Toate persoanele care au adus contribuții importante la lucrul raportat în scris (de exemplu, ajutor tehnic, scris și asistență la editare, suport general), dar care nu îndeplinesc criteriile de autor, sunt menționate în secțiunea „Mulțumiri”, iar acestea și-au dat acordul în scris ca să fie menționate. Dacă secțiunea „Mulțumiri” lipsește din manuscris, atunci acest fapt semnifică că nu au existat contribuții substanțiale din partea non-autorilor.

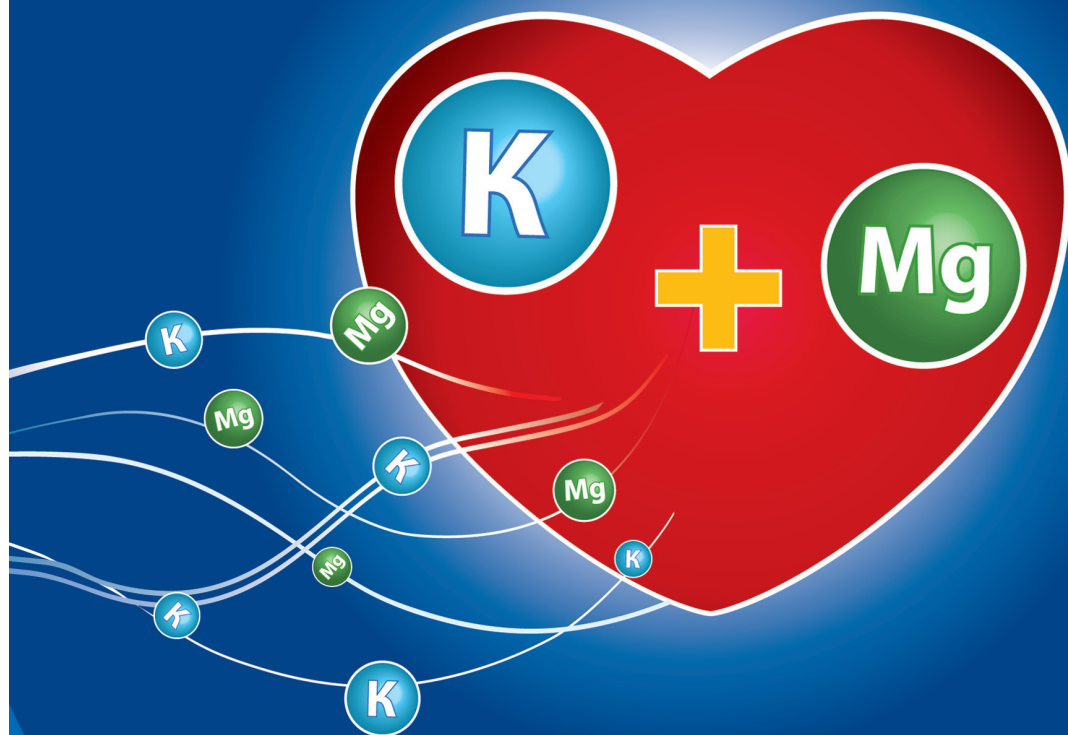
_____, _____, _____, _____, _____,

_____, _____, _____, _____, _____.

Prezenta declarație este semnată de către toți autorii:*(puteți utiliza o fotocopie a formularului dat în cazul existenței mai mult de 6 autori)***Numele autorului (tipărit)****Semnătura autorului****Data**_____

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