

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

Cu titlu de manuscris

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

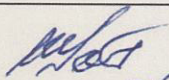


PARII Sergiu

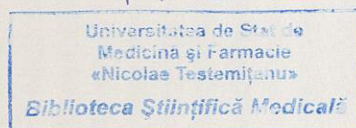
EFICIENTIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI FARMACOTERAPIEI  
AFECȚIUNILOR ANALIZATORULUI AUDITIV

314.01 – Farmacologie, farmacologie clinică

321.16 – Otorinolaringologie

Teză de doctor habilitat în științe medicale

Consultant științific:		<b>GONCIAR Veaceslav</b> , dr. hab. șt. med., profesor universitar
Consultant științific:		<b>CUROCICHIN Ghenadie</b> , dr. hab. șt. med., profesor universitar
Autor:		<b>PARIU Sergiu</b> , dr. șt. med., conferențiar cercetător



CHIȘINĂU, 2021

© PARIU Sergiu, 2021



## CUPRINS

<b>ADNOTARE</b> (în limbile română, rusă și engleză) .....	5
<b>LISTA ABREVIERILOR</b> .....	8
<b>INTRODUCERE</b> .....	10
<b>1. DIAGNOSTICUL, FARMACOTERAPIA ȘI UTILIZAREA RAȚIONALĂ A MEDICAMENTELOR ÎN AFECȚIUNILE URECHII.....</b>	<b>19</b>
1.1. Particularitățile anatomico-funcționale și metodele de examinare ale analizatorului auditiv .....	19
1.2. Afecțiunile inflamatorii ale urechii și farmacoterapia topică combinată.....	22
1.3. Particularitățile etiopatogenice ale surdității senzorieurale.....	27
1.4. Diagnosticul audiologic primar al surdității la nou-născuți și sugari .....	30
1.5. Surditatea senzorieurală nonsindromică și diagnosticul genetic .....	32
1.6. Peroxidarea lipidică și farmacoterapia antioxidantă otoprotectoare .....	36
1.7. Principii de farmacoterapie în surditatea senzorieurală.....	39
1.8. Produse medicamentoase combinate autohtone cu potențial farmacologic în surditatea senzorieurală .....	44
1.9. Particularități ale principiilor de recuperare auditivă electroacustică – protezarea auditivă.....	52
1.10. Perspective de creare și utilizare rațională a medicamentelor combinate.....	53
1.11. Concluzii și discuții la capitolul 1 .....	55
<b>2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE .....</b>	<b>57</b>
2.1. Studii preclinice .....	59
2.1.1. Metode preclinice de determinare a otoprotecției medicamentoase .....	60
2.1.2. Determinarea inofensivității preparatelor otoprotectoare la toxicitatea acută.....	61
2.1.3. Metode de cercetare a proprietăților antibacteriene .....	64
2.1.4. Metode de cercetare farmaceutică .....	65
2.2. Studii clinice .....	66
2.2.1. Date generale.....	66
2.2.2. Design-ul cercetărilor cu utilizarea preparatelor medicamentoase pe subiecți umani.....	67
2.2.3. Metodele examenului audiologic .....	69
2.2.4. Metode de analiză genetică .....	72
2.3. Metode statistice de cercetare .....	76
2.4. Sinteza capitolului 2.....	79
<b>3. ELABORAREA PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBINATE CU POTENȚIALE EFECTE OTOPROTECTOARE .....</b>	<b>80</b>
3.1. Elaborarea picăturilor auriculare CB-12 .....	80
3.2. Elaborarea produsului Neamon-hepa (NH-01).....	92
3.3. Sinteza capitolului 3 .....	100

<b>4. CERCETAREA TOXICITĂȚII ȘI EFICACITĂȚII FARMACOLOGICE PRECLINICE ALE PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBinate OTOPROTECTOARE .....</b>	<b>102</b>
4.1. Studii de determinare a inofensivității medicamentoase a produsului CB-12 .....	102
4.2. Evaluarea inofensivității produsului NH-01 .....	111
4.3. Studii preclinice de determinare a inofensivității a CAF-01 .....	113
4.4. Determinarea inofensivității produsului MI .....	124
4.5. Studii preclinice de determinare a eficacității otoproctoare a produselor medicamentoase combinate în SSN .....	136
4.6. Sinteza capitolului 4 .....	152
<b>5. ASPECTE CLINICE DE OPTIMIZARE A DIAGNOSTICULUI ȘI DE RECUPERARE AUDITIVĂ A SURDITĂȚII SENZORINEURALE .....</b>	<b>155</b>
5.1. Rezultatele diagnosticului genetic al mutației genei GJB2 în surditatea senzorieurală ....	155
5.2. Rezultatele diagnosticului auditiv la nou-născuți și sugari .....	160
5.3. Elaborarea principiilor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală .....	163
5.4. Elaborarea principiilor de prognostic al eficacității protezării auditive .....	165
5.5. Studiu clinic de determinare a eficacității antioxidante a produsului NH-01.....	169
5.6. Studiu clinic de determinare a eficacității produsului CAF-01 .....	171
5.7. Cercetări privind utilizarea rațională a medicamentelor otoproctoare .....	174
5.8. Sinteza capitolului 5 .....	180
<b>SINTEZA REZULTATELOR .....</b>	<b>182</b>
<b>CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI .....</b>	<b>208</b>
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>211</b>
<b>ANEXE .....</b>	<b>236</b>
<b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII .....</b>	<b>299</b>
<b>CV-ul AUTORULUI .....</b>	<b>300</b>

## ADNOTARE

Parii Sergiu

### „Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv”

Teza de doctor habilitat în științe medicale, Chișinău, 2021

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

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

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

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

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

**Noutatea științifică** - evaluarea eficacității preclinice otoprotectoare a produselor farmaceutice CAF-01, NH-01 și CB-12. Am obținut noi cunoștințe teoretice referitoare la: diagnosticul audiologic și molecular-genetic, prognosticul eficacității farmacoterapiei, efectelor adverse ale protezării auditive în maladiile otologice.

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

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

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

## АННОТАЦИЯ

Парий Сергей Борисович

„Повышение эффективности диагностики и фармакотерапии заболеваний  
слухового анализатора”

Диссертация доктора медицинских наук, Кишинев, 2019

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## ANNOTATION

Sergiu Parii

„Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders”

PhD Thesis in Medical Sciences, Chisinau, 2021

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

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

**Field of study:** 314.01 – Pharmacology and clinical pharmacology, 321.16 - ENT (otorhinolaryngology).

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

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

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

**The fundamentally new results in science and practice** consist in the development of comprehensive research on the basis of complex interdisciplinary research of medicinal products with active substances of synthetic and natural origin, as well as a study of pharmacological safety and otoprotective efficacy.

Development of principles for predicting the parameters of speech audiometry, the effectiveness of pharmacotherapeutic treatment and hearing aids for hearing impaired patients. Improvement of molecular genetic diagnostics for stratification of patients with SNHL and prevention of the corresponding pathology.

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

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

## LISTA ABREVIERILOR

AA – analizatorul auditiv	GST – glutation-S-transferază
ABTS (AAT ABTS) – activitatea antioxidantă totală	HCT – hematocrit
AD – urechea dreaptă	HGB – hemoglobină
AS – urechea stângă	HIV – infecție cu virusul imunodeficienței umane
AIM – albumina ischemic modificată	HPLi – hidroperoxizi inițiali
AAT – activitatea antioxidantă totală	HPLm – hidroperoxizi intermediari
AGE – produșii finali de glicare avansată	HPLf – hidroperoxizi finali
AlAT – alaninaminotransferaza	HVBC – hepatita virală B cronică
AsAT – aspartataminotransferaza	HVCC – hepatita virală C cronică
AT – audiometrie tonală	IA – indicele de articulare
ATL – audiometrie tonală liminară	IF – indicele fagocitar
ATSL – audiometrie tonală supraliminară	IL – interleuchine
AV – audiometrie vocală	INF – interferoni
CAE – conductul auditiv extern	LDH – lactatdehidrogenază
CAH – coeficientul de activitate hepatoprotectoare	LD50 – doză letală medie
CCE – celule ciliate externe (organul Corti)	LD100 – doză letală maximă
CCI – celule ciliate interne (organul Corti)	MCV – media volumului hemoglobinei
CCl4 – tetraclorură de carbon	MCH – media volumului globulelor roșii
CIC – complexe imunocirculante	MCHC – concentrația medie a hemoglobinei
CPA – câștigul protezei auditive	NA – nerv auditiv
CȘM – Centrul Științific al Medicamentului	NAPQI – N-acetil-benzochinonimină
CUPRAC ( <i>Cupric ion reducing antioxidant capacity</i> )	NBT – nitroblue tetrazoliu test
DA – deficiență de auz	NF – numărul fagocitar
DAM – dialdehidă malonică	OC – organul Corti
dB (decibel) – unitate de măsură a nivelului de intensitate sau de presiune acustică	OEA – otoemisiuni acustice
dB HL – decibel „Hearing Level” (eng.)	OEAS – otoemisiuni acustice spontane
dB SPL – decibel „Sound Pressure Level” (eng.)	OEAT – otoemisiuni acustice tranzitorii
FAI – fosfatază alcalină	PDOEA – produsele de distorsiune a otoemisiiei acustice
GGTP – gama-glutamyltranspeptidază	PA – proteză auditivă
GPO – glutatationperoxidază	PCE – pseudocolinesterază
GSH – glutatation redus	PEA – potențiale evocate auditiv
	PLT – numărul trombocitelor din sânge
	P-LCR – coeficientul trombocitelor „mari”
	PCT (platelet crit) - trombocrit



**PMC – produse medicamentoase combinate**

PMMM – peptide cu masă moleculară medie și mică

POL – peroxidare lipidică

PPOA – produșii proteici de oxidare avansată

PCR – reacție de polimerizare în lanț

RBC – eritrocite/globule roșii

RC – regulă de calcul al câștigului protezei auditive

RDW-CV – repartizarea eritrocitelor după volum, %

RDW-SD – devierea standard a repartizării eritrocitelor

RS – reflex stapedian

RSI – reflex stapedian ipsilateral

RSC – reflex stapedian controlateral

RWD (Red cell Distribution Width) - „aria” de repartizare a eritrocitelor

SM – surditate mixtă

SNC – sistem nervos central

SOD – superoxidismutază

SSN – surditate senzorieurală, sinonime hipoauzie (surditate) neurosenzorială

ST – surditate de transmisie

SDH – sorbitoldehidrogenază

SIDA – sindromul imunodeficienței dobândite

SRO – specii reactive ale oxigenului

SRN – specii reactive ale azotului

UC – unități convenționale

UE – ureche externă

UI – ureche internă

UM – ureche medie

WBC – leucocite/globule albe

### **Produse medicamentoase**

CAF-01 – Flamera, emulsie

CB-12 – picături auriculare cu conținut de ciprofloxacina + ulei de busuioc

MI – Merion, suspensie

NH -01 – Neamon-hepa, capsule

## INTRODUCERE

**Actualitatea și importanța problemelor abordate.** Problema surdității devine tot mai importantă atât în aspect medical, cât și în aspect social, deoarece se observă o tendință de majorare a numărului de persoane care au deficiență de auz. Actualmente, în lume sunt peste 1 miliard de persoane cu deficiență auditivă de diferită etiologie și gravitate. Cu regret, acest număr este în creștere (*Institute on Deafness and other Communication Disorders, 2019*).

Conform datelor din literatură, cca 1,5-4% din populația Terrei suferă de diferite forme ale **otitei medii** cronice. Circa 30% din populație cel puțin o dată în viață a suferit de otită medie acută. Metodele contemporane de tratament ale otitelor includ diverse combinații medicamentoase, în funcție de etiologia, de patogeneză și localizarea maladiei. Una dintre cele mai des utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul acestor afecțiuni sunt picăturile auriculare. În ultimii ani, pe piața farmaceutică mondială a apărut un număr impunător de denumiri de medicamente, inclusiv sub formă de picături auriculare, dar majoritatea dintre acestea sunt contraindicate în otita cu perforația membranei timpanice. În Republica Moldova, arsenalul de remedii autohtone cu aplicare topică auriculară este destul de nesemnificativ (*I. Ababii, M. Maniuc, 2004*).

În tratamentul otitelor se utilizează picături ce conțin, drept principii active, substanțe de sinteză, dar și cele naturiste, însă nu am depistat o combinație de aceste principii într-o formă farmaceutică.

**Surditatea senzorieală (SSN)** reprezintă o afecțiune, ce se manifestă clinic prin deficiență auditivă de tip percepție și/sau acufene (zgomot auricular). Substratul anatomic al acestor dereglări este situat nu la nivelul urechii externe și al celei medii, ci la nivelul urechii interne (organul Corti), al nervului auditiv, al centrilor nervoși subcorticali și corticali (*Базаров В.Г., Розкладка А.И. 1989, А. Pascu, 2000*).

Principiile de bază ale tratamentului SSN acute sunt: eliminarea factorului etiologic; începerea tratamentului în termen cât mai precoce de la debutul bolii. Farmacoterapia trebuie să includă: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; terapia de deshidratare labirintică; terapia de detoxicare și hiposensibilizare; ameliorarea metabolismului urechii interne; ameliorarea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase; diminuarea excitabilității sistemului nervos central și a celui vegetativ (*Французов Б.Л., 1988*). Însă eficacitatea tratamentului medicamentos în formele subacute de SSN este rezervată, iar peste 90% dintre pacienții cu SSN cronice nu sunt complianți farmacoterapiei (*D. Mârțu, 2002, Лопотко А.И., 2006*).

Prognosticul efectelor farmacologice ale medicamentelor este pe larg utilizat în cercetare, de exemplu prin metoda de estimare a efectelor alergizante ale medicamentelor (*B. Parii, 2007*). Spectrul grupurilor de medicamente utilizate concomitent în tratamentul farmacologic al SSN impune elaborarea unor factori de prognostic al eficacității farmacoterapiei. Luând în considerare multitudinea preparatelor și corelațiile lor cu particularitățile fizico-chimice și clinico-biologice

ale organismului, devin oportune și de perspectivă studiile privind prognosticarea efectului farmacoterapiei combinate la bolnavii cu afecțiuni senzorie neurale și mixte ale analizatorului auditiv, în baza unor indici precum: caracterul și durata maladiei, rezultatele bilanțului audiometric, preparatul farmacologic, posologia, proprietățile chimico-farmaceutice, temperatura de topire a principiului activ etc.

Terapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii acute și cronice sunt indispensabile fără valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide (*V.Rudic, 2006*). „Numărul de surse cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor, nivelul minim de asimilare sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor în ameliorarea diverselor situații clinice” (*V.Valica, et al, 2010*). Astfel, poate fi salutară utilizarea produselor combinate polifuncționale cu eficiență clinică și inofensivitate demonstrată. Medicamentele pătrund spre țesuturile sau celulele-țintă prin utilizarea nanoparticulelor special preparate. Nanoparticulele „încărcate” cu agenți farmacologici pot fi astfel protejate pentru a spori efectul terapeutic, devin rezistente la sucii gastrici și capabile să transporteze substanțele active cu care sunt cuplate direct în circulația sangvină (*V.Gonciar, 2008*).

Hipoacuziile de origine genetică sunt boli monogenice, caracterizate de o mare eterogenitate [57]. Cauzele lor sunt în 50% de mediu sau interacțiune mediu-genetică și 50% cauze genetice, dintre care: 20% - hipoacuzie sindromică și, respectiv, 80% - hipoacuzie nonsindromică. În acest context s-a determinat ponderea majoră (peste 50%) în SSN prelingvală a mutației 35delG în gena GJB2 pentru populația indo-europeană (*Smith, 2002*). Astfel s-a stabilit că mutațiile în genele de ADN mitocondrial pot fi responsabile pentru „hipersensibilitate” la medicamente ototoxice și cauzarea deficienței auditive. Substituirea A1555G în gena 12S ARNr de ADNmt face ARNr mitochondrial uman, o structură similară cu ARNr bacteriene, el devenind ținta acestor medicamente. Odată ce cererea de antibiotice aminoglicozide este foarte răspândită, studiul frecvenței de mutații 35delG în gena GJB2 este relevant pentru evaluarea riscului de SSN.

Terapia medicamentoasă personalizată utilizează indicatori biologici sau „biomarkeri”, cum ar fi: secvențe de ADN, prezența sau lipsa unor receptori de substanțe chimice, ca indicatori ai modului în care pacienții ar trebui tratați, dar și pentru a estima probabilitatea ca intervenția să producă efectele scontate sau cele nescontate [98]. În acest sens, menționăm faptul că nu doar tehnologiile genomice sau alte *omics*-uri sunt esențiale, ci și factorii ecologici și stilul de viață sunt parte integrantă a medicinei personalizate (*G.Curocichin, 2010, V.Ghicavâi și alții, 2017*).

Sunt deosebit de importante diagnosticul precoce și profilaxia deficienței auditive. La nouă copii din zece, care suferă de hipoacuzie congenitală, părinții nu au probleme de auz (26). Deoarece hipoacuzia este invizibilă la naștere, copiii cu deficiență auditivă se comportă aparent la fel ca și cei cu auz normal. Din aceste considerente, efectuarea unui examen auditiv la nou-născut este foarte importantă. În lipsa unei detectări active a hipoacuziei, aceasta va fi depistată la vârsta de doi-trei ani, timp în care se observă lipsa de dezvoltare a limbajului la copil (*Bamford J.M. et al, 2005*).

Pentru stabilirea diagnosticului topografic al patologiilor auditive și selectarea individuală adecvată a protezelor auditive, este important de a stabili scorul maxim de inteligibilitate vocală (Таварткиладзе Г.А., 2013). Astfel, devine oportună întrebuițarea unor principii de prognozare a indicelui respectiv în baza datelor anamnestice, clinice, instrumentale, informativitatea diverselor metode de investigații audiometrice. Avantajul unei astfel de metode ar fi obiectivizarea prognosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală, fapt ce permite efectuarea diagnosticului în lipsa testelor de audiometrie vocală, care ulterior este important pentru reabilitare și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv. Statistica mondială indică faptul că doar 40-50% dintre utilizatorii protezelor auditive sunt satisfăcuți de rezultate. Un rol important revine reglării corecte a protezelor auditive. În acest scop este necesar un diagnostic veridic, iar, conform rezultatelor, va fi aleasă proteza auditivă (A. Chiaburu, S. Parii ș.a., 2008). Prin urmare, devine oportună elaborarea unui principiu de prognozare a eficacității protezării auditive. Din considerentele respective propunem perfectarea indexului prognosticului, care cuprinde două aspecte: primul – condițiile evoluției severității surdității, al doilea – factorii determinatori ai eficienței protezării auditive.

Până în prezent există aspecte neelucidate privitor la: particularitățile diagnosticului, în special ale celui genetic, prognosticul eficacității de recuperare în surditatea de percepție (SSN); micșorarea complianței terapiei antibacteriene locale în afecțiunile inflamatorii ale urechii; eficacitatea rezervată a tratamentului medicamentos al SSN. Astfel, devin oportune studiile ce vor contribui la ameliorarea și/sau preîntâmpinarea consecințelor SSN și a otitelor. De perspectivă sunt: conceperea noilor scheme de tratament farmacologic al SSN cu utilizarea produselor combinate, care conțin principii active cu eficiență clinică și inofensivitate demonstrată; elaborarea noilor produse combinate pentru tratamentul afecțiunilor analizatorului auditiv. Conceptul de otoprotecție medicamentoasă (apărarea organului auditiv prin majorarea rezistenței nespecifice celulare în condiții nefavorabile pentru funcționarea OC) trebuie elaborat în baza cunoștințelor actuale ale patogeniei progresării surdității și a mecanismelor terapeutice. De asemenea este necesară conceperea unor medicamente polifuncționale, obținute din preparate cu eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrate, cu efecte polivalente (medicamentele combinate).

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

**Obiectivele cercetării:**

- 1) cercetarea farmaceutică, evaluarea inofensivității și eficacității preclinice a unui produs medicamentos combinat, sub formă de picături auriculare, cu conținut de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc pentru tratamentul otitelor;
- 2) determinarea toxicității acute și subcronice a unor produse medicamentoase combinate cu administrare enterală în tratamentul surdității senzorieurale (SSN);

- 3) stabilirea eficacității farmacologice otoprotectoare preclinice a unor produse medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul SSN induse;
- 4) studierea spectrului polimorfismelor genetice, implicate în condiționarea SSN nonsindromice la hipoacuzici, și a nivelului de portaj la persoane fără patologie a analizatorului auditiv prin determinarea ponderii mutației 35delG a genei GJB2;
- 5) optimizarea diagnosticului molecular-genetic și a celui audiologic la bolnavii cu SSN, în vederea stratificării tratamentului și profilaxiei maladiei;
- 6) sporirea eficacității și operativității diagnostice prin elaborarea unei metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală;
- 7) studiul clinic de determinare a efectelor antioxidante ale produselor medicamentoase combinate NH-01 capsule și CAF-01 emulsie enterală;
- 8) stabilirea criteriilor de prognostic al eficacității recuperării auditive la bolnavii hipoacuzici și elaborarea unui algoritm de conduită a SSN.

**Metodologia cercetării.** Prezentul studiu a fost efectuat etapizat: preclinic (toxicologic și farmacologic) și clinic. În conformitate cu recomandările metodice actuale [13, 35, 230, 251, 255], s-au realizat cercetările experimentale toxicologice și ale proprietăților farmacologice. De asemenea în concordanță cu cerințele contemporane, accesibile și larg utilizate în practica medicală, au fost examinați parametrii biochimici, audiobiologici și genetici. Lucrările de reper [2, 58, 85, 47, 59, 173, 174, 188, 227, 249] au asigurat suportul metodologic al tezei. Ca **ipoteză de cercetare**, au servit următoarele aspecte: produsele medicamentoase combinate, având drept principii active substanțele de sinteză și cele naturiste, care pot spori efectul farmacoterapeutic în afecțiunile auriculare; optimizarea diagnosticului maladiilor urechii prin perfectarea metodelor de diagnostic genetic și audiologic. Cercetările prezentate au fost concepute și analizate conform recomandărilor privind proiectarea, elaborarea și redactarea lucrărilor științifice [25, 93].

#### **Noutatea și originalitatea științifică.**

În cadrul investigațiilor s-au efectuat studii farmaceutice privind noi principii active, cu potențial efect favorabil în corijarea farmacoterapeutică a afecțiunilor inflamatorii ale urechii. În acest sens am conceput prima metodă de determinare a scorului de inteligibilitate vocală, bazat pe rezultatele audiometriei tonale la pacienții cu maladii ale analizatorului auditiv. De asemenea pentru prima dată au fost stabilite noi criterii de prognostic al indicilor eficacității protezării auditive la bolnavii cu SSN. În același context s-a determinat eficacitatea otoprotectoare a preparatelor medicamentoase CAF-01 și NH-01 în tratamentul complex al SSN, precum și eficacitatea antimicrobiană și inofensivitatea preclinică a produsului CB-12. Totodată, a fost studiat spectrul polimorfismelor genetice și determinată ponderea diferitor forme ale SSN genetice nonsindromice prin stabilirea mutației 35delG a genei GJB2 pentru a corija farmacoterapia, conform principiilor medicinei personalizate.

**Problema științifică importantă soluționată.** Cercetările experimentale și cele clinice au stat la baza elaborării unui nou concept de utilizare a preparatelor medicamentoase combinate, cu

principii active de sinteză și naturiste, în tratamentul afecțiunilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii. În context au fost concepute anumite principii de prognostic al eficacității de diagnostic și recuperare auditivă, al diagnosticului genetic al SSN în vederea profilaxiei și sporirii eficacității farmacoterapiei otoprotectoare.

### **Rezultatele principale pentru știință și valoarea aplicativă**

Drept confirmare a rezultatelor principale pentru știință, a fost argumentat raționamentul combinării, în aceeași formă farmaceutică, a substanței active antibacteriene ciprofloxacina hidroclohid cu un produs natural – uleiul volatil de busuioc. Picăturile auriculare cu ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacina, comparativ cu unele tulpini bacteriene (*S.aureus* (t.209); *Ps.aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E.faecalis* (t.ATCC 19433)).

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

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

În baza cercetărilor științifice interdisciplinare complexe, am conceput unele preparate medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în maladiile inflamatorii și neinflamatorii auriculare. Totodată, a fost evaluată eficacitatea clinică otoprotectoare a produselor farmaceutice CAF-01 și NH-01 și elaborat un algoritm experimental preclinic de monitorizare a funcției analizatorului auditiv la expunerea agenților medicamentoși ototoxici și otoprotectori, precum și unele principii de prognostic al parametrilor audiometriei vocale, al eficacității tratamentului farmacoterapeutic și al protezării auditive la bolnavii cu afecțiuni ale urechii. De asemenea s-a perfectat diagnosticul molecular-genetic și cel audiologic pentru a stratifica pacienții cu SSN și a iniția acțiuni de profilaxie a patologiei respective.

### **Semnificația teoretică**

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

nară și conceptuală sistemică în aspect de cercetare preclinică și clinică de explorare, un tratament farmacologic de recuperare a SSN și otitelor.

### **Implementarea rezultatelor științifice**

Rezultatele investigațiilor realizate au fost implementate în cadrul întreprinderilor autohtone de producere, în procesul didactic la Catedrele farmacologie și farmacie clinică, otorinolaringologie, chimie farmaceutică și toxicologică, în cadrul activității științifice a laboratoarelor Centrului Științific al Medicamentelor, în Laboratoarele de otorinolaringologie și de genetică ale IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în activitatea medicală a otorinolaringologilor, a laboratoarelor de profil molecular-genetic și în cadrul întreprinderilor de producere farmaceutică din republică (două certificate de autorizare a produselor, 12 acte de implementare a invențiilor și inovațiilor).

**Capacitatea de protecție.** În cadrul tematicii de cercetare, au fost prezentate și brevetate metode și produse farmacologice și publicate articole științifice, bazate pe rezultatele obținute, inclusiv în revistele de specialitate. În context, am reglementat drepturile de proprietate intelectuală. Protejarea proprietății intelectuale a fost asigurată în conformitate cu legislația națională în vigoare.

**Aprobarea rezultatelor lucrării:** Conferința Asociației Otologilor și Otoneurologilor a Ucrainei (Kiev, 2007, 2012); Conferința I Moldo-Ucraineană „Actualități în Otorinolaringologie” (Chișinău, 2008); Conferința „Probleme actuale în otorinolaringologia pediatrică” (Chișinău, 2010); Congresul al XXXII-lea Național ORL (Iași, România, 2010); Congresul Român de ORL și Chirurgie Cervicofacială (Târgu-Mureș, 2012); Conferința „Zilele Spitalului Clinic de Recuperare” (Iași, România, 2013, 2014, 2015, 2016, 2018); Conferința a IV-a ORL Pediatrică (Poiana-Brașov, România, 2013); Masa rotundă „Politici de integrare a persoanelor cu dizabilități în câmpul muncii” (Chișinău, 2014); Concursul „Topul Inovațiilor”, ediția a V-a (Chișinău, 2014); Conferințele Științifice Anuale ale Colaboratorilor și Studenților Zilele Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, (Chișinău, 2007, 2009, 2014); East-Horizon H2020/ICT Training Workshop (Chișinău, 2014); Partnerig scientific Event and work-shop. Estonian Genomic Center (Tartu, Estonia, 04.12.2014); Expoziția Internațională Specializată Euroinvent (Iași, România, 2013, 2014, 2015, 2016); Expoziția Internațională Specializată Inventica (Iași, România, 2013, 2014, 2015, 2016); Expoziția Internațională Specializată Infoinvent (Chișinău, Republica Moldova, 2013, 2015, 2017); Expoziția Internațională Specializată Pro Invent (Cluj-Napoca, România, 2014, 2015, 2016); Salonul de Invenții și Inovații Inventika (București, România, 2014); Salonul Național al Cercetării și Inovării (Bacău, România, 2014); Final Conference CHRONEX-RD Project (Chișinău, 2015); Congresul al II-lea Național de ORL Pediatrie (Iași, România, 2016); 16-th International Symposium and Summer School on Bioanalysis (Warsaw, Poland, 2016); Congresul al XVI-lea Național de Farmacie (București, România, 2016); Simpozionul Național de Oncologie, cu participare internațională (Chișinău, 2016); Conferința Națională de Farmacie Clinică (București, România, 2017, 2019); Conferința a XI-a Națională de Bioetică (Iași, România, 2017); Simpozionul „Zilele Medicamentului - Medicamentul de la idee la clinică”. Edițiile a XXVI-a și

a XXVII-a (Iași, România, 2018, 2019); Salonul Internațional de Inventică INOVA, ediția a 43-a (Zagreb, Croația, 2018); Conferința națională cu participare internațională „Actualități în otorinolaringologie” (Chișinău, 2018); Conferința științifică cu participare internațională „Actualități în farmacologie clinică” în memoria 100 de ani de la nașterea ilustrului savant Efim Muhin (Chișinău, 2018); Congresul Societății Române de Audiologie (Iași, 2019).

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

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

**Publicații la tema tezei.** Rezultatele științifice ale studiului sunt reflectate în 59 de lucrări publicate: monografiile (unic autor) - una; articole în reviste științifice internaționale cotate (WoS, SCOPUS, COPENICUS) - trei; articole în revistele din străinătate recunoscute – trei; articole publicate în revistele din Registrul național cu categoria B – șapte, cu categoria C – opt, fără categorie - cinci; abstracte publicate în lucrările conferințelor științifice internaționale – 17, naționale – patru; materiale la saloanele de invenții - șapte; brevete de invenții – patru, certificate de inovator - șase.

**Avize favorabile ale Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „N. Testemițanu”:**

Nr. 61 din 25.06.2013 – „Sporirea eficienței diagnosticului prin testare genetică în surditate neurosenzorială”. Investigator principal - Ghenadie Curocichin, dr. hab., prof. univ.

Nr. 1 din 23.09.2014 – „Determinarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos combinat sub formă de picături auriculare”. Investigator principal - Sergiu Parii, dr. med., conferențiar universitar

Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, nr. 1 din 23.09.2014.

Nr. 7 din 23.10.2014 – „Determinarea toxicității acute și a celei cronice ale unor compuși medicamentoși combinați”. Investigator principal - Sergiu Parii, dr. med., conf.

Nr. 2 din 21.12.2015 – „Determinarea toxicității acute și a toxicității cronice ale unui nou compus medicamentos combinat”. Investigator principal - Sergiu Parii, dr. med., conf.

Nr. 41 din 11.05.2016 – „Cercetări complexe în domeniul elaborării și implementării a noi forme farmaceutice ale medicamentelor de origine vegetală și obținute prin sinteză”. Investigator principal - Sergiu Parii, dr. med., conf.



Nr. 16 din 14.11.2016 – „Optimizarea farmacoterapiei otoprotectoare și a diagnosticului afecțiunilor analizatorului auditiv”. Investigator principal - Sergiu Parii, dr. med., conf.

### **Sumarul compartimentelor tezei**

Teza de față este expusă pe 234 de pagini text de bază și cuprinde: adnotare (în limbile română, engleză și rusă), lista abrevierilor, introducere, cinci capitole, sinteza rezultatelor obținute, concluzii generale, recomandări practice, bibliografie din 259 de surse, declarația privind asumarea răspunderii și CV-ul autorului. Teza este ilustrată cu 79 de tabele și 47 de figuri.

În **capitolul 1** *Diagnosticul, farmacoterapia și utilizarea rațională a medicamentelor în afecțiunile urechii* se face o analiză a datelor literaturii de specialitate referitoare la aspectele de etio-patogenie, diagnostic audiologic și genetic, farmacologia și utilizarea rațională a medicamentelor utilizate în afecțiunile analizatorului auditiv. Se caracterizează principalele grupe farmacologice prin prisma medicinei bazate pe dovezi și se argumentează particularitățile de selectare în maladiile urechii, în funcție de aspectele etio-patogenice și morfofuncționale. Sunt estimate aspectele medicamentelor combinate, principiile de selectare și utilizare a lor în tratamentul maladiilor urechii. Caracterizarea proprietăților farmacologice ale produselor medicamentoase au servit drept suport important pentru a elucida perspectivele de utilizare în practica otologică.

În **capitolul 2** *Materiale și metode de cercetare*, autorul face referire la suportul metodologic al cercetărilor experimentale și clinice prin: recurgerea la recomandările metodice contemporane, selectarea parametrilor adecvați de studiu preclinic și clinic și determinarea proprietăților farmacologice ale preparatelor cercetate, evaluarea eficacității clinice și analiza integrală a rezultatelor obținute.

**Capitolul 3** *Elaborarea produselor medicamentoase combinate cu potențiale efecte otoprotectoare* este consacrat studiilor farmaceutice. În acest capitol au fost studiate și elucidate principiile active și excipienții utilizați la formularea produselor combinate, în funcție de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase selectate, ceea ce a servit drept bază pentru efectuarea studiilor de preformulare. Studiile farmaceutice de față demonstrează compatibilitatea fizică și chimică a componentelor, stabilitatea acestora atât în procesul de formulare, cât și pe toată perioada de valabilitate a medicamentului; determină parametrii tehnologici de preparare a formei farmaceutice selectate a produselor CB-12, picături auriculare, Neamon-hepa, capsule, și MI, suspensie.

În **capitolul 4** *Cercetarea toxicității și eficacității farmacologice preclinice a produselor medicamentoase combinate otoprotectoare* sunt prezentate rezultatele cercetărilor farmacologice preclinice, obținute pe animale de laborator: inofensivității (toxicității acute și a celei cronice), proprietăților otoprotectoare ale preparatelor medicamentoase combinate, cercetate în baza recomandărilor contemporane. Potrivit rezultatelor obținute, am reușit să constatăm inofensivitatea la administrarea enterală și valorile deosebite ale LD50 la cea parenterală. În cadrul toxicității cronice, prin utilizarea parametrilor fiziologici și biochimici, a fost demonstrată lipsa efectelor nescontate la administrarea preparatelor cercetate. De asemenea a fost stabilită o direcție importantă

pentru tratamentul afecțiunilor auriculare ce constă în elaborarea și utilizarea în practica medicală a preparatelor medicamentoase multicomponente, care conțin substanțe de sinteză și naturiste. În farmacoterapia afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și ale celei medii, științifico-practic, s-a recomandat administrarea produselor combinate CB-12, picături auriculare; Flamenă, gel, iar, în tratamentul maladiilor senzorieurale ale urechii interne și nervului auditiv, - Flamenă, emulsie; Neamon-hepa, capsule, și Merion, suspensie orală.

**Capitolul 5** *Aspecte clinice de optimizare a diagnosticului și recuperării auditive a surdității de percepție* este destinat următoarelor cercetări clinice: eficientizarea diagnosticului audiologic la nou-născuți; elaborarea unei noi metode de audiometrie vocală cu avantaj de obiectivizare a prognosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală, fapt ce permite stabilirea diagnosticului în lipsa testelor de audiometrie vocală, ceea ce este important în reabilitarea și încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv. În acest sens, a fost elaborată o metodă de prognostic al eficacității protezării auditive, care permite depistarea precoce a bolnavilor cu risc sporit de dezvoltare a efectelor adverse, fapt ce impune o atenție deosebită acestei categorii de pacienți, cu corijarea la timp a tratamentului, selectarea protezelor auditive, reabilitarea și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv. De asemenea am obținut date referitoare la ponderea mutațiilor genice 35delG în gena GJB2.

**Compartimentul** *Sinteza rezultatelor* reflectă datele științifice de bază obținute în cercetările farmacologice, farmaceutice și clinice în cadrul studiului disertațional **Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv.**

Concluziile generale reflectă rezultatele cercetărilor experimentale și clinice și sunt în concordanță cu constatările referitoare la capitolele respective. Recomandările elaborate denotă implementarea rezultatelor studiului în medicină și generează posibilități noi de continuare a cercetărilor științifice.

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

## 1.1. Particularitățile anatomo-funcționale și metodele de examinare ale analizatorului auditiv

Analizatorul auditiv (AA) reprezintă o structură morfologică complexă ce depinde de funcția eficientă a mai multor sisteme: integritatea anatomică și funcțională a urechii externe și urechii medii, integritatea mecanică și celulară a organului Corti, homeostazia mediului biochimic și bioelectric al urechii interne, integritatea anatomo-funcțională a căilor de conducere nervoasă auditivă și a nucleelor centrale subcorticale și corticale [1, 9]. Acestea sunt condiționate de funcții vasculare, hematologice, metabolice și endocrine normale. Ca urmare, afectarea aproape a oricărui sistem al organismului uman poate determina alterarea funcției auditive [9, 67, 228]. În analogie cu complicațiile altor sisteme de organe (insuficiența cardiovasculară, insuficiența respiratorie, insuficiența renală), SSN, de asemenea, poate fi interpretată patogenetic ca „insuficiență auditivă” [209, 229].

Deficiența auditivă de asemenea provoacă și afecțiunile inflamatorii ale urechii. AA asigură perceperea și deosebirea undelor sonore, orientarea în spațiu și vorbirea, ca mijloc de comunicare interumană. Este format din trei părți: segmentul periferic (urechea externă, urechea medie, urechea internă), căile de conducere a impulsurilor nervoase, segmentul central, unde au loc analiza și sinteza definitivă a auzului [52].

Segmentul periferic este reprezentat de ureche, fiecare dintre cele două organe ale auzului, așezate simetric de o parte și cealaltă a capului. Din punct de vedere anatomo-funcțional, urechea este alcătuită din *aparatură de captare și transmitere a undelor sonore*, situat în urechea externă, urechea medie și urechea internă (spațiile perilimfatic și endolimfatic), și din *aparatură de recepție a sunetelor*, situat în urechea internă (organul Corti) și nervul acustico-vestibular [1, 9, 87, 94].

Endolimfa din urechea internă are o compoziție chimică asemănătoare cu a plasmei interstițiale, iar compoziția chimică a perilimfei este similară cu a lichidului cefalorahidian (LCR). Endolimfa abundă în  $K^+$  și, totodată, denotă insuficiență de  $Na^+$ ; în perilimfă, repartizarea acestor ioni este inversă. Endolimfa este prezentă în rampa medie (labirintul membranos), iar perilimfa – în rampele vestibulară și timpanică; acestea comunică cu spațiul arahnoidian, de aici și compoziția chimică similară. Endolimfa este prezentă și în utriculă, în saculă și în canalele semicirculare ale aparatului vestibular [5, 11].

La nivelul melcului membranos al urechii interne se găsește receptorul acustic (organul Corti), care este format din: o membrană bazilară, vibratorie, ale cărei fibre conjunctive constitutive au diferite mărimi, fiind mai lungi spre vârf și mai scurte spre baza melcului; celule senzoriale (celule ciliate externe – CCE, celule ciliate interne – CCI), care au rolul primordial de a transforma

energia mecanică (unda sonoră) în impuls nervos, astfel generând senzația auditivă. Axonii neuronilor din *ganglionul Corti* formează ramura acustică a nervului cranian VIII. „Acesta face sinapsă cu neuronii din nucleele cohleare pontine. Majoritatea axonilor neuronilor se încrucișează în punte și fac sinapsă cu al treilea neuron, în corpul geniculat medial (metatalamus). Din metatalamus, informația auditivă ajunge la scoarța cerebrală, care este dispozitivul integrator, ce leagă senzațiile auditive de senzațiile vizuale, tactile, musculare etc.” [10, 68, 87].

Decibelul (dB) este o mărime logaritmică ce poate descrie corect sensibilitatea urechii, odată ce domeniul auditiv uman este cuprins între 0 și 120 dB SPL. Mărimea de referință corespunde intensității necesare pentru obținerea pragului normal în audiție binaurală, la frecvența de 1000 Hz și intensității de referință (I zero) – 10 W/cm<sup>2</sup>. Sensibilitatea cea mai bună a urechii se află în banda de frecvențe cuprinsă între 1000 și 5000 Hz. Vocea obișnuită este caracterizată prin frecvențe sonore cuprinse între 200 și 3500 Hz. Nivelul de intensitate al vocii umane de conversație este de aproximativ 60 dB [81].

Omul comunică cu mediul extern prin trei elemente esențiale: *stimulul* – o formă de energie care aparține unui spațiu exterior conștiinței, *receptorul* – un element senzorial sensibil la stimulul care se introduce între obiectul fizic și percepție, *senzația* – un rezultat al acțiunii stimulului asupra receptorului și apoi asupra prelucrării informației furnizate de receptorul senzorial [1, 9].

Diapazonul dinamic al auzului urechii reprezintă diferența dintre sunetul de percepție (0 dB HL) și sunetul dureros (120 dB HL). Dacă această dinamică se micșorează, apar distorsiuni de percepție sonoră (recruitment). Discriminare frecvențială – proprietatea urechii de a deosebi două sunete pure de același nivel, dar de frecvențe diferite (frecvența de 1500 Hz este mai sensibilă la variațiile frecvențiale). Discriminare temporală – capacitatea urechii de a distinge diferența dintre două sunete în timp. Aceste trei proprietăți se asociază în câmpul auditiv al auzului pentru a asigura o bandă omogenă pe toate frecvențele spectrului sonor.

Senzația auditivă nu este măsurabilă obiectiv, iar evaluarea ei nu este posibilă decât plecând de la descrierea pe care o face subiectul care primește stimulul. În audiologie acționează Legea Weber-Fechner: „Senzația crește în progresie aritmetică atunci când excitația crește în progresie geometrică” sau „Răspunsul este proporțional cu logaritmul excitației” [1, 36, 87].

Astfel, disfuncțiile anatomo-funcționale ale urechii externe, ale celor medii și interne, precum și ale căilor de conducere nervoase, cauzează modificarea activității complexe a analizatorului auditiv, care se manifestă prin deficiență auditivă (DA).

Investigațiile audiologice ale analizatorului auditiv se clasifică în: subiective (depind de implicarea pacientului în procesul de diagnosticare – reacție la stimulul sonor); obiective computerizate (nu depind de atenția pacientului). Majoritatea investigațiilor audiologice nu se substituie una pe alta. De aceea este necesară elaborarea unor algoritme complexe ce implică mai multe metode.

*Acumetria fonică* (determinarea distanței de percepere a vocii șoptite și a vocii conversate) este cea mai arhicunoscută metodă de examinare a analizatorului auditiv. *Acumetria instrumentală* se practică cu diapazoanele (camertoanele). Scăderea auzului este apreciată după durata timpului

de audiție a pacientului, în comparație cu o audiție normală. Pentru evaluarea calitativă a unei hipoacuzii, este necesar, în primul rând, să se determine câmpul tonal, prin prezentarea de către pacient, pe rând, a unei serii complete de diapazoane. Urmează apoi efectuarea cu diapazonul 256 sau 512 Hz a probelor Weber, Rinne, Schwabach, Levis-Federici etc. *Audiometria reflex-condiționată, audiometria comportamentală* se efectuează la copiii de vârstă precoce, care nu sunt cooperabili la AT.

*Audiometria tonală (AT)* este cea mai exactă metodă de determinare a pragului auditiv, în funcție de spectrul frecvențial. Dar ea are limite de efectuare: copiii de vârstă precoce și adulții fără conștiință sau cu boli psihice. Cu toate că AT este cel mai vechi test audiometric efectuat cu aparataj electronic, ea totuși rămâne cea mai importantă și mai exactă metodă de stabilire a deficienței de auz și a tipului de hipoacuzie. Testele audiometriei tonale supraliminare continuă să fie principale în detectarea distorsiunilor acustice, ce apar ca manifestări ale recruitmentului [5, 36, 42, 46, 61, 74, 79].

*Audiometria vocală (AV)* este o metodă de evaluare a capacității pacientului de a percepe cuvintele, adică ce procent de elemente ale vorbirii este recunoscut corect la o anumită intensitate. AV este o metodă de studiere metrologică a audiției, care utilizează, pentru a efectua testele sale, un anumit material fonetic (verbal sau vocal) și examinează audiția într-o manieră globală.

Evaluarea auzului pentru tonuri pure (AT) oferă informații despre sensibilitatea auzului, dar, în ceea ce privește capacitatea de comunicare interumană, asigură doar informații limitate. AV, la rândul ei, nu oferă informații despre sensibilitatea auzului ca o funcție intensitate-frecvență. Totuși pragurile obținute prin transmiterea stimulului verbal pe cale aeriană oferă informații despre sensibilitatea auzului în globalitatea sa, iar cele obținute prin conducere osoasă – informații despre statusul neurosenzorial.

Sunt studii care prognozează indicii AV (scorul de inteligibilitate) în baza parametrilor AT [36, 42, 46]. În unele cazuri, audiometria vocală prezintă dificultăți în efectuare, în primul rând, la copii și vârstnici, din cauza necesității audiometrelor specializate, a aparatajului de calibrare, a testelor de audiometrie vocală cu specificul de dialect, timpul îndelungat de investigație [3, 4, 198].

În același timp, pentru stabilirea diagnosticului topografic al patologiilor auditive și selectarea individuală adecvată a protezelor auditive, este important de a constata scorul maxim de inteligibilitate a testelor vocale [213, 246]. Astfel, devine oportună aplicarea unor noi principii de determinare ale indicelui respectiv [73, 79, 218].

*Impedansmetria* reprezintă determinarea complianței acustice a membranei timpanice și lanțului de oscioare, culege informații despre integritatea membranei timpanice, volumul de aer din urechea medie (spațiul aeric din spatele timpanului) și integritatea lanțului osicular. Este o investigație obligatorie pentru diagnosticarea bolilor urechii medii precum: otite seroase, otoscleroză, modificările mobilității membranei timpanice, disfuncțiile reflexului acustic [3, 10, 63, 87].

*Otoemisiunile acustice (OEA)* sunt semnale acustice, care pot fi detectate cu ajutorul unei sonde, la nivelul conductului auditiv extern. Întrucât vibrațiile radiate la nivelul organului Corti

se deplasează prin lichidele endocohleare spre baza cohleei și pun în mișcare membrana ferestrei rotunde, acestea generează o undă acustică în urechea medie, produc deplasarea lanțului osicular și, în final, timpanul acționează ca o membrană a unui difuzor, transmițând sunetele spre urechea externă, în care pot fi captate de un microfon suficient de sensibil [3, 6, 10].

*Indicațiile OEA în practica medicală:* aprecierea integrității auzului la sugar și copilul mic; screening-ul auditiv al copiilor (identificarea copiilor care aud și a celor care nu aud); obiectivarea hipoacuziilor nonorganice (psihologice); aprecierea integrității funcției urechii interne; monitorizarea tratamentului cu medicamente ototoxice; expunerea la zgomot pentru un timp îndelungat; tinnitus (zgomote auriculare/acufene); stabilirea diagnosticului topografic de pierdere a auzului, cauzată de afectarea nervului auditiv; afectarea cohleară *versus* cea retrocohleară, adică efectuarea diagnosticului diferențial de afectare a CCE și a componentelor analizatorului auditiv, situate după CCE (CCI, nervul auditiv, trunchiul cerebral, cortexul) [6, 14, 23, 36, 45, 70, 74].

În practica audiologică, adeseori se aplică și potențialele evocate auditive (PEA/ASSR), pentru a stabili obiectiv pragul auditiv și topodiagnosticul afecțiunilor sensorineurale ale AA [14, 19, 72, 79, 244]. Prezintă interes științifico-practic cercetarea metodelor computerizate de diagnostic precum: OEA, PEA, Impedansmetrie în testarea preclinică pe animalele de laborator a produselor medicamentoase ce urmează a fi elaborate.

## **1.2. Afecțiunile inflamatorii ale urechii și farmacoterapia topică combinată**

În Republica Moldova, prevalența generală prin bolile urechii și ale apofizei mastoidiene constituie, anual, 104,3 la 10000 de locuitori. Ponderea pacienților cu mezotimpanită cronică supurată este de 65-67%; cu epitimpanită cronică supurată – de 26-31%, iar 2-7% dintre pacienți dezvoltă „maladia urechii operate” după epi-mezotimpanită, din numărul total de otite medii supurate cronice [5, 6]. În România sunt raportate anual peste 130000 de cazuri de otită medie la copii [77, 134], în timp ce în SUA se înregistrează anual 2,2 milioane de cazuri, cu un cost de îngrijire de 4 milioane dolari, fiind principala cauză de încetinire a vorbirii și apariției problemelor de comportament la copii [100, 200].

Odată ce sporește rata de rezistență bacteriană la antibiotice [31, 130, 232], un număr important de cazuri nu răspund la tratament (rezistență de peste 60% la tratamentul clasic cu peniciline) și de aici necesitatea critică de molecule și produse noi [32, 38]. Studiile recente denotă faptul că cele mai multe cazuri de otită medie sunt provocate de infecții cu *Streptococcus pneumoniae*, care prezintă și cea mai mare rezistență la antibiotice, urmat de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes* și *Moraxella catarrhalis* (1,8%), în timp ce otitele externe pot fi de natură bacteriană *Staphylococcus aureus* - ½ din cazuri, urmat de *Staphylococcus aureus* meticilinorezistent și *Pseudomonas aeruginosa* sau fungică: *Candida* spp. și *Aspergillus* spp. [11, 23, 225]. OMSC devin cauza unor pierderi economice considerabile prin invalidizarea bolnavilor, prin numeroase întreruperi de muncă sau de procesul de studiu la elevi și studenți.

Scheme și metode de tratament cu medicamente combinate sunt utilizate în diverse ramuri, inclusiv în otorinolaringologie. Metodele contemporane de tratament în ORL includ diverse combinații medicamentoase [2, 178]. Volumul indicațiilor terapeutice depinde de etapa maladiei: în faza acută se efectuează preponderent farmacoterapia etiotropă și cea simptomatică, inclusiv cu preparate combinate; în faza subacută – diverse manipulări invazive și terapia medicamentoasă, cu includerea în complex a imunomodulatorilor; în cazul unui proces cronic, se suplimentează metodele chirurgicale și remediile medicamentoase complexe [10, 17, 231]. Astfel, la fiecare etapă, intensitatea și calitatea terapiei determină eficiența tratamentului, iar farmacoterapia contemporană a afecțiunilor ORL impune utilizarea remediilor antibacteriene, imunomodulatoare, regenerative și simptomatice [2, 5, 15, 167].

Cu toate că există suficiente mijloace și metode de tratament medicamentos ale proceselor inflamatorii ale urechii, cronicizarea otitelor se menține. Deși farmacoterapia a înregistrat realizări incontestabile, cu regret, incidența complicațiilor nu se diminuează. Antibioticele, ce nu reușesc să inhibe inflamația cronică din urechea medie, pot crea un teren favorabil multiplexelor bacterii cu rezistență la acestea (*S.aureus*, *Coliform.bot.* etc.). Antibio rezistența a fost declarată ca fiind una dintre problemele majore din domeniul sănătății.

„Preparatele medicamentoase combinate presupun asocierea într-un singur preparat a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită, acționând asupra multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice”. Medicamentele combinate sporesc efectul terapeutic prin acțiune sinergică, reduc efectele secundare rezultate din administrarea unor doze mai mici de substanțe active cu reacții adverse diferite, intensifică toleranța medicației și complianța tratamentului [62, 67].

Metodele contemporane de tratament ale otitelor includ diverse combinații medicamentoase, în funcție de etiologia, de patogeneza și localizarea maladiei, una dintre cele mai utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul acestor afecțiuni fiind picăturile auriculare [1, 80]. În ultimii ani, pe piața farmaceutică mondială, au apărut numeroase denumiri de medicamente, inclusiv sub formă de picături auriculare, dar la majoritatea, drept contraindicație, servește otita cu perforația membranei timpanice. În Republica Moldova, cu regret, arsenalul de remedii autohtone cu aplicare topică auriculară este nesemnificativ [21, 45, 77].

În tratamentul local al otitelor se utilizează picături ce conțin, ca principii active, atât substanțe de sinteză (antibacteriene, fluorochinolone, analgezice, antiinflamatorii), cât și cele naturiste: uleiul de busuioc, extracte din semințe de struguri (de exemplu, produsul autohton Regesan), coaja de nucă (*Nucina*) etc. [54]. Este cunoscut faptul că utilizarea diverselor combinații de medicamente are drept scop sporirea eficacității toleranței tratamentului complex.

Actualmente, elaborarea medicamentelor combinate este un proces extrem de complex, care include numeroase cercetări farmacologice, toxicologice, farmacocinetice, tehnologice, farmaceutice, analitice, farmacoeconomice, precum și alte studii aprofundate. Cercetările farmacologice demonstrează necesitatea și utilitatea includerii fiecărui component în combinația solicitată. Astfel, putem determina dacă acțiunea combinată a componentelor se modifică și în ce direcție. Totodată, ținem cont de faptul

că interacțiunile farmacologice pot avea caracter de synergism sau antagonism [34, 36]. Cercetările toxicologice au menirea de a demonstra că substanțele combinate nu vor majora toxicitatea [36].

Medicamentele combinate contemporane constituie o componentă esențială în arsenalul de remedii medicamentoase, care facilitează farmacoterapia și extind posibilitățile de tratament. La prescrierea oricărui medicament combinat, se impune cunoașterea componentelor preparatului și a particularităților farmacologice ale fiecărui principiu activ, chiar dacă aceste componente sunt destul de bine cunoscute [62, 66, 67, 91].

Analiza datelor bibliografice denotă faptul că, din totalitatea maladiilor ORL, cota-parte a afecțiunilor urechii constituie circa 14%. Majoritatea afecțiunilor o constituie otitele [6, 88]. Totalitatea pozițiilor preparatelor specifice, utilizate în terapia ORL sub forma farmaceutică de picături auriculare, a fost analizată din punctul de vedere al prezenței acestora pe piața farmaceutică din Republica Moldova, comparativ cu cele din Rusia, din țările UE, din SUA și Canada [17, 19, 20, 21, 26].

Majoritatea medicamentelor combinate sunt preparate din diferite grupe farmacoterapeutice: antibiotice, glucocorticosteroizi, vasoconstrictoare, antiseptice, antiinflamatoare, anestezice locale. Dar nu am identificat o combinație de principii active de sinteză și naturiste într-o singură formă farmaceutică [13]. Valorificarea unor compuși noi, de origine sintetică, cu acțiune antimicrobiană și combinarea acestora cu produse deja cunoscute, inclusiv de origine vegetală, este o direcție nouă și foarte actuală în elaborarea a noi produse pentru tratamentul otitelor [176]. Potențarea activității substanțelor de sinteză chimică cu extracte din produse naturale și utilizarea acestor combinații în profilaxia și tratamentul diverselor boli constituie o realitate de necontestat, de aceea valorificarea superioară a plantelor medicinale și aromatice reprezintă o preocupare de perspectivă [100].

În tratamentul otitelor, se utilizează picături ce conțin, ca principii active, atât substanțe de sinteză, cât și cele naturiste, dar nu am identificat o combinație de aceste principii într-o formă farmaceutică. Valorificarea compușilor de origine sintetică cu acțiune antimicrobiană, prin combinarea acestora cu produse de origine vegetală, reprezintă o direcție actuală în elaborarea noilor preparate combinate pentru tratamentul maladiilor inflamatorii. Astfel, putem conluziona: elaborarea unei formule noi de picături auriculare combinate este de o actualitate stringentă, întrucât ar soluționa diverse probleme ce țin de terapia mai multor forme de otite, în special a celor supurative [5].

În acest sens, a fost elaborat și evaluat farmacologic, preclinic, un produs medicamentos combinat care conține substanțe active de sinteză și naturiste, cu indicații atât în otitele neperforative, cât și în cele cu perforația membranei timpanice. Produsul cu denumirea de lucru **CB-12**, picături auriculare, este o combinație de ciprofloxacina clorhidrat, ulei volatil de busuioc, indicat în afecțiunile inflamatorii nesupurate și supurate ale urechii externe și urechii medii (Certificat de inovator nr. 5308 din 15.02.2014, IP USMF „Nicolae Testemițanu”).

Pentru prima dată, în tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii se propune, sub formă de picături auriculare, combinația dintre un antibacterian fluorochinolon și un remediu naturist.



Produsul a fost supus cercetării farmaceutice și farmacologice specifice unor produse medicamentose noi, cu acțiune polivalentă pentru tratamentul otitelor externe și otitelor medii.

Acțiunea bactericidă a ciprofloxacinei rezultă din inhibarea topoizomerazei II (giraza ADN) și topoizomerazei IV (ambele topoizomeraze de tip II), care sunt necesare pentru replicarea ADN bacteriene, transcripția, repararea și recombinarea [32, 44].

Mecanismul de acțiune a chinolonei, inclusiv a ciprofloxacinei, este diferit de cel al altor medicamente - agenți antimicrobieni, cum ar fi: beta-lactame, macrolide, tetraciclone sau aminoglicozide. Prin urmare, organismele rezistente la aceste medicamente pot fi susceptibile la ciprofloxacină. Nu există rezistență încrucișată cunoscută între ciprofloxacină și alte clase de antimicrobiene. Rezistența la ciprofloxacină se dezvoltă *in vitro* încet (mutație în mai multe etape). Rezistența la ciprofloxacină, din cauza mutațiilor spontane, se produce la o frecvență generală de la  $< 10^{-9}$  până la  $1 \times 10^{-6}$ . În acest scop am demonstrat că ciprofloxacina este activă împotriva majorității tulpinilor de microorganisme, atât *in vitro*, cât și în infecțiile cu: *Bacterii aerobe gram-pozitive*; *Coci aerobi gram-pozitivi*, *Bacili aerobi gram-pozitivi*, *Bacterii aerobe gram-negative* [53].

Studiile efectuate pe modele de infecții la animale au demonstrat că anumite teste și parametri farmacodinamici, cum ar fi corapoartele ASC/MIC și C<sub>max</sub>/MIC, sunt predictorii buni ai eficacității antimicrobiene a fluorochinolonei. Chinolonele prezintă o activitate bactericidă dependentă de concentrație: cu cât mai mare este concentrația medicamentului, cu atât mai mare este și activitatea bactericidă pe care o prezintă [55, 100].

De-a lungul timpului, plantele medicinale au fost o sursă valoroasă și indispensabilă de produse naturale utilizate în tratamentul bolilor și afecțiunilor umane. Aplicabilitatea lor a inițiat elaborarea unor produse farmaceutice și parafarmaceutice. S-a presupus că extractele de plante posedă proprietăți biocide împotriva bacteriilor, ciupercilor și virusurilor. Interesul sporit în activitatea antimicrobiană a extractelor de plante rezultă din necesitatea de a identifica noi produse ca o alternativă la antibiotice, care au timp limitat de acțiune eficient [37, 39]. Alt motiv este societatea, care a devenit mai conștientă de consecințele pe care le pot avea antibioticele la administrarea lor frecventă. Mai mult, autonomia crescândă în procesul de tratament și accesibilitatea la produsele pe bază de plante contribuie la o intensificare anuală a interesului pentru extractele de plante ca mod alternativ de terapie. Avantajul suplimentar al aplicării produselor pe bază de plante este diminuarea toxicității lor pentru oameni și o siguranță sporită față de mediul înconjurător, întrucât producerea lor cauzează o poluare mai redusă [92].

Extractele naturale conțin compuși care pot acționa împotriva agenților microbieni prin diferite mecanisme: blocarea aderenței microorganismelor la anumite nivele celulare, cu rol în profilaxia infecțiilor; deteriorarea membranei celulare, cu favorizarea pierderii de electroliți și conținut celular, determinând moartea celulei microbiene; inhibarea unor enzime care intervin în căile metabolice ale agentului patogen, cu reducerea virulenței; inhibarea sintezei de metaboliți esențiali (aminoacizi, acizi grași); inhibarea replicării și transcripției acizilor nucleici; stimularea sistemului imunitar, a activității fagocitare și a celulelor imunocompetente. Studiile recente au

evidențiat existența unor compuși naturali capabili să reducă riscul de apariție a rezistenței prin stoparea formării de biofilm, prin blocarea procesului de semnalizare intercelulară, rezultate promițătoare obținându-se la asocierea substanțelor de origine naturală cu antibiotice [100].

Structurile chimice ale compușilor naturali cu potențial antimicrobian sunt: uleiurile volatile, compuși polifenolici (flavonoide, taninuri) și cei terpenici (saponine, steroide, carotenoide).

Multe specii de plante nu sunt doar o alternativă la medicamentele sintetice, ci și condiamente, agenți flaming și o suplimentare la produsele cosmetice. *Ocimum basilicum L.* este un exemplu de astfel de plante. Materia primă este o plantă care conține 0,5-2,5% uleiuri esențiale de substanțe chimice variabile [166]. O caracteristică importantă a *Ocimum basilicum* este hidrofobia, proprietate ce-i permite să partiționeze lipidele din cadrul membranelor celulare bacteriene, precum și din mitocondrii, afectând structurile celulare și făcându-le mai permeabile. Uleiurile volatile de busuioc au proprietăți antibacteriene, antifungice, antivirale și antioxidante etc. *O. basilicum*, specie care se cultivă și crește spontan pe teritoriul Republicii Moldova, conține, ca principiu activ dominant, în special linalol (36-55%).

Uleiurile esențiale sunt amestecuri naturale foarte complexe, care pot conține aproximativ 20-60 de componente la concentrații diferite. Acestea se caracterizează prin două sau trei componente deosebite la concentrații destul de ridicate (20-80%), comparativ cu alte componente prezente într-o cantitate mică. În general, aceste componente majore determină proprietățile biologice ale uleiurilor esențiale. Componentele includ două grupuri de origine biosintetică distinctă. Grupul principal este compus din terpenă sau terpenoidă, iar celălalt – din constituenți aromatici și alifatici, caracterizați printr-o greutate moleculară mică [55].

Componentele principale ale uleiurilor esențiale din *O. basilicum* depind de originea plantei și includ următoarele substanțe: metileugenol și eugenol, metil-chavicol, metilcinnamat, linalol,  $\alpha$ -cubebene, 1,8-cineol, nerol, geranial, estragol, epimuuroleol, 3,7-dimetiloct-1,5-dien-3,7-diol,  $\beta$ -cuben și p-elemenă. Uleiurile esențiale par să nu aibă ținte celulare specifice din cauza numărului mare de constituenți ai lor. Proprietățile antibacteriene ale acestor constituenți sunt, printre altele, asociate cu caracterul lor lipofil. Acestea trec prin peretele celular și membrana citoplasmatică, perturbă structura polizaharidelor, a acizilor grași și fosfolipidelor și le permeabilizează. Citotoxicitatea pare să includă o astfel de afectare a membranei. În bacterii, permeabilizarea membranelor este asociată cu pierderea ionilor și reducerea potențialului membranei și epuizarea ATP [26, 55].

În forme farmaceutice topice monocomponente, sub formă de soluții, emulsii sau suspensii, ciprofloxacina își păstrează activitatea antibacteriană înaltă, aceasta fiind influențată (micșorată) de numeroși factori, cum ar fi: natura și cantitatea excipienților, pH-ul mediului. La asocierea cu alte substanțe farmaceutice, potența antibacteriană a ciprofloxacinei se poate diminua sau spori în funcție de proprietățile fizico-chimice și farmacologice ale acestora.

Pornind de la aceste raționamente, devin importante cercetarile microbiologice și farmacologice de determinare a inofensivității și eficacității picăturilor auriculare combinate CB-12, cu indicații în otitele cu și fără perforația membranei timpanice.

### 1.3. Particularitățile etiopatogenice ale surdității senzorieurale

În funcție de segmentul lezat al analizatorului acustic, se disting următoarele tipuri de surdități: de transmisie, de percepție și mixtă [67, 80].

*Surditatea de transmisie* este produsă de orice afecțiune a urechii externe sau/și a celei mijlocii, care stopează transmiterea undei sonore de la nivelul pavilionului urechii la organul Corti al urechii interne. Întotdeauna sunt hipoacuzii, de la ușoare până la medii, dar nu surdități severe și profunde [67].

*Surditatea de percepție (SSN)* este produsă de orice afecțiune, ce blochează transmiterea influxului nervos de la nivelul cohleei la centrii corticali. Substratul patomorfologic al SSN este o afectare (reducere cantitativă) a elementelor neurale funcționale la nivelurile respective [67, 151, 226].

*Surditatea mixtă* afectează atât sistemul de transmitere a undei sonore la nivelul urechii interne și/sau al celei medii, cât și cel de transmitere a influxului nervos la centrii corticali ai SNC [67, 89].

Odată ce, din punct de vedere anatomo-fizio-patologic, în peste 90% de cazuri se afectează primordial celulele senzoriale ale organului Corti (CCE, CCI), considerăm plauzibilă denumirea acestei patologii ca **surditate senzorieurală**. La etapa actuală, entitatea respectivă este denumită astfel atât în literatura de specialitate anglo-saxonă „*sensorineural hearing loss*”, cât și în cea rusă „*сенсоневральная тугоухость*”. SSN – surditate senzorieurală. Sinonime: surditate, surditate de percepție, surditate neurosenzorială, surditate sensoroneurală, surditate sensoneuronală, hipoacuzie neurosenzorială.

Termenii *surditate* și *hipoacuzie* sunt de asemenea sinonime. Dispariția totală a auzului se numește *cofoză* [80].

Problema surdității devine tot mai importantă atât în aspect medical, cât și în aspect social, deoarece se observă o tendință de creștere a numărului persoanelor care au deficiență de auz. Peste 800 mil. de oameni suferă de tulburări auditive și la 0,7-2% se constată auz social neadecvat. Unul din 1000 de nou-născuți suferă de cofoză. Pe parcursul primilor doi-trei ani, se mai alătură doi-trei copii. Circa 14% din persoanele cu vârsta între 45 și 64 de ani și 30% din cele cu vârsta de peste 65 de ani suferă de surditate [3, 53].

Aproximativ 70% de informații din mediu omul le percepe prin intermediul analizatorului auditiv. Odată cu afectarea auzului, poziția personalității în societate este alta, întrucât omul își pierde capacitatea de lucru. Surditatea, apărută în copilărie fragedă (precoce), poate cauza surdomutitate, retard psihic [28, 30, 162 182].

În structura deficiențelor auditive severe, 70-90% revin SSN. Cu regret, în prezent numărul afecțiunilor porțiunii cohleare a analizatorului auditiv sporește. Problema nominalizată este cauzată de: administrarea irațională a substanțelor ototoxice, acțiunea ecologică nocivă a numeroși factori, majorarea duratei medii de viață, maladiile cardiovasculare, endocrine, neuropsihice [31,

39, 40, 148]. În acest context, al structurii patologiei organului auditiv, tot mai mare importanță capătă corecția electroacustică efectuată la timp [160].

Pornind de la aceste raționamente, elaborarea noilor metode efective de reabilitare a bolnavilor cu SSN este o problemă medico-socială actuală, care ține de competența medicilor otorinolaringologi-audiologi, a inginerilor acustici și electroniștilor, a neurofiziologilor [40, 149, 180, 195, 207].

Metoda de bază în tratamentul SSN acute și subcronice este farmacoterapia. Primordial, fiziologic și cea mai frecvent utilizată metodă de recuperare auditivă în SSN cronice este corecția electroacustică. Ultima are consecințe benefice în cadrul utilizării la surdități ușoare, moderate, severe și doar parțial la cele profunde. Metodele alternative (stimularea structurilor cohleare și retrocohleare sau transmiterea informației sonore la alte organe senzoriale) sunt aplicate la surdități profunde, la cofoze, atunci când protezarea auditivă este ineficace [105, 106, 139].

Concomitent cu progresele în domeniul protezării auditive, nu pot fi neglijate și eșecurile ce au loc în protezarea auditivă, eficacitatea insuficientă [81, 143]. În practica cotidiană survin cazuri de renunțare la aplicarea protezei auditive (PA), determinate de apariția a astfel de acuze ca: cefalee, acufene, oboseală rapidă, iritabilitate, reducerea capacității de muncă. Asemenea acuze sunt prezentate în diferite surse de literatură [86, 106, 142, 144]. Astfel de simptome pot apărea atât din cauza alegerii incorecte a protezei auditive, cât și din cauza influenței stimulului sonor asupra organismului, în special la copii.

Problemele adaptării la protezele auditive sunt elucidate în numeroase surse bibliografice, în care ea este guvernată atât ca un sistem de metode surdopedagogice [13, 170, 182], cât și ca acțiunea protezei asupra a tot organismului copilului.

Potrivit statisticii mondiale, doar 20-60% din utilizatorii protezelor auditive sunt satisfăcuți de rezultatele corecției electroacustice. Acest fapt este cauzat, în primul rând, de lipsa criteriilor obiective de selectare a parametrilor adecvați ai protezării auditive [194, 195]. În acest context este actuală elaborarea direcțiilor și a criteriilor obiective de selectare a parametrilor electroacustici și a controlului eficacității protezării auditive, ce ar favoriza intensificarea efectului protezării auditive.

Așadar, SSN este o entitate patologică foarte frecventă, cu gravitate variabilă, de la un grad imperceptibil până la alterarea gravă a funcției auditive, cu consecințe sociale marcate [241]. Deoarece debutul este deseori insidios și maladia se asociază, adesea, cu strategii compensatorii subite, hipoacuzia trece, uneori, neobservată de către medic și pacient. SSN este agravantă prin consecințele sale: este cauza principală a deficiențelor auditive profunde și cofozei, gradul de invalidizare, în special a copiilor, este mai înalt decât la surditățile de transmisie și cele mixte, posibilitățile recuperării medicamentoase în SSN sunt destul de rezervate, asistența medicală, inclusiv electroacustica, surdopedagogica, la pacienții cu SSN este costisitoare [67].

SSN pot fi: cohleară, neurală și combinată. *SSN cohleară* (endocohleară sau senzorială) afectează formațiunile analizatorului auditiv al urechii interne [63, 212]. Surditatea cohleară se clasifică în: senzorială, metabolică, striată. *SSN neurală* afectează porțiunile retrocohleare ale

analizatorului auditiv și se clasifică în: retrocochleară (periferică) – nerv auditiv, trunchi cerebral, diencefal; corticală (centrală). *SSN combinată* (cochleară și neurală) [3, 36, 29, 41].

Surditățile senzoriale apar din cauza alterării structurii organului Corti, îndeosebi a celulelor ciliate externe (CCE) și/sau a celor ciliate interne (CCI). Fiind mai vulnerabile, CCE se implică primele în diverse procese toxice, degenerative sau traumatice, care afectează urechea internă. Progresul obținut în ultimii 30 de ani în fiziologia cochleară a permis elucidarea rolului fundamental al CCE în audiție [79]. Prin cele două tipuri de contracție, lentă și rapidă, CCE amplifică și transformă, în mod foarte localizat și puternic, vibrația membranei bazilare, ca răspuns la perceperea unei unde lichidiene (acustice). Astfel, ele permit stimularea intensă a unui număr foarte limitat de CCI și sunt responsabile atât de selectivitatea frecvențială, cât și de sensibilitatea extremă a organului Corti. Afectarea lor produce, pe de o parte, o diminuare a amplitudinii de vibrație și o lărgire a zonei excitate, iar, pe de altă parte, o pierdere a discriminării sonore. Acest ultim fenomen se traduce printr-o senzație de jenă și zgomot, deoarece frecvențele apropiate vor fi confundate în aceeași zonă de stimulare [67].

CCI sunt veritabilele celule senzoriale și reprezintă sediul traducerii mecanico-electrice a mesajului auditiv. Ele sunt, de obicei, lezate mai tardiv decât CCE. Afectarea lor produce o pierdere de informație, destinată fibrelor nervoase cochleare, direct legată de numărul CCI atinse și de repartitia leziunilor de-a lungul membranei bazilare. Afectarea CCE și CCI reprezintă substratul morfofuncțional principal pentru apariția SSN – de la forme ușoare până la cofoză. Formele retrocochleare și centrale de SSN, de obicei, cauzează dispariția totală a auzului [41, 88, 117].

*Aspectul patomorfologic principal al SSN cochleare este un proces distrofic al celulelor ciliate ale organului Corti, care deseori este reversibil în cazul farmacoterapiei precoce* [70].

În stadiile moderate și avansate pot interveni schimbări morfologice nerecuperabile, caracteristice cariopicnozei, formarea bulelor pe CCE, ceea ce este caracteristic pentru stările de apoptoză asociată.

Așadar, SSN sunt dereglări ce afectează procesul de percepere a sunetelor. Substratul anatomic al acestor dereglări este situat nu la nivelul urechii externe și al celei medii, ci la nivelul urechii interne și al creierului. Momentele enumerate anterior au servit drept motiv pentru studierea aprofundată a afecțiunilor sensorineurale. În timpul de față, SSN este în atenția medicilor: otorinolaringologi, audiologi, otoneurologi, geneticieni, farmacologi, epidemiologi, embriologi, electrofiziologi, endocrinologi etc.

SSN pot surveni la orice vârstă, inclusiv chiar la o vârstă fragedă. Cauzele principale ale acestor dereglări sunt de origine genetică sau sunt provocate de factorii mediului ambiant. Aproximativ 60% din surditățile congenitale sunt determinate de factori ereditari. La copii, SSN poate fi declanșată de maladiile nongenetice ale cohleei, urechii interne, sistemului nervos (tumori, procese inflamatorii, degenerări, traume), de toxicitatea chimică (inclusiv medicamentoasă), de traumatismul sonor etc. La adulți, adesea, SSN dobândite sunt cauzate de: tulburările vasculare cerebrale, presbiacuzie, traumatismul sonor, infecții, ototoxicitate și traumatismul craniocerebral.

SSN poate surveni ca o complicație a proceselor inflamatorii ale urechii medii și ale celei interne [43, 56, 57, 75, 88].

Astfel, efectul farmacoterapiei în tratamentul conservativ al SSN și, în acest caz, cercetările în domeniul etipo-patogeniei și fiziologiei organului auditiv în afecțiunile auriculare sunt de perspectivă.

#### **1.4. Diagnosticul audiologic primar al surdității la nou-născuți și sugari**

Auzul normal este o condiție obligatorie pentru dezvoltarea unei comunicări verbale optime. Datorită acestui simț, putem cunoaște ce se întâmplă în jurul nostru [67, 248]. Fără perceperea cuvintelor auzite și vorbite, persoanele nu și-ar putea împărtăși semenilor săi ideile, gândurile și sentimentele. Importanța organului auditiv nu este apreciată de omul sănătos, decât doar atunci când atestă o diminuare a auzului [112, 244]. În 2018, OMS a estimat faptul că persoanele cu SSN patologice alcătuiau 466 mil., ceea ce constituie aproximativ 6,1% din populația globală.

SSN este o maladie relativ frecventă în rândul nou-născuților. Acesta are, de exemplu, o incidență de 1:630 de nou-născuți în România. Surditatea este depistată la 1-3/1000 de nou-născuți sănătoși și la 2-4/100 de nou-născuți internați în secțiile de terapie intensivă neonatală. Prevalența surdității neonatale crește de 10-50 de ori la nou-născuții cu factor de risc [22, 72]. Din zece nou-născuți cu hipoacuzie congenitală, nouă provin din părinți care nu au deficiență de auz. Odată ce hipoacuzia nu poate fi depistată la naștere, copiii hipoacuzi se comportă la fel ca și cei cu auz normal [247]. De aceea, efectuarea unui test auditiv la nou-născut este foarte important. În lipsa unei detectări active a hipoacuziei, aceasta va fi depistată la 12-24 de luni, când părinții sau medicul observă lipsa de dezvoltare a limbajului la copil [138]. Hipoacuzia severă, permanentă, dacă nu este detectată precoce, poate avea repercusiuni grave asupra dezvoltării vorbirii, asupra achiziționării limbajului și dezvoltării cognitive [8, 9, 10].

Cercetările științifice în acest domeniu demonstrează clar că nivelul de dezvoltare a limbajului este semnificativ mai bun în cazul copiilor diagnosticați până la vârsta de șase luni și care sunt reabilitați după diagnosticare (prin protezare auditivă sau implant cohlear), comparativ cu acei copii al căror diagnostic de hipoacuzie se stabilește după vârsta respectivă. Se consideră că până la 80% dintre copiii hipoacuzici în vârstă de cinci ani au deficiență auditivă permanentă din perioada neonatală [7, 11, 124].

Din cauza hipoacuziei severe și profunde, persoana nu poate percepe informațiile acustice ale limbajului vorbit și, ca rezultat, apare imposibilitatea dezvoltării comunicării orale. Hipoacuzia ușoară și moderată nu stopează în totalitate dezvoltarea limbajului, deoarece unele informații ale vorbirii sunt disponibile chiar fără amplificare [15, 245].

*Factorii de risc pentru dezvoltarea unei surdități la nou-născuți:* surditate de percepție la rudele de prima generație; rubeola suportată de mamă în timpul sarcinii, maladiile infecțioase acute (acutizarea infecțiilor cronice), cum ar fi: toxoplasmoza, citomegalovirusul, infecțiile herpetice,

IRVA, sifilisul etc.; administrarea antibioticelor din grupul aminoglicozidelor la gravide, mai ales în combinație cu diuretice de tipul furosemidei la gravide; nașterea în asfixie (scorul Apgar 0-4 la 1 min., 0-6 la 5 min.); circulația de cordon; nașterea prematură (hipoponderabilitate mai puțin de 1500 g); hiperbilirubinemia, ce a necesitat hemotransfuzie (rezus conflict, altă incompatibilitate a mamei și fătului); stări de urgență grave, ce au necesitat o ventilare pulmonară artificială mai mult de cinci zile [7, 19, 20].

Otoemisiunile acustice (OAE) sunt semnale acustice care pot fi detectate în conductul auditiv extern. Acestea pot apărea spontan sau după stimularea urechii și se datorează vibrațiilor produse în urechea internă. OEA evaluează funcția urechii interne și este cel mai răspândit test de screening auditiv [5, 7, 21, 22, 23]. Testul OEA se efectuează prin plasarea în ureche a unei sonde mici, care conține un microfon și un difuzor. Sonda generează sunete și, în momentul în care cohleea procesează sunetul, spre creier se transmite un impuls electric. De asemenea, un al doilea răspuns este recepționat în canalul auditiv al copilului. Acest produs secundar reprezintă emisiunea acustică, ce va fi înregistrată de aparatul de diagnostic [24, 25, 26].

Se disting OEA spontane (apar în afara oricărei stimulări sonore) și OEA provocate (apar ca un „ecou” după stimulare acustică), care, la rândul lor, se clasifică în (3, 5): OEA tranzitorii (OEAT); OEA ca stimul-frecvență; OEA înregistrate pe produs de distorsiune (PDOEA). OEA spontane sunt prezente în lipsa unei stimulări sonore, la mai puțin de jumătate din populația cu auz normal, din această cauză nu constituie un test pentru certificarea unui auz normal [67, 137].

OEAT pot fi evocate prin stimulare externă și înregistrate de la aproape orice ureche cu auz normal în zona frecvențelor medii de 1000 *Herzi* (Hz). Ele apar peste un anumit interval de timp după expunerea stimulului sonor (5-6 msec.). OEAT nu pot fi atestate la persoanele cu o hipoacuzie cohleară mai înaltă de 30 *deciBelli* (dB) și retrocochleară, la o surditate nu mai mare de 80 dB [7, 8]. Sunt tipurile de otoemisiai cel mai des întrebuințate, mai ales în screeningul surdității la copii de vârstă precoce, fiind o metodă obiectivă, neinvazivă, rapidă (1-5 min.), cu o mare sensibilitate [5]. OEAT sunt lipsite însă de selectivitate de frecvență [10]. Această insuficiență a stat la baza cercetării și desfășurării unei noi metode de înregistrare a OEA, și anume: înregistrarea produselor de distorsiune a otoemisieii acustice (PDOEA). Produsul de distorsiune se manifestă ca un al treilea sunet care este auzit în urma stimulării simultane cu două tonuri pure, ale căror frecvențe sunt într-un anumit raport [5, 31, 153].

Mijloace tehnologice actuale (OEA, PEA/ABR) sunt cruciale în diagnosticul precoce al deficiențelor auditive la copii [3, 4, 5]. Aceste investigații audiologice reflectă aspecte diferite ale funcționării normale a sistemului auditiv: OEA evaluează funcția urechii interne, iar ABR (*Auditory Brainstem Responce, potențiale evocate*) – funcția căilor de conducere auditivă până la nivelul trunchiului cerebral. Utilizând ambele metode, putem majora depistarea corectă a copiilor hipoacuzici și micșora rata rezultatelor false pozitive - copiii cu auz normal, care nu sunt supuși screeningului prin OEA [32, 33, 34, 35]. Metodele de screening teste sunt non-invazive și se desfășoară fie în timpul somnului, fie atunci când copilul este liniștit [32, 36, 37, 38, 39].

Principiile de bază ale evaluării auditive la sugari: pierderea de auz poate fi confirmată în primele luni de viață; este necesar un complex de teste pentru a confirma și a descrie pierderea de auz; rezultatele evaluării audiologice sunt importante pentru planificarea strategiilor de intervenție; evaluarea audiologică la sugari este un proces în derulare. De exemplu, nivele prag comportamentale pot fi obținute cel mai devreme la vârsta de șase luni [10, 38, 39, 40, 143].

Pe lângă succesele incontestabile ale programelor de screening auditiv la nou-născuți, în cazul diagnosticului efectuat în primele zile de viață, se constată un număr mare de rezultate false pozitive, atunci când se presupune eronat deficiența auditivă [197, 204, 216]. Astfel, prezintă interes studiile de comparare a rezultatelor diagnosticului efectuat în primele zile cu cele de trei-patru săptămâni după naștere.

### **1.5. Surditatea senzorieurală nonsindromică și diagnosticul genetic**

SSN genetică, în calitate de factor etiologic, constituie 50% la copiii de vârstă precoce. Hipoacuzia genetică, ca unica manifestare, este o hipoacuzie nonsindromică, iar, dacă este însoțită de afectarea altor organe sau sisteme, – o hipoacuzie sindromică [238]. Surditatea genetică este o boală monogenică, caracterizată de o mare heterogenitate. Orice genotip se află sub influența factorilor exogeni. În cazul genotipului modificat, există factori din exterior care pot influența severitatea surdității [53].

*SSN sindromică* reprezintă aproximativ 18-25% din cele de cauză genetică. La acești pacienți, hipoacuzia se asociază cu alte probleme de sănătate. De obicei, rareori pierderea auzului este considerată o caracteristică majoră [111]. În afară de evaluările din sfera genetică și ORL, SSN sindromică necesită și alte investigații medicale: oftalmologice, renale, cardiace etc. [164]. Asocieri clinice posibile ale hipoacuziei sindromice: dismorfism craniofacial, anomalii oculare și de pigmentare cutanată, maladii musculo-scheletale, renale, metabolice, endocrine, cardiovasculare [97, 239]. Aceste boli sunt posibile, întrucât ochii, inima, rinichii, alte organe se dezvoltă în aceeași perioadă embrionară cu urechea (sindroamele Usher, Penderet, Alport, Waardenburg, Jervell Lange Nielsen, Stickler, Brahiotorenal, Norrie, Treacher Collins, neurofibromatoza tip 2 Goldenhar etc.).

*SSN nonsindromică* reprezintă 60-80% din surditățile genetice la copii. După modul de transmitere genetică, cea mai frecventă este transmiterea autosomal-recesivă (75-80%), urmată de cea autosomal-dominantă (18-20%). Celelalte modalități de transmitere – X-linkată și mitocondrială – se identifică rareori [81, 181].

Locusurile cromozomiale responsabile de diferite forme de surditate genetică au fost denumite cu acronimul DFN, după cuvântul englezesc *deafness* (*deficiență auditivă*). Acest acronim (DFN) este urmat de litera A sau B, care reprezintă modalitatea de transmitere (DFNA – pentru transmiterea autosomal-dominantă, DFNB – pentru transmiterea autosomal-recesivă) [125, 180].

Cele mai frecvente mutații responsabile de hipoacuziile ereditare sunt cele legate de locu-



sul DFNB1, care se găsește pe cromozomul 13qll. Pe acest locus, la o distanță mică între ele, se află două gene foarte importante: GJB2 și GJB6 (numele acestor gene este, de fapt, tot o prescurtare de la proteinele pe care le codifică, ce se numesc *conexine* și sunt niște proteine de joncțiune intercelulară la nivelul urechii interne – *gap junction*) [81, 159]. Gena GJB2 codifică conexina 26, iar gena GJB6 – conexina 30. Conexinele 26 și 30 sunt responsabile în cohlee de majoritatea joncțiunilor intercelulare, fiind implicate în susținerea celulelor epiteliale ale organului Corti [52, 81]. Atunci când există mutații ale genelor GJB2 sau GJB6, formarea acestor proteine este defectuoasă, având, ca urmare, imposibilitatea schimbului de ioni de potasiu și deci hipoacuzia [51, 81].

Cea mai frecventă mutație a genei GJB2, depistată la populația europeană, este mutația 35delG, responsabilă de aproximativ 70% dintre toate mutațiile acestei gene. Frecvența mutației 35delG printre purtătorii sănătoși la populația Europei este de 1 : 34 [234]. Din această cauză, mutațiile acestei gene sunt responsabile de aproximativ jumătate din toate hipoacuziile genetice nonsindromice. Alte gene raportate, ca fiind importante pentru această entitate la populația vest-europeană, sunt: TMC1, OTOF și CDH23 [48, 59, 78].

**Repere diagnostice și terapeutice.** *Bilanț etiologic:* anamneza orientată (pre-, neo-, postnatal), semne familiale asociate, examen pediatric, investigații audiologice la pacienți și rude, consult ORL și oftalmologic, hematurie/proteinurie, ECG, CT, precum și alte investigații imagistice [57].

*Consult genetic al surdității:* determinarea factorilor favorizanți, depistarea semnelor asociate, cazuri familiale, prognostic evolutiv, mod de transmitere, tablou clinic, examene complementare, istoric familial, teste genetice, prevenție, indicație terapeutică, tratament [94].

*Beneficiile testării genetice:* identificarea cauzei surdității, stabilirea factorilor de risc pentru familie și a sarcinilor următoare, managementul pacienților cu hipoacuzie [94, 216].

*Limitele testării genetice.* Severitatea hipoacuziei nu poate fi determinată. Deși nu este diminuată acuitatea auzului, persoana poate avea mutații, Adică, nu întotdeauna putem obține un răspuns clar [35, 61].

Pentru a determina originea handicapului auditiv, pentru a preveni surditatea (grupul sensibil la medicamente ototoxice aminoglicozide etc.) și a estima riscul evolutiv prin studiul istoricului diverselor forme de surditate, este necesar diagnosticul molecular [150]. Pentru clinicieni este foarte importantă cunoașterea posibilităților și a limitelor testărilor genetice, efectuate în stabilirea diagnosticului deficiențelor de auz. SSN, în special formele acute, pot avea și caracter secundar, fiind o complicație a tromboflebiilor. În acest sens pot fi constatate mutația factorului V Leiden și protrombinei G20210A, polimorfismul în genele care controlează activitatea metilentetrahidrolatreductazei, receptorului trombocitar GpIIIa, inhibitorilor activatori plasminogen (PAI-1) și fibrinogen [237].

În ultimii ani, genetica umană a atestat progrese enorme, de la investigațiile citogenetice, bazate pe analiza cromatinei sexuale și a cromozomilor, la investigații genomice performante, care permit investigarea detaliată a unor modificări genetice de mici dimensiuni. Evoluția din ultimele trei decenii a fost fulminantă [126]. Astfel, dacă la începutul anilor '90 ai secolului al XX-lea

principalele metode de investigație genetică erau cariotipul și secvențierea Sanger, acum lucrurile au evoluat semnificativ, fiind aplicate pe scară largă hibridizarea genomică comparată pe rețele sau secvențierea genomică de nouă generație [165]. Prima metodă permite evidențierea dezechili-brelor genomice la nivel infracromosomic, având aplicabilitate în patologia malformativă prena-tală sau postnatală, precum și în evaluarea unor sindroame ce asociază dizabilitate intelectuală. Secvențierea genomică oferă posibilitatea evaluării într-o singură reacție a numeroase secvențe genomice diferite, astfel încât au fost dezvoltate diverse kit-uri de investigație a diferitor maladii, în care pot exista mutații în variate gene [24].

Medicina personalizată presupune cunoașterea și utilizarea unor noi mecanisme la nivel molecular și a unor teste de diagnostic, ce permit adaptarea mai reușită a tratamentelor și un mana-gement mai eficient al bolilor. În Occident, medicina personalizată devine unul dintre elementele de bază în ocrotirea sănătății: reducerea cheltuielilor, sporirea eficacității și inofensivității terapiei medicamentoase, conformate la necesitățile fiecărui pacient în parte [11].

Actualmente, elementele medicinei personalizate sunt aplicate pe larg în oncologie, în car-diologie, în patologiile rare care urmează să fie extrapolate și în alte domenii ale medicinei [98].

În cadrul terapiei medicamentoase personalizate, medicul otorinolaringolog ține cont de indicatorii biologici sau biomarkeri, cum ar fi secvențele de ADN sau prezența ori lipsa unor re-ceptori de substanțe chimice, ca indicatori ai modului în care pacienții ar trebui tratați, dar și pentru a estima probabilitatea că intervenția va avea efectele scontate sau cele nescontate. În acest context nu doar tehnologiile genomice sau alte *omics*-uri sunt esențiale, ci și factorii ecologici, și modul de viață sunt parte integrantă a medicinei personalizate [65].

Monitorizarea terapeutică a medicamentelor (determinarea concentrației substanței active în plasmă, în scopul dozării individuale) este importantă în antibioterapia aminoglicozidică (în special la bolnavii cu insuficiență renală poate provoca SSN), în administrarea preparatelor din grupele digitale, antiepileptice, bronholitice, imunosupresive, antipsihotice etc. Aceste grupe de produse medicamentoase pot fi prescrise și în tratamentul SSN [58].

Principiile inovaționale ale medicinei personalizate, ce permit individualizarea administra-rii medicamentelor, sunt: determinarea concentrației medicamentelor în plasmă (farmacocinetică), stabilirea activității izoenzimelor citocromului P-450, responsabile de metabolismul majorității medicamentelor (farmacocinetică), și evaluarea polimorfismului genetic, care codează enzime de biotransformare și transportare a produselor medicamentoase (farmacogenetică). Medicina per-sonalizată nu este în contradicție cu medicina standardizată. Esența ei constă în prescrierea trata-mentului medicamentos în funcție de particularitățile individuale ale persoanei. Acest fapt permite eficientizarea farmacoterapiei, ea devenind mai inofensivă. Medicina personalizată include nume-roși factori predispozanți, nu doar cei genetici [82, 91].

Farmacogenetica (studiul factorilor genetici care determină răspunsul la medicamente) este cel mai important factor al medicinei personalizate. Scopul farmacogeneticii este de a percepe rolul componentei genetice în răspunsul la o anumită terapie medicamentoasă și cauza apariției

efectelor adverse la unii dintre pacienții tratați cu același medicament, de a stabili dozele optime pentru fiecare pacient în parte. Scopul personalizării este ca fiecare pacient să beneficieze de terapia cea mai eficace și cu cât mai puține efecte secundare [67].

Farmacogenomica analizează impactul variațiilor genomului complet al unei persoane asupra efectelor terapeutice ale unui medicament. [65, 69]. Progresele recente în farmacogenetică și farmacogenomică reprezintă o promisiune reală în ceea ce privește diagnosticul și managementul maladiilor.

Așadar, particularitățile genetice ale bolnavului sunt factori ce determină eficacitatea și inofensivitatea farmacoterapiei. Acești factori reprezintă polimorfisme în gene, care codează proteinele ce participă în procesele farmacocinetice (fermenți de biotransformare etc.) și farmacodinamice - receptori, molecule-țintă [233].

Detectarea particularităților genetice ale pacientului prin testare farmacogenetică îi permite medicului să prognozeze ineficacitatea sau dezvoltarea reacțiilor adverse. Deci medicul trebuie să personalizeze tactica de tratament și dozele preparatelor medicamentoase [67].

În același context, testele farmacogenetice trebuie să corespundă anumitor cerințe pentru a fi implementate ulterior în practica medicală; să fie demonstrată asocierea dintre polimorfismul respectiv și apariția reacției adverse la medicament pentru populația corespunzătoare; să fie prezent polimorfismul respectiv la populația vizată cu o frecvență minimă de 1%; să fie destul de sensibil și specific, pentru a determina rezultatul pozitiv și cel negativ; să fie elaborate algoritme de utilizare a medicamentelor, în funcție de rezultatele testului farmacogenetic, ce îi permit medicului să interpreteze veridic rezultatele testării farmacogenetice [65, 82, 91].

Progresele în cercetarea genetică și farmacogenomică pot contribui la descoperirea genelor și a interacțiunilor asociate care influențează dezvoltarea SSN, ca reacție adversă la medicamente.

Transmiterea prin ADN-ul mitocondrial (1-2%) este o formă rară (au loc mutații în genomul mitocondrial, care pot afecta producerea energiei prin sinteza de ATP și fosforilarea oxidativă). ADN-ul mitocondrial se moștenește de la mamă. Descendenți afectați – 100% (penetranta variabilă).

Diagnosticarea prenatală a bolilor mitocondriale este dificilă din cauza heteroplasmiei ADN-ului mitocondrial [176]. S-a stabilit că, în afară de conexinele GJB, implicate direct în procesul de percepție a sunetului, mutațiile ce au loc în genele de ADN mitocondrial pot fi responsabile de hipersensibilitate la medicamentele ototoxice și de cauzarea deficienței auditive. Substituirea A1555G în gena 12Sr ARN de ADNmt face ARNr mitocondriale umane o structură similară cu ARNr bacteriene, acesta devenind ținta medicamentelor respective [172, 176]. Odată ce antibioticele aminoglicozide sunt suprasolicitate, studiul frecvenței mutațiilor genei A1555G 12Sr ARN este relevant pentru evaluarea riscului de SSN. Ponderea portajului acestor mutații la populația europeană este mai înaltă de 1%.

Prin urmare, pe lângă testarea celei mai frecvente mutații care poate provoca SSN, și anume mutației 35delG în gena GJB2, este importantă profilaxia primară a SSN în sensibilitatea

constituțională, determinată de factorii ototoxici – antibioticele aminoglicozidice [48, 78]. Studiile farmacogenetice pot reduce considerabil riscurile de reacții adverse la pacienți și pot îmbunătăți rezultatele studiilor clinice prin stratificarea populațiilor pe grupuri prin diferențe genetice.

### **1.6. Peroxidarea lipidică și farmacoterapia antioxidantă otoprotectoare**

Peroxidarea lipidică (POL) este un mecanism autocatalitic, care cauzează alterarea oxidativă a membranelor biologice. Dereglarea echilibrului POL contribuie la accelerarea reacțiilor de oxidare peroxidică a lipidelor în membranele biologice și reprezintă unul dintre factorii fundamentali în patogenia multiplelor stări patologice: hiperoxie, hipoxie, hiper- și hipotermie, supra-solicitări fizice, combustii, hepatotoxicitate, ischemie, anemie hemolitică, ateroscleroză, diabet, inflamație, inclusiv ototoxicitatea [8, 27, 86]. În același timp, este demonstrată acțiunea factorilor din exterior asupra decurgerii severității SSN. Printre factorii externi figurează: medicamentele ototoxice, traumatismul sonor, infecțiile virotice, statusul microelementelor [2, 3, 3, 14].

În cazul SSN de origine infecțioasă, presbiacuzie, traume craniocerebrale și traume sonore, diabet zaharat etc., la nivel celular intervin astfel de mecanisme precum: supraefortul mitocondriilor, exotoxicitatea, ischemia, inflamația [137]. Acești factori cauzează formarea radicalilor liberi care contribuie la POL, afectarea ADN și a proteinelor având ca efect apoptoza și necroza celulară la nivelul OC și NA cu manifestare clinică de deficiență auditivă. Deci, în patogenia surdității, un rol deosebit revine dezechilibrului POL [106, 142].

În cursul acestor reacții biochimice complexe, la nivel celular se pot forma, ca intermediare, numeroase specii chimice cu energie intensă, prin urmare instabile, care pot reacționa cu diverși componenți celulari chimici, generând compuși secundari sau chiar mutații, care pot cauza apariția unei tumori la nivelul organului respectiv [98].

Membrana celulară este o structură complexă, compusă în principal din fosfolipide și constituenții lor, - acizi grași, implicați într-o multitudine de funcții- cheie la nivelul membranei, reprezentând de asemenea un punct în intersectarea naturală a factorilor genetici cu cei de mediu. În prezența speciilor reactive, cum ar fi  $H_2O_2$ , încetinirile temporare ale funcționării normale a reticulului mitocondrial și a celui endoplasmatic, în special sechestrarea calciului (Ca), pot determina o sporire a  $Ca^{2+}$  intracelular. Astfel, producția de specii reactive de către mitocondrii sporește, provocând daune suplimentare. Odată ce speciile reactive au indus o stare de stres oxidativ în neuroni, după moartea celulelor, glutamatul se elimină. Acest neurotransmițător excitator continuă să se lege de receptorii glutamatului pe neuronii vecini, provocând influxul de cationi ( $Ca^{2+}$  și  $Na^+$ ) și, în definitiv, necroza. Aceasta inițiază o reacție în lanț excitotoxică, în care neuronii continuă să prezinte nivele excesive de glutamat extracelular. În continuare apar perturbări ale transportorilor de glutamat și ale activității de sinteză a glutaminei [194].

Stresul oxidativ apare în momentul în care speciile reactive de oxigen (SRO) generate depășesc capacitatea antioxidantă a celulelor, această stare provocând diferite tipuri de afectări oxi-

dative ale componentelor celulare, ce cauzează unele patologii. Prin urmare, stresul oxidativ apare atunci când sunt depășite mecanismele naturale de apărare împotriva acestor compuși ce abundă în energie, deci cu o stabilitate minimă, reprezentați de SRO [96].

Principalii radicali liberi, formați în organism, sunt specii reactive de oxigen și de azot. Majoritatea oxigenului molecular, consumat de celule, este redus la apă prin intermediul citocromoxidazei în mitocondrii. Atunci când oxigenul este redus parțial, el se activează și reacționează cu ADN-ul. Datorită cantității necesare sporite de oxigen și a conținutului maxim de lipide, țesutul nervos (inclusiv compartimentele neurale ale AA) este sensibil la deteriorarea oxidativă. Etapele critice importante includ respirația aerobă intensivă la nivelul celulelor, peroxidarea masivă a principalelor componente ale structurilor tisulare [86].

Creierul uman necesită o cantitate de energie considerabilă pentru a funcționa corespunzător:  $4 \times 10^{21}$  molecule de ATP/min. Această energie este necesară pentru a menține și a reface gradientele ionice ce sunt disipate în procesele de semnalizare, cum ar fi potențialele de acțiune, eliberarea de neurotransmițători prin exocitoză, precum și captarea și reciclarea neurotransmițătorilor. Creierul utilizează respirația aerobă pentru a corespunde acestei solicitări sporite de energie. Deși creierul reprezintă doar 2% din greutatea totală a corpului, el consumă 20% de oxigen și 25% de glucoză. Respirația aerobă permite creierului să producă molecule de ATP într-o manieră eficientă. Lipidele reprezintă 50% din greutatea uscată a creierului. Având în vedere compoziția abundentă a creierului în fosfolipide, trebuie luată în considerare și lipsa regenerării neuronale, ceea ce face creierul, inclusiv partea neurală AA, susceptibilă la stresul oxidativ [86, 196].

Sursa primară de SRO este reprezentată de mitocondrii, de lanțurile transportatoare de electroni de la nivelul reticulului endoplasmatic și al membranelor nucleare. Diferite activități enzimatice, altele decât cele implicate în lanțul transportorilor de electroni, pot genera SRO intracelular. Acestea includ NADPH-oxidaza, citocrom P450 (o familie de enzime localizate în reticulul endoplasmatic, ce sunt implicate în metabolismul medicamentelor și al altor xenobiotici sau compuși endogeni), mono-oxigenaza, ciclo-oxigenaza [127, 186].

NO este sintetizat din L-arginină de către o familie de izoenzime ale NO-sintetazei (NOS): NOS-neuronală (n-NOS), NOS-endotelială (e-NOS), NOS-inductibilă (i-NOS). NOS-n și NOS-e sunt enzime constitutive activate de creșterea calciului intracelular, în timp ce i-NOS este exprimată în manieră calciu-independentă de către celulele inflamatoare, induse de citochinele endotoxice sau proinflamatoare [141, 146]. Astfel, inflamația sau excitarea neuronală, care provoacă creșterea calciului intracelular, poate spori producerea de NO. În același timp, producerea excesivă de NO intensifică stresul oxidativ, ceea ce poate iniția reacții de nitrozilare, care modifică structura și funcționarea ADN-ului, proteinelor și lipidelor, având, drept consecință, inhibarea funcțiilor acestora [141]. Astfel se produc afectarea neuronală și distrugerea macromoleculelor celulare, care pot cauza deteriorarea oxidativă, având un rol important în moartea neuronală excitotoxică.

Odată ce speciile reactive și moleculele toxice, produse în organism, încep să interacționeze cu ADN-ul, cu lipidele și proteinele, ca să provoace leziuni, astfel acestea pot modifica funcția

celulară. Este important să se ia în considerare faptul că, deși efectele sunt nefaste, nu toate modificările cauzate de speciile reactive sunt dăunătoare organismului. De exemplu, la concentrații *in vivo* de la  $10^{-8}$  până la  $10^{-4}$  M, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> determină proliferarea celulei, încetarea creșterii sau inițierea apoptozei, mecanismul de bază în afectarea celulelor ciliate ale organului Corti [127, 133].

Principalele mecanisme de apărare ale celulei față de aceste specii reactive implică sistemul antioxidant de apărare, format din factori enzimatici precum SOD, GPO, catalaza sau factori neenzimatici, cei mai importanți fiind vitamina E (tocoferolul) care se găsește predominant în membranele celulare, fiind lipofilă, precum și vitamina C (acidul ascorbic), vitamină hidrosolubilă, care se află preponderent în citosol, vitamina P [152]. Cercetările recente relevă faptul că un nivel sporit, dar subletal de SRO, poate influența căile semnalizatoare intracelulare într-o gamă variată de celule neuronale, prin modularea expresiei genice, a creșterii și diferențierii celulare [108]. Unica enzimă substanțial antioxidantă din creier este catalaza, care are o capacitate limitată în detoxifierea H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, deoarece este localizată la nivelul microperoxizomilor [27, 39].

Antioxidanții pot fi definiți simplu astfel: un complex de elemente nutritive (vitamine și minerale) și enzime specifice care au rolul de a reduce efectele toxice ale radicalilor liberi, adică de a neutraliza moleculele de oxigen instabile, ajutând corpul să nu-și distrugă propriile celule. Antioxidanții mai sunt cunoscuți ca niște compuși ce au capacitatea de a încetini oxidarea altor substanțe. Antioxidanții pot fi divizați în două categorii: endogeni (melatonina, glutathionul, implicați în apărarea enzimatică antioxidantă) și exogeni. Mecanismul de acțiune a fiecărui antioxidant poate varia în funcție de locație, de structura chimică și biodisponibilitatea în organism sau ca grad de modulare redox pe care celula îl prezintă [27, 35].

Flavonoidele reprezintă o clasă de metaboliți secundari ai plantelor, cunoscuți pentru proprietățile lor antioxidante. Flavonoidele sunt sintetizate pe calea fenilpropanolului, unde aminoacidul fenilalanină este utilizat la producerea 4-cumaroil-CoA [132]. Flavonoidele sunt distribuite în plante, fiind responsabile de culoarea galbenă și cea roșie/albastră ale florilor, având și rol de protecție față de microbi și insecte. Deși sunt variate, au o răspândire vastă și o toxicitate redusă, comparativ cu alți metaboliți secundari (alcaloizi), flavonoidele determină ingestia lor de către oameni și animale în cantități mari [144]. Datorită evidentei lor capacități de a modifica anumite reacții ale corpului la alergeni, la virusuri și substanțe carcinogene, ele se mai numesc și modificatori naturali ai răspunsului biologic (de exemplu, dihidroquercitina – bioflavonoid).

Anterior, în cadrul experimentelor am determinat toxicitatea redusă și efectul antioxidant marcant al extractelor din frunze și flori *Argimoniae herba* și *Cichorii herba* [23]. În opinia noastră, studiul otoprotector al produselor respective pentru SSN este unul de perspectivă.

Astfel, la nivelul creierului, unde se află și AA, există valori mai reduse de apărare antioxidantă față de cealaltă parte a organismului. În patogenia afecțiunilor sensorineurale ale AA, POL reprezintă unul dintre rolurile primordiale. Deci preparatele care posedă efect antioxidant pot manifesta efect otoprotector marcant cu ținta asupra organului Corti și nervului auditiv [127]. Astfel, prezintă interes științifico-practic elaborarea și cercetarea acestor preparate medicamentoase.

## 1.7. Principii de farmacoterapie în surditatea senzorieală

**SSN brusc instalată/acută** semnifică pierderea auzului mai mare de 30 dB, pe cel puțin trei frecvențe audiometrice (tonuri pure), ce apare instantaneu sau în decurs de la câteva ore până la două-trei zile, fiind rezultatul unei perturbări la nivelul cohleei, nervului acustico-vestibular, ariei corticale [90]. După localizare, poate fi preponderent unilaterală sau, mai rar, bilaterală. Incidența surdității brusc instalate se determină anevoios, deoarece multe cazuri nu sunt raportate în condițiile în care pacienții nu se prezintă la medic în momentul instalării afecțiunii. Totuși incidența anuală este de 1:5000-10000 de persoane, cu distribuție relativ egală în funcție de sex și de partea afectată (stângă sau dreaptă). SSN brusc instalată poate să apară la orice vârstă, dar incidența maximă se înregistrează în grupa de vârstă de 50-60 de ani, iar cea minimă – la copii și la grupele de vârstă peste 60 de ani [90]. În cazul acestei afecțiuni, atenția trebuie acordată diagnosticării și instituirii precoce a tratamentului, deoarece de ele depinde în final gravitatea handicapului auditiv. Obiectivul principal al evaluării pacientului trebuie să fie identificarea, printr-o anamneză riguroasă, a unor cauze definite și tratabile [56].

SSN brusc instalată/acută este o urgență medicală importantă, deoarece pronosticul depinde de tratamentul prompt. Dacă această afecțiune nu este tratată precoce, ea se cronicizează. Principala cauză care provoacă încetinirea tratamentului sunt erorile comise la stabilirea diagnosticului, datorate în special faptului că pacienții tratează superficial această afecțiune, crezând că urechea le este înfundată din cauza unei simple răceli. SSN brusc instalată poate fi considerată și un simptom comun al mai multor afecțiuni [11, 56].

Etiologia SSN brusc instalate/acute continuă să fie în discuție. Există câteva cauze posibile, însă niciuna nu explică pe deplin procesul care favorizează instalarea bruscă a hipoacuziei. Cele mai importante cauze sunt: infecțiile, afectarea autoimună, ototoxicitatea, traumatismele, dereglările de circulație și bolile neurologice [67, 211]. În numeroase cazuri nu poate fi identificată o cauză determinantă. În astfel de situații vorbim de o surditate brusc instalată idiopatică. Survine afectarea celulelor ciliate din urechea internă, responsabile de transformarea vibrațiilor sonore în stimul nervos. În funcție de durata acțiunii cauzei care a produs surditatea și de precocitatea tratamentului, afectarea acestor celule poate fi tranzitorie sau definitivă [56, 75].

Intoxicațiile exoendogene sunt responsabile de dereglarea homeostaziei organismului prin: creșterea absorbției toxinelor, intensificarea proceselor de formare și diminuarea eliminării substanțelor toxice din organism, care vor cauza modificarea funcțiilor organelor și sistemelor, perturbarea evoluției proceselor metabolice și ineficacitatea mecanismelor compensatorii de anihilare a toxemiei [36]. Mecanismul expus este valabil și în cazul *ototoxicității medicamentoase* („intoxicarea” urechii), care este provocată de acțiunea medicamentelor sau a substanțelor chimice asupra organului Corti/nervului auditiv sau nervului vestibulocohlear, ce transmite informații legate de auz sau echilibru de la urechea internă spre creier [168, 170].

Ototoxicitatea poate produce deficiențe temporare sau permanente de auz, de echilibru sau

ambele [90]. Multe substanțe chimice au potențial ototoxic, inclusiv medicamentele luate abuziv, substanțele din mediu sau medicațiile prescrise de specialiști.

După clasificarea *CTC-NCI version 2.0*, ototoxicitatea este reflectată ca o formă aparte de toxicitate care implică UE, UM, UI. La afectarea UI, sunt patru tipuri de toxicitate: 0 – lipsa toxicității, I – diminuarea auzului stabilită doar la control audiologic, II – hipoacuzie/tinnitus care nu necesită tratament sau protezare auditivă, III - hipoacuzie/tinnitus care necesită tratament sau protezare auditivă, IV – hipoacuzie/tinnitus incurabil [64]. Toxinele, asociate cu diminuarea auzului, sunt: aminoglicozidele (gentamicina, canamicina afectează preponderent organul Corti, iar streptomycină, tobramicina – preponderent structurile vestibulare – sacula, utricula); medicamentele chimioterapeutice, antineoplazice, în special cele care conțin platină (cisplatină, carboplatină) – afectează preponderent stria vasculară a UI; salicilații în doze mari, chinina (afectează procesele bioelectrice în membranele CCI, CCE – modificările deseori sunt reversibile). Diureticele de ansă pot dereglă bariera electrolitică dintre endolimfă și perilimfă pe baza modificării densității celulelor marginale de susținere care delimitează spațiul endolimfatic. Disbalanța Na, K, Cl, reducerea nivelului de Ca afectează procesul de excitare a CCE, a CCI și a OC. O sursă de toxine pot fi și mușcăturile de șarpe [11, 21].

Date despre ototoxicitatea remediilor medicamentoase au fost obținute inițial din observații clinice, iar, ulterior, studiile experimentale pe animale le-au confirmat pe cele clinice și au evidențiat mecanismele de producere. În afară de toxicitatea medicamentoasă, există și o patologie ototoxică nemedicamentoasă, manifestată mai ales în mediul industrial și, într-o măsură mai mică, în cazul unor intoxicații acute voluntare sau accidentale. Numeroase comunicări din literatura medicală cuprind date despre efectele dăunătoare ale diferitor substanțe chimice asupra aparatului auditiv. Lista preparatelor ototoxice depășește numărul de 200 și ea va continua să crească paralel cu progresele terapiei [45, 67].

*Dereglările de circulație:* cauza vasculară a fost sugerată de anumite particularități anatomice ale cohleei, care depinde extrem de mult de fluxul vascular ce-i asigură oxigenarea și, astfel, funcționarea normală. Mecanismele precum embolia, tromboza, vasospasmul cauzează alterarea fluxului vascular spre cohlee [242]. Există și anumite boli vasculare asociate cu surditatea brusc instalată: insuficiența circulatorie vertebrobazilară, bypass-ul cardiopulmonar, macroglobulinemia Waldenström, anumite forme de leucemie. Nervul cranian VIII poate fi, uneori, afectat de ischemie în teritoriul arterei cerebeloase anteroinferioare.

*Traumatismele* (lovituri ale capului), cu fracturarea osului temporal sau prin producerea unei fistule perilimfice, de asemenea pot să producă surditate brusc instalată. Și trauma sonoră aparține etiologiei respective. *Bolile neurologice*, incluse în cauzele acestui sindrom, sunt: scleroza multiplă, migrena, ischemia teritoriului pontin, tumorile de unghi pontocerebelos. *Cauzele tumorale* includ neurinomul de acustic și hipoacuzia controlaterală secundară chirurgiei neurinomului de acustic, metastazele în osul temporal (conductul auditiv intern), mielomul, leucemia, meningita carcinomatoasă [9, 67].



În acest caz se recomandă un tratament de urgență în staționarul specializat ORL. Criterii de internare: deficiență auditivă de orice formă (grad), cu durata de la primele ore până la 20-25 de zile de la debut [67, 70]. Principiile de bază ale tratamentului surdității brusce instalate sunt următoarele: eliminarea factorului etiologic; începerea tratamentului în termen cât mai precoce de la debutul bolii, care trebuie să includă [2, 14, 27, 31, 43, 72, 84]: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; terapia de deshidratare labirintică; terapia de dezintoxicare și hiposensibilizare; ameliorarea metabolismului urechii interne; ameliorarea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase; reducerea excitabilității sistemului nervos central și a celui vegetativ.

Timp de cinci-zece zile (cinci-șapte zile pentru formele ușoare și moderate, șapte-zece zile pentru formele severe și profunde de surditate) se efectuează perfuzii intravenoase cu remedii vasodilatatoare cerebrale, nootrope, vitamine, diuretice, antioxidante, corticosteroizi [90, 128, 147, 161]. Atunci când este cunoscută cauza, tratamentul este dictat de factorul etiologic care a provocat hipoacuzia. Dacă nu se identifică o etiologie probabilă, tratamentul este prescris în funcție de examenul clinic și de testele de laborator. La necesitate, în funcție de factorul declanșator al deficienței de auz și de starea generală a pacientului, se adaugă: anticoagulante și antidoturi (la formele toxice), antibiotice, hiposensibilizante (la formele infecțioase și posttraumatice), sedative. După evitarea factorilor favorizanți și a manifestărilor reactive cauzate de ei, se adaugă stimulatori biogeni și anticolinesterazice [5, 7, 12].

Medicamentele pătrund în urechea internă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transport, fie prin dizolvare în endoteliul capilar. Traversarea barierei hematolabirintice de către medicamente depinde de caracteristicile chimice ale acestora. „Medicamentele cu greutate moleculară sau încărcătură electrică mare traversează cu dificultate în mod pasiv. Liposolubilitatea mare facilitează trecerea. Medicamentele care se leagă de proteine traversează mai greu” [135]. Potențialul pozitiv din labirintul membranos îngreunează suplimentar trecerea, medicamentele încărcate pozitiv având de înfruntat un gradient electric suplimentar [20]. Durata aflării în staționar este de șapte-douăsprezece zile, în funcție de gravitatea surdității. După terapia de perfuzie, trebuie continuată administrarea vasodilatatoarelor cerebrale, a nootropelor, a antioxidantelor și a vitaminelor timp de 20-30 de zile [67, 70].

Cel mai important factor care influențează procesul de recuperare a auzului este promptitudinea diagnosticului și tratamentului. Pacienții tratați în primele 48 de ore de la debut au un prognostic mult mai bun decât ceilalți. Instituirea rapidă a măsurilor de tratament perfuzabil, care au drept scop recuperarea celulelor ciliate afectate, este esențială pentru recuperarea auzului [89].

Tratamentul farmacoterapeutic al SSN în perioadele acută și subcronică este complex și include administrarea remediilor medicamentoase din grupe farmacologice diferite, precum și utilizarea metodelor fizioterapeutice. Eficacitatea terapiei SSN brusce instalate/acute este în strânsă legătură cu începerea tratamentului medicamentos și cu forma de administrare a preparatelor (de exemplu, la administrarea i/v a medicamentelor, eficacitatea terapiei este mai mare). Intoxicațiile

medicamentoase și nemedicamentoase au un rol important în etiologia SSN, care reprezintă o afecțiune cu morbiditate avansată. Prevalența și caracterul potențial invalidizant al SSN justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților terapeutice și de reabilitare în acest domeniu [67, 90, 129].

SSN acută se caracterizează prin schimbări monomorfe de caracter distrofic a celulelor striei vasculare și celulelor OC, iar **SSN subacută** – preponderent, prin necroză de coagulare și/sau apoptoză reversibilă. SSN cronică se caracterizează prin apoptoză ireversibilă și distrucția celulelor neuroepiteliale ale organului Corti. Pentru CCE, CCI, stările de distrofie, apoptoză și necroză posedă particularități cauzate de structura anatomo-funcțională a cohleei [78]. Deci în cazul SSN cronice, mai bine ar fi să ne referim la tratamentul bolilor somatice asociate. Farmacoterapia afecțiunilor cardiovasculare, a sistemului nervos central și a celui endocrin, corijarea statusului imun, concomitent, și constituie tratamentul profilactic de prevenire a agravării SSN cronice [209].

Farmacoterapia profilactică primară presupune: eliminarea factorilor nocivi din mediul ambiant asupra organului auditiv (zgomot, vibrație, factori chimici, toxici); excluderea din tratamentul (în special al copiilor, al pacienților cu patologie renală) a medicamentelor cu efect ototoxic sau utilizarea lor în indicații vitale, cu prescrierea concomitentă a dezintoxicantelor (refortan, reopoliglucină), antihistaminicelor, vitaminelor; prescrierea vasodilatatoarelor cerebrale (pentoxifilină, vincamină etc.) pacienților care suferă de maladii infecțioase cu factori de risc în dezvoltarea SSN (în special la infecția meningococică).

În stadiul progresiv de stabilizare, principiile de bază ale terapiei conservative medicamentoase sunt: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; ameliorarea metabolismului urechii interne; stimularea analizatorului auditiv și ameliorarea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase [2, 8, 48]. De două ori pe an este necesar de efectuat tratamentul profilactic (două-trei săptămâni) al SSN cu medicamente din grupele prezentate *supra* (vasodilatatoare, nootrope, multivitamine și minerale, antioxidante, fizioterapie, oxibaroterapie). Monitorizarea pacienților trebuie să o facă specialiștii: neurologul, cardiologul, endocrinologul (la necesitate) [21,43].

Astfel, peste 90% din SSN cronice sunt ireversibile, în special formele cohleare. Formele severe profunde nu beneficiază de tratament curativ sau profilactic, ci doar de proteză auditivă sau de implant cohlear [7, 29, 70, 78].

*Reabilitarea electroacustică.* Întrucât SSN reprezintă o problemă atât medicală, cât și socială, reabilitarea acestei afecțiuni este complexă. După trei luni de la instalarea surdității, în caz de necesitate, se efectuează protezarea auditivă (deficiență de auz la ambele urechi de 35-40 dB și mai mult la frecvențele principale ale zonei vorbirii de 500-4000 Hz). În cazul formelor profunde de surditate este indicat implantul cohlear. În cazul tulburărilor de vorbire, individual, sunt recomandate lecțiile surdopedagogului [4, 59].

Pronosticul este incert din cauza prezenței vertijului, ca simptom asociat. Severitatea afecțiunii este de asemenea importantă; cazurile severe se recuperează mai puțin. Eficacitatea farmaco-

terapieii este redusă în cazul pacienților vârstnici [115]. Recuperarea auzului la pacienții cu SSN cronică ireversibilă este realizată prin utilizarea dispozitivelor care îmbunătățesc transmiterea sunetului spre: urechea internă, nervul auditiv, centrul nervoși (protezare auditivă, implant de ureche medie, implant cohlear, implant de trunchi cerebral).

**Produsele medicamentoase combinate (PMC)** presupun asocierea, într-un singur preparat comercial, a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită, în doză fixă [103, 104]. Sunt posibile patru căi de obținere a medicamentelor combinate: asocierea compușilor bine cunoscuți, deja aprobați/utilizați în combinație; principiile deja renumite, incluse pentru prima dată în medicamentul combinat; asocierea unei sau mai multor entități chimice noi cu una sau mai multe substanțe bine cunoscute; combinarea a două sau mai multe entități chimice noi [69, 110].

PMC în doză fixă sunt medicamente, care au trecut prin toate fazele fabricației, inclusiv condiționarea în ambalajul final și etichetarea, conținând două sau mai multe ingrediente farmaceutice active într-un raport fix al dozelor [91, 107]. Ca formă farmaceutică a PMC, predomină în descreștere: comprimatele, soluțiile de dializă peritoneală și capsulele [91].

Datorită argumentelor enumerate, combinațiile fixe au început să fie din ce în ce mai aplicate, de exemplu, de cardiologi în tratamentul hipertensiunii arteriale [140]. Actualmente, se consideră că circa 75% dintre pacienții hipertensivi necesită cel puțin două medicamente pentru un control adecvat al valorilor tensionale [91, 114]. Combinațiile fixe au multiple beneficii în tratamentul anti-hipertensiv, cele mai apreciate fiind sporirea complianței pacientului, eliminarea unor reacții adverse și blocarea simultană a mai multor verigi patogenice ale hipertensiunii arteriale [69].

Pentru eficacitate, cerințele sunt la fel de înalte. Avantajele presupuse trebuie confirmate de studii științifice de eficacitate. Atunci când un PMC ameliorează mai multe simptome ale unei boli, acestea trebuie să apară simultan, pentru ca produsul să poată fi considerat rațional [148]. Este posibil ca studiile de eficiență să nu fie realizate separat pentru fiecare component; de exemplu, deși acidul clavulanic are individual prea puțină activitate antimicrobiană, acesta îmbunătățește eficiența antibioticelor betalactamice [91]. Dacă FDC este prezent în mai multe concentrații, studiile trebuie să documenteze eficiența fiecărei astfel de concentrații. Studiile nu trebuie să fie neapărat noi și originale, mai ales în situațiile în care experimentarea pe componente individuale ar fi neetică [68, 91, 105].

Din punctul de vedere al eficacității, pot apărea trei tipuri de rezultate: de superioritate (față de componentele individuale), de echivalență și de non-inferioritate. Produsele de comparație se aleg cu mare atenție și comparația se face, pentru fiecare efect propus, separat: e.g. dacă se susține că PMC afectează mai puțin măduva osoasă la eficacitate similară, se vor cere rezultate de non-inferioritate pentru eficacitate și de superioritate pentru siguranță [91, 123].

Un alt aspect important este cel al formulării. PMC ridică probleme suplimentare față de produsele cu o singură substanță activă. Pe lângă problemele relevate *supra*, apar unele farmaceutice. Datorită dimensiunii maxime limitate a unor forme farmaceutice, în special cele orale, disponibilul de excipienți este adesea redus (uneori chiar critic) în cazul PMC, mai ales ale celor

care conțin doze mai mari de substanțe active. Proiectarea formei farmaceutice este mai laborioasă – sunt preferate planurile experimentale complete în defavoarea celor fracționate; metodologia este altfel similară, bazată pe proiecte multifactoriale. Farmacotehnic, poate fi o provocare obținerea unui amestec omogen de substanțe active, mai ales atunci când atât concentrațiile, cât și distribuțiile granulometrice ale produselor sunt diferite [91, 69, 102, 254].

Aproape 1/3 din produsele medicamentoase prezente pe piața farmaceutică reprezintă combinații fixe. Medicamentele combinate posedă numeroase avantaje. Astfel, eficiența sporită a efectului terapeutic, prin acțiune aditivă sau sinergică, oferă o rată mai bună de răspuns la o parte mai mare din pacienți. Reducerea efectelor secundare, rezultată din utilizarea unor doze mai mici de substanțe active cu reacții adverse diferite, crește tolerabilitatea medicației și complianța pacienților la tratament. Atenuarea sau anularea mecanismelor de contrareglare declanșate de unele dintre componentele folosite, responsabile de limitarea răspunsului terapeutic la creșterea dozelor, constituie un alt avantaj al terapiei cu medicamente combinate. Asocierea agenților activi cu acțiuni complementare la nivelul organelor-țintă poate fi de asemenea benefică [2, 7, 8, 9].

În urma analizei datelor din literatura de specialitate, am constatat că tratamentul SSN include preponderent câteva grupe de preparate: vasodilatatoare, nootrope, antiinflamatoare, antioxidanți. Pe piața farmaceutică a Republicii Moldova, grupul nootropelor ocupă doar 1,22% din totalul de medicamente, iar dintre acestea doar 0,4% sunt autohtone. Dintre substanțele cerebrovasculare, utilizate în tratamentul SSN, în Nomenclatorul Republicii Moldova se regăsesc doar 47 de denumiri comerciale, ceea ce constituie 0,74% din total. Însă cota-parte a preparatelor combinate este mult mai scăzută. Astfel, o singură asociere dintre două substanțe medicamentoase din aceste grupe este prezentă în cinci denumiri comerciale, dintre care doar una aparține unui producător autohton. În Nomenclatorul României, combinații medicamentoase dintre nootrope și vasodilatatoare cerebrale nu au fost depistate, iar în Nomenclatorul Federației Ruse am atestat doar două astfel de combinații, sub șapte denumiri comerciale [100].

Astfel, drept oportune, pot fi considerate elaborarea și utilizarea remediilor polifuncționale obținute din preparate cu eficiență clinică demonstrată, cu efecte polivalente.

### **1.8. Produse medicamentoase combinate autohtone cu potențial farmacologic în surditatea senzorială**

Terapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii cronice sunt indispensabile de valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentele lor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide [145]. Numărul de surse cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile concurente ale microelementelor, nivelul scăzut de asimilare sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor cu succes în ameliorarea diverselor situații clinice [62]. Pentru soluționarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea produselor combinate polifuncționale, cu eficiență clinică și inofensivitate demonstrată [69].

Este cunoscut faptul că utilizarea preparatelor combinate sporește eficacitatea și durata tratamentului în totalitate. Un medicament combinat reprezintă un amestec de doze fixe, ce include două sau mai multe substanțe active într-o singură formă de dozare, care este fabricată și distribuită în doze fixe [1, 25].

În prezent, elaborarea preparatelor combinate reprezintă un proces foarte complex, care include o mulțime de cercetări farmacologice, tehnologice, chimice, analitice, toxicologice, farmacocinetice, economice [3].

Deci un tratament cu preparate combinate presupune substituirea mai multor medicamente monocomponente cu unul singur, care conține toate acestea doar într-un amestec. Avantajele preparatelor combinate: ușurința de utilizare pentru pacient (îl eliberează pe pacient de a memora cum trebuie administrate mai multe medicamente pentru un tratament complex); confortul psihologic (este cu mult mai ușor de administrat un preparat, indiferent sub ce formă este elaborat, decât mai multe medicamente); potențarea efectului unui tratament complex; micșorarea inactivării substanței active în organism datorită scăderii biotransformării; formarea mediului de activare a unei substanțe active cu ajutorul altei substanțe active; reducerea riscului de apariție a reacțiilor adverse [14, 17].

Însă preparatele combinate posedă de asemenea și dezavantaje precum: dozele fixate ale substanțelor active (nu este posibil în caz de necesitate schimbarea dozei unei substanțe active din componența preparatului); efectul maxim nu apare concomitent; durata de acțiune a substanțelor active este diferită [43].

Așadar, principiile raționale ale unei terapii combinate sunt: indicarea preparatelor combinate doar la necesitatea unei terapii combinate; informarea pacientului de posibilitatea interacțiunii preparatului combinat cu alimentele sau cu alte medicamente; preferarea preparatelor combinate în caz de necesitate a unui tratament îndelungat sau pentru tratamentul unor maladii cronice [3,5].

Metodele contemporane de tratament farmacologic includ diverse combinații medicamentoase. Arsenalul de indicații în cazul inflamațiilor depinde de etapa maladii: în faza acută – preponderent farmacoterapia etiotropă și cea simptomatică, în cazul unor procese cronice – manipulări invazive și remedii medicamentoase complexe. Astfel, farmacologia afecțiunilor inflamatorii impune utilizarea remediilor antibacteriene, regenerative, simptomatice etc. [2, 45].

Una dintre cele mai frecvent utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul otitelor sunt picăturile auriculare. În ultimii ani, pe piața farmaceutică a apărut un număr impunător de astfel de produse, unele fiind autorizate și în Republica Moldova. Însă în prezent există doar un singur producător autohton care produce picături auriculare [69].

PMC pot manifesta sporirea eficacității prin acțiune sinergică și reducerea efectelor secundare [67]. Elaborarea medicamentelor este un proces extrem de complex și include numeroase cercetări tehnologice, farmaceutice, analitice, farmacologice, toxicologice, farmacocinetice, farmacoeconomice care, de comun, implică evaluarea calității, a securității utilizării și a eficacității preparatelor [100, 220].

Farmacoterapia contemporană este indispensabilă de valorificarea compușilor chimici și a principiilor active de origine vegetală. În acest context, drept oportună poate fi considerată utilizarea medicamentelor polifuncționale, obținute din preparate care posedă eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrată cu efecte polivalente [69, 85].

Conceptul de otoprotecție medicamentoasă presupune apărarea OC și UI prin majorarea rezistenței nespecifice în condiții nefavorabile pentru existența celulelor ciliate. Medicamentele otoprotectoare pătrund în urechea internă (UI) din circulația sistemică fie prin mecanisme de transport, fie prin dizolvare în endoteliul capilar. Medicamentele, cu greutate moleculară sau încărcătură electrică mare, traversează cu dificultate în mod pasiv. Liposolubilitatea mare facilitează trecerea [20, 67].

Aminoacidul glicina (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor și un reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos central. Acest aminoacid: reduce tensiunea psihonoțională, sporește capacitatea de muncă intelectuală, manifestă acțiune neuroprotectoare, antitres și sedativă, ameliorează metabolismul cerebral, normalizează somnul, reduce acțiunea toxică a alcoolului, nu provoacă dependență [44].

Lecitina este o fosfolipidă și participă la constituirea membranelor celulare la nivelul creierului și al celulelor nervoase. În deficiența lecitinei, scade eficiența acetilcolinei în țesutul nervos. Lecitina favorizează creșterea și dezvoltarea organismului, sporește capacitatea de muncă fizică și intelectuală, accelerează refacerea organismului după eforturi intense [45].

Dihidroquercitina este un flavonoid derivat din tulpina copacilor *Larix sibirica Ledeb.* și *Larix dahurica*. Dihidroquercitina posedă următoarele acțiuni: antioxidantă, capilaroprotectoare, regeneratoare, detoxifiantă și antiinflamatoare [235].

Alcaloizii de sanguiritină se conțin în planta *Macleaya cordata Will.*, care se caracterizează prin activitate antimicrobiană față de bacteriile gram-pozitive și gram-negative. De asemenea, posedă acțiune antifungică și antimicotică [77, 223, 236].

În cadrul Centrului Științific al Medicamentului (CȘM) al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în colaborare cu SC „CSK Grup Plus” (Chișinău, reprezentant oficial al Companiei SRL „Standart”, Federația Rusă), a fost elaborat un produs medicamentos combinat. La baza compusului propus pentru studiu se află cercetările și elaborările efectuate în cadrul produselor companiei SRL „Standart”, Federația Rusă [77, 222, 235]. Denumirea Flamenă, emulsie orală, 100 ml (CAF-01). Produsul este elaborat de Compania „Standart SRL” din Federația Rusă [36, 68]. Forma de prezentare: emulsie orală în flacoane. Principii active: glicină – 150 mg, dihidroquercetina – 6 mg/5 ml. Certificat de autorizare în Republica Moldova nr. 23972 (conform Ordinului nr. 866 din 16.11.2017 al MSMPS al RM). Deținător al certificatului de autorizare – *CSK Grup Plus*, producător – *Eurofarmaco SA*.

Preparatul medicamentos este original prin faptul că la bază are un complex liposomal antioxidant-fosfolipidic, datorită căruia medicamentul posedă proprietăți biologice unice. Acest produs medicamentos are o acțiune antihipoxică, crește viteza difuziei oxigenului în țesuturi, nor-

malizează procesele respirației tisulare, îmbunătățește activitatea funcțională a celulelor endoteliale, contribuind la o ameliorare semnificativă a microcirculației și parametrilor reologici.

Având în vedere importanța produselor cu efect antioxidant pentru farmacoterapia afecțiunilor senzoriele ale analizatorului auditiv, devine promițătoare utilizarea produsului medicamentos Flamena, cu acțiune polivalentă în tratamentul farmacologic al SSN, în special de etiologie toxică [69].

În acest context am efectuat un studiu experimental preclinic pe animale de laborator privind proprietățile farmacocinetice ale preparatului Flamena, cu scopul de a analiza procesele de absorbție, distribuție, excreție și biotransformare ale dihidroquercetinei după administrarea orală a preparatului la șobolani. Potrivit rezultatelor studiului, s-au constatat următoarele [235]:

1. *Absorbție.* În organismul șobolanilor, preparatul se determină timp de șase ore. Timpul de înjumătățire constituie aproximativ 1,3 ore. După administrarea emulsiei Flamena, dihidroquercetina se absoarbe mai lent din tractul gastrointestinal, atingând concentrația plasmatică maximă peste o oră, comparativ cu administrarea substanței, a cărei concentrație maximă se determină peste 0,5 ore [235].

2. *Distribuție.* Biodisponibilitatea relativă a dihidroquercetinei, după administrarea unică în cadrul preparatului Flamena, este de 1,59 de ori mai mare, în comparație cu substanța dihidroquercetina aparte. Studiul a demonstrat faptul că disponibilitatea tisulară a dihidroquercetinei, după administrarea unică a produsului studiat, descrește în seria: rinichi–stomac–plamâni–splină–inimă–creier–mușchi scheletic (de la 0,693 până la 0,012).

3. *Metabolizare.* După administrarea orală a preparatului Flamena, în urina șobolanilor am identificat, în afară de dihidroquercetină, șapte produse de transformare a acesteia: stereoizomerul dihidroquercetinei, metabolitul metilat al dihidroquercetinei, stereoizomerul metabolitului metilat al dihidroquercetinei, glucuronoconjugatul dihidroquercetinei, glucuronoconjugatul stereoizomerului dihidroquercetinei, glucuronoconjugatul metabolitului metilat al dihidroquercetinei, glucuronoconjugatul stereoizomerului metabolitului metilat al dihidroquercetinei [235].

4. *Eliminare.* Dihidroquercetina se excretă în urină în cantitate de  $10,03 \pm 2,67\%$  din doza administrată. În masele fecale nu a fost depistat compusul testat [67].

În cadrul studiului clinic, desfășurat cu scopul determinării proprietăților farmacocinetice ale preparatului Flamena, emulsie, s-a constatat că timpul de înjumătățire a dihidroquercetinei constituie 0,94-1,2 ore. Durata medie de menținere a substanței în organism este de 2,15-3,11 ore, iar timpul în care se atinge concentrația plasmatică maximă ( $T_{max}$ ) este de 0,7-1,2 ore, independent de doza administrată. Concentrația plasmatică maximă ( $C_{max}$ ) a crescut de la 0,056 mcg/ml, pentru doza unică de 25 ml, până la 0,245 mcg/ml, pentru doza de 100 ml. Pe măsura creșterii de două ori a dozei unice de administrare a preparatului – de la 25 la 50 ml și de la 50 la 100 ml – AUC (aria de sub curbă) pentru dihidroquercetină a crescut de 1,80 și, respectiv, de 1,94 de ori [84]. În cadrul altui studiu clinic, Flamena, 100 ml, s-au demonstrat efectele detoxifiant, antioxidant și imunostimulator [47].

*BioR*<sup>®</sup> este un preparat biologic complex, obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* (elaborat la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, director academician Valeriu Rudic, în colaborare cu „*Ficotehfarm SRL*”). Conține aminoacizi esențiali și non-esențiali, inclusiv aminoacizi imunoactivi (valina, triptofanul, treonina, acidul aspartic, acidul glutamic, alanina, arginina, cisteina, glicina, serina, acidul gama-aminobutiric), polizaharide sulfatate, acizi grași polinesaturați, inclusiv acidul gama-linolenic, macro- și microelemente esențiale. *BioR* posedă un spectru larg de acțiune: citoprotector, regenerant, hepatoprotector, antiinflamator, hipolipemiant, imunomodulator, antiviral. *BioR* manifestă acțiune antioxidantă și de stabilizare a membranelor celulare și lizozomale prin normalizarea metabolismului glutatationului și menținerea la un nivel optim a echilibrului dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor și cel antioxidant. Prezența, în componența lui, a aminoacizilor, a oligopeptidelor și a microelementelor Mn, Fe, Zn, Cu, Se, Cr etc., stimulează procesele de regenerare a țesuturilor și influențează pozitiv asupra imunității celulare și humorale [43, 85].

*BioR*<sup>®</sup> stabilizează membranele celulare și lizozomale, normalizează și menține la un nivel optim echilibrul dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor și cel antioxidant, crește potențialul antioxidant al verigilor enzimatică și neenzimatică: majorează nivelul superoxid-dismutazei, al catalazei și al enzimelor glutatationice, restabilește conținutul glutatationului redus, tocoferolului, SH-grupelor etc. [85, 86].

Precum am menționat anterior, a fost demonstrat dezechilibrul dintre sistemul de oxidare peroxidică a lipidelor și cel antioxidant în afecțiunile ficatului (hepatite cronice, ciroză hepatică). De asemenea, la bolnavii cu afecțiuni cronice hepatice, deseori, se constată SSN [13, 71, 79].

În urma cercetărilor farmacologice clinice, efectuate la pacienții adulți cu SSN (bărbați, femei cu vârsta de 18-60 de ani), am propus o nouă metodă de terapie a SSN, care se manifestă prin majorarea mai evidentă a parametrilor audiologici la pacienți (Brevet de invenție MD 4277 C1 din 27.10.2014 – „Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie”) [47]. Avantajul farmacoterapeutic propus se datorează, în primul rând, efectului antioxidant pronunțat, fapt ce contribuie la creșterea eficacității tratamentului maladiilor analizatorului auditiv [75].

Deși incidența hepatitelor virale în Republica Moldova s-a diminuat considerabil, în bună parte datorită implementării Programelor Naționale, în ultimii ani se atestă totuși o creștere succesivă a letalității cauzate de ciroza hepatică, care depășește de aproximativ trei ori indicii similari din țările vecine [104].

Prin urmare, implementarea inovațiilor și tehnologiilor moderne în tratamentul și profilaxia cirozei hepatice este foarte actuală în practica medicală. Produsul medicamentos combinat Neamon-hepa (capsule, 834 mg), elaborat în cadrul Centrului Științific al Medicamentului (CȘM) al USMF „Nicolae Testemițanu”, conține următoarele *substanțe active*: aspartat de arginină – 450 mg, spironolactonă – 24 mg și produsul indigen *BioR* – 9 mg, pentru prima dată propuse sub for-



ma unei combinații fixe de medicamente (Certificat de inovator nr. 5177 din 10.01.2013, USMF „Nicolae Testemițanu”). Elaborarea produsului Neamon-hepa a fost posibilă datorită cercetărilor și participării active a regretatului profesor Boris Parii [104].

„Aspartatul de arginină stimulează metabolismul celular și cel al ureei, contribuie la neutralizarea și eliminarea amoniacului, reglează nivelul zahărului în sânge. Manifestă acțiune notropă și antiamezică, preîntâmpină modificările metabolice ale aminoacizilor mediatori, crește fosforilarea proteinelor în SNC. Arginina se prescrie în tratamentul și în profilaxia encefalopatiei hepatice, cauzate de surplusul de amoniac în creier” [44]. Una dintre explicații poate fi că L-arginina este un substrat pentru toate izoformele nitricoxidsintetazelor (NOS) implicate în producția oxidului nitric (NO). S-a stabilit o redistribuție a izoformelor NOS în ficatul afectat de ciroză, unde scade expresia izoformei endoteliale (eNOS) și crește considerabil nivelul celei inductibile (iNOS), pe când izoforma neuronală rămâne neschimbată. Acest fapt sugerează o participare diferită a lor în patogeneza maladiei [194].

Spironolactona reprezintă un produs medicamentos diuretic, ce economisește potasiul. Este un antagonist specific al aldosteronului, legându-se competitiv cu receptorii acestuia la nivelul tubilor contorți distali. Stimulează excreția ionilor de sodiu și apă în schimbul celor de potasiu, de magneziu și hidrogen. Are efecte diuretice și antihipertensive. Spironolactona este unul dintre cele mai eficiente diuretice ce mențin ionii de kalium în celule [53].

Eficacitatea și inofensivitatea produsului au fost demonstrate mai întâi prin experimente preclinice pe un lot de 56 de șoareci, cu determinarea toxicității subacute și modelarea hepatitei toxice induse cu  $\text{CCl}_4$  (tetraclorură de carbon) [104, 219].

Astfel, devine interesantă (datorită efectelor antioxidant, metabolic și diuretic) cercetarea produsului respectiv la bolnavii cu SSN acută, asociată cu afecțiuni hepatice [71, 133].

Dintre preparatele autohtone putem menționa și produsul medicamentos combinat *Noocitam*, care, de asemenea, este recomandat conform prospectului de utilizare în tratamentul SSN. Este un preparat combinat sub formă de capsule, ce conține cinarizină și piracetam, producător „Eurofarmaco SA”. O capsulă conține: *substanțe active*: piracetam – 400 mg, cinarizină – 25 mg. Acest preparat medicamentos combinat are efecte marcate antihipoxice, nootrope și vasodilatatoare. Piracetamul activează procesele metabolice în creier prin intensificarea metabolismului energetic și proteic și prin accelerarea utilizării glucozei de către celule și sporirea rezistenței lor la hipoxie; îmbunătățește transmiterea impulsurilor nervoase în neuronii SNC, ameliorează circulația sangvină regională în zona ischemică. Cinarizina este un blocator al canalelor de calciu, ce inhibă aportul ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$  în celule. Posedă efect vasodilatator (în mod deosebit asupra vaselor cerebrale, măbind acțiunea antihipoxică a piracetamului) [46].

Nanotehnologiile sunt tehnologii care operează cu dimensiuni foarte mici, de ordinul nanometrilor (1 nm = o miliardime dintr-un metru). Mai clar, 1 nm are lungimea unui lanț de la 5 până la 10 atomi, iar un fir de păr are diametrul de aproximativ 80 000 nm. Structurile nanometrice nu numai că sunt foarte mici, ajungându-se chiar până la scara atomică în proiectarea lor, ci ele posedă

unele proprietăți total deosebite și neașteptate, în comparație cu trăsăturile aceleiași substanțe luate la nivel macroscopic [67].

În ultimele decenii, nanotehnologia și-a găsit numeroase aplicații în sfera medicinei, în special în domeniul farmaceutic. Pătrunderea medicamentelor spre țesuturile sau celulele-țintă este posibilă prin utilizarea nanoparticulelor special preparate. Nanoparticulele, „încărcate” cu agenți terapeutici, pot fi astfel protejate pentru a spori efectul terapeutic, devin rezistente la sucul gastric și pot să transporteze substanțele active, cu care sunt cuplate, direct în circulația sanguină. Prin introducerea nanoparticulelor transportatoare a substanțelor farmaceutice, se tinde spre o maximizare a biodisponibilității, atât din punctul de vedere al țesutului-țintă, cât și din punctul de vedere al perioadei de timp în care se eliberează substanța activă. Nanoparticulele pot transporta medicamentele în mediul intern al celulei fără a produce efecte adverse, întrucât ele devin active doar la atingerea țintei finale [87, 215, 253].

Nanoparticulele pot transporta medicamente sau conținut genetic în mediul intern al celulei fără a produce efecte adverse, întrucât ele devin active numai după ce ating destinația finală. De asemenea, se previn și fenomenele de supradozare, evitându-se astfel intoxicația medicamentoasă. Pentru nanoparticule, ca și în cazul medicamentelor, paralel cu eficacitatea, se evaluează și siguranța utilizării. În ultimii 30 de ani, numărul și varietatea sistemelor de transport medicamentos cu eliberare controlată au crescut considerabil, dar cu toate succesele obținute, sistemele de transport nu au fost pe deplin acceptate, din cauza unor probleme privind procesul de reglementare [4, 9, 67, 87].

Deci nanomedicina este un domeniu nou, care poate aduce beneficii atât pentru diagnostic, cât și pentru tratament și contribuie în mod semnificativ la o mai bună calitate a vieții. Deși beneficiile estimate ale nanomedicinei sunt colosale, riscurile potențiale pentru sănătatea umană și mediu, de asemenea, sunt considerabile [87]. Creșterea multi-funcționalității și complexității produselor nanomedicale necesită standarde înalte de calitate, de siguranță și eficiență. Deci în cazul tehnologiilor noi, atunci când datele sunt în proces de elaborare și incertitudinea științifică predomină, gestionarea riscului trebuie să fie sporită. În pofida faptului că nanomedicina este la un stadiu incipient de dezvoltare, mecanismele de reglementare ar trebui să ofere calitate, siguranță și eficacitate corespunzătoare produselor nanomedicale. Procesul de studiere științifică ar trebui să fie susținut de elaborarea reglementărilor și ghidurilor de conduită, care ar oferi un nivel satisfăcător de siguranță privind protecția sănătății omului. Abordarea multidisciplinară poate favoriza adoptarea regulamentelor și ghidurilor, destinate gestionării riscurilor și protecției sănătății omului. Patogenetic, prezintă interes tratamentul farmacoterapeutic al SSN, cu nanoparticule de Ag, Zn, oxid de magneziu [67].

În urma studiului efectuat în comun de către Catedra oncologie, hematologie și radioterapie, de Centrul Științific al Medicamentului al IP USMF „Nicolae Testemițanu” și Compania Farmaceutică SC „CSK Grup Plus” din Republica Moldova, a fost obținută o nouă compoziție medicamentoasă (Brevet MD 4341 B1 din 30.04.2015) (1). Produsul a fost patentat ca supliment

alimentar, sub denumirea Merion (MI), suspensie, 100 ml, și reprezintă un complex de vitamine lipo- și hidrosolubile, microelemente, nanoparticule de zinc; excipient - lactoza monohidrat. Produsul respectiv a primit Aviz Sanitar favorabil al MS RM pentru produsele alimentare și nealimentare (nr. 2253 din 24.09.2015), producător „Farmaco SA”, deținător al certificatului - SC „CSK Grup Plus” SRL [74].

Compoziția pentru 100 ml: vitamina A - 0,8 mg; vitamina D2 - 0,005 mg; vitamina E - 10 mg; vitamina C - 100 mg; vitamina B1 - 3 mg; vitamina B2 - 3,6 mg; niacin – 40 mg; vitamina B6 - 2,0 mg; vitamina B12 - 0,003 mg; biotină - 0,06 mg; acid folic - 0,2 mg; acid pantoteic - 15 mg; oxid de magneziu – 375 mg; oxid de cupru - 1,0 mg; selenat de sodiu - 0,055 mg; nanoparticule de oxid de zinc – 6,0 mg; sirop de zahăr, ml – restul (1). Merion reprezintă o combinație echilibrată de vitamine, minerale, nanoparticule, cu acțiune antioxidantă și alte efecte polivalente. DM constituie o sursă echilibrată a compușilor enumerați pentru metabolismul uman în caz de carențe ale surselor enumerate, afecțiuni cronice și supraefort fizic și intelectual [74].

Vitaminele, mineralele și oligoelementele precum magneziul, selenul, cuprul, sodiul sunt esențiale pentru creștere și dezvoltare. Acestea au un rol proeminent în procesele energetice și în transportarea unor substanțe, fiind implicate în multe reacții biochimice moleculare, și constituie componente ale scheletului. Magneziul este un constituent celular, cu rol de catalizator pentru multe funcții metabolice și sisteme de transmisie celulară. Toate aceste elemente reprezintă nutrienți esențiali pentru procesele vieții [61, 121].

Zincul (Zn) este un element esențial care oferă multe beneficii terapeutice. Zn este un component structural, necesar unirii proteinelor ADN, și protejează de asemenea membrana celulară împotriva lizei. Zn reglează nivelurile de vitamina A și cantitatea în care aceasta este eliberată de ficat. Zn ajută la menținerea în bună stare a prostatei și previne hipertrofiile benigne ale prostatei, precum și contribuie la prevenirea neformațiilor organelor reproductive la femei. Pancreasul este o altă glandă care utilizează Zn. Acesta intră în compoziția insulinei și este excretat în secrețiile pancreatice. Metabolismul este de asemenea parțial dependent de prezența zincului, care ajută la transformarea tiroxinei în triiodotironină. În plus, analizatorii gustativ, olfactiv, vizual și auditiv nu ar funcționa în lipsa unei cantități adecvate de Zn în organism [3, 6]. Contribuțiile Zn în funcția normală a AA sunt următoarele: organul Corti - participă la metabolismul vitaminei A, manifestă efect antioxidant prin participarea la complexul Cu-Zn superoxid dismutaza și, astfel, protejând lipidele de POL [179]. Enzimele care conțin Zn participă la metabolismul proteic și collagen la CC (celule ciliate). Zn participă la procesul de mielinizare a axonilor, manifestând efect neuroprotector la NA [67].

Deci formarea radicalilor liberi reprezintă un rol de bază în dezvoltarea SSN. Este demonstrat faptul că administrarea antioxidantelor (vitaminele A, C și B, microelementele Zn și Mg) manifestă efect otoprotector. În cazul SSN brusc instalate, vitaminele A, C și E sporesc efectul terapeutic [108]. În același context este dovedită corelarea dintre administrarea micronutrienților antioxidanți și deficiența auditivă. Administrarea zilnică a antioxidantilor (A, C, E, Mg) se soldea-

ză cu ameliorarea scorului vocal și perceperii sonore la frecvențe înalte [122]. De asemenea, este demonstrat faptul că administrarea combinată a micronutrienților antioxidanți este mai efektivă decât administrarea lor separată [168]. Produsele MI, NH, prin componența sa, pot manifesta efect otoprotector în tratamentul afecțiunilor AA. Astfel, conceptul de otoprotecție medicamentoasă poate fi consolidat prin elaborarea medicamentelor combinate, ținând cont de aspectele patogenice de progresare a surdității și de mecanismele efectelor protectoare.

### **1.9. Particularități ale principiilor de recuperare auditivă electroacustică – protezarea auditivă**

Conform datelor prezentate de OMS, în lume sunt peste 700 mil. de oameni cu deficiențe auditive, 80% dintre care trăiesc în țările în curs de dezvoltare [1]. SSN atât la copii, cât și la maturi, prin consecințele sale, care deseori cauzează invaliditate și tendința de majorare a numărului de persoane la care se constată această patologie, constituie o problemă importantă sub aspect medico-social. SSN se manifestă clinic, prin deficiență auditivă de tip percepție, acufene (tinitus) [221]. Antrenarea, în procesul patologic, a fibrelor porțiunii vestibulare a nervului cranian VIII, provoacă apariția simptomaticei vestibulare concomitent cu cele auditive, și anume: vertij și dereglări de echilibru. Substratul anatomic al SSN este situat nu la nivelul urechii externe și al celei medii, ci la nivelul urechii interne și al centrilor nervoși subcorticali și corticali [67, 79].

Tipurile de SSN sunt entități patologice foarte frecvente, cu gravitate variabilă, de la un grad imprecipabil până la alterarea gravă a funcției auditive, cu consecințe sociale marcate, după cum s-a menționat anterior. Deoarece debutul este deseori insidios și boala se asociază frecvent cu strategii compensatorii subite, hipoacuzia trece uneori neobservată de către medic și pacient [119]. SSN este agravantă prin consecințele sale: sunt cauzele principale ale surdității profunde și cofozei, importanța lor în invalidizare, în special a copiilor, nu se compară cu cele ale surdității de transmisie și mixte; posibilitățile recuperării medicamentoase ale afecțiunilor neurosenzoriale sunt destul de rezervate; asistența medicală, electroacustică, surdopedagogică la pacienții cu surditate de percepție este costisitoare [63, 217]. Deficiența de auz, mai ales formele severe și profunde, modifică poziția individului respectiv în societate, acesta pierde capacitatea de lucru, iar, în cazul unei surdități apărute în copilăria fragedă, – la surdomutitate, retard psihic [67, 120].

În structura deficiențelor de auz, la care se constată auz social neadecvat, 60-80% îi revine surdității neurosenzoriale. Problema nominalizată este cauzată de administrarea irațională a substanțelor ototoxice, de acțiunea numeroșilor factori nocivi, de majorarea duratei medii de viață, de maladiile cardiovasculare și endocrine etc. De regulă, SSN este ireversibilă. În contextul structurii patologiei date a organului auditiv, o importanță deosebită reprezintă recuperarea auditivă realizată la timp [4, 40].

Protezarea auditivă este cea mai frecvent utilizată metodă de recuperare a auzului. Metodele alternative (stimularea structurilor cohleare și retrocohleare sau transmiterea informației sonore la alte organe senzoriale) se utilizează la surditatea profundă, atunci când protezarea auditivă este practic ineficace. Cu regret, în prezent numărul bolnavilor cu indicații pentru protezare auditivă este în creștere. Actualmente, conform diferitor surse, în lume sunt circa 25-30 mil. de oameni care beneficiază de proteze auditive [6, 83].

Proteza auditivă (PA) este un amplificator, care are drept scop restaurarea funcției auditive cât mai aproape de cea normală. În circa 85%, protezele auditive moderne pot ameliora considerabil problema comunicării sociale a persoanelor hipoacuzice. Cu regret, chiar și în țările economic dezvoltate, doar 10-15% din oameni, la care PA ar fi o soluție, le utilizează. În țările slab dezvoltate, o persoană, din 40 de hipoacuzici, beneficiază de PA. În același timp, datele din literatura de specialitate indică faptul că numai 40-50% din utilizatorii protezelor auditive sunt satisfăcuți de rezultatele protezării auditive. Un rol important, în acest context, revine reglării individuale cât mai adecvate a protezelor auditive. Astfel, devine oportună întrebuițarea unor principii de prognozare a eficacității protezării auditive [63, 65].

În general, sunt cunoscute mai multe metode de evaluare a eficacității protezării auditive precum „hearing handicap inventory for the elderly” (HHIE), APHAB. Efectul protezării auditive se estimează în baza unei anchete completate de pacienți. Dezavantajul metodelor respective constă în faptul că acestea conțin numeroase compartimente, necesită mult timp pentru completare și sunt recomandate preponderent persoanelor de vârstă înaintată [224].

Diagnosticul și protezarea auditivă a pacienților cu SSN ar putea fi extinse de cunoașterea severității surdității și eficienței protezării auditive. În acest scop, s-a propus perfectarea indexului de un pronostic, care a cuprins două aspecte: primul - condițiile evoluției severității surdității, al doilea - factorii determinatori ai eficienței protezării auditive.

### **1.10. Perspective de creare și utilizare rațională a medicamentelor combinate**

„Medicamentul reprezintă orice produs de origine vegetală, animală, minerală sau chimică, care interacționează cu structurile biochimice și morfofuncționale ale organismului viu. El are la bază molecule chimice endogene sau exogene, descoperite sau încă nedescoperite. Este foarte important de a studia mecanismul de acțiune al fiecărui medicament în parte, fapt fără de care preparatele noi nu pot ocupa un loc onorabil în rândul produselor farmaceutice moderne” [60].

Regretatul prof. Boris Parii a propus câteva metode, care permit reducerea riscului de apariție a reacțiilor adverse prin alergizare medicamentoasă: „formarea compușilor de cuplare (clatrați), trecerea pulberilor microcristaline în stare amorfă, folosirea principiului amestecurilor eclecticice, diverse metode de transformare a substanțelor chimice organice și neorganice într-o formă apropiată de cea naturală, întrebuițarea metodelor moderne de purificare a remediilor medicamentoase și a altor produse chimice pe larg folosite în viața de toate zilele, segmentarea particulelor celulare

și a macromoleculilor în molecule cu masa medie sau, în măsura posibilităților, în micromolecule etc.” [58, 59, 60].

Ținând cont de faptul că, din punct de vedere fizic, corpurile vii sunt mult mai aproape de cele lichide decât de cele solide, am putea presupune că medicamentele lichide sunt cele mai potrivite pentru organismul uman. Această precizie reiese și din legile de bază ale termodinamicii, conform cărora, dacă într-un sistem închis survin unele schimbări, atunci sistemul tinde spre revenirea lui la starea inițială. În cazul concret, dacă în organismul viu (faza lichidă) au pătruns gaze sau corpuri solide, atunci ultimele trebuie să fie transformate tot în stare lichidă. Astfel, și solubilitatea în apă sau grăsimi este importantă pentru apariția reacțiilor adverse. De perspectivă este elaborarea produselor medicamentoase în formă lichidă [56].

Potrivit unui studiu, cu cât este mai mare doza, cu atât este mai mare și probabilitatea alergizării organismului. În acest context, s-a determinat că produsele medicamentoase, administrate în doza de până la 0,05 g, provoacă alergizare în 9% din cazuri, de la 0,05 până la 0,5 g – în 38% și mai mare de 0,5 g – în 89% din cazuri [60, 243].

O importanță deosebită le revine temperaturii de topire și solubilității în apă sau lipide. Aceasta dovedește rolul forțelor intermoleculare în alergizarea organismului: cu cât ele sunt mai puternice, cu atât e mai mare probabilitatea apariției complicațiilor de origine alergică [58]. Au fost formate două grupe de substanțe, care se utilizează timp îndelungat în medicină. În prima, s-au inclus preparatele cu punctul de topire până la 100°C, iar în a doua – aceiași număr de medicamente cu punctul de topire mai sus de 200°C. De asemenea au fost determinate masa moleculară, doza, solubilitatea în apă și în grăsimi. Pe baza acestor date, a fost propusă formula de determinare a probabilității alergizării organismului [58].

Medicamentele cu punctul de topire mai sus de 200°C au și masa moleculară mai mare și se dizolvă mai puțin în apă sau în grăsimi. Indicele alergizării, calculat după formula respectivă, este egal cu 0,44 în prima grupă și cu 3,24 în grupa a doua. La bolnavi, medicamentele din prima grupă provoacă reacții alergice numai în 3%, iar cele din a doua – în 70% din cazuri. Prin urmare, cu cât mai mic este indicele de alergizare ( $< 1,5$ ), cu atât mai inofensiv este medicamentul. Astfel, conform cercetărilor, inofensivitate sporită posedă următoarele produse medicamentoase: cu temperatura de topire  $< 100^{\circ}\text{C}$ ; cu masa moleculară mică ( $\leq 1000$  UC); în stare amorfă; utilizate în doze  $< 0,5$  g; cu solubilitate înaltă  $\geq 20$  g/l [58, 243].

Deoarece procesele metabolice din organism au loc în mediu acvatic sau lipidic, solubilitatea medicamentelor în mediile respective este importantă pentru efectele lor farmacologice. Deci prognozarea farmacodinamiei și farmacocineticii substanțelor chimice de sinteză poate fi efectuată în baza proprietăților lor fizico-chimice, inclusiv a indicilor termodinamici (solubilitatea în apă sau lipide, starea de agregare, punctul de topire).

Medicamentele utilizate în tratamentul SSN pătrund în urechea internă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transport, fie prin dizolvare în endoteliul capilar. Traversarea barierei hemolabirintice de către medicamente depinde de particularitățile chimice ale acestora [20, 159].

Medicamentele, cu greutate moleculară sau încărcătură electrică mare, traversează cu dificultate, în mod pasiv. Liposolubilitatea înaltă facilitează trecerea. Medicamentele, care se leagă de proteine, traversează mai anevoios [158].

Astfel, eficacitatea tratamentului medicamentos în formele subacute de SSN este rezervată, iar SSN cronice, în mare parte, nu sunt compliantă farmacoterapiei [44]. Așadar, putem constata că numeroasele metode de tratament farmacologic al SSN cronice nu produc efectul benefic scontat, cauzele de bază fiind dificultatea penetrării de către produsele medicamentoase a barierei hemato-labirintice și acțiunea incompletă asupra tuturor factorilor etiologici și a verigilor patogenetice ale SSN [155]. Perfectarea conceptului de otoprotecție medicamentoasă a SSN necesită atât elaborarea noilor produse farmacologice, cât și revizuirea celor utilizate deja în tratamentul SSN, în baza cunoașterii tuturor aspectelor patogeniei și a mecanismelor efectelor otoprotectoare. Prognosticul efectelor farmacologice ale medicamentelor este utilizat în cercetare prin metoda de prognosticare a efectelor alergizante ale medicamentelor [60]. Spectrul grupelor de medicamente, utilizate concomitent în tratamentul farmacologic al SSN, impune elaborarea unor factori de prognosticare a eficacității farmacoterapiei otoprotectoare.

### **1.11. Concluzii și discuții la capitolul 1**

1. Deosebim tratamentul farmacoterapeutic al SSN în perioada acută și în cea cronică. Tratamentul este complex și include administrarea remediilor medicamentoase din grupuri farmacologice diferite, precum și utilizarea metodelor fizioterapeutice. Eficacitatea terapiei SSN brusc instalate este în strânsă corelare cu timpul începutului tratamentului medicamentos și cu modul de administrare a preparatelor (la administrarea i/v a medicamentelor de prim-plan, efectul este sporit). Intoxicațiile medicamentoase și cele nemedicamentoase ocupă un loc important în etiologia unor forme de SSN.

2. Peste 90% dintre formele de SSN sunt ireversibile. Prevalența și caracterul potențial invalidizant al SSN justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților terapeutice și reabilitologice în acest domeniu. Medicația ototoxică sau alte substanțe ototoxice pot fi cauza SSN și a tinnitului. Administrarea simultană a agenților ototoxici sau tratamentul prelungit cu doze majorate de medicamente ototoxice, necesită a fi evitat. Strategiile de tratament moderne sunt: farmacoterapia, protezarea auditivă, mascarea electro-acustică a acufenelor, tratamentul chirurgical, psihoterapia etc.

3. Până în prezent există însă aspecte neelucidate privind particularitățile diagnosticului, în special ale celui genetic, tratamentul farmacologic, pronosticul eficacității de recuperare protetică în surditatea de percepție. SSN poate modifica poziția individului respectiv în societate, acesta poate să-și piardă capacitatea sa de lucru etc. În același timp, eficacitatea tratamentului medicamentos al afecțiunilor analizatorului auditiv subcronice și, în special, formele cronice este destul de rezervată. Procesele inflamatorii ale urechii medii, la rândul lor, reprezintă un pericol

prin posibilitatea dezvoltării SSN și a complicațiilor supurate endocraniene și generalizate. Astfel, devin oportune studiile ce vor contribui la ameliorarea și/sau preîntâmpinarea consecințelor SSN și a otitelor. De asemenea, de perspectivă este elaborarea noilor medicamente pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii supurative și nesupurative ale analizatorului auditiv, inclusiv în scopul prevenirii dezvoltării complicațiilor sensorineurale ale urechii interne.

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



## 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

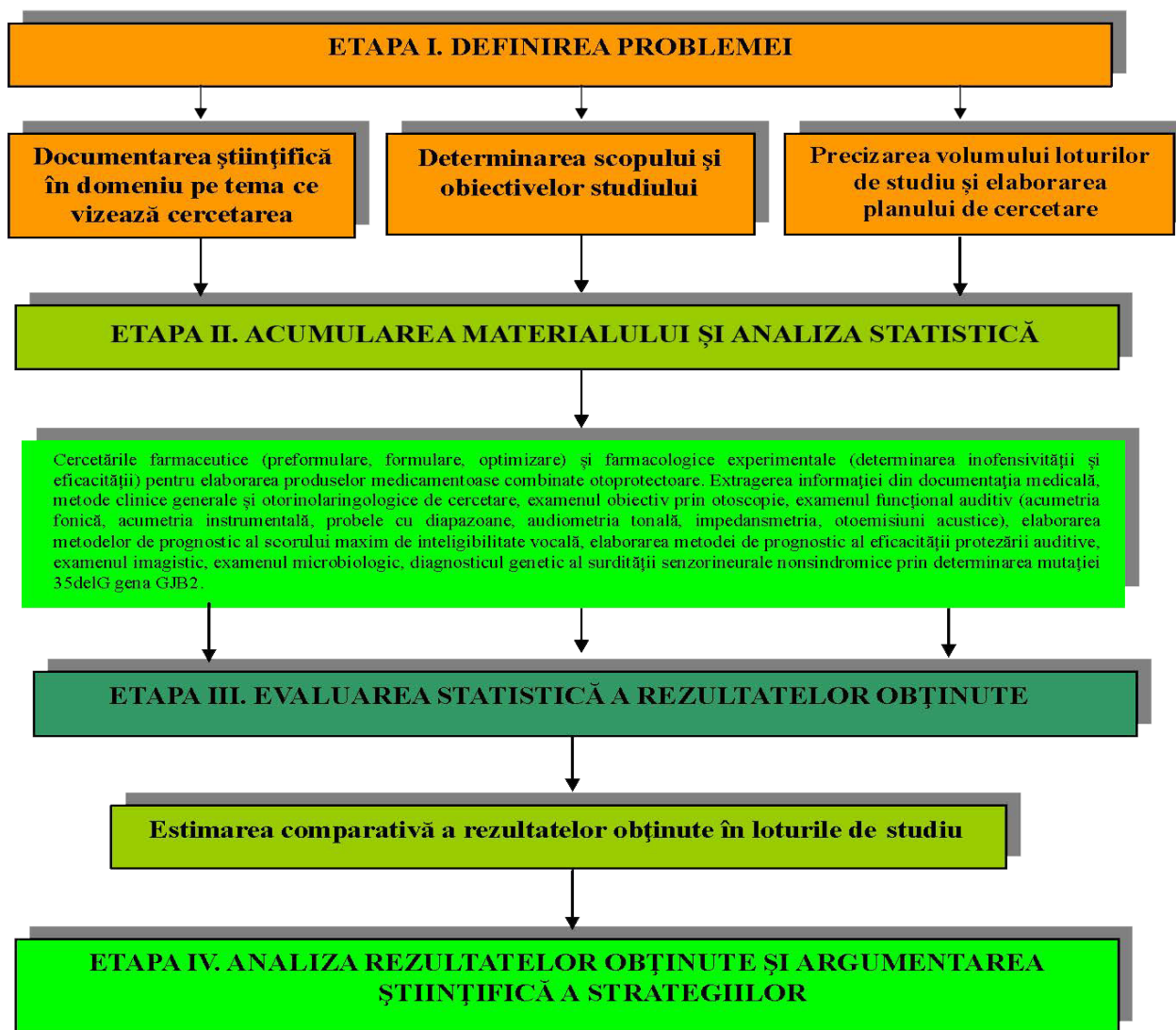
### Date generale

Studiul reprezintă o cercetare complexă, în care au fost utilizate numeroase metode moderne de investigare.

În lucrare am utilizat *metode* de cercetare standardizate pentru următoarele tipuri de studii:

- **istoric, bibliografico-analitic, logic și derivatele acestuia**, care pot fi definite ca cercetare teoretică a surselor: (1) *bibliografică* – a conceptelor și abordărilor teoretice ale metodei tradiționale; (2) *studiu de caz*, care prezintă metode moderne de proiectare, de stimulare și modelare a măsurilor manageriale din domeniul cercetat;
- **matematic** – prelucrarea numerică, de analiză, de simulare a datelor primare;
- **statistic** – analiza cantitativă și calitativă a datelor primare în cadrul cercetării;
- **epidemiologic** – analiza integrală a indicatorilor epidemiologici în cadrul cercetării date;
- **metoda de observație** – analiza particularităților eficienței metodelor de diagnostic pentru a putea examina dinamica acestora;
- **sociologic** (chestionare, interviu) – colectarea datelor individuale, constatarea particularităților pacienților selectați; selectarea informației cu aplicarea chestionarului STEPS;
- **analiza sistematică**, care este un ansamblu de principii și procedee ce a permis identificarea unui obiect de studiu și a caracterizat cu acuratețe, exactitate, sensibilitate, precizie și selectivitate subiectul acestuia;
- **analiza comparativă** a realizat o sistematizare de tendință naturală a spiritului (impulsul natural și spontan) cercetătorului: de a compara datele obținute; Așadar, această metodă nu dispune de o procedură tehnică proprie și se utilizează la toate etapele și nivelele cercetărilor. Subiectul cercetat a fost detaliat și specificat în elementele componente și a fost făcut de studiul fiecăreia dintre acestea, ca parte necesară a întregului.
- **analiza experimentală** – sistematizarea rezultatelor obținute în baza măsurilor manageriale experimentale (algoritmul conceput, conduita elaborată, formularul medical etc.);
- **metoda de sinteză** presupune unirea elementelor analizate separat în cadrul întregului unitar, legat prin resorturi interne cauzale și funcționale (inițial s-a recurs la divizarea determinantilor, care au provocat elaborarea ipotezei).

Studiul a fost realizat în patru etape:



**Figura 2.1. Designul studiului.**

*Etapa I. Definierea problemei*

1. Documentarea științifică în domeniu prin studierea literaturii științifice și metodicodidactice pe tema ce vizează cercetarea.
2. Determinarea scopului și a obiectivelor studiului.
3. Precizarea volumului loturilor de studiu.
4. Elaborarea planului de cercetare.

*Etapa a II-a. Observarea statistică și acumularea materialului*

1. Elaborarea anchetelor și instrumentelor de colectare a materialului de studiu.
2. Cercetările farmaceutice (preformulare, formulare, optimizare) și farmacologice experimentale (determinarea inofensivității și eficacității) pentru elaborarea produselor medicamentoase combinate otoprotectoare.
3. Înregistrarea caracteristicilor fenomenelor și colectivităților studiate, utilizând procedeele de înregistrare totală sau parțială: extragerea informației din documentația medicală, înregistrarea datelor în cadrul anchetelor prin sondaj, metode clinice generale și otorinolaringologice

de cercetare, examenul obiectiv prin otoscopie, examenul funcțional auditiv (acumetria fonică, acumetria instrumentală, probele cu diapazoane, audiometria tonală, impedansmetria, otoemisiuni acustice), elaborarea metodelor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și de prognostic al eficacității protezării auditive, examenul imagistic și cel microbiologic, diagnosticul genetic al surdității senzorieurale nonsindromice prin determinarea mutației 35delG gena GJB2.

*Etapa a III-a. Evaluarea statistică a rezultatelor obținute*

*Etapa a IV-a. Analiza rezultatelor obținute și argumentarea științifică a strategiilor*

1. Evaluarea indicilor de bază caracteristici loturilor de studiu.
2. Elaborarea unui algoritm de cercetare farmacologică experimentală a eficacității oto-protectoare la animale de laborator, precum și a unui algoritm de conduită a bolnavilor cu SSN.

## **2.1. Studii preclinice**

Elaborarea produselor medicamentoase include două compartimente: preclinic (farmaceutic și farmacologic) și clinic. Experimentele farmacologice au fost efectuate pe șobolani albi, cu masa corporală de 150-250 g, și pe șoareci albi din crescătoria vivariului USMF „Nicolae Testemițanu”, cu masa corporală de 18-25 g. Animalele, plasate solitar în cuști, au avut condiții standard de întreținere: temperatura mediului constantă – 21-22°C, umiditatea relativă a aerului – 60%, regimul întuneric-lumină – 12:12 ore. Pentru obținerea aclimatizării, cu o săptămână înainte de efectuarea experimentului, animalele au fost plasate în camera de carantină. Regimul alimentar standard pentru animale de laborator, echilibrat în proteine, glucide, lipide, minerale și vitamine, a fost administrat sub formă de granule și apă *ad libitum*. Pentru utilizarea apei au fost stabilite autoapeducte. Animalele nu au primit hrană cu 12 ore înainte de inițierea experimentului și patru ore după administrarea preparatului studiat.

În cercetare au fost utilizați 192 de șoareci (*Rodeta Muridae domesticus*) și 228 de șobolani (*Rattus Muridae*) pentru determinarea toxicității acute, toxicității subcronice și a efectelor ototoxice/otoprotectoare ale produselor medicamentoase combinate. În context am testat următoarele produse:

1. Flamena, emusie (CAF-01) – autorizat, ca medicament în Republica Moldova (RM). Elaborat în Federația Rusă. Cercetat farmacologic și farmaceutic în RM;
3. Merion, suspensie (MI) – autorizat în RM ca supliment alimentar; elaborat în RM;
4. Neamon-hepa, capsule (NH-01) – elaborat în cadrul CȘM;
5. CB-12, picături auriculare, – elaborat în cadrul CȘM.

Toate investigațiile toxico-farmacologice au fost efectuate conform legislației [41] și aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”.

Studiile preclinice farmaceutice și farmacologice pe animale de laborator au fost efectuate la IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în subdiviziunile:

1. Centrul Științific al Medicamentului (șef centru – V. Valica, dr. hab. farm., profesor

univ.), în cadrul Laboratorului analiză, standardizare și controlul calității medicamentelor (șef laborator - L. Uncu, dr. șt. farm., conf. univ.) și în Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor (șef laborator - S. Parii, dr. șt. med., conf. cercet.). Aici s-au efectuat cercetările farmaceutice ale produselor CB-12, NH-01 și MI; s-a determinat toxicitatea acută a produsului CB-12, precum și toxicitatea acută și cea cronică ale produselor CAF-01 și MI; de asemenea s-au stabilit inofensivitatea otoprotectoare pe animale de laborator a CB-12 și eficacitatea otoprotectoare preclinică a produselor CAF-01, NH-01, MI pe animale de laborator în SSN indusă.

2. Catedra de farmacologie și farmacie clinică (șef catedră – V. Gonciar, dr. hab. med., profesor univ.) – au fost determinate toxicitatea acută și cea cronică ale produsului MI, precum și eficacitatea otoprotectoare preclinică a preparatelor CAF-01, NH-01, MI pe animale de laborator în SSN indusă.

3. Laboratorul de biochimie (șef laborator – V. Gudumac, dr. hab. med., profesor univ.). Aici s-au efectuat cercetări hematologice și biochimice, s-a analizat statusul microelementelor, fracțiilor lipidice, complexului antioxidant la animalele de laborator pentru a constata eficacitatea și inofensivitatea produselor CB-12, CAF-01, NH-01, MI.

4. Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare (șef laborator – V. Nacu, dr. hab. med., profesor univ.) – a fost realizat studiul microscopic și histopatologic al determinării inofensivității și a eficacității preparatelor CB-12, CAF-01, NH-01, MI.

5. Catedra de epidemiologie (șef catedră – V. Prisacari, acad., dr. hab. med., profesor univ.) – a fost stabilit spectrul antimicrobian al produsului CB-12.

### ***2.1.1. Metode preclinice de determinare a otoprotecției medicamentoase***

1. Anestezie tip, doza: sol. rometar 20 mg/kg - i/m; sol. nembotal 20-30 mg/kg, i/m; tio-pental de natriu 50 mg/kg i/p; sol. diazepam 2,0 mg/kg i/p, Analgezie - sol. diclofenac i/m [67].

2. Modelarea experimentală (șobolani). Inducerea SSN a fost efectuată prin administrarea soluției de gentamicină 100 mg/kg, câte 1 ml i/m, o dată/zi cinci zile [136, 139, 154, 156].

3. Evaluarea auzului la animalele de laborator (șobolani) - înainte de experiment, după ototoxicitate, după tratament.

Reflexul *Rreyer* – determinarea reacției șobolanilor la stimulii sonori de intensitate 70-80 dB în câmp liber audiv de la distanța de 1 m s-a efectuat cu ajutorul aparatului PA5 Interacoustics [67].

- Otoscopie – AD, AS. După inducerea animalului de laborator în somn medicamentos, cu otoscopul Visual Ear Pick F180, înzestrat cu sursă de lumină, s-a efectuat otoscopia pentru a evalua conductul extern și membrana timpanică.

*Otoemisiuni acustice.* După efectuarea otoscopiei, animalelor cu lipsa modificărilor patologice din partea CAE și membrana timpanică, s-a efectuat înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii (TEOEA) și a otoemisiilor pe produs de distorsiune (DPOEA) cu ajutorul aparatului Neurosoft-Neiro-audio. Pentru înregistrarea TEOEA și PDOEA a fost folosită o sondă acustică,

calibrată, care cuprinde două megafoane pentru transmiterea frecvențelor primare și un microfon, care captează otoemisiile acustice reflectate în CAE. La capătul sondei se îmbrăca o olivă din silicon, aleasă individual, corespunzător dimensiunilor CAE al animalului de laborator.

Pentru înregistrarea TEOEA au fost determinate intensitatea măsurată în dB SPL a OEA și raportul semnal OEA/zgomot de fond la intensitățile 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 Hz, la intensitatea de 90 dB. Stimulul sonor era alcătuit din două sunete pure de frecvență  $F_1$  și  $F_2$ , numite frecvențe primare. Au fost studiate produsele de distorsiune a otoemisiiei acustice de tipul  $2F_1 - F_2$ , fiind respectat raportul  $F_1/F_2$  în valoare de 1,22. PDOEA au fost măsurate la următoarele frecvențe și raport al intensităților stimulilor sonori la frecvențele  $f_1$  și  $f_2$ : 1500 Hz – 59/53dB; 2100 Hz – 64/54 dB; 3300 Hz – 62/55 dB; 4200 Hz – 62/54 dB. Intensitatea stimulului sonor  $f_1$  – 70 dB, intensitatea stimulului sonor  $f_2$  – 60 dB.

Prezența PDOEA a fost apreciată după analiza spectrală, prin cuantificarea unui „pisc” pentru fiecare frecvență care apărea deasupra zgomotului ambiental, respectându-se cerințele pentru testare ( $> 3$  dB SPL). Rezultatele obținute apăreau pe ecran în formă grafică, relevând amplitudinea PDOEA în funcție de frecvențele primare. Pentru comoditate, amplitudinea PDOEA a fost menționată în funcție de media geometrică a frecvențelor primare ale stimulului. Reflexul Preyer (după Hilov) la zgomot de 70-80 deciBelli la frecvențele 500, 1000, 2000, 4000 Hz. Animalul în stare de veghe, peste o oră după administrarea alimentelor, se plasa singur în cușcă și se expunea la sunete cu ajutorul testerului sonor Interacustics PA-5.

### ***2.1.2. Determinarea inofensivității preparatelor otoprotectoare la toxicitatea acută***

**2.1.2.1. Toxicitatea acută.** Cercetările au fost efectuate conform recomandărilor metodice pentru studiul toxicității generale a substanțelor farmaceutice. Concentrațiile farmaceutice, cu corespunderea dozelor respective de 50, 100, 300, 600, 1000 și, respectiv, 2000 mg/kg ale compusului, au fost pregătite în cadrul Laboratorului analiză, standardizare și controlul medicamentelor al CȘM. Determinarea toxicității acute s-a efectuat în Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor prin administrarea enterală și intraperitoneală a Flamenă, gel, CB-12, Flamenă, emulsie, Merion, suspensie. Vârsta și masa corporală a animalelor de laborator au fost selectate conform cerințelor indicate în recomandările date. Animalele au fost obținute din aceeași sursă, condițiile de trai și cele de alimentare au corespuns cerințelor sanitare. Șobolanii și șoarecii au fost cântăriți și repartizați în loturi omogene, a câte cinci-șase masculi și cinci-șase femele, conform masei corporale. Substanțele cercetate au fost diluate în volume constante de soluție fiziologică de 0,9% (câte 3-5 ml pentru fiecare șobolan la administrarea internă și 0,2-3 ml pentru șoarecii și șobolani la injectarea intraperitoneală, conform recomandărilor). Preparatele studiate și cele de referință au fost administrate șobolanilor enteral prin gavaj, iar șoricelilor enteral prin gavaj și intraperitoneal. Produsele testate au fost administrate într-o singură priză.

Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile și cântărite în a 2-a, a 7-a, a 14-a zile (înainte de eutanasiere). În timpul observațiilor am 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 am înregistrat timpul apariției fenomenelor de intoxicație și decesul animalelor. Vizual s-a determinat tabloul clinic al intoxicației. Animalele decedate și cele muribunde din fiecare lot (după eutanasiere prin decapitare sau torsionare cervicală, conform cerințelor etice) au fost disecate în mod separat, pentru a efectua studiul organelor interne și a confirma modificările obținute în experiență.

**2.1.2.2. Toxicitatea subcronică.** Concentrațiile farmaceutice cu dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg ale produselor Flarena, emulsie, Merion, suspensie, au fost pregătite în cadrul Laboratorului analiză, standardizare și controlul medicamentelor al CȘM. Preparatele medicamentoase (PMC) au fost diluate în volume constante cu soluție fiziologică de 0,9%, în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrare. Dozele au fost selectate conform recomandărilor metodice (3, 7, 9) și datelor obținute la determinarea toxicității acute. Toxicitatea subcronică s-a stabilit în cadrul Laboratorului evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al CȘM pe 24 de șobolani femele, cu masa corporală între 210 și 240 g, repartizați în trei loturi a câte opt animale, fiecare în celule separate. Substanța cercetată CAF-01 și MI s-a administrat în două doze (100 și 1000 mg/kg) timp de 30 de zile, indusă intern în terci alimentar. *Lotul-martor a primit doar terci alimentar.* Animalele au fost supravegheate până la ingerarea completă a alimentelor. În ajun de prelevarea probelor de sânge, de la șobolani au fost rețruse recipientele cu mâncare. La fiecare șapte zile, animalele din toate loturile se cântăreau. Zilnic se urmăreau comportamentul lor, culoarea pielii și învelișul pilos. La începutul experimentului, prin incizia pielii în regiunea inferioară a mandibulei, s-a colectat sânge pentru examinare. Inițial și peste 30 de zile s-a preluat frotiu pentru examinarea formulei leucocitare. Șobolanii au fost eutanasiați peste 30 de zile, respectând cerințele etice. Sângele s-a colectat pentru analize biochimice (determinarea proteinei totale, albuminei, creatininei, ureei, glucozei, colesterolului, AsAT, AlAT, fosfatazei alcaline), iar animalele au fost disecate și s-a efectuat studiul macroscopic al organelor interne. Inima, pulmonii, ficatul, splina și rinichii au fost separați, cântăriți și utilizați ulterior pentru studiul microscopic.

Testele de laborator au fost efectuate până la inițierea studiului și peste 30 de zile de administrare a preparatului. Colectarea sângelui de la animale s-a efectuat peste 12 ore după inaniție. În ajun de prelevare a probelor de sânge de la șobolani, au fost rețruse recipientele cu mâncare. A doua zi, între orele 9.00 și 10.00, am colectat proba de sânge după incizia mucoasei cavității bucale în regiunea mandibulei inferioare, până la administrarea preparatului și la sfârșitul experimentului (după decapitare).

**Teste hematologice:** hematocritul, hemoglobina, eritrocitele, leucocitele, limfocitele. **Bi-ochimia serului sangvin:** proteina totală, aspartataminotransferaza (AsAT), alaninamiotransferaza (AlAT), fosfataza alcalină (FA), ureea, creatinina, glucoza, albumina, colesterolul, trigliceridele

(AAT cu ABTS), SH-grupe albumin, produşii finali de glicare avansată (AGE), produşii proteici de oxidare avansată (PPOA), albumina ischemic modificată (AIM), activitatea antioxidantă prin metoda CUPRAC (*Cupric ion reducing antioxidant capacity*), SH-grupe proteice, concentraţia de calciu şi fosfor,  $\gamma$ -GTP – gama-glutamyltranspeptidaza, PCE – pseudocolinesteraza, DAM – dialdehida malonică, SOD – superoxid dismutaza. Din ser am evaluat nivelul AlAT, AsAT, FA şi al bilirubinei totale, apreciate cu ajutorul sistemului *Beckman Synchron LX* (Beckman Coulter, Villepinte, France); LDH – prin metoda Bergmeyer & Bernt [35, 61].

**Examinări fiziologice:** comportamentul, activitatea motorie spontană.

**Examinarea patomorfologică** a inclus: necropsia, examenul macroscopic, cântărirea şi examenul histologic al organelor interne. Necropsia a fost efectuată sub supravegherea nemijlocită a morfologului. După eutanasiere, animalele au fost examinate cu atenţie, în special semnele patologice externe. Am examinat cavităţile toracică şi abdominală, am efectuat cercetarea macro- şi microscopică a organelor interne. **Organele care au fost cântărite:** inima, plămâni cu bronhiile, ficatul, splina, rinichii. Precizia cântarului utilizat a fost verificată până la iniţierea studiului. **Organele supuse examenului macroscopic:** ganglionii limfatici, glandele mamare (la femele), aorta, inima, laringele, traheea, plămâni cu bronhiile, timusul, esofagul, stomacul (porţiunile glandulară şi agranulară), duodenul, intestinul subţire, intestinul gros, ficatul, pancreasul, splina, rinichii, glandele suprarenale, vezica urinară, uterul (la femele), creierul (trei porţiuni: anterioară, medie şi posterioară). **Organele supuse examenului histologic:** inima, plămâni cu bronhiile, ficatul, splina, rinichii. Investigaţiile morfologice au fost efectuate la microtomul de secţionare LEICA RM2235 (Germania).

#### **Metodele de cercetare a parametrilor biochimici**

În prezenta lucrare am utilizat testele de laborator hematologice şi biochimice, care reflectă suficient de amplu gradul de suferinţă al organelor afectate în stările patologice şi evoluarea consecinţelor funcţionale asupra organismului. Cercetările biochimice s-au efectuat cu reactivi standard ale Firmei „Beckman”, la analizatorul Spectrum al firmei „Ebbot” (SUA) în Laboratorul clinic al Centrului Republican de Diagnosticare Medicală.

Sângele proaspăt colectat, după eutanasierea animalelor, păstrat la temperatura camerei nu mai mult de patru-şase ore sau proaspăt conservat la temperatura de 4°C, se centrifugă timp de 10 min. la 3000 rot./min. Pentru cercetările biochimice, o parte din ser se folosea imediat, iar alta - era congelată. Pentru efectuarea analizelor biochimice am utilizat serul obţinut din sângele proaspăt. Serul poate fi păstrat timp îndelungat la temperatura de 18-20°C. Pentru a determina conţinutul enzimelor şi hidroxidurilor după eutanasierea animalelor, am colectat o parte din ficat cu păstrarea lui în camera de congelare. Ţesutul se dezgheţa şi apoi se omogeniza cu ajutorul omogenizatorului de sticlă cu pisălog de teflon. În calitate de mediu de suspensie am utilizat soluţia de zaharoză 0,25M (pH 7,4), ce conţine 0,001M EDTA, astfel ca diluţia finală a homogenatului să constituie 1:10. Pentru a distruge complet membranele celulare, homogenatul se prelucra cu triton X – 100 în concentraţia finală 0,1%. Pentru a separa celulele şi nucleeele distruse incomplet, homogenatele

tisulare se centrifugau timp de 15 min. la 3000 rot./min. Lichidul supernatant se trecea în eprubete curate și până la examinare se păstra în congelator la temperatura de -18-20°C. În ser am determinat activitatea în conformitate cu metodele utilizate pe larg în practica medicală [35].

**Determinarea activității enzimelor sistemului antioxidant.** Studiul a inclus aprecierea activității următoarelor enzime ale sistemului antioxidant: superoxidismutazei (SOD); catalazei (CAT); glutationreductazei (GR); 7-glutamiltanspeptidazei ( $\gamma$ -GTP).

Activitatea SOD s-a apreciat conform metodei prezentate de Kostiu V.A. și al. [237] și s-a exprimat în procente convenționale de inhibiție la gram de proteină.

Activitatea catalazei s-a efectuat după metoda elaborată de Koroliux M.A. și al. [235], care se bazează pe proprietatea enzimei de a cataliza reacția de scindare a peroxidului de hidrogen ( $H_2O_2$ ), cu formarea oxigenului molecular ( $O_2$ ) și 1-120.

GR catalizează reacția de reducere a glutationului oxidat în prezența NADPH<sub>2</sub>. Viteza oxidării coenzimei NADPH<sub>2</sub> a fost determinată spectrofotometric la 340 nm. Activitatea enzimei a fost exprimată în nmol de NADPH<sub>2</sub>, oxidat timp de 1 sec. la 1 gram de țesut (nmol/s•g) [204].

Activitatea  $\gamma$ -GTP a fost determinată după procedeul prezentat de Kolb V.G. [227], în modifi cația V. Gudumac [49], care se bazează pe capacitatea enzimei de a transfera reziduu l glutamic al  $\gamma$ -L-glutamilt-p-nitroanilinei la acceptorul glicil-glicină. În urma acestei reacții, se eliberează p-nitroanilina, a cărei concentrație este direct proporțională cu activitatea enzimei. Activitatea enzimei s-a exprimat în nmol/sec. la 1 gram de țesut (nmol/s•g).

### **2.1.3. Metode de cercetare a proprietăților antibacteriene**

Forma farmaceutică - 1 (ciprofloxacina + ulei volatil de busuioc + excipienți – produsul CB12); Forma farmaceutică - 2 (ciprofloxacina + excipienți), Forma farmaceutică - 3 (Placebo/excipienți). Uleiul eteric *Oleum basilicum* a fost dizolvat în dimetilformamidă (1,2 ml + 1,8 DMF) și în bulion peptonat din carne (2 ml + 18 ml BP).

*Metodologia.* Cercetările au fost efectuate prin metoda diluărilor în serii în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat din carne 2%, pH = 7,0). În calitate de culturi de referință au fost utilizate: *Staphylococcus aureus* (tulpina 209), *Enterococcus faecalis* (t.ATCC 19433), *Escherichia coli* (t.ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (t.ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (t.HX 19222), *Klebsiella pneumoniae* (t.3534/51), *Salmonella typhimurium*, *Acinetobacter*.

Inițial, uleiul volatil a fost dizolvat. În continuare, culturile investigate de microorganisme, crescute timp de 24 de ore pe agar peptonat înclinat, au fost spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu și diluate până la nivelul standardului optic de turbiditate cu obținerea inoculelor, ce conțin 1 milion de corpi microbieni în 1 ml de mediu. Inoculatele obținute au fost diluate cu substanța cercetată în raport de 1:1. Culturile obținute le-am supus termostatării la temperatura de 37°C (timp de 24, 48 de ore).

În calitate de matror au servit mediile nutritive însămânțate cu aceleași tulpini, fără conți-



nutul compușilor studiați. Activitatea bacteriostatică [concentrația minimă de inhibiție – CMI] a fost stabilită în cazul lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid.

Activitatea bactericidă [concentrația minimă bactericidă - CMB] s-a determinat în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe geloză peptonată, cu termostatarea ulterioară timp de 24, 48 de ore. Activitatea biocidă a *O. basilicum* împotriva tulpinilor patogene a fost evaluată prin aplicarea unei metode de diluție.

#### **2.1.4. Metode de cercetare farmaceutică**

##### **Metodele cromatografice utilizate pentru analiza picăturilor auriculare**

Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC, denumită anterior cromatografie lichidă la presiune înaltă) este o tehnică în chimia analitică utilizată pentru a separa, a identifica și a cuantifica fiecare component într-un amestec. Se bazează pe metoda de pompare, pentru a trece un solvent lichid sub presiune, care conține amestecul de probă printr-o coloană umplută cu un material adsorbant solid [118]. Fiecare component din amestec interacționează puțin diferit cu materialul adsorbant, determinând picuri diverse pentru diferite componente și provoacă separarea componentelor pe măsură ce curge din coloană. HPLC se bazează pe procesul de trecere a unui lichid sub presiune și un amestec de probă printr-o coloană umplută cu adsorbant, ceea ce provoacă separarea componentelor amestecului. Componentul activ al coloanei, adsorbantul, este în mod tipic un material granular, confecționat din particule solide (de exemplu, silice, polimeri etc.), cu dimensiuni de 2-50 μm. Componentele amestecului de probă sunt separate unul de celălalt datorită gradelor lor diferite de interacțiune cu particulele adsorbante. Lichidul sub presiune este, de obicei, un amestec de solvenți (de exemplu, apă, acetonitril și/sau metanol) și reprezintă faza mobilă. Compoziția și temperatura acestuia au un rol deosebit în procesul de separare, prin influențarea interacțiunilor care au loc între componentele amestecului și adsorbent [12, 84, 169].

În aceste cercetări am utilizat cromatograful de gaze „Chrom-5”, dotat cu detector de ionizare în flacără și cu sistem de colectare și prelucrare a datelor pe baza calculatorului IBM PC.

##### **Metode fizico-chimice pentru aprecierea calității picăturilor auriculare**

Cu ajutorul PH-metrului CONSORT C86, se măsoară activitatea ionilor de hidrogen în soluțiile pe bază de apă, care indică aciditatea sau alcalinitatea exprimată, ca și pH. Diferența de potențial electric este asociată cu aciditatea sau pH-ul soluției [50].

*Metoda spectrofotometrică*, descrisă în FR ediția a X-a, cu unele modificări, la spectrofotometru *UV-VIS* model *Agilent 8456*, a fost efectuată în Laboratorul analiza, standardizarea și controlul calității al CȘM a USMF „Nicolae Testemițanu”. *Metoda HPLC*, descrisă în Ph.Eur. Pentru alegerea coloanelor și a fazelor mobile în metoda HPLC, se impune selectarea minuțioasă a coloanelor, a fazelor mobile, a detectorului, a regimului de temperatură, toate acestea în funcție de natura analiților, a substanțelor auxiliare ce compun forma farmaceutică și a interacțiunilor sterice presupuse care au loc între toate componentele procedurii de separare cromatografică [49]

## Determinarea densității

*Metoda 1.* Densitatea se determină cu ajutorul picnometrului sau al areometrului. Picnometrul se folosește la determinarea valorilor densității cu precizie până la 0,001, iar areometrul – la stabilirea densității cu precizie până la 0,01. Un picnometru curat și uscat se cântărește cu o precizie până la 0,0002 g. Cu ajutorul unei seringi, se umple cu apă distilată puțin mai sus de linie, se închide cu dopul și se lasă timp de 20 de minute în termostat, în care se menține mereu temperatura de 20°C, cu precizie până la 0,1°C. La această temperatură, nivelul apei în picnometru se aduce până la linie, absorbindu-se excesul de apă cu ajutorul hârtiei de filtru sau al pipetei. Picnometrul iarăși se acoperă cu dopul și se lasă încă zece minute în termostat. Apoi acesta se scoate din termostat, cu hârtie de filtru se șterge din exterior și pereții din interiorul sticlei de la suprafață, apoi se cântărește pe balanța analitică cu aceeași precizie. Picnometrul se eliberează de apă, se usucă bine, apoi se introduce soluția ce urmează a fi analizată și procedura se repetă precum cu apa distilată. [19, 50]

Densitatea se determină după formula ( $\text{g/cm}^3$ ):

$$\rho = \frac{(m_2 - m) \cdot 0,99703}{m_1 - m} + 0,0012, \quad (102)$$

în care:  $\rho$  reprezintă densitatea la 20°C,  $\text{g/cm}^3$ ;  $m$  – masa picnometrului gol, g;  $m_1$  – masa picnometrului, împreună cu apa distilată, g;  $m_2$  – masa picnometrului, împreună cu soluția de analizat, g; 0,99703 – densitatea apei la 20°C; 0,0012 – densitatea aerului la 20°C [19, 50].

În studiu s-au folosit: ciprofloxacina substanță standard (producător Sigma Aldrich), spectrofotometru UV VIS Agilent model 8453, Germania, balanța electronică OHAUS DV215 CD, veselă chimică de laborator, picături auriculare cu conținut de ciprofloxacina, 3 mg/ml (produsul testat). Determinarea aspectului, culorii, pH-ului soluției, dozarea ciprofloxacinei și a clorurii de benalconiu, precum și stabilirea impurităților înrudite chimic și sterilitatea produsului testat, s-au efectuat în conformitate cu specificația de calitate (*ICH, Guideline on stability testing: stability testing of existing active substances and related finished products CPMP/QWP/122/2*).

Vâscozimetru rotațional MultiViscRheometer, Fungilab; PH-metrul inoLab 7110. HPLC: Shimadzu LC cu detector UV-VIS, coloana ZORBAX Eclipse XDB-C 18,5m. Picături auriculare, serii pilot de laborator; placebo; peroxid de hidrogen; HCl 0,1 mol/l; NaOH 0,1 mol/l

## 2.2. Studii clinice

### 2.2.1. Date generale

**1. Laboratorul de Genetică** (șef laborator – Gh. Curocichin, dr. hab. med., profesor univ.) – preluarea probelor sangvine și diagnosticul mutațiilor genetice la bolnavii cu SSN și persoane fără patologie auriculară.

**2. Catedra de otorinolaringologie** (șef catedră – Ion Ababii, dr. hab. med., prof. univ., academician al AȘM). Centrul funcțional de audiologie, protezare auditivă și reabilitare medi-

co-pedagogică (șef centru – A. Chiaburu, dr. med., conf. univ.) – stabilirea criteriilor de prognostic al inconvenientelor protezării auditive.

**3. Clinica Oncologie** (șef catedră – I. Mereuța, dr. hab. med., profesor univ.) și Clinica Medicină Internă (șef clinică – V. Dumbrava, dr. hab. șt. med., prof. univ.) - evaluarea clinică a efectelor antioxidante ale PMC CAF-01 și NH-01.

**4. Spitalul Privat „Medpark”**, serviciul Audiometrie (S. Parii, dr. med., conf. cercet.) – stabilirea criteriilor de pronostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală.

#### **Grupurile pacienților din cadrul studiilor clinice**

a) 17 pacienți de ambele sexe, vârsta 0-20 de ani cu SSN (determinarea mutației genei GJB2 35 del G); b) 73 de pacienți, de ambele sexe, vârsta 7-40 de ani, cu SSN cronică, protezați auditiv pentru stabilirea criteriilor de pronostic al audiometriei vocale și a inconvenientelor protezării auditive; c) 1000 de copii nou-născuți pentru diagnosticul audiologic primar; d) 100 de adulți, 18-30 de ani, de ambele sexe, fără patologii auriculară, pentru determinarea portajului mutației genei GJB2. Probele sangvine pentru colectarea ADN; e) 17 pacienți de ambele sexe, vârsta 18-60 de ani, cu SSN pentru determinarea eficacității produsului NH-01. f) 20 de paciente, 27-66 de ani, cu cancer al glandei mamare, pentru determinarea efectului antioxidant al produsului CAF-01.

#### **Metode de diagnostic**

**Metode de laborator:** hemoleucograma, analiza biochimică a sângelui.

**Metode de diagnostic audiologic:** status ORL, acumetria instrumentală, audiometria tonală liminară și supraliminară, audiometria vocală, impedansmetrie (timpanometrie + reflex stapedian), otoemisiuni acustice tranzitorii (OEAT) și otoemisiuni acustice pe produs de distorsiune (DPOEA), audiometria reflex-condiționată și comportamentală.

Metode de diagnostic genetic - mutația 35delG - GJB2

**La pacienții cu tinnitus suplimentar, au fost efectuate:** tinnitus audiometria, evidențierea tinnitusului obiectiv prin auscultarea (gâtului, regiunilor mastoidului și periorbitale), evidențierea palatomioclonusului prin orofarmigoscopie, consultațiile specialiștilor: neurolog, terapeut/cardiolog, endocrinolog. La necesitate: RNM, CT, Rf coloanei vertebrale (regiunea cervicală).

**Chestionare propuse pacienților:** chestionar pentru stabilirea aspectelor genetice ale SSN, chestionar de evaluare a tinnitusului (acufene, zgomote auriculare).

#### **2.2.2. Design-ul cercetărilor cu utilizarea preparatelor medicamentoase pe subiecți umani**

Toate studiile clinice au fost randomizate, deschise, cu grup-martor. Repartizarea pacienților în grupul de studiu s-a efectuat conform schemei de randomizare, aleasă de solicitant - metoda de randomizare fixă prin bloc. Alegerea corespunderii s-a stabilit prin generatorul aleatoriu al cifrelor.

#### **Schema de tratament**

Preparatul Neamon-hepa, capsule, s-a administrat intern, zilnic, o capsulă o dată pe zi,

după mese, durata tratamentului constituind 28 de zile. Cei 17 bolnavi (adulți de ambele sexe), cu diagnosticul de hepatită virală cronică și ciroză hepatică, au constituit grupul de bază.

Preparatul Flamena, emulsie: lotul de studiu – 20 de femei cu diagnosticul cancer al glandei mamare (CGM), după polichimioterapie neoadjuvantă, care au urmat terapia de bază + preparatul studiat. Preparatul studiat a fost administrat intern, zilnic, 20 ml de trei ori pe zi, înainte de mese; durata tratamentului – 28 de zile. Cercetarea farmacoterapeutică a inclus următoarele etape: screening, perioada de acumulare a pacienților și cea de terapie activă.



Figura 2.2. Design-ul general de studii ale produselor medicamentoase

Tabelul 2.1. Design-ul studiului clinic Neamon-hepa, capsule, și Flamena, emulsie

Zilele de cercetare	Până la începerea tratamentului	Mijlocul perioadei de tratament (zece zile)	Sfârșitul tratamentului (30 zile)
<b>Vizite (puncte de observare)</b>	1	2	3
Controlul corespunderii pacienților criteriilor de includere/excludere (anamneza)	*		
Obținerea acordului informativ în formă scrisă	*		
Repartizarea în grupul de studiu	*		
Examenul obiectiv	*	*	*
Examenul de laborator	*		*
Examenul instrumental	*	*	*
Înregistrarea acuzelor subiective	*	*	*
Aprecierea și înregistrarea reacțiilor adverse	*	*	*
Aprecierea eficacității	*	*	*
Aprecierea toleranței	*	*	*

### 2.2.3. Metodele examenului audiologic

Analiza detaliată a datelor anamnezei a precedat examenul audiometric obiectiv și subiectiv. Au fost accentuate principalele momente în declanșarea surdității de percepție.

Moment important a constituit analiza capacităților auditive ale pacienților în dinamică. Analizând extrasele din cartelele ambulatorii (carnetele individuale), am selectat cei mai informativi indici care caracterizează starea generală a bolnavului, precum și asocierea surdității cu patologii ale altor organe. O deosebită atenție am acordat bolnavilor care acuza acufene și vertij. A fost efectuată caracteristica bolnavilor care aveau recent proteze auditive. Toate aceste rezultate s-au înregistrat în „Fișa examinării clinico-audiologice a copiilor de vârstă școlară și a maturilor”, elaborată de noi, constituită din 392 de puncte, care cuprind date anamnestic, clinice, rezultatele examenului audiologic subiectiv și obiectiv și cele ale examenului în dinamică.

Examenul audiologic cu aparataj electronic a fost precedat de efectuarea examenului ORL general, otoscopiei optice, acumetriei fonice și acumetriei instrumentale. Otoscopia s-a efectuat prin intermediul otoscopului optic-electric „Smitkline Becham”; în cazul depistării unui obstacol în CAE, acesta era eliminat. În cazul spălării CAE, investigațiile audiometrice se efectuau a doua zi.

Pentru acumetria fonică am testat vocea șoptită și vocea conversată. Acumetria instrumentală a inclus examenul cu camertonul de 250 Hz, probele Rinne, Weber și Levis-Federici. Rezultatele acumetriei fonice și acumetriei instrumentale nu au fost incluse în fișa de observație.

**Audiometria tonală.** Pragurile de auz au fost determinate (evaluate) pe conducerea aeriană și osoasă, separat, la fiecare ureche în parte. Investigația a avut loc într-o cameră izolată insonor, cu zgomotul de fond nu mai mare de 30 dB. Au fost utilizate audiometrele: „Siemens SD 50”, „Madsen Orbiter 202”, „Maico MA51”.

Căștile pentru testarea conductibilității aeriene cu indicator roșu au fost îmbrăcate la urechea dreaptă, cele cu indicator albastru – la urechea stângă. Până a începe testarea, ne asigurăm că aceste căști erau centrate pe meatele auditive externe, că există o presiune suficientă exercitată de banda de câmp, că nu este păr între cască și ureche. De asemenea, pacientul trebuia să-și scoată ochelarii și cerceii. Pacientul era amplasat astfel, încât să nu observe mișcările noastre la audiometru. Subiectul era instruit să răspundă imediat ori de câte ori auzea sunetul (tonul), indiferent de cât de încet îl aude. Modalitatea de răspuns a fost următoarea: apăsarea pe buton sau ridicarea mâinii. Audiometria începea cu prezentarea sunetului continuu la o intensitate confortabilă, la frecvența de 1000 Hz (fiind frecvența cea mai ușor de identificat, primordială a zonei de conversație). Ulterior, ea descădea în pași a câte 10 dB HL, până când pacientul nu mai răspundea și de aici începea căutarea pragului de auz. Ea creștea în pași a câte 5 dB HL pe două-trei secunde, până când pacientul răspundea din nou. Examinarea se repeta de două-trei ori. Se examinau ulterior frecvențele 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 Hz, apoi 500, 250, 125 Hz. Examinarea se sfârșea cu determinarea repetată a pragului auditiv la frecvența de 1000 Hz, deoarece prima examinare putea fi orientativă și nu chiar precisă.

Determinarea pragului auditiv pe conductibilitatea osoasă începea cu efectuarea procedurii Weber audiometric la 500 Hz. Vibratorul osos era plasat pe mijlocul frunții. Pacientul trebuia să indice unde se auzea (lateraliza) sunetul: în mijlocul frunții, la o ureche sau la ambele. Examenul începea cu mărirea treptată a intensității. La primirea răspunsului, intensitatea se majora cu 5 dB HL pentru determinarea lateralizării posibile. Se examina ulterior urechea, în care se lateraliza sunetul. Vibratorul se plasa pe pielea mastoidei în proiecția antrumului, fără a fi în contact cu pavilionul urechii sau așezat pe păr. Se determina tehnic, ca la conductibilitatea aeriană, frecvențele consecutiv: 1000, 2000, 4000, 6000, 500, 250, 1000 Hz.

Din probele audiometriei tonale supraliminare, am determinat pragul de disconfort auditiv.

La determinarea pragului de disconfort, pacientul era instruit că intensitatea sunetului se va mări progresiv. Dacă sunetul devenea neplăcut (foarte greu de suportat), trebuia să ridice mâna sau să apese butonul. Investigația a fost efectuată la frecvențele de 250, 500, 1000, 2000, 4000, 6000 Hz la ambele urechi. Începând de la nivelul percepției, sunetul era treptat mărit până la primirea răspunsului de senzație neplăcută. Rezultatele erau fixate pe blancul audiogramei.

**Audiometria vocală** Audiometrul „Siemens SD50” se regla după scara absolută. Materialul sonor era expus de la CD player „First 2000digital”, montat la sistemul „Siemens FF 50”.

În acest scop, am folosit listele pentru audiometria vocală în limbile română și rusă, ambele înscrise pe CD. Înainte de a începe orice examinare, se făcea calibrarea cu un ton de 1000 Hz, timp de 60 sec. Stimulii sonori se realizau la căștile de telefon. Pacientului i se propunea să asculte și să repete cuvintele.

Investigația începea cu prezentarea intensității de 20-30 dB HL peste pragul auditiv. Intensitatea se schimba în creștere și descreștere, în trepte a câte 5 dB HL. La sfârșitul investigației, am studiat componentele principale ale curbei ce reprezintă scorul maxim de cunoaștere a cuvintelor: pragul vocii nediferențiate - 20, 50, 80, 100%. Pentru determinarea căderii paradoxale a scorului maxim de recunoaștere, a fost efectuată investigația la 100 dB HL intensitate. Investigația s-a realizat separat la AD și AS.

Cu vibratorul osos, am determinat pragul de recunoaștere vocală. Metodica s-a efectuat cu casca de telefon, cu vibratorul și în câmp liber (cu proteza auditivă). Regulile efectuării au fost identice cu cele ale audiometriei tonale.

Rezultatele erau transferate pe audiogramă, unde pe abscisă se notau intensitatea în dB, iar pe ordonată – procentul clarificării vocii. Pe formular era expusă norma curbei scorului de recunoaștere, precum și a pragului de recunoaștere, care a fost atestată la investigația lotului de control.

**Impedansmetria.** Pentru a evalua starea urechii medii și a porțiunii endocochleare a nervului auditiv, am folosit impedansmetrul „Maico MI-24”, cu tonul de frecvență fixă de 220 Hz (figura 5). Pentru a fixa etanș sonda acustică în conductul auditiv extern, la capătul ei se îmbrăca o olivă de silicon de dimensiuni corespunzătoare diametrului CAE a pacientului. Mărirea presiunii se făcea în mod automat, presiunea varia de la pozitiv (+) la negativ (-), limitele utilizate au fost de la + 200 până la - 300 daPa. Timpanograma, forma grafică a modificării complianței, în funcție

de variația aerului în CAE, în mod automat se înregistra, rezultatul apărea pe ecran. Rezultatele analizei calitative au fost imprimare. Pentru a analiza rezultatele obținute, am beneficiat de clasificarea propusă de J. Jerger (1970). După înregistrarea timpanogramei (timpanogramă tip „A” cu indicii complianței satisfăcători), am imprimat reflexul mușchiului stapedian. Presiunea aerului în CAE, în momentul reflexometriei, corespundea valorii maxime a complianței determinate la timpanometrie.

**Otoemisiunile acustice.** Produsele de distorsiune a otoemisiiei acustice au fost înregistrate la aparatul „MaicoEroScan”, respectând cerințele și parametrii recomandați pentru testare (77, 102, 161). Pentru a înregistra TEOEA, am determinat intensitatea, dB SPL, a OEA și raportul semnal OEA/zgomot de fond la intensitățile 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 Hz. Testul pozitiv s-a înregistrat la raportul semnal/zgomot > 3 dB.

**Evaluare diagnostică la nou-născuți.** Screening-ul s-a desfășurat în baza protocolului elaborat, conform căruia nou-născuții, care nu erau supuși testului prin otoemisiuni acustice, precum și cei care urmau să fie testați, dar prezentau factori de risc, trebuiau examinați în Departamentul audiologie al spitalului prin repetarea TEOEA, iar, în cazul unui rezultat negativ, se efectuau ABR și ASSR. Echipamentul diagnostic, utilizat pentru screening și audiometria obiectivă (Ero-Scan, MB11, MI34H), este produs de „Maico”, SUA. Stadiul I: otoscopia, impedansmetria (timpanometria), otoemisiuni acustice, stabilirea factorilor de risc pentru surditate. Stadiul II: audiometria comportamentală, TEOEA, impedansmetria (timpanometria + reflexul acustic la 500, 1000, 2000 Hz). Stadiul III: potențiale evocate tip ABR – screening. Stadiul IV: ABR - clinic, ASSR.

**Prognostic scor vocal.** Investigațiile au fost efectuate pe un lot de 32 de pacienți, copii de vârstă școlară și adulți, cu surditate neurosenzorială bilaterală (51 de urechi). Am recurs la: examenul clinic primar (inclusiv statutul ORL), acumetria fonică, audiometria tonală, audiometria vocală.

Pragurile de auz la efectuarea audiometriei tonale se determină pe conducerea aeriană și osoasă separat, la fiecare ureche în parte. Audiometria tonală liminară începea cu prezentarea sunetului continuu la o intensitate confortabilă, la frecvența de 1000 Hz (fiind frecvența cea mai ușor de identificat, primordială a zonei de conversație). Ulterior se descreștea în pași a câte 10 dB HL, până când pacientul nu mai răspundea și de aici începea căutarea pragului de auz. Se creștea în pași a câte 5 dB HL pe două-trei secunde, până când pacientul răspundea din nou. Examinarea se repeta de două-trei ori. Ulterior, se examinau frecvențele 2000, 4000, 6000, 8000 Hz, apoi 500, 250, 125 Hz. Examinarea se sfârșea cu stabilirea repetată a pragului auditiv la frecvența de 1000 Hz. La determinarea pragului de disconfort (audiometria tonală supraliminară), pacientul era instruit că intensitatea sunetului se va mări progresiv; când sunetul devenea neplăcut (greu de suportat), trebuia să ridice mâna sau să apese butonul. Investigația a fost efectuată la frecvențele de 500, 1000, 2000, 4000 Hz la ambele urechi. Începând de la nivelul percepției, sunetul era treptat mărit până la primirea răspunsului de senzație neplăcută. La necesitate, se efectua mascarea urechii controlate-

rale. Timpul mediu de efectuare a audiometriei tonale a fost de 15-20 min. Rezultatele erau fixate pe blankul audiogramei [79].

Materialul acestui studiu a inclus analiza datelor anamnestice, clinice și instrumentale, informativitatea despre diverse metode de investigații audiometrice și selectarea protezelor auditive la 26 de pacienți de ambele sexe cu SSN.

Scorul maxim de inteligibilitate vocală a fost determinat atât prin efectuarea audiometriei vocale (2, 7) prezentate anterior (timpul mediu de efectuare a audiometriei vocale a fost de 25-30 min.), cât și prin evaluarea următorilor indici ale audiometriei tonale: aspectul curbei audiometrice (CA), media pragului auditiv (PA) și cea a gradului de surditate (GS), stabilite la audiometria tonală, media pragului de disconfort (PD), indicele de articulare (IA).

**Prognostic al inconvenientelor protezării auditive.** Materialul acestui studiu a inclus analiza datelor anamnestice, clinice, instrumentale, informativitatea diverselor metode de investigații audiometrice și selectarea protezelor auditive la 73 de pacienți de ambele sexe, cu surditate neurosenzorială. Investigațiile au fost efectuate în cadrul Catedrei otorinolaringologie a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în Centrul republican funcțional de audiologie, protezare auditivă și reabilitare medico-pedagogică al IMSP Spitalul Clinic Republican pentru Copii „Em. Coțaga”. Factorii decisivi de prognostic au fost stabiliți în baza comparațiilor frecvenței diferitor factori, în două grupuri de pacienți: I grup, la care în perioada de reabilitare, după selectarea primară a protezei auditive, s-au constatat unul sau mai multe efecte adverse la utilizarea aparatelor auditive: acufene, oboseală rapidă, cefalee, iritabilitate și grupul II - pacienții care nu au prezentat astfel de acuze la aplicarea protezei auditive. În baza analizei discriminante, au fost selectați factorii decisivi de prognostic. Am formulat un criteriu de discriminare, bazat pe analiza datelor grupurilor I și II, care a permis atribuirea unui nou element (pacient protezat auditiv) la una dintre cele două mulțimi, cu o exactitate majoră. Folosirea analizei discriminante „pas cu pas”, cu ajutorul SPSS în prelucrarea datelor statistice despre pacienții protezați auditiv, ne-a permis să deducem funcția discriminantă propusă ulterior.

#### ***2.2.4. Metode de analiză genetică***

Studiul de cercetare molecular-genetică pentru depistarea mutației 35delG (rs80338939) a genei GJB2 a fost realizat în cadrul Laboratorului de genetică al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Durata studiului: anii 2013-2019.

Cercetarea a fost desfășurată pe următoarele loturi de studiu:

1. *Lotul de studiu*, reprezentat de 20 de pacienți, născuți în Republica Moldova, diagnosticați cu SSN bilaterală, forma severă profundă, instalată prelingual, grupa de vârstă cuprinsă între 1 și 30 de ani, care au fost selectați pe baza anamnezei și examinării clinico-audiologice;

2. *Lotul de referință*, constituit din 100 de participanți sănătoși, autohtoni, fără deficiențe de auz la examinarea statusului ORL, selectați în baza de date a proiectului instituțional, intitu-



lat „Studiul polimorfismului molecular genetic al factorilor de risc metabolic la populația tânără din Republica Moldova” (investigator principal: - Ghenadie Curocichin, dr. hab., prof. univ.), aprobat prin Hotărârea Consiliului Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al AȘM, din 20.12.2010 (cifrul 11.817.09.21A) și Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”.

*Lotul de pacienți cu hipoacuzie neurosenzorială nonsindromică*

Criterii de includere în studiu: acordul informat explicit al participantului în studiu; vârsta 1-30 de ani; sexul – masculin, feminin; persoanele de vârstă diferită, care prezintă hipoacuzie/surditate nonsindromică în grade variate severă profundă.

*Lotul de referință de persoane sănătoase*

Criterii de includere în studiu: tinerii înmatriculați la USMF „N. Testemițanu”, acordul informat explicit al participantului în studiu; vârsta 18-29 de ani, sexul – masculin, feminin; persoanele de vârstă diferită, autohtoni, sănătoși, fără deficiență de auz.

Criterii de excludere din studiu: tinerii care nu dețin cetățenia Republicii Moldova, înmatriculați la USMF „Nicolae Testemițanu”, refuzul individului de a participa la studiu, gravidele.

Participarea în studiu a fost voluntară. Pentru a atinge obiectivele, am aplicat chestionarul STEPS (WHO), instrument pentru detecția și supravegherea factorilor de risc al bolilor non-comunicabile (steps 1, 2, 3, cited 2016);

available from: [http://www.who.int/chp/steps/instrument/STEPS\\_Instrument\\_V3.1.pdf](http://www.who.int/chp/steps/instrument/STEPS_Instrument_V3.1.pdf). Chestionarele au fost depersonalizate, iar datele personale nu au fost accesibile pentru autori.

***Design-ul cercetărilor molecular-genetice pe subiecți umani***

*Etapa I* - obținerea consimțământului informat al pacientului și a materialului biologic (ADN genomic); *Etapa a II-a* - examenul clinic ORL, alți specialiști (la necesitate); *Etapa a III-a* - determinarea mutației prin *Taq Man: GJB2- 35delG*; *Etapa a IV-a* - stabilirea altor polimorfisme genetice ale genei GJB2 și GJB6 (la necesitate); *Etapa a V-a* – postevaluare: corijarea farmacoterapiei personificate în concordanță cu rezultatele testării molecular-genetice [116].

**1. Extragerea ADN**

Tubul de stocare a sângelui integral, păstrat la – 80°C, s-a extras din congelator pentru decongelare completă la temperatura camerei, cu ajutorul setului *GeneJET Genomic ADN* (K0722, Thermo Fisher Scientific). Materialul în volum de 200 μl s-a transferat într-un tub de 1,5 ml, marcat corespunzător. La acesta s-au adăugat 400 μl soluție de liză (*Lysis Solution*) și 20 μl soluție de *Proteinase K*. Conținutul s-a amestecat prin pipetare și vortexare, până la obținerea unei suspensii uniforme. Conținutul s-a incubat la 56°C, la baia de apă cu vortexare ocazională și agitare, până la lizarea completă a celulelor (cca 10 min.).

Apoi, s-a adăugat 200 μl de *etanol (96-100%)*, iar conținutul s-a amestecat prin pipetare sau vortexare. Lizatul s-a transferat într-o coloană de tipul *GeneJET Genomic ADN*, pentru purificarea conținutului introdus într-un tub de colectare. Coloana s-a centrifugat timp de 1 min. la 6000 g. Tubul de colectare ce conține soluția scursă s-a îndepărtat și s-a utilizat unul nou.

Coloana s-a spălat cu 500 µl soluție de spălare (*Wash Buffer I*). Conținutul s-a centrifugat timp de 1 min. la 8000 g, soluția din tubul de colectare s-a aruncat, iar coloana de purificare s-a plasat înapoi în tubul de colectare. La a doua etapă de spălare s-a adăugat 500 µl soluție *Wash Buffer II* în coloana de purificare. Conținutul s-a centrifugat timp de trei minute la viteza maximă ( $\geq 12000$  g).

La ultima etapă s-a adăugat 150 µl soluție de eluție (*Elution Buffer*) în centrul coloanei de purificare pentru eluarea ADN-ului genomic. Incubarea s-a făcut pentru două minute la temperatura camerei, urmată de centrifugarea conținutului timp de 1 minut la 8000 g.

Coloana de purificare s-a îndepărtat, iar soluția de ADN obținută s-a depus pentru aplicări ulterioare sau stocată la  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## 2. Analiza calității ADN-ului extras

Evaluarea calității extraselor de ADN s-a realizat prin metoda spectrofotometrică la NanoDrop 2000 c. Pentru măsurarea conținutului și calității acizilor nucleici, am luat 2 µl de soluție ADN, plasată cu ajutorul pipetei pe suportul de măsurare, la lungimile de undă 230, 260 și 280 nm. În calitate de blank, s-a utilizat soluția de eluție în care s-a dizolvat ADN.

Cu ajutorul soft-ului NanoDrop Software, datele au fost colectate și stocate pe calculator. Am evaluat criteriile de calitate precum concentrația extrasului și raportul  $A260/A280$ . Probele cu concentrația de cel puțin 2 ng/µl și cu valoarea purității ADN  $A260/A280 = (1,7; 2,1)$  au fost considerate valabile pentru analizele ulterioare.

Ulterior, toate probele au fost ajustate la concentrația teoretică calculată 2 ng/µl, considerată suficientă pentru realizarea tehnicii *TaqMan*, cu ajutorul soluției de eluție.

## 3. Metode molecular-genetice, TaqMan

Evidențierea polimorfismelor mononucleotidice s-a efectuat prin tehnica *TaqMan*, bazată pe setul de primeri și sonde oligonucleotidice cu fluorescență, corespunzător, VIC pentru identificarea unei forme alelice și FAM - pentru recunoașterea celeilalte.

În acest sens am utilizat seturile *TaqMan SNP Genotyping Assay* (4351379 sau 4351374, Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific- *Nano Drop*) cu următoarea prezentare tehnică:

**Tabelul 2.2. Sonde utilizate pentru genotipare**

Nr. d/o	Denumirea genei	Codul NCBI SNP	Mutația	Secvența contextuală (sonda) [VIC/FAM]
1	GJB2	rs80338939	m.35delG	TACGGCACGCTGCAGACGATCCTGGGGG [-/G]TGTGAACAAACACTYCACCAGCATT

Configurația tehnică pentru efectuarea studiului pe eșantioane medii a fost pe plăci de 384 de godeuri. Fiecare placă includea câte 150 de probe cu un control negativ (Negative Template Control, NTC) în trei repetări, pentru testarea SNP-ului (rs80338939). Soluția de ADN-ul normalizată se pipeta câte 2 µl și se lăsa pentru uscare timp de cca 30 de ore la condițiile camerei ( $+18$ - $+25^{\circ}\text{C}$ ).

Amestecul de reacție pentru un godeu utilizat a inclus componentele din cadrul tabelului 2.3.

**Tabelul 2.3. Componentele din amestecul de reacție**

Nr.	Componentele din amestecul de reacție	Volum
1.	Soluția 2X TaqMan Master Mix	2,5 $\mu$ l
2	Soluția 20X TaqMan SNP Genotyping Assay	0,25 $\mu$ l
3.	dH <sub>2</sub> O	2,25 $\mu$ l
4.	Volumul final	5 $\mu$ l

Inițial, se pregătea amestecul dintre soluția 2X TaqMan Master Mix și soluția 20X TaqMan SNP Genotyping Assay. Volumul total necesar se calcula după formula:

Volumul (2X TaqMan Master Mix) = 2,5  $\mu$ l x N + 10%, volumul (20X TaqMan SNP *Genotyping Assay*) = 0,25  $\mu$ l x N + 10%, volumul (dH<sub>2</sub>O) = 2,25  $\mu$ l x N + 10%, unde N este numărul de godeuri testate pentru un SNP.

ThermoFisher/KAT-N

Ulterior, în fiecare godeu se pipeta câte 5  $\mu$ l de amestec preparat. După finalizarea etapei de pipetare, placa se acoperea cu pelicula optic transparentă (MicroAmp Optical Adhesive Film) și era plasată în aparat. Placa se vortexa timp de 10 min., iar ulterior se centrifuga la 1500 rot./min. timp de 3 min., după ce se încălca în aparat.

Au fost utilizate următoarele condiții de realizare a tehnicii PCR în timp real (tabelul 2.4):

**Tabelul 2.4. Etapele PCR în timp real**

Etapele	Parametrii		
	Timpul	Durata	Ciclul
Denaturarea ADN și activarea enzimei polimeraza AmpliTaq Gold®	95°C	10 min	HOLD
Denaturare	95°C	15 sec	40
Normalizare	65°C	1 min	
Extensie	65°C	30 sec	1

Toate testările au fost realizate la aparatul QuantStudio 6 (Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific), care permite amplificarea și măsurarea nivelului semnalului fluorescent în timp real. Amplificarea și design-ul plăcii, cu poziționarea probelor și controalelor, precum și colectarea datelor, s-au efectuat cu ajutorul programului QuantStudio Real-TimePCR Software (v.1.3, Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific). Analiza datelor colectate s-a efectuat prin aplicația TaqMan Genotyper Software (v.1.3.1., Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific).

Datele colectate cu ajutorul soft-ului QuantStudio Real-TimePCR Software (v.1.3, Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific) se validau în baza datelor tehnice precum Quality, care exprima calitatea semnalului fluorescent determinat de echipament. S-au utilizat criteriile de bază de calitate precum  $\geq 95\%$ , în condiții de analiză a rezultatelor în baza datelor pre-PCR și post-PCR,

pentru determinarea automată a genotipului. Probele care nu satisfaceau condiția dată se elimină din analiza curentă și se regenotipau.

Probele validate se încăreau în soft-ul TaqMan Genotyper Software (v.1.3.1, Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific), unde se analiza parametrul *Call rate*, fiind eliminate probele cu determinare duală sau nedeterminate automat, ca acest parametru să atingă valoarea 100%. Ulterior, statistic, am determinat frecvența fiecărei din alelele SNP-ului analizat, am observat frecvența genotipurilor, am estimat  $\chi^2$  și valoarea Pval, pentru a evalua Echilibrul Hardy-Weinberg (Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE).

### 2.3. Metode statistice de cercetare

În cazul determinării **studiilor preclinice** (toxicității acute), rezultatele obținute au fost prelucrate statistic după:

1) metoda Kurber:  $DL50 = DL100 - \frac{\text{suma } A \times B}{n}$  [251],

unde: A este diferența dintre două doze succesive, B – media numărului de animale decedate dintre două doze succesive.

**Formula de determinare a numărului necesar pentru studiu preclinic (Ivanter):**

$$n = \left( \frac{t \cdot CV}{\varepsilon} \right)^2,$$

unde: *n* reprezintă numărul lotului, *t* – valorile limite de distribuție ale t-student, ce corespunde nivelului de exactitate ( $P = 0,095$ ), *CV* – valoarea aproximativă a coeficientului de variație (%),  $\varepsilon$  – eroarea planificată (%). Numărul de animale necesare pentru lot, ce asigură date veridice, eroare de 5%, pentru indicii  $\alpha = 0,05$  ( $t = 1,96$ ,  $df > 120$ ) și coeficientul de variație  $CV = 9\%$  (variația este mică datorită faptului că sunt animale de o rasă, ținute și crescute toate în aceleași condiții).

Analiza statistică a fost efectuată utilizând programul MS Excel și Student T-test, cu stabilirea semnificației diferențelor dintre loturile comparate,  $P < 0,05$  fiind considerat semnificativ [93].

Studiul eficacității otoprotectoare s-a efectuat folosind metoda de analiză ANNOVA, calculat criteriul F- Fisher.

**Studiu clinic** cu selectarea randomizată a pacienților pentru evaluarea clinică a eficacității antioxidante a preparatelor Neamon-hepa (NH-01) și Flamena (CAF-01).

Statistic, datele obținute le-am prelucrat cu ajutorul pachetului de programe „Statistica for Windows, Release 6.0 StatSoft, Inc.”, unde s-au calculat următoarele criterii:  $\sigma$  – deviația standard, *p* – valoarea relativă medie, *t* – criteriul Student, *M1* și *M2* – valorile medii aritmetice ale totalităților comparate, *m1* și *m2* – erorile mediilor aritmetice ale totalităților comparate,  $\pm m$  – deviația valorii relative medii.

Pentru a determina numărul necesar de pacienți, în cercetare am utilizat următoarea formulă:

$$n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 P (1-P)}{(P_0 - P_1)^2}$$

unde:

$P_0$ , conform datelor bibliografice [74], reușita tratamentului prin aplicarea metodelor tradiționale (chimioterapie, radioterapie) constituie în medie 15,0% ( $P_0 = 0,15$ ).

$P_1$ , în lotul de cercetare, pacienții cu SSN care vor fi tratați prin metoda modificată (chimioradioterapie și preparatul studiat), reușita tratamentului va fi de 65,0% ( $P_1 = 0,65$ ).

$P = (P_0 + P_1)/2 = 0,40$ .

$Z_{\alpha}$  – valoarea tabelară. Dacă semnificația statistică este de 95,0%, atunci coeficientul  $Z_{\alpha} = 1,96$ .

$Z_{\beta}$  – valoarea tabelară. Dacă puterea statistică a comparației este de 80,0%, atunci coeficientul  $Z_{\beta} = 0,84$ .

$f$  = Proporția subiecților care se așteaptă să renunțe la studiu din motive diferite de efectul investigat  $q = 1/(1-f)$ ,  $f = 10,0\%$  (0,1).

Introducând datele în formulă, am obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 0.84)^2 \times 0.4 \times 0.6}{(0.15 - 0.65)^2} = 7$$

Așadar, lotul de cercetare  $L_1$  va include nu mai puțin de 17 pacienți cu SSN, la care va fi aplicată metoda modificată de tratament, iar lotul de control  $L_0$  va conține nu mai puțin de 17 pacienți cu SSN, care vor fi tratați prin aplicarea metodei tradiționale.

Studiu clinic de determinare a scorului de inteligibilitate vocală și a prognosticului recuperării auditive. *Fișa examinării clinico-audiologice*, constituită din 340 de puncte, a fost elaborată pentru comoditatea culegerii informației necesare și accesibile analizei ulterioare a acestea.

Informația din Fișă a fost stocată în baza de date a calculatorului și prelucrată cu ajutorul diverselor programe aplicative. Introducerea informației a fost efectuată în regim de dialog, prin intermediul unui program special elaborat în acest scop. S-au utilizat metode clasice de prelucrare statistică. Prelucrarea statistică a valorilor cantitative a fost precedată de calculul mediei aritmetice ( $M$ ) și erorii medii aritmetice ( $m$ ). Relevanța statistică ( $p$ ) în interiorul lotului și între diferite loturi s-a calculat după testul de semnificație t-Student. Deosebirile valorilor medii le-am considerat relevante, atunci când pragul de semnificație ( $p$ ) era  $< 0,05$ . Am studiat criteriul de corespundere  $X^2$ ; coeficientul de corelare; analiza discriminantă. Pentru a determina gradul de coincidență a fenomenului studiat, am folosit indicele Pearson.

Sensibilitatea și specificul metodei studiate au fost determinate în baza unei programe speciale. Metoda analizei discriminante, fiind parte integrantă din teoria metodelor matematice de identificare a imaginilor, permite, pe calea analizei retrospective, a stabili regularitățile prognostice. Analiza discriminantă constă în construirea funcției liniare  $F_j$  a vectorului  $X$  [93]:

$$F_j = \sum_{i=1}^n A_{ji} \cdot X_i + B_j$$

unde:

$j$  reprezintă numărul funcției discriminante (de la 1 până la  $K$ ),

$i$  – componentele vectorului  $X$  (de la 1 până la  $n$ ),

$n$  – numărul de componente, care corespund vectorului  $X$ ,

$A_{ji}$  – coeficientul de greutate al exponentelor vectorului  $X$ ,

$B_j$  – constante libere.

Observația supusă clasificării aparține acelei clase (grupe de pacienți) pentru care valoarea funcției  $F_j$  este mai mare. Informativitatea fiecărui component al vectorului  $X$  s-a determinat prin calcularea criteriului  $F$  statistic (Fișer).

Datele obținute au fost prelucrate computerizat, aplicând setul de programe statistice Microsoft Excel. Pentru a reflecta demonstrativ rezultatele obținute, datele le-am prezentat în tabele și în grafice.

Dimensiunile eșantioanelor pentru **studiul genetic** le-am estimat după formula prezentată, ce permite respectarea cerințelor de reprezentativitate a eșantionului selectat pentru studiul descriptiv de identificare a unui singur fenomen (determinarea portajului mutației 35 del G) în populație:

$$n = N t^2 P q, \quad N \Delta x^2 + t^2 P q,$$

unde:

$n$  – dimensiunile eșantionului reprezentativ,

$N$  – totalitatea integrală,

$t$  – criteriul Student = 1,96 cu gradul veridicității statistice, stabilit la nivelul de 95,0%,

$P$  – probabilitatea apariției fenomenului, determinată ca:  $q = 1 - P$ ,

„ $Pxq$ ” fiind maximal în cazul în care  $P = q = 0,5$ ,

$\Delta x$  – limita admisibilă a erorii, în cazul veridicității de 95%, egală cu 0,05 (5,0%).

Datele obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorul programelor STATISTICA v.6, Microsoft Excel și mediul de programare R, utilizând aplicațiile ‚ggplot2’, ‚epitool’, ‚HardyWeinberg’. Variabilele continue au fost exprimate ca medie  $\pm$  DS (devierea standard) și, pentru compararea între grupe a variabilelor continue, am aplicat testele t-student și Fisher. S-au calculat diferențele dintre valorile medii statistic semnificative ( $p < 0,05$ ) și intervalul lor de încredere – 95 %.

Variabilele categorice au fost prezentate ca procent sau număr, iar pentru estimarea diferențelor între grupe s-a folosit testul  $\chi^2$  Pearson sau testul exact Fisher, în cazul grupelor cu mai puțin de cinci observații. Metoda Monte Carlo s-a utilizat pentru a corecta valoarea  $p$  a criteriului  $\chi^2$  Pearson sau pentru a calcula valoarea  $p$  a criteriului Fisher pentru tabelele mai mari de  $2 \times 2$  (simularea prin 2000 de replicări). Condițiile de păstrare a HWE sunt  $\chi^2$ , calculat  $\leq 3,84$  și valoarea  $P \geq 0,05$ . Pentru a îmbunătăți testul  $\chi^2$ , am aplicat corectarea continuității

de distribuție după Weir BS, iar calculele le-am efectuat cu ajutorul pachetului „Hardy Weinberg”.

Calcularea șanselor (Odds Ratio, OR) și a intervalului de încredere (CI), egal cu 95%, a fost utilizată pentru a evalua capacitatea parametrilor de a grupa subiecții în grupele cu valori normale sau patologice. În calitate de criteriu de semnificație statistică, a fost considerată valoarea  $p \leq 0,05$ , iar 0,05-0,1 s-a considerat tendință statistică [25, 93].

#### **2.4. Sinteza capitolului 2**

Investigațiile în domeniul „eficientizării diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor auriculare” s-au axat pe cercetările preclinice ale medicamentelor combinate: metode farmaceutice de stabilire a inofensivității, studiul proprietăților antibacteriene, otoprotectoare ale preparatelor, bazate pe recomandările metodice contemporane.

Pentru realizarea lucrării am selectat metode adecvate de determinare a toxicității preparatelor, de studiu *in vitro* a efectului antibacterian, a proprietăților chimico-farmaceutice, precum și de modelare experimentală a surdității senzorieurale. S-au utilizat indici fiziologici, biochimici și imunologici ce au permis aprecierea adecvată a proprietăților farmacologice ale preparatelor studiate.

Selectarea adecvată a sindroamelor clinice, a parametrilor hematologici, audiologici și genetici a permis cercetarea pacienților cu SSN.

### 3. ELABORAREA PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBIMATE CU POTENȚIALE EFECTE OTOPROTECTOARE

#### 3.1. Elaborarea picăturilor auriculare CB-12

În urma studiilor efectuate în cadrul Centrului Științific al Medicamentului (Laboratorul analiză, standardizare și controlul calității medicamentelor, Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor) și al Laboratorului Patologie ORL al USMF „Nicolae Testemțanu”, a fost obținut un nou produs medicamentos combinat (Certificat de inovator nr. 5308 din 15.02.2014 – „Picături auriculare pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii”). Ne-am propus ca obiectiv extinderea portofoliului de preparate medicamentoase pentru tratamentul otitelor externe, al otitelor medii acute și cronice atât fără perforația membranei timpanice, cât și la cele perforative.

Preparatul medicamentos combinat, elaborat cu denumirea de lucru CB-12, conține pentru 50 ml substanțe active: ciprofloxacina clorhidrat – 0,15 g, ulei volatil de busuioc – 0,20 g. Ciprofloxacina reprezintă un antibacterian fluorochinolon, cu spectru larg de acțiune, activ față de un număr impunător de germeni patogeni. Mecanismul de acțiune constă în blocarea ADN-girazei microorganismelor sensibile și a replicării ADN-ului. Fluorul este responsabil de lărgirea spectrului antibacterian pentru gram-negativi și extinderea spectrului la gram-pozitivi. Ciclul piperazinic face preparatul activ contra Pseudomonadelor [77]. Busuiocul (*Ocimum basilicum*) este o plantă din familia *Laminacea* și manifestă vaste efecte terapeutice. Posedă următoarele acțiuni: antimicrobiană, antiinflamatorie, regenerativă, calmantă, ușoară anestezică etc. Este utilizat inclusiv în tratamentul afecțiunilor aparatului respirator superior și inferior [44, 45].

Procesul de elaborare a preparatului medicamentos CB-12 s-a efectuat prin parcurgerea unor etape clasice de cercetare farmaceutică: 1) studiul compatibilității ciprofloxacinei și uleiului de busuioc în aceeași formă farmaceutică; 2) elaborarea compoziției și tehnologiei de preparare optimă a picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc; 3) conceperea metodelor de analiză pentru CB-12; 4) standardizarea formei farmaceutice.

#### **Procedee tehnologice de preparare a picăturilor auriculare**

Pentru formele otologice lichide, FR X indică metodele de dizolvare, de emulsionare sau suspendare a substanțelor medicamentoase într-un vehicul adecvat, format din unul sau mai mulți solvenți, și completarea la masa prevăzută [12].

Prepararea picăturilor constă în următoarele etape:

I. *Etapa pregătitoare*: analiza compoziției listei de compatibilitate:

- verificarea dozelor substanțelor toxice, stupefiante și precursorii săi (pentru picăturile de uz intern);

- pregătirea materialului de ambalare și de acoperire;



- efectuarea calculelor necesare.

*II. Dizolvarea* substanțelor medicamentoase uscate în cantitatea calculată de apă purificată sau utilizarea soluțiilor concentrate.

*III. Filtrarea* (utilizând filtrarea volumelor mici).

*IV. Ambalarea și pregătirea pentru eliberare:*

- în flacoane din sticlă incoloră sau de culoare cafenie, cu dopuri ermetice, se etichetează cu inscripția „extern“ sau „intern“; inscripțiile suplimentare se prescriu în conformitate cu DAN, cu proprietățile substanțelor active și ale excipienților formei farmaceutice;

- pe eticheta preparatelor se menționează: denumirea preparatului; denumirea tuturor conservanților antimicrobieni adăugați; în cazuri adecvate, se indică sterilitatea preparatului; în cazul recipientelor multidoză – durata-limită de utilizare de la deschiderea recipientului (această durată nu trebuie să depășească patru săptămâni, cu excepția cazurilor autorizate).

*V. Evaluarea calității picăturilor:*

- verificarea documentației,
- ambalarea și eliberarea corectă,
- controlul organoleptic,
- lipsa incluziunilor mecanice,
- abaterile în volum,
- controlul selectiv-chimic.

*VI. Caractere și controlul medicamentelor otologice lichide.*

Soluțiile trebuie să fie limpezi, emulsiile și suspensiile să corespundă prevederilor farmacopeii sau normelor de fabricație; pH-ul preparatelor apoase să fie cuprins între valorile 5-7,5. Se mai determină: masa totală pe recipient, uniformitatea unităților de dozare, a conținutului, a masei, conținutul în substanță și, la necesitate, sterilitatea.

Particularitatea tehnologiei picăturilor auriculare se datorează cantității mici de prescripție în rețetă (de obicei, 5-15 ml). Pentru a păstra volumul și concentrația, substanțele medicamentoase sunt dizolvate în aproximativ jumătate din cantitatea de apă purificată. Soluția rezultată este filtrată printr-un tampon de bumbac, clătit preventiv cu apă purificată. Cantitatea rămasă de apă este filtrată prin același tampon [50, 52]. Medicamentele administrate pe cale auriculară denotă mai puține probleme privind formularea și prepararea, decât formele aplicate pe alte mucoase, întrucât ele sunt introduse în conductul auditiv (urechea externă) și nu vin în contact direct cu lichidele biologice. Dar administrarea pe mucoasa otică trebuie să țină cont nu doar de conductul auditiv, ci și de starea fiziologică a timpanului [19, 54].

### **Selectarea excipienților optimi în corelare cu proprietățile fizico-chimice ale principiilor active**

Existența unor variații în caracteristicile fizice ale unui excipient ar putea avea consecințe nedorite pe plan tehnologic la realizarea medicamentului pe scară industrială și pe plan biofarmaceutic.

***Premisele utilizării excipienților, în funcție de destinație și proprietățile fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase: ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc***

Pentru compozițiile otice apoase (soluții sau suspensii), de obicei, se utilizează apă purificată sau deionizată. PH-ul este ajustat prin adăugarea de acizi, baze sau tamponi, care contribuie la ajustarea pH-ului fiziologic și otic, în domeniul cuprins între valorile 5,5-7,5. Ca exemple de acizi pot servi: acidul acetic, acidul boric, acidul citric, acidul lactic, acidul fosforic și acidul clorhidric, iar, ca exemple de baze, - hidroxidul de sodiu, fosfatul de sodiu, boratul de sodiu, citratul de sodiu, acetatul de sodiu, lactatul de sodiu, trometamina, THAM ș.a. Sărurile și tamponii includ citrat/dextroză, bicarbonat de sodiu, clorură de amoniu și amestecuri ale acizilor și bazelor menționate *supra*. Tamponii de pH sunt introduse în produs pentru a menține un pH stabil și pentru a îmbunătăți toleranța produsului de către utilizator. Presiunea osmotică a compoziției otice apoase este, în general, de la aproximativ 10 miliosmoli (mOsM) până la circa 400 mOsM, mai preferabil de la 200 până la 400 mOsM. Dacă este necesar, presiunea osmotică poate fi ajustată prin utilizarea unor cantități adecvate de săruri sau excipienți fiziologici acceptabili. Clorura de sodiu poate să aproximeze fluidul fiziologic și cantitățile de clorură de sodiu, cuprinsă între aproximativ 0,01 și, respectiv, 1% (preferabil de la aproximativ 0,05 până la 0,45%), raportat la greutatea totală a compoziției. Cantități echivalente de una sau mai multe săruri formate din cationi, cum ar fi potasiu, amoniu, sodiu ș.a., de asemenea și anionii precum clorură, citrat, ascorbat, borat, fosfat, bicarbonat, sulfat, tiosulfat și bisulfat, precum ar fi bisulfatul de sodiu și alții asemănători, pot fi utilizați în locul clorurii de sodiu, pentru a obține osmolalități în intervalul menționat *supra*. În mod similar, zahărul, cum ar fi manitolul, dextroza, sorbitolul, glucoza, poate fi utilizat pentru a regla osmolalitatea [54].

Așadar, ne-am propus ca formula de fabricare să realizeze o concentrație suficient de mare pentru a trata sau a preveni infecțiile bacteriene. În acest scop, a fost elaborată o tehnică de incorporare specifică pentru formarea sau furnizarea unui depozit antibacterian fluorochinolonice – **ciprofloxacina**, în contact cu suprafețele urechii, care nu este îndepărtată rapid de mecanismele de eliberare a urechii. Acest lucru a permis menținerea concentrațiilor ridicate de principii active în lichidul de pe suprafețele urechii printr-o singură aplicare. În general, se consideră că absorbția depinde atât de concentrația de medicament dizolvată, cât și de durata de contact a țesutului extern cu fluidul care conține medicamentul. Deoarece medicamentul este îndepărtat prin eliminarea fluidului și/sau absorbția în țesutul urechii, se furnizează mai multe medicamente, de exemplu dizolvat, în lichidul alimentat din vehiculul polimeric. În consecință, utilizarea unui vehicul polimeric facilitează încărcarea țesutului otic, având în vedere rata de penetrare tipică lentă și scăzută a antibioticului insolubil/slab solubil în apă, dar și a uleiului volatil de busuioc.

Atunci când se utilizează polimeri solubili în apă, ca agent de suspendare, cum ar fi hidroxipropilmetilceluloza, vâscozitatea reprezintă în mod tipic de la 10 până la 400 *centipoise* sau de la 10 până la 200 *centipoise*. Suspensiile polimerice apoase pot fi formulate astfel încât să rețină aceeași vâscozitate în urechea pe care au avut-o înainte de administrare. Antibioticul se eliberează lent, când particulele suspendate se dizolvă în timp. În definitiv, toate aceste evenimente contribuie

la creșterea atât a confortului pacientului, cât și a timpului de contact al antibioticului cu țesuturile urechii, sporind astfel gradul de absorbție a medicamentului și durata acțiunii formulării în ureche. Gelurile vâscoase au în mod obișnuit timpul de reținere în ureche, variind de la aproximativ două până la 12 ore. Agenții medicamentoși din aceste sisteme de eliberare a medicamentului vor fi eliberați într-o proporție, care depinde de însuși medicamentul și forma sa fizică, de gradul de încărcare a medicamentului și pH-ul sistemului, precum și de adjuvanții acestuia și de rășinile schimbătoare de ioni, compatibili cu suprafața otică, care pot fi, de asemenea, prezente.

Uleiul volatil de busuioc manifestă multiple acțiuni farmacologice și, în cazul nostru, asigură proprietăți antibacteriene sporite prin potențarea efectului ciprofloxacinei. Fiind în fază uleioasă, încorporarea uleiului volatil se efectuează sub formă de emulsie, tip ulei/apă (u/a). Prepararea emulsiei necesită emulgatori, preferabil pentru amestecuri de substanțe polisorbati, care sunt mai inerti și nu vor interfera cu celelalte substanțe medicamentoase din amestec.

Derivații de polioxietilen ai esterilor acizilor grași cu sorbitanul (eteri ai spanurilor cu PEG-uri) sunt cunoscuți sub denumirea de Tween-uri sau polisorbati. Aceștia se clasifică în funcție de natura radicalului acidului gras, de numărul și lungimea catenelor de polietilenglicol etc. [55].

#### **Elaborarea compoziției și tehnologiei de fabricare a picăturilor auriculare**

Pentru formularea picăturilor avem nevoie de următoarele componente principale: substanțe active, solvenți și adjuvanți auxiliari etc.

La formulare, trebuie să luăm în considerare următoarele aspecte: pH-ul favorabil este cuprins între valorile 5,5-7,5; pentru sugari și copiii mici, se utilizează preparate sterile; pentru tratamentul urechii medii se utilizează soluții izotonice [77].

Picăturile pentru ureche s-au preparat prin dizolvarea, prin emulsionarea sau suspendarea substanțelor active într-un „vehicul” corespunzător, format din unul sau mai mulți solvenți, completându-se la masa prevăzută (m/m, FR X).

Modul de preparare este conform regulilor generale cuprinse în monografiile: „Solutio-nes”, „Emulsiones”, „Suspensiones”. La preparare s-a ținut cont de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active și ale auxiliarelor folosiți, evitându-se contaminarea cu microorganisme sau impurificarea cu diferite substanțe străine.

Gama largă de excipienți existenți oferă posibilitatea utilizării lor raționale, în scopul dirijării vitezei și intensității efectului de acțiune, în funcție de scopul terapeutic urmărit [99].

#### ***Preformularea și elaborarea tehnologiei optime pentru picături auriculare cu conținut de ciprofloxacina și uleiuri eterice***

Pentru a selecta formula optimă a picăturilor auriculare cu ciprofloxacina și uleiuri eterice pure, substanțele au fost încorporate în diverși excipienți de natură diferită; astfel s-au cercetat trei compoziții ce conțin, în calitate de principii active, ciprofloxacina și uleiul volatil de busuioc, emulgatori, stabilizanți și ajustatori de pH. Cele mai optime valori ale vitezei și nivelului de cedare le au picăturile pe bază de amestecuri de PEG. Pentru elaborarea formulei optime a picăturilor auriculare cu ciprofloxacina și uleiuri volatile pure, s-au cercetat următoarele prescripții:

### Picături auriculare tip emulsie U/A

Ținând cont de recomandările indicate în compartimentul de mai sus, am cercetat trei prescripții cu conținut de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc, pentru a selecta substanțele auxiliare potrivite și a alege compoziția optimă.

**Prescripția nr. 1.** Ciprofloxacina – 0,15 g  
Ulei de busuioc – 0,2 g  
Polisorbat 20 – 2,0 g  
PEG 400 – 5,0 g  
Nipagina – 0,02 g  
Natriu hidroxid 0,1M – până la pH = 5,0-7,5  
Apă purificată – până la 50 ml

Prescripția nr. 1 reprezintă o formă medicamentoasă lichidă - emulsie uleioasă de tipul u/a pentru uz extern, cu conținut de ciprofloxacina clorhidrat (lista B) și ulei volatil de busuioc - substanță insolubilă în apă, mirositoare și excipienți:

- agenți de majorare a solubilității - Polisorbatul 20
- agenți de mărire a vâscozității - PEG-400;
- corectori de pH (pH-ul favorabil este între valorile 5,0-7,5) - soluție 0,1M NaOH;
- conservanți (nipagina - 0,02-0,08%).

Procesul tehnologic de preparare a picăturilor auriculare cuprinde următoarele faze:

#### *Pregătirea emulsiei primare*

Într-o ceașcă de porțelan se introduce 2,0 g de Polisorbat 20, în care se adaugă cu picătura 0,2 g ulei de busuioc (aproximativ șapte picături), amestecăm minuțios până la emulsionarea uleiului.

#### *Pregătirea substanțelor medicamentoase*

La balanța analitică, cântărim masele necesare ale substanțelor medicamentoase.

#### *Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară*

La emulsia primară se adaugă porționat apă purificată (circa ½ din volumul ei) și excipienții 5,0 de PEG 400 și 0,02 nipagina, prealabil dizolvați într-o cantitate minimă de apă purificată din restul volumului. Se amestecă minuțios și apoi se adaugă 0,15 g ciprofloxacina, dizolvată în cantitate minimă de apă din restul volumului. Amestecăm bine și omogenizăm emulsia. Măsurăm pH-ul emulsiei și, dacă este cazul, îl ajustăm cu ajutorul soluției 0,1M NaOH (ad 1 ml) până la pH-ul convenit 5,0-7,5. Emulsia obținută este transferată într-un pahar gradat de 50 ml și se completează până la cota cu restul solventului.

La controlul vizual se observă că, la adăugarea soluției 0,1M NaOH, se formează un precipitat cu clorhidratul de ciprofloxacina, fapt ce ne-a sugerat faptul că este necesar de utilizat alt adjuvant, cu scopul de a ajusta pH-ul, deoarece emulsia rezultată nu corespunde cerințelor farmacopeii.

**Prescripția nr. 2.** Ciprofloxacina – 0,15 g  
Ulei de busuioc – 0,2 g  
Polisorbat 20 – 2,0 g  
PEG 400 – 5,0 g  
Nipagina – 0,02 g  
Soluție tampon citrat cu pH = 7,8 q.s.  
Apă purificată – până la 50 ml

Prescripția nr. 2 este o formă medicamentoasă lichidă, emulsie uleioasă de tipul u/a, pentru uz extern, cu conținut de ciprofloxacina clorhidrat (lista B) și ulei volatil de busuioc - substanță insolubilă în apă, miroitoare și excipienți:

- agenți de majorare a solubilității – Polisorbatul 20;
- agenți de mărire a vâscozității – PEG-400;
- corectori de pH (pH-ul favorabil este între valorile 5-7,5: soluția sistem tampon citrat cu conținut de citrat de sodiu/clorură de sodiu cu pH = 7,8);
- conservanți (nipagina 0,02-0,08%).

Procesul tehnologic de preparare a unguentului cuprinde următoarele faze:

*Pregătirea emulsiei primare.*

Într-o ceașcă de porțelan se introduce 2,0 g de Polisorbat 20, în care se adaugă cu picătura 0,2 g ulei de busuioc (aproximativ șapte picături), amestecăm bine până la emulsionarea uleiului.

*Pregătirea substanțelor medicamentoase.*

La balanța analitică, cântărim masele necesare ale substanțelor medicamentoase.

*Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară.*

La emulsia primară se adaugă porționat apă purificată (circa ½ din volumul ei) și excipienții 5,0 g de PEG 400 și 0,02 g nipagina, prealabil dizolvați într-o cantitate minimă de apă purificată din restul volumului. Se amestecă minuțios și apoi se adaugă 0,15 ciprofloxacina, dizolvată în cantitate minimă de apă din restul volumului. Amestecăm bine și omogenizăm emulsia. Măsurăm pH-ul emulsiei și, dacă este cazul, îl ajustăm cu ajutorul soluției tampon citrat cu pH = 7,8 (ad. 1 ml) până la pH-ul convenit (5,0-7,5). Emulsia obținută este transferată într-un pahar gradat de 50 ml și se completează până la cotă cu restul solventului.

La controlul vizual al emulsiei diluate obținute, nu se observă nicio modificare a aspectului exterior. Emulsia cercetată corespunde cerințelor: are un aspect lăptos, omogen și este lipsită de particule în suspensie; are un miros plăcut de ulei volatil de busuioc.

*Ambalarea produsului finit.*

Amestecul se trece în recipient din sticlă întunecată, cu capacitatea de 50 g.

**Prescripția nr. 3.** Ciprofloxacina – 0,15 g  
Ulei de busuioc – 0,2 g  
Carboximetilceluloză sodiu – 0,5 g  
PEG 400 – 5,0 g

Nipagină – 0,02 g

Apă purificată – până la 50 g

Prescripția nr. 3 reprezintă o formă medicamentoasă lichidă, emulsie uleioasă de tipul u/a pentru uz extern, cu conținut de ciprofloxacină clorhidrat (lista B) și ulei volatil de busuioc – substanță insolubilă în apă, mirositoare și excipienți:

- agenți de majorare a solubilității – CMCNa;
- agenți de mărire a vâscozității – PEG-400;
- conservanți (nipagină - 0,02-0,08%).

Procesul tehnologic de preparare a picăturilor auriculare cuprinde următoarele faze:

*Pregătirea emulsiei primare.*

Preparăm hidrogelul de sodiu carboximetilceluloză - 10%. Pentru aceasta 5,0 g de CMC-Na se acoperă cu 25 ml apă fierbinte ( $t = 80-90^{\circ}\text{C}$ ), se lasă pentru gonflare, iar, după răcire, se adaugă restul de apă răcită la frigider; se amestecă și se omogenizează până la consistența corespunzătoare.

Într-o ceașcă de porțelan se introduce 2,0 g de CMCNa, în care se adaugă cu picătura 0,2 g ulei de busuioc (aproximativ șapte picături), amestecăm bine până la emulsionarea uleiului.

*Pregătirea substanțelor medicamentoase.*

La balanța analitică, cântărim masele necesare ale substanțelor medicamentoase.

*Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară.*

La emulsia primară se adaugă porționat apă purificată (circa  $\frac{1}{2}$  din volumul ei) și excipienții 5,0 g de PEG 400 și 0,02 g nipagină, prealabil dizolvați într-o cantitate minimă de apă purificată din restul volumului. Se amestecă minuțios, apoi se adaugă 0,15 g ciprofloxacină, dizolvată în cantitate minimă de apă din restul volumului. Amestecăm bine, omogenizăm emulsia. Măsurăm pH-ul soluției. Emulsia obținută este transferată într-un pahar gradat de 50 ml și se completează până la cotă cu solventul.

La analiza vizuală a emulsiei obținute, am observat că, din momentul obținerii emulsiei, are loc stratificarea, aspectul exterior este neomogen; picături de ulei neînglobat în emulgator. Nu este necesară ajustarea pH-ului, întrucât el se încadrează în limite, dar, după parametrii organoleptici, emulsia nu corespunde cerințelor.

În urma studiilor de preformulare a picăturilor auriculare, precum și ale celor de compatibilitate, a fost selectată o singură compoziție, **nr. 2**, care are, în calitate de principii active, ciprofloxacină clorhidrat (lista B) și ulei volatil de busuioc și excipienți:

- ✓ agent de majorare a solubilității și ca emulgator - Polisorbatul 20;
- ✓ agent de mărire a vâscozității - PEG-400;
- ✓ corector de pH (pH-ul favorabil este între valorile 5-7,5) - soluția sistem tampon citrat, cu conținut de citrat de sodiu/clorură de sodiu cu pH = 7,8);
- ✓ conservant (nipagină 0,02-0,08%).

**Formularea selectată (nr. 2).** Ciprofloxacina – 0,15 g  
Ulei de busuioc – 0,2 g  
Polisorbat 20 – 2,0 g  
PEG 400 – 5,0 g  
Nipagina – 0,02 g  
Soluție tampon citrat cu pH = 7,8 q.s.  
Apă purificată – până la 50 ml

Conform monografiei de generalități: „Suspensii și emulsii”, prescripția nr. 2 corespunde tuturor cerințelor și, ulterior, a fost utilizată pentru analize.

Această prescripție a fost utilizată în continuare pentru elaborarea metodelor de analiză și standardizare. Astfel, schema fluxului tehnologic de preparare a picăturilor auriculare combinate este prezentată în figura 3.1.

#### **Elaborarea metodelor de analiză pentru picăturile auriculare cu ciprofloxacina**

FR X prevede controlul unor parametri specifici pentru soluțiile otice.

Soluțiile otice trebuie să fie limpezi, iar emulsiile și suspensiile să corespundă prevederilor Farmacopeii sau normelor de fabricație.

##### *Caractere și control*

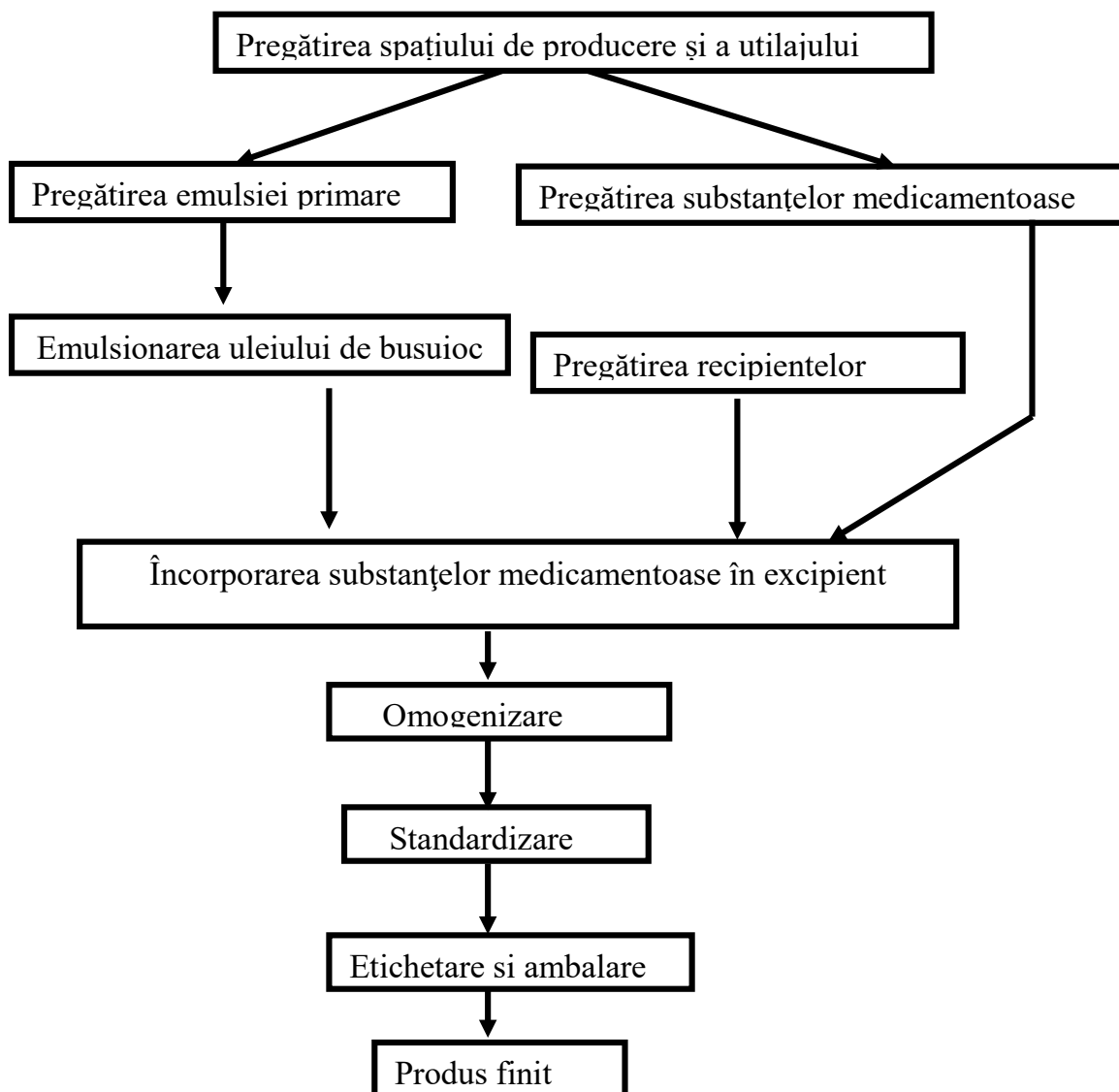
a) pH-ul soluției s-a determinat potențiometric, valoarea obținută este de 5,3; pH-ul trebuie să fie cuprins între valorile 5-7,5.

b) Masa totală pe recipient s-a determinat prin cântărirea individuală a conținutului din zece recipiente. Abaterile de la masa declarată de 50 g au constituit  $\pm 2,1\%$ , ceea ce corespunde normelor prevăzute.

c) Soluția otică s-a identificat prin metoda spectrofotometrică în UV și prin efectuarea reacției la cloruri.

Spectrul UV al soluției otice, înregistrat pentru 0,5 ml soluție adusă într-un balon cotate de 250 ml până la cota cu soluție 0,1M HCl, în cuva cu grosimea 1 cm, în regiunea 250–300 nm trebuie să posedă un maximum la lungimea de undă 277 nm și să corespundă spectrului ciprofloxacinei standard.

La 1,0 ml soluție otică se adaugă 0,1 ml azotat de argint, 0,1 ml acid azotic: apare un precipitat cazeos alb, solubil în soluție amoniacală.



**Fig. 3.1. Schema fluxului tehnologic de fabricare a picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacină și ulei de busuioc**

**Dozarea** s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică, pentru clorhidratul de ciprofloxacină, și prin cromatografia de gaze, pentru uleiul volatil de busuioc.

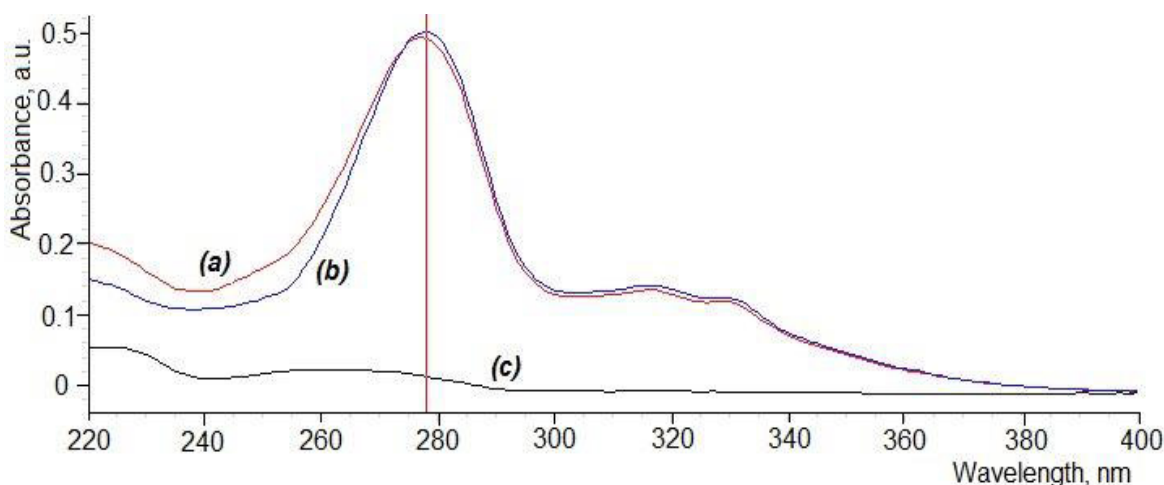
*Dozarea spectrofotometrică a ciprofloxacinei.*

Pentru prepararea soluției etalon s-a utilizat ciprofloxacină standard, recristalizată consecutiv din apă bidistilată. Lucrând cu vesela de laborator curată și cu un gradient mic de temperatură la formarea germenilor de cristalizare (1°C/min.), am reușit să obținem ciprofloxacină cu puritate 99,99%, prezentându-se după uscare ca o masă cristalină aciculară, cu punctul de topire de 270,4°C. Puritatea s-a stabilit prin cromatografie de lichide de înaltă presiune. Tehnica de lucru a fost elaborată, ținând cont de studiul comportamentului spectral al substanței standard.

S-a preparat soluția etalon cu concentrația 4 μg/ml în HCL 0,1M (0,01 g ciprofloxacină se dizolvă în soluție HCl 0,1M, în balon cotat de 50 ml. Se aduce la cotă cu același solvent și se



omogenizează. Apoi 1 ml se trece în alt balon cotat de 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent și se omogenizează. Se măsoară absorbanta soluției standard de ciprofloxacina la spectrofotometru, în cuva cu grosimea de 1 cm, la lungimea de undă  $277 \pm 2$  nm (fig. 3.2). În calitate de soluție de referință, a servit soluția 0,1M de HCl.



**Fig. 3.2. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluției standard de clorhidrat de ciprofloxacina 4,0  $\mu\text{g}$  / ml (a), soluție probă (b) și placebo (c)**

Pentru a stabili intervalul de concentrații, în care se respectă legea absorbantei, am construit diagrama de etalonare. Pentru aceasta, într-un balon cotat de 50 ml, s-a preparat soluția etalon de bază din  $0,0500 \pm 0,0001$  g de ciprofloxacina de două ori recristalizată și apă bidistilată până la cotă. Soluțiile etalon de lucru s-au preparat prin diluarea soluției de bază, într-o regresie pătratică. Astfel am obținut șase soluții cu concentrațiile de 1,5625, 3,125, 6,250, 12,50, 25,00, 50,00  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . De asemenea am obținut spectrele de absorbantă ale acestor soluții. S-a urmărit variația lungimii de undă la absorbanta maximă și valoarea maximelor de absorbantă. În urma determinărilor, am constatat limita de detecție:  $0,400 \pm 0,02$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; eroarea relativă a determinărilor variază de la  $\pm 0,2\%$ , la concentrații 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , până la  $\pm 3\%$ , la concentrația 1,5625  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Sensibilitatea metodei este de 0,4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , iar domeniul de liniaritate este cuprins între concentrațiile de 3 și 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Pentru analiza spectrofotometrică a soluției otice, la 1,5 ml soluție se adaugă 0,1 M de HCL într-un balon cotat cu capacitatea de 250 ml. Se completează volumul soluției până la cotă cu același solvent și se omogenizează. Se citește absorbanta soluției probă la spectrofotometru, la lungimea de undă  $277 \pm 2$  nm, în cuva cu grosimea stratului de 10 mm, utilizând în calitate de soluție de compensare HCL 0,1M.

S-a determinat o concentrație de 0,29% ciprofloxacina și s-au stabilit limitele admisibile de concentrații de la 0,285 până la 0,315% în preparat.

De asemenea am stabilit selectivitatea metodei de dozare prin analiza unei probe martor, în cantități echivalente cu componentele constituente ale soluției otice. La lungimea de undă de 277

nm, corespunzătoare determinării ciprofloxacinei, proba martor a indus o valoare a absorbanței de 0,0009. S-au preparat trei soluții:

- *soluția etalon: 0,05 g de ciprofloxacina se prelucrează conform tehnicii prezentate;*
- *soluția martor: 1,0 ml de excipienți se prelucrează conform tehnicii descrise la soluția etalon;*
- *soluția probă: 0,05 g de ciprofloxacina și 1,0 ml de excipienți se prelucrează conform tehnicii descrise.*

Se înregistrează spectrele în UV ale acestor soluții, folosind, ca lichid de compensare, HCL 0,1M. Valorile determinate pentru soluția martor se înscriu în intervalul de variație al ordonatei la origine.

Determinarea exactității (acurateții) metodei s-a efectuat pe trei probe, compuse din ciprofloxacina și amestec de excipienți în HCL 0,1M, în concentrații corespunzătoare de 80-120% din cantitatea declarată. Acuratețea este exprimată în % de analit regăsit, comparativ cu valorile reale, și este prezentată în tabelul 3.1.

Condiția de admisibilitate este îndeplinită atunci când randamentul de admisibilitate este minimum de 99%.

**Tabelul 3.1. Randamentul de regăsire ca o condiție de admisibilitate**

Nr.	Cantitatea de ciprofloxacina luată în lucru		Cantitatea de ciprofloxacina, mg/ml	Randamentul de regăsire, %
	%	mg/ml		
1	80,00	8,7	8,85	101,72
2	100	10,4	10,66	102,50
3	120	12,4	12,68	102,25

Precizia metodei de dozare se apreciază prin coordonarea rezultatelor mai multor serii de determinări repetate, efectuate pe aceeași probă sau pe mai multe eșantioane prelevate dintr-o probă mică omogenă. Din punct de vedere cantitativ, precizia se exprimă în general prin abaterea standard și abaterea relativă standard.

În cazul metodei de dozare a ciprofloxacinei, s-au analizat trei probe independente, pentru fiecare din acestea, efectuându-se câte cinci determinări conform metodei descrise la dozare. S-a determinat valoarea medie globală – 10,22 mg/ml; abaterea relativă globală este de 0,02914 mg/ml; abaterea relativă standard (RSD) este de 0,292. Condiția de admisibilitate prevede că o metodă poate să fie considerată reproductivă, dacă  $RSD \leq 2$ . Așadar, această condiție este îndeplinită, astfel determinând precizia.

S-au stabilit condițiile optime de identificare și dozare a soluției prin metoda spectrofotometrică. Metoda este exactă și reproductibilă, erorile fiind în limitele admise de exigențele controlului medicamentelor pentru forme farmaceutice otice.

Dozarea uleiului volatil de busuioc a fost realizată prin cromatografie de gaze, în baza conținutului de linalool, deoarece acest principiu activ se regăsește în cantități maxime [101].

A fost înregistrată cromatograma soluției analizate prin injectarea a 3 ml de soluție analizată (fig. 3.3). Paralel, se înregistrează cromatograma standardului de linalool (fig. 3.4)

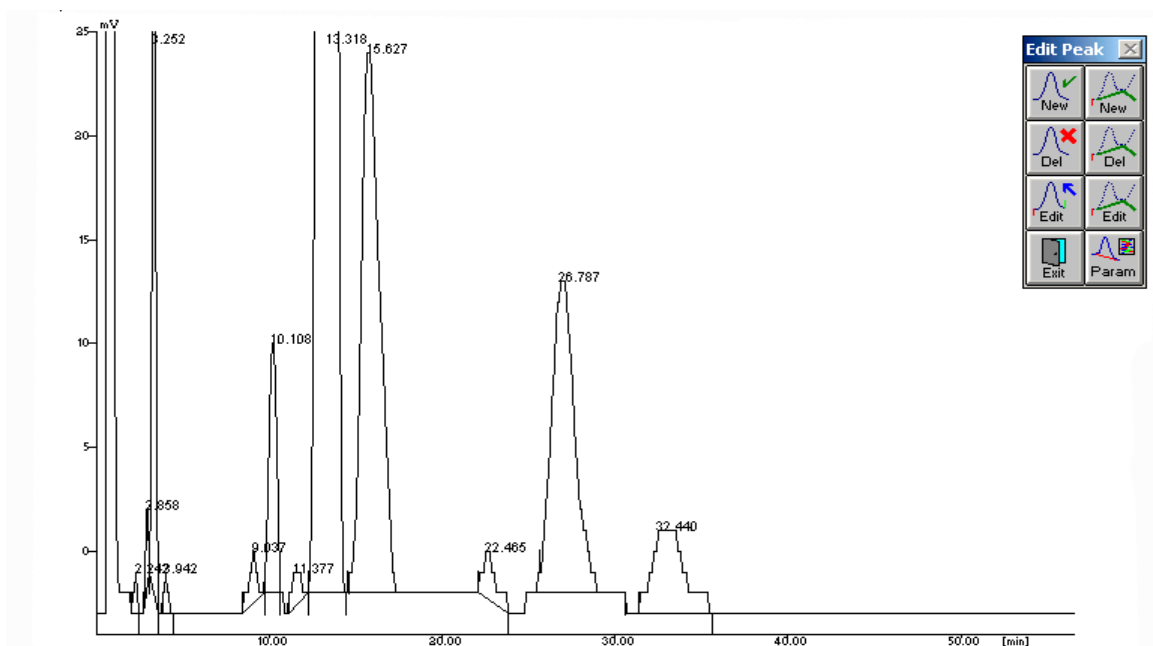


Fig. 3.3. Cromatograma soluției analizate pentru *Ocimum basilicum*

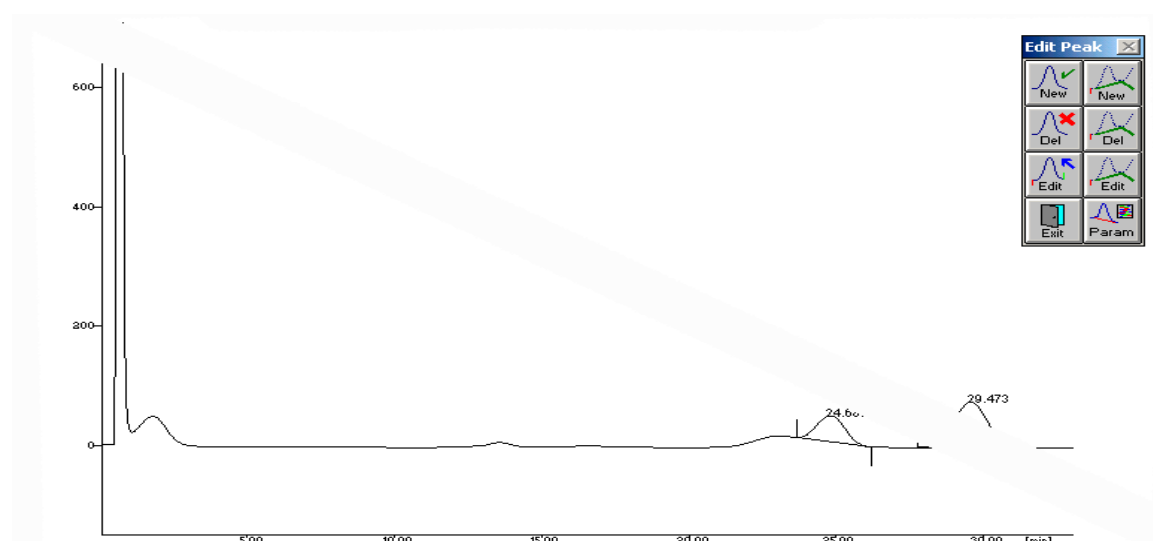


Fig. 3.4. Cromatograma standardului de linalool

S-a calculat conținutul de linalool în raport cu standardul.

Tabelul 3.2. Rezultatele evaluării statistice a dozării linaloolului în soluție auriculară prin metoda GC

Cantitatea de ulei injectat, mkl	Conținut	Date statistice
	%	
3	0,0893	X = 0,08815 S <sup>2</sup> = 0,0146
3	0,0875	S = 0.1208 S <sub>x</sub> = 0,0697
3	0,0876	Eλ = 0,29971 A = 0,08815 ± 0,29971

Conținutul de linalool s-a calculat în raport cu standardul. Rezultatele determinărilor au fost evaluate statistic. Eroarea relativă a metodei se încadrează în limitele admisibile (tab. 3.5).

*E: Condiționare și control*

*E<sub>1</sub>. Picăturile pentru ureche* sunt condiționate în recipiente bine închise, de capacitate cuprinsă în 25 ml, produse din material plastic și prevăzute cu un dop picurător. Flaconul cu soluție se etichetează corespunzător, utilizându-se și diferite etichete adiționale. De exemplu: „A se păstra la loc răcoros”, „A se păstra ferit de lumină” etc.

Așadar, în baza cercetărilor farmaceutice, am reușit să elaborăm ***Monografia farmacopeică temporară și Regulamentul tehnologic de producere a picăturilor auriculare CB12.***

### **3.2. Elaborarea produsului Neamon-hepa (NH-01)**

Tehnologia produsului farmaceutic Neamon-hepa, capsule, 834 mg N30, a fost elaborată în cadrul Laboratorului tehnologie farmaceutică și transfer tehnologic al CȘM, având, ca principii active, aspartatul de arginină, spironolactona și produsul BioR (Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM, sub conducerea academicianului Valeriu Rudic).

Fluxul tehnologic a inclus următoarele etape de bază: cercetarea materiei prime și a excipienților, uscarea componentelor cernute, cântărirea și măsurarea volumului componentelor, impregnarea lactozei cu sol. BioR, uscarea lactozei cu BioR și pulverizarea amestecului uscat, pregătirea mixurilor (fig. 3.5): I (spironolactonă: lactoză anhidră în raport 1:2), II (se amestecă mixul I cu lactoza impregnată cu BioR), III (se amestecă mixul II, amidon de porumb, celuloză microcristalină, stearat de magneziu), IV- final ( se amestecă mixul III cu aspartat de L-arginină uscată), condiționarea în capsule, ambalarea capsulelor în ambalaj primar (flacoane), amplasarea ambalajului primar în unul secundar, ambalarea colectivă. Conținutul capsulei reprezintă o pulbere de culoare albă, cu nuanță gălbuie și miros caracteristic slab (fig. 3.6). În cadrul cercetărilor de elaborare a metodelor de standardizare pentru produsul Neamon-hepa, la conceperea tehnologiei produsului farmaceutic, efectuate în Laboratorul analiză, standardizare și controlul medicamentului al CȘM, s-a studiat aplicabilitatea unor metode farmacopeice și nefarmacopeice de analiză a substanțelor active. Metoda USP-29 de dozare a spironolactonei s-a dovedit a fi utilă în acest scop. Cu toate acestea, pentru a standardiza produsul finit, am elaborat metoda spectrofotometrică a dozării spironolactonei pentru testul de dizolvare a produsului, metoda HPLC de dozare a L-argininei în forma farmaceutică, care poate fi utilizată ca o alternativă, de asemenea metoda de identificare a preparatului BioR în componența formei farmaceutice, după conținutul acidului glutamic. Astfel am elaborat metoda HPLC corespunzătoare. Pe baza rezultatelor obținute, am perfectat toată documentația tehnică de normare a produsului cercetat.

**Obținerea capsulelor de Neamon-hepa cu proprietăți farmacotehnologice și biofarmaceutice optimizate**

Preparatul autohton Neamon-hepa (NH-01) a fost conceput ca un remediu cu acțiune poli-funcțională în domeniul abordat, în perspectiva reducerii concentrației de amoniac în creier, fapt ce ar contribui la diminuarea complicațiilor în ciroza hepatică. Componentele de bază sunt arginina, spironolactona și BioR-ul, care reprezintă o formulă de perspectivă datorită potențării efectului antioxidant.

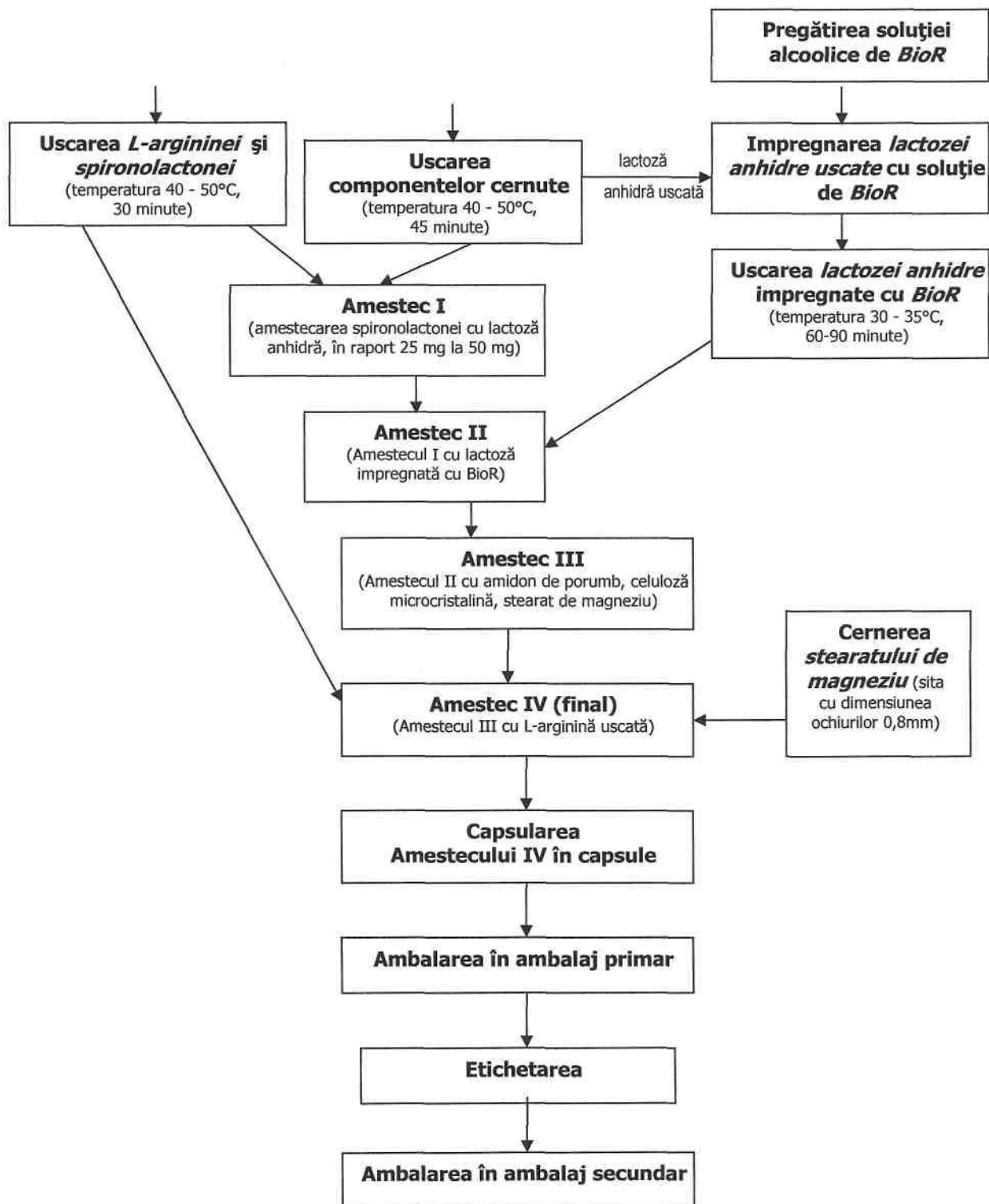


Fig. 3.5. Procesul de fabricare a Neamon-hepa (NH-01)

### Formularea conținutului capsulelor.

În procesul de formulare trebuie să se țină cont de caracteristicile substanțelor active și ale celor auxiliare, de aparatăj. Cunoașterea proprietăților fizico-chimice ale substanțelor active determină alegerea substanțelor auxiliare potrivite și a procedeele tehnologice adecvate. Pentru a obține amestecuri cât mai omogene, particulele de substanță activă și de substanțe auxiliare trebuie să aibă dimensiuni cât mai apropiate, fapt ce asigură și un dozaj corespunzător.

Luând în considerare conținutul principiilor active pentru o unitate farmaceutică (capsulă operculată), a fost selectat preventiv numărul capsulei, conform caracteristicilor capsulelor operculate, produse de industria farmaceutică sub numere de la nr. **000** până la **nr. 5** inclusiv. În acest scop am selectat capsulele **nr. 00**. Potrivit datelor din literatură, capacitatea acestor capsule este de  $0,95 \text{ cm}^3$ , ceea ce corespunde cantităților de amestec de pulberi de la 825 până la 950 mg, cu densitatea amestecului de la 0,9 până la  $1,0 \text{ g/cm}^3$ . Dintre substanțele auxiliare am selectat: *lactoza anhidră*, *amidonul*, *celuloza microcristalină* și *stearatul de magneziu*. Formula pentru o capsulă este prezentată în tabelul 3.6, în care sunt indicate denumirea componentelor, cantitatea lor într-o capsulă și rolul fiecărui component. De obicei, în calitate de diluanți se utilizează substanțe inerte din punct de vedere chimic și farmaceutic, convenabile economic, care prin prezența lor facilitează operațiile de preparare și satisfac exigențele de calitate a capsulelor. Este preferabil ca diluanții să posede și alte caracteristici utile, îndeplinind rolul de dezagreganți, adsorbanți etc. Ținând cont de aspectele enumerate, am utilizat amidonul și celuloza microcristalină care pot fi în același timp diluante și dezagregante, iar, ca lubrifianți, stearatul de magneziu.

Etapile procesului de preparare (fig. 3.5).

1. L-arginina și spironolactona se triturează, se cern prin sita cu mărimea ochiurilor de 0,8 mm și se usucă în dulapul de uscare la temperatura de  $40\text{-}50^\circ\text{C}$ , timp de 30 min.

2. Lactoza anhidră, amidonul și celuloza microcristalină se cern prin sita cu mărimea ochiurilor de 0,8 mm și se usucă în dulapul de uscare la temperatura de  $40\text{-}50^\circ\text{C}$ , timp de 45 min.

3. La o parte de lactoză anhidră (circa 200 mg) se adaugă treptat soluția alcoolică de BioR și se lasă la loc deschis până la evaporarea totală a solventului. Operația se repetă de câteva ori, până toată cantitatea de soluție este absorbită de lactoză. Amestecul obținut se trece în dulapul de uscare și se usucă timp de 60 – 90 de minute la temperatura de  $30\text{-}35^\circ\text{C}$ . Amestecul trebuie să posede o pulverulență bună, fără conglomerate.

4. Separat, se amestecă spironolactona (25 mg) cu circa 50 mg de lactoză (restul rămas), până se obține o combinație omogenă. La această combinație, prin amestecare continuă, se adaugă în mai multe reprize BioR cu lactoză. Apoi se adaugă amidonul, celuloza microcristalină și stearatul de magneziu și se agită timp de 15-20 de minute, până iarăși obținem o combinație omogenă.

5. La ultima etapă, în combinația obținută se adaugă treptat pulberea de L-arginină uscată și se amestecă timp de 20-30 de minute. În definitiv vom obține un amestec omogen, pulverulent, fără particule de componente separat evidențiate.

6. Amestecul obținut se condiționează în corpul capsulelor operculate nr. 00, câte 834,0 mg, și se închid cu capacul respectiv.

7. Preparatul obținut se ambalează a câte 10 sau 20 de capsule, în flacoane din polietilenă, și se etichetează conform Monografiei farmaceutice temporare (MFT).

Procesul tehnologic prezentat *supra* este unul de bază în Regulamentul tehnologic de producere (RTP) a capsulelor cu Neamon-Hepa.

**Tabelul 3.3. Compoziția produsului farmaceutic NH-01**

Nr. crt	Denumirea componentelor	Cantitatea pentru o capsulă, mg	Rolul în formulă
1.	Aspartat de L-arginină	450,0	Principiu activ
2.	Spironolactonă	24,0	Principiu activ
3.	BioR, soluție alcoolică, 50 mg/ml (recalculat la substanța uscată)	9,0	Principiu activ
4.	Lactoza anhidră	240,0	Diluant
5.	Amidon de cartofi	60,0	Glisant
6.	Celuloza microcristalină	45,0	Antiaderent, Glisant
7.	Stearat de magneziu	6,0	Lubrifiant
	<b>Masa totală</b>	<b>834,0</b>	

Etaplele procesului de preparare sunt prezentate în figura 3.5.

#### **Elaborarea metodelor de analiză și standardizare pentru produsul Neamon-Hepa**

Scopul acestei etape a constat în elaborarea metodelor de analiză și de standardizare pentru produsul Neamon-Hepa, cu compoziția propusă *supra*.

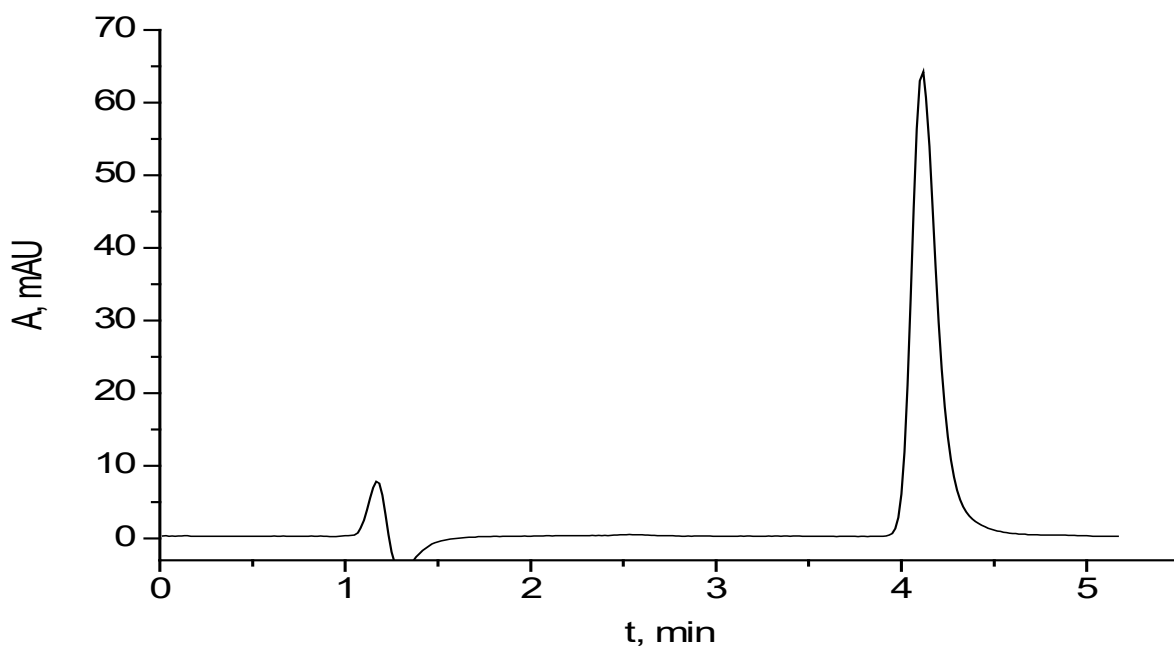
În procesul de elaborare a metodelor de analiză și standardizare, s-a ținut cont de structura și cerințele prezentate de ghidurile europene și internaționale de elaborare a documentației analitice de normare a calității produselor medicamentoase. Pentru a identifica spironolactona și aspartatul de arginină, am elaborat metoda de cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC). Aceeași metodă a fost implementată și în cazul elaborării metodelor de dozare a acestor substanțe. Perioadele de retenție a picurilor cromatografice din proba analizată la efectuarea testului „Dozarea spironolactonei” trebuie să corespundă timpilor de retenție a picurilor din soluția standard. Similar am procedat și în cazul aspartatului de arginină, unde timpii de retenție a picurilor cromatografice din proba analizată la efectuarea testului „Dozarea aspartatului de arginină” trebuie să corespundă timpilor de retenție a picurilor din soluția standard de arginină și acid aspartic. Metoda HPLC de dozare a principiilor active s-a realizat cu utilizarea fazei staționare inverse „Phenyl”, ea, fiind optimă, permite dozarea preparatului prin calcularea unui

singur vârf cromatografic. De asemenea s-au verificat liniaritatea și repetabilitatea metodei propuse.

În același context am obținut condiții de separare cromatografică optimă, utilizând în compoziția fazei mobile acetonitril în loc de metanol, fapt ce a influențat favorabil forma picurilor și eficiența sistemului cromatografic (fig. 3.6). Această metodă poate fi utilizată pentru a identifica spironolactona după timpul de retenție și pentru a determina concentrația acesteia în testul de dizolvare. Paralel, am optimizat și metoda de spectrofotometrie în UV, pentru a determina concentrația spironolactonei în testul de dizolvare.

Metoda HPLC de dozare a aspartatului de L-arginina a început cu studiul preliminar al spectrului UV (fig. 3.7), care permite detecția lui directă în concentrații relativ mari (fig. 3.8). Pe faza staționară CN (în regim cu faza normală), L-arginina se reține mai bine. Luând în considerare structura chimică, se poate presupune obținerea rezultatelor satisfăcătoare pe fazele staționare schimbătoare de cationi (SCX) sau de anioni (SAX), dar, din cauza lipsei coloanelor cromatografice corespunzătoare, ne-am limitat doar la coloanele cu faze inverse.

Metodele prezentate *supra* au fost incluse în compartimentul *Dozare* al **Monografiei farmaceutice Neamon-Hepa**.



**Fig. 3.6. Cromatograma soluției de spironolactonă, 20 mg/l**

*Condiții cromatografice: coloana Uptisphere 5 ODB, 5  $\mu$ m, 3 x 150 mm;  
faza mobilă: acetonitril – apă (55:45), debit 0,8 ml/min.; detecție în UV, 242 nm;  
volumul probei de injectat 10  $\mu$ l.*



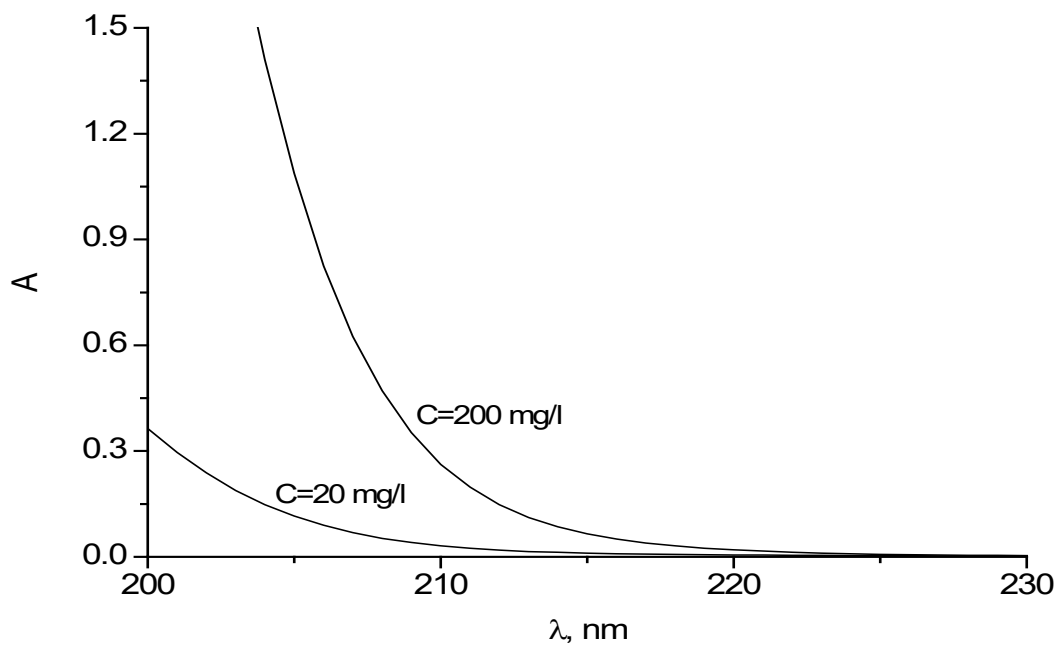


Fig. 3.7. Spectru de absorbție în UV a soluției apoase clorhidrat de L-arginină

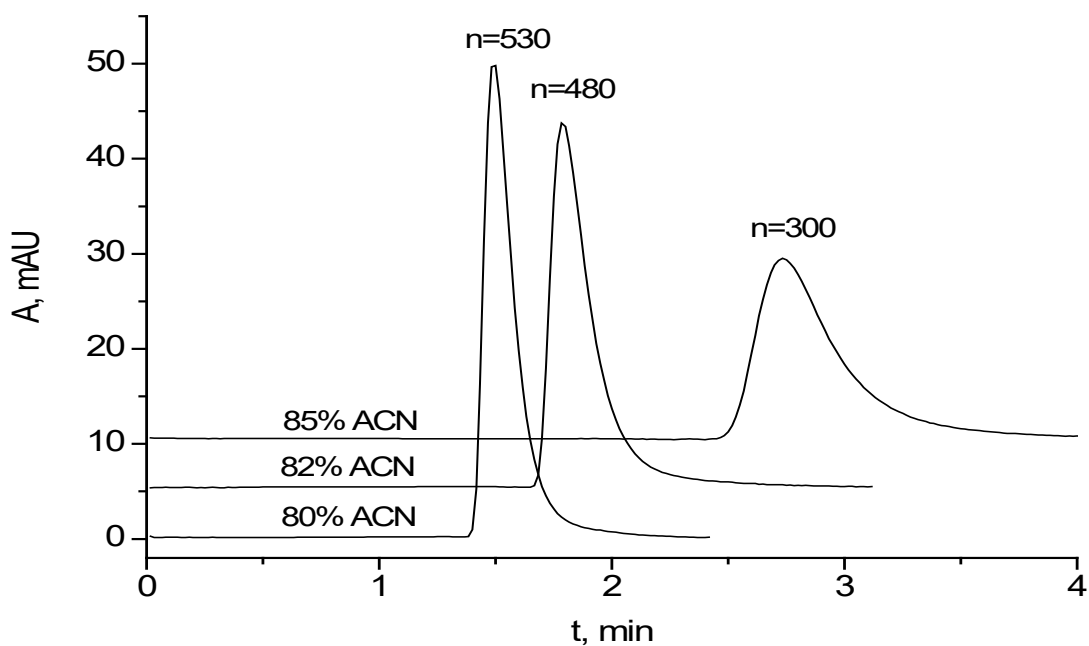


Fig. 3.8. Forma picului L-argininei și eficiența sistemului cromatografic în funcție de concentrația acetonitrilului în faza mobilă

Condiții cromatografice: coloana Extrasil CN, 3  $\mu$ m, 4 x 75 mm; faza mobilă: acetonitril – tampon fosfat (0,01M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + 0,01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), debit 1,5 ml/min.; detecție în UV, 210 nm.

### **Determinarea acidului glutamic**

Principiul metodei constă în faptul că glutamatdehidrogenaza catalizează reacția:



Echilibrul reacției este deplasat în stânga. Datorită legării  $\alpha$ -cetoglutaratului cu hidrazina, în prezența surplusului de NAD și în mediu bazic (pH 9), L-glutamatul este transformat cantitativ în  $\alpha$ -cetoglutarat și se măsoară absorbanta la 340 sau 366 nm.

Inițial, se construiește curba de calibrare. Din soluția stoc, cu concentrația acidului glutamic de 1 mg/ml, se prepară câteva diluții: 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 și 0,40 mg/ml.

La 3 ml soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină) pH 9,0, se adaugă 0,2 ml NAD, 0,2 ml probă (acid glutamic) și 0,05 ml glutamatdehidrogenază (3 UA/mg) în 0,15 M sol. K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se măsoară absorbanta la 340 nm (E1) imediat după adăugarea enzimei și după 60 min. de incubare la 30°C (E2). Se determină diferența dintre E2 și E1.

Proba oarbă se prepară în mod analog, doar că, în loc de acid glutamic, se adaugă 0,2 ml H<sub>2</sub>O. La 3 ml soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină, pH 9), se adaugă 0,2 ml NAD, 0,2 ml H<sub>2</sub>O.

**Mersul determinării.** La 0,25 ml 0,5M soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină), cu pH-ul 9, s-au adăugat 0,02 ml NAD, 0,02 ml probă diluată și 0,010 ml glutamatdehidrogenază (1,5 UA/mg) în 0,15 M sol. K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> și s-a agitat. Am citit absorbanta la 340 nm (E1) imediat după adăugarea enzimei și după 60 min. incubare la 30°C (E2). S-a determinat diferența E2-E1. Proba oarbă s-a preparat în mod analog, doar că, în loc de acid glutamic, s-a adăugat 0,02 ml H<sub>2</sub>O: La 3 ml 0,5M soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină), cu pH-ul 9, s-au adăugat 0,02 ml NAD și 0,02 ml H<sub>2</sub>O. Această metodă de asemenea a fost inclusă în *Monografia farmaceutică Neamon-hepa*. În continuare sunt redați alți parametri de calitate, incluși în aceeași *Monografie farmaceutică Neamon-hepa*.

### **Masa medie și devieri de la masa medie ale capsulelor intacte**

Determinarea se efectuează conform prevederilor Farmacopeii Europene.

Din eșantionul pentru analiză se preiau 20 de capsule. Se cântărește fiecare capsulă intactă. Din 20 de valori obținute, se calculează masa medie a capsulelor intacte, care trebuie să fie de la 0,820 până la 1,030 g.

Devierea masei individuale a capsulelor intacte față de valoarea medie nu trebuie să depășească  $\pm 10\%$ , cu excepția a două capsule, pentru care se admite abaterea până la  $\pm 20\%$ .

### **Masa medie și devieri de la masa medie ale conținutului capsulelor**

Determinarea se efectuează conform prevederilor Farmacopeii Europene. Din eșantionul pentru analiză se prelevează 20 de capsule. Se cântărește fiecare capsulă intactă, se deschide, se îndepărtează conținutul și se cântărește învelișul capsulei. Se calculează diferența dintre cele două cântăriri, ce reprezintă masa conținutului capsulei. Din 20 de valori obținute se calculează masa medie a conținutului capsulei, care trebuie să fie de la 0,771 până la 0,897 g.

Devierea masei individuale a conținutului capsulei față de valoarea medie nu trebuie să depășească  $\pm 10\%$ , cu excepția a două capsule, pentru care se admite abaterea până la  $\pm 20\%$ .

#### **Dizolvare**

Determinarea se efectuează conform USP-29, utilizând aparatul II (cu palete). Mediul de dizolvare – soluție 0,1% de laurilsulfat de sodiu în acid clorhidric 0,1 mol/l, volumul – 1000 ml, viteza de rotație a paletelor – 75 rot./min., durata dizolvării – 60 min. În șase vase se introduce câte o capsulă preparat de analizat, iar în al șaptelea vas – o capsulă, eliberată de conținut. După 60 min. se prelevează 5 ml soluție din centrul vasului, se filtrează prin filtru cu membrană (0,45  $\mu\text{m}$ ), aruncând prima porțiune de filtrat (soluția probă). *Condițiile de analiză cromatografică sunt prezentate în compartimentul Dozare spironolactonă. Prepararea soluției standard spironolactonă:* 4,5 ml de soluția A, obținută în compartimentul *Dozare spironolactonă*, se trece în balonul cotate cu capacitatea 100 ml, se aduce la cotă cu faza mobilă și se omogenizează. Soluția conține circa 18 mg/l spironolactonă, ce corespunde gradului de eliberare 75%.

**Omogenitatea dozării.** Determinarea se efectuează conform prevederilor Farmacopeii Europene. *Condițiile de analiză cromatografică, prepararea soluției standard și verificarea utilității sistemului cromatografic* sunt prezentate în compartimentul *Dozare spironolactonă*.

*Efectuarea analizei.* Din eșantionul analizat se prelevează zece capsule. Conținutul fiecărei capsule se trece cantitativ în balonul cotate cu capacitatea 25 ml, se adaugă 15-20 ml fază mobilă, se ține 5 min. pe baie de ultrasunet, se completează volumul cu faza mobilă și se omogenizează. 1 ml soluție obținută se trece în alt balon cotate cu capacitatea 25 ml, se completează cu faza mobilă și se omogenizează. Soluția se filtrează prin filtru cu membrană (0,45  $\mu\text{m}$ ), aruncând prima porțiune de filtrat. Câte 20  $\mu\text{l}$  soluții de analizat și soluție standard spironolactonă se introduc consecutiv în cromatograf.

Din zece valori obținute se calculează valoarea medie și devierile individuale de la aceasta. Devieri individuale ale conținutului spironolactonei în probele analizate de la valoarea medie nu trebuie să depășească  $\pm 15\%$ , cu excepția unei capsule, pentru care se admite abaterea până la  $\pm 25\%$ . Dacă două sau trei din zece valori individuale demonstrează o deviere mai mare de  $\pm 15\%$ , dar nu mai mare de  $\pm 25\%$ , aceeași procedură se repetă încă pe 20 de capsule. Cel mult trei din cele 30 de valori obținute în total pot demonstra devieri mai mari de  $\pm 15\%$ , dar nu mai mari de  $\pm 25\%$  de la valoarea medie.

**Contaminare microbiană.** Preparatul trebuie să corespundă cerințelor Farmacopeii Europene, categoria 3A. În condiții de cercetare, preparatul nu posedă activitate bactericidă. În 1,0 g produs farmaceutic se admite prezența a cel mult 1000 de microorganisme aerobe și cel mult 100 de fungi (levuri și fungi filamentoși) în lipsa *E. coli*.

### 3.3. Sinteza capitolului 3

1. Teoretic, a fost argumentat raționamentul combinării în aceeași formă farmaceutică a remediului antibacterian cu un produs natural – uleiul volatil de busuioc.
2. Au fost studiați și prezentați excipienții utilizați la formularea picăturilor auriculare în funcție de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase selectate, ceea ce a servit drept bază pentru efectuarea studiilor de preformulare. În urma cercetărilor la etapa de preformulare, a fost stabilită formula optimă pentru picăturile auriculare combinate.
3. S-a realizat studiul compatibilității ciprofloxacinei și uleiului de busuioc prin metode exacte și sensibile - Spectrofotometria UV, HPLC și GC - care au demonstrat că substanțele nu se interferează și pot fi asociate în aceeași formă farmaceutică.
4. Studiile de preformulare au condiționat elaborarea formulei optime și a tehnologiei de preparare pentru picăturile auriculare CB-12. În acest context au fost elaborate metodele de analiză și standardizare ale principiilor active din picăturile auriculare și validată metoda spectrofotometrică în UV de dozare a ciprofloxacinei.
5. Studiul farmaceutic demonstrează compatibilitatea fizică și chimică a componentelor, stabilitatea acestora atât în procesul de formulare, cât și pe toată perioada de valabilitate a CB-12 și determină parametrii tehnologici de preparare a formei farmaceutice selectate.
6. Metodele concepute au stat la baza elaborării **Regulamentului tehnologic de producere** și a **Monografiei farmaceutice temporare a picăturilor auriculare CB12**. La fabricarea CB-12 au fost parcurse fazele procesului tehnologic, caracteristice pentru picături auriculare.
7. Procesul tehnologic prezentat este bazat pe Regulamentul tehnologic de producere (RTP) a capsulelor cu Neamon-hepa. S-a studiat aplicabilitatea unor metode farmaceutice și nefarmaceutice de analiză a substanțelor active pentru a standardiza produsul farmaceutic Neamon-hepa.
8. Metodele elaborate de asemenea reprezintă baza Monografiei farmaceutice a capsulelor cu Neamon-hepa. La fabricarea produsului farmaceutic Neamon-hepa au fost parcurse toate fazele procesului tehnologic, caracteristice pentru capsule.
9. Studiile farmaceutice demonstrează compatibilitatea fizică și chimică a componentelor, stabilitatea acestora atât în procesul de formulare, cât și pe toată perioada de valabilitate a medicamentului și determină parametrii tehnologici de preparare a formei farmaceutice selectate a produselor CB-12, picături auriculare, Neamon-hepa, capsule.
10. Rezultatele cercetărilor farmaceutice au servit ca reper pentru inițierea investigațiilor farmacologice preclinice pe animale de laborator, de determinare a inofensivității și

eficacității produselor medicamentoase combinate CB-12, picături auriculare, Neamon-hepa, capsule.

11. Metodele de analiză și standardizare, precum și cele de preformulare, formulare și optimizare a CB-12 și NH, elaborate în prezenta lucrare, pot fi utilizate la aprecierea calității, la perfectarea documentației analitice și ca bază metodologică pentru laboratoarele de cercetare-dezvoltare a producătorilor preocupați de ajustarea formulelor și tehnologiilor pentru medicamentele combinate.
12. Rezultatele obținute se recomandă de a fi implementate în procesul de instruire universitară și postuniversitară a farmaciștilor la ciclurile: „Actualități în controlul calității medicamentelor”, „Standardizarea în domeniul medicamentului și validarea metodelor de analiză”, „Metode fizico-chimice în controlul medicamentelor”.

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

### 4.1. Studii de determinare a inofensivității medicamentoase a produsului CB-12

#### 4.1.1. Determinarea toxicității acute a produsului CB-12

Toxicitatea acută (TA) a fost determinată prin metoda dozelor fixe cu stabilirea clasei de toxicitate, conform TG 423: *Acute Toxic Class Method (ATCM)* recomandat de *Organizația Economică pentru Cooperare și Dezvoltare (OECD)* și după metoda Kerber, prin stabilirea dozei letale medii (LD – 50%) care indică mortalitatea a ½ din animalele de laborator, incluse în experiment (10, 11). La 24 de femele, preparatul investigat pentru loturile de studiu (CB-12) și substanța de referință sol. NaCl 0,9% la șase femele din lotul-martor au fost administrate enteral. La 24 de masculi, preparatul cercetat la loturile de studiu și aceeași substanță de referință la șase indivizi din lotul-martor au fost administrate intraperitoneal. Produsele testate au fost administrate într-o singură priză. Cantitatea de lichid inoculată a fost calculată în funcție de masa individuală a animalelor de laborator, cântărite înainte de experiment (0,3 ml/g). Pentru a stabili TA, produsul CB-12 a fost administrat șoarecilor enteral prin gavaj, în doze de 100, 600, 1000, 2000 mg/kg, și intraperitoneal prin injectare, în doze de 75, 300, 600, 1250 mg/kg. Preparatul studiat a fost diluat în volume constante de soluție fiziologică de 0,9% (câte 3-5 ml pentru fiecare animal de laborator), în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maxim admisibil pentru administrare.

Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile. În timpul observațiilor au fost înregistrate: 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 au fost înregistrate timpul apariției fenomenelor de intoxicație și decesul animalelor. Vizual, am determinat tabloul clinic al intoxicației.

Toate animalele din studiu, inclusiv cele decedate și cele muribunde din fiecare lot (după eutanasiere), au fost disecate separat, pentru a studia organele interne și a confirma modificările obținute în experiență.

#### Rezultate

**Administrarea enterală la șoricei.** La administrarea dozei testate, precum și a dozei de 100 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile, nu am constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor (tabelul 4.1).

Administrarea CB-12 în doze de 300, 600, 1000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea inițială pe parcursul a primelor patru ore (300 mg/kg) și 24 de ore (pentru 600, 1000 mg/kg). La câte o femelă și câte un mascul, cărora li s-a administrat dozele de 600, 1000 mg/kg, s-a constatat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu

dezvoltarea unei stări terminale (gasping) și decesul animalelor - în decurs de 48 de ore a femelei și 96 de ore (patru zile) a masculului la doza de 600 mg/kg. La doza de 1000 mg/kg s-a constatat decesul animalelor în decurs de 48 de ore a femelei și 72 de ore (trei zile) a masculului. Ocazional, am constatat convulsii [77].

**Administrarea intraperitoneală.** La administrarea dozei testate, precum și a dozei de 100 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile, nu am constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor. La administrarea dozei de 300 mg/kg, la o femelă s-a observat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (gasping) și decesul în decurs de cinci zile. La câte o femelă și câte un mascul, cărora li s-a administrat doza de 600 mg/kg, s-a remarcat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (gasping) și decesul animalelor în decurs de 24 de ore - femela și 48 de ore – masculul. La două femele și un mascul, cărora le-am administrat doza de 1000 mg/kg, am constatat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (gasping) și decesul animalelor în decurs de 72 de ore - femelele și 48 de ore - masculul. Starea șoarecilor, care au supraviețuit la administrarea dozelor de 300, 600, 1000 mg/kg, s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Animalele au revenit la starea inițială pe parcursul a 48 de ore (tabelul 4.2).

Ocazional, am constatat convulsii. La examinarea macroscopică a organelor interne ale animalelor decedate, nu s-au evidențiat modificări vizibile [77].

**Tabelul 4.1. Toxicitatea acută a CB-12 la administrarea enterală**

Doza	Masculi		Femele		Decesul animalelor	
	Nr. animale	Deces	Nr. animale	Deces	Nr. animale	Deces, %
100 mg/kg	3	-	3	-	6	0
300 mg/kg	3	-	3	-	6	0
600 mg/ kg	3	1	3	1	6	34
1000 mg/kg	3	1	3	1	6	34

**Tabelul 4.2. Toxicitatea acută a CB-12 la administrarea intraperitoneală**

Doza	Masculi		Femele		Decesul animalelor	
	Nr. animale	Deces	Nr. animale	Deces	Nr. animale	Deces, %
100 mg/kg	3	-	3	-	6	0
300 mg/kg	3	-	3	1	6	17
600 mg/ kg	3	1	3	1	6	34
1000 mg/kg	3	1	3	2	6	51

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg de CB-12, cu supraveghere timp de șapte zile, nu s-au constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor (tabelul 3.2.3).

Administrarea produsului CB-12 în doze de 300, 2000 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 24 de ore (300 mg/kg) și în decurs de 24-48 de ore, la administrarea produsului CB-12 în doza de 2000 mg/kg). La două animale am remarcat diaree, care s-a normalizat pe parcursul a 24 de ore.

În primele trei zile după administrarea CB-12 în dozele de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost observate somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după una-două zile. În baza rezultatelor preclinice (tabelul 4.3), la șobolani a fost estimat  $LD_{50} > 2000$  mg/kg.

De asemenea, nu s-au evidențiat deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din loturile cercetare și lotul-martor.

La necropsia și examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel martor, în ambele căi de administrare, modificări patologice vizibile nu au fost stabilite [77].

**Tabelul 4.3. Toxicitatea acută a produsului CB-12 la șobolani**

Doza	Număr animale	Decese deceselor
Lotul-martor	6	-
50 mg/kg	6	-
300 mg/kg	6	1
600 mg/kg	6	1
2000 mg/kg	6	2

#### ***Datele autopsiei (necropsiei)***

Peste două săptămâni după începerea experimentului, la inspectarea exterioară a șoricelilor sacrificați, nu am relevat diferențe între animalele din loturile studiate.

Limba și mucoasele cavității bucale erau palide și curate. Dinții – păstrați. Eliminări din orificii naturale nu s-au observat. Blana era lucioasă, curată; focare de alopecie de asemenea nu s-au remarcat. Iritări, eroziuni, ulceratii pe piele nu s-au evidențiat. Mucoasele vizibile erau palide, strălucitoare, netede. Glandele mamare ale femelelor la palpate erau fără indurații. Organele genitale masculine – normal exprimate.

La examinarea cavității toracice și abdominale, exsudat nu s-a depistat, dereglări în amplasarea și dimensiunea organelor interne nu s-au observat. Pleura, pericardul și peritoneul – subțiri, lucioase și netede.

Glanda tiroidă, de consistență moderat densă, strâns adera la laringe. Cât privește dimensiunile ei și forma devierilor de la normă, nu s-au depistat. În secțiune: suprafața – uniformă, de culoare roz. Timusul – de formă triunghiulară, culoare albicioasă și consistență moderat densă.



Diametrul aortei era uniform. Intima aortei – netedă, lucioasă, de culoare albuie. Modificări în dimensiunea și în forma inimii nu au fost depistate. Mușchiul cardiac – de o consistență moderat-densă, de culoare maro uniformă. Valvele cardiace – subțiri, netede, lucioase. Cavitățile cardiace conțineau o cantitate mică de sânge.

Plămânii s-au colabat la deschiderea cutiei toracice. Modificări în dimensiunea și în forma lor nu s-au evidențiat. Suprafața pulmonară era de culoare roz uniformă. Țesutul pulmonar - la atingere catifelat. Lumenul traheii și bronhiilor mari era larg. Mucoasa - lucioasă, pal-roz și netedă.

Mucoasa esofagului era lucioasă, netedă, avea o culoare palidă. Dimensiunea și forma stomacului – fără modificări. În lumenul stomacului se conțineau alimente. Hiperemie, eroziuni, hemoragii, ce ar determina influența iritantă a preparatului, nu s-au evidențiat.

În lumenul duodenului, modificări nu au fost depistate, mucoasa acestuia era lucioasă, netedă și de culoare roz-pală. Mucoasa intestinului subțire, la fel, era roz-pală, lucioasă, netedă. Mucoasa colonului avea o nuanță ușor gri, netedă și lucioasă.

Forma și dimensiunea ficatului modificări nu au prezentat. Ficatul avea o suprafață netedă, de culoare roșu-închis uniform. Țesutul hepatic în secțiune era roșu-închis. Capsula hepatică era subțire și transparentă. Consistența țesutului hepatic era de o densitate obișnuită.

Modificări ale formei pancreasului nu au fost depistate. Pancreasul avea o structură lobulată, de culoare roz-pală și textură moderat densă.

Dimensiunea și forma splinei modificări nu prezentau. Suprafața era netedă, de culoare vișinie-închis. Consistența - moderat densă. În secțiune s-a evidențiat foliculi de culoare gri.

Dimensiunile și forma rinichilor – fără modificări. Capsula renală – ușor detașabilă. Suprafața netedă, culoarea uniformă brună-cenușie. În secțiune, porțiunea medulară și cea corticală – bine determinate. Consistența țesutului renal era de densitate moderată.

Glandele suprarenale de formă rotunjită aveau culoarea alb-gălbuie și consistență moderat-densă. În secțiune, clar se evidențiază porțiunea medulo-suprarenală de culoare maronie.

Vezica urinară era umplută cu urină transparentă, de culoare deschisă. Mucoasa vezicii urinare era netedă, lucioasă, pală, fără semne de iritație sau inflamație.

Ovarele aveau o suprafață neregulată, de culoare roșie-închis și formă rotunjită. Corpul uterin – cu densitate moderată, dimensiuni obișnuite, culoare roșie-închis. Testiculele masculilor – cu densitate moderată, culoare albă, dimensiuni obișnuite.

Membranele cerebrale – subțiri, transparente. Substanța creierului densă la palpare, suprafața creierului – netedă. În regiunea frontală, lărgirea ventriculelor nu s-a observat.

**Tabelul 4.4. Determinarea clasei de toxicitate acută a produsului medicamentos CB-12**

Denumirea	Clasa de toxicitate	LD50 estimat mg/kg
CB-12 – administrare enterală	5 (practic netoxică)	2000 - 5000 = 2500
CB-12 – administrare intraperitoneală	5 (toxicitate redusă)	501-1250

Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că LD 0% pentru administrarea enterală este de 300 mg/kg și pentru cea parenterală - 100 mg/kg.

Procentajul maxim de letalitate LD 34% pentru administrarea enterală a fost stabilit la dozele de 600 și 1000 mg/kg. Astfel, matematic, s-a calculat posibila LD 25% = 441 mg/kg, dozele LD 50, LD 84 și LD 100% nefiind stabilite.

Procentajul maxim de letalitate LD 51% pentru administrarea parenterală a fost stabilit la doza 1000 mg/kg. Astfel, matematic, s-a calculat posibila LD 25% = 490 mg/kg, dozele LD 84 și LD 100% nefiind stabilite.

Din cauza imposibilității determinării LD 100% nu a fost posibilă determinarea LD 50% după metoda Kurber. Rezultatele studiului denotă o toxicitate redusă a preparatului studiat. Rezultatele cercetării pot servi ca premisă pentru efectuarea toxicității cronice a CB-12.

#### **4.1.2. Determinarea inofensivității CB-12 asupra analizatorului auditiv**

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

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

Cercetarea s-a efectuat conform cerințelor naționale și internaționale privind efectuarea experimentelor cu implicarea animalelor de laborator [6, 7].

**Analgezie** – somn medicamentos. **Doza:** sol. Diazepam, 2,0 mg/kg, i.p. [2].

**Ototoxicitate** – Gentamicină în ureche, 40 mg/ml, câte 0,1 ml i./m. – trei administrări [7, 8].

**Preparatele studiate** – CB-12 a fost administrat intern prin gavaj – trei administrări.

**Evaluarea auzului** – înainte de experiment și după tratament.

- Otoscopie – AD (urechea dreapta), AS (urechea stângă)

- Reflexul Preyer la zgomot de 80 dB (*deciBell*)

- Înregistrarea otoemisiilor acustice tranzitorii (TOEA) și a otoemisiilor acustice pe produs de distorsiune (PDOEA) - (determinarea funcției urechii interne) [2, 4, 7].

## Rezultate

În nici un lot de studiu nu au fost constatate modificări în comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor.

La efectuarea otoscopiei, la toate loturile am observat bilateral membrana timpanică de culoare gri și lipsa eliminărilor auriculare, ceea ce denotă lipsa procesului inflamator în urechi.

În lotul 1, reflexul Preyer pozitiv (reacționarea animalului de laborator la stimul sonor de intensitate mare). La animalele din lotul 2 se constată ototoxicitate medicamentoasă indusă prin Gentamicină (lipsa reflexului Preyer și TOEA, PDOEA). În același timp, timpanograma de tip A ne indica funcția normală a timpanului și urechii medii în toate loturile. Schimbările sunt caracteristice pentru afectarea organului Corti al urechii interne – surditate neurosenzorială (lotul 2).

Potrivit rezultatelor studiului, toate animalele din lotul-martor, loturile 1 și 3 au indici asemănători, caracteristici pentru auz normal și funcționarea adecvată a analizatorului auditiv, fapt ce denotă lipsa efectelor ototoxice ale preparatelor studiate (tabelul 4.5).

**Tabelul 4.5. Inofensivitatea ototoxică a produsului CB-12**

Frecvența	Lot martor	CB-12	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M±m	
1500 Hz	5,12 ± 0,25	2,12 ± 0,56	> 0,05
2000 Hz	7,85 ± 0,29	5,53 ± 0,33	> 0,05
2500 Hz	6,11 ± 0,24	7,22 ± 1,24	> 0,05
3000 Hz	4,56 ± 1,57	3,55 ± 0,67	> 0,05
3500 Hz	10,76 ± 2,42	8,34 ± 1,48	> 0,05
4000 Hz	6,14 ± 1,55	7,98 ± 0,84	> 0,05

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

### **4.1.3. Cercetări bacteriologice de determinare a eficacității produsului CB-12**

Scopul acestui studiu a fost de a determina activitatea antibacteriană a picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc. Cercetările au fost efectuate în cadrul Laboratorului științific „Infecții nosocomiale” de pe lângă Catedra de epidemiologie a USMF „N. Testimitanu”, șef laborator – academician Viorel Prisacari, cercetător științific principal, profesor universitar (proces-verbal nr. 495 din 29.05.2018 și proces-verbal nr. 497 din 05.06.2018).

Evaluarea activității bacteriostatice (CMI) a fost efectuată vizual, conform lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid. Activitatea bactericidă (CMB) s-a determinat în lipsa

creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe geloză peptonată, cu termostatarea ulterioară timp de 24 și 48 de ore.

S-a constatat că Forma farmaceutică - 1 (produsul CB-12) și Forma farmaceutică - 2 (doar ciprofloxacina) au manifestat activitate antibacteriană înaltă față de toate test-culturile bacteriene cercetate.

Activitatea bacteriostatică (CMI) a produsului CB-12 (ciprofloxacina + ulei volatil de busuioc + excipienți) variază în limitele diluțiilor 1:8 > 1:512 și constituie: față de *Acinetobacter* - în diluție 1:8, față de *E.coli*, *Ps.aeruginosa*, *Kl.pneumoniae* și *Styphimurium* - în diluție < 1:128, față de *S.aureus* (t.209), *E.fecalis* și *Pr.vulgaris* - în diluție < 1: > 512 (tabelul 4.62).

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

Activitatea bacteriostatică a produsului Forma farmaceutică - 2 (Ciprofloxacina+excipienți) variază în limitele diluțiilor 1:2-1:512 și constituie: față de *Acinetobacter* - 1:8, față de *Ps.aeruginosa* - 1:64; față de *E.coli*, *Kl.pneumoniae*, *S.typhimurium* – în diluție < 1:128, față de *S. aureus* (t.209) și *E.faecalis* 1:256; față de *Pr.vulgaris* – în diluție de 1:512.

Activitatea bactericidă a produsului Forma farmaceutică - 2 (Ciprofloxacina+excipienți) variază în limitele diluțiilor 1:2 - 1:512 și constituie: față de *Kl.pneumoniae* - 1:2, față de *S.typhimurium*, *Acinetobacter* și *E.faecalis* - în diluție 1:4, față de *S.aureus* (t.209) - în diluție 1: 16, față de *Ps.aeruginosa* - în diluție <1:64, față de *E.coli* și *Pr.vulgaris* - 1:512.

Pentru a evalua veridicitatea diferențelor statistice dintre Forma farmaceutică - 1 (produsul CB-12) și Forma farmaceutică - 2 (separat ciprofloxacina și ulei de busuioc), a fost utilizat criteriul t-Student.

S-a constatat că uleiul eteric *Oleum basilicum* a manifestat activitatea antibacteriană înaltă față de *S.aureus* (t.209), *E.faecalis*, *E.coli*, *Kl.pneumoniae*, *S.typhimurium*, *Acinetobacter*. Față de *E.coli* și *S.typhimurium*, uleiul eteric cercetat a manifestat activitatea bacteriostatică în concentrație 0,031%, față de *S.aureus* (t.209), *Kl.pneumoniae* și *Acinetobacter* în concentrație de 0,062%, față de *E.faecalis* - în concentrație de 0,125%, iar față de *Ps. aeruginosa* - în concentrație mai mare de 0,5% (tabelul 4.6).

Activitatea bactericidă (CMB) a uleiului eteric *Oleum basilicum* a manifestat: față de *E.coli* - în concentrație de 0,031%, față de *Kl.pneumoniae*, *S.typhimurium* și *Acinetobacter* - în concentrație de 0,062%, față de *S.aureus* (t.209) și *E.faecalis* - în concentrație de 0,25%, iar față de *Ps.aeruginosa* - în concentrație mai mare de 0,5% (tabelul 4.7). Substanța „Placebo excipienți, Forma 3” a manifestat activitate antibacteriană scăzută - față de *S.aureus* (t.209) în diluție 1:1; față de celelalte test-culturi bacteriene investigate, activitate bacteriană nu a fost constatată.

**Tabelul 4.6. Rezultatele cercetărilor potențialului antimicrobian al CB-12 (partea I)**

Substanța		Test-culturi bacteriene							
		<i>S.aureus</i> (t.209)		<i>E.faecalis</i> (t.ATCC 19433)		<i>E.coli</i> (t.ATCC 25922)		<i>Ps.aeruginosa</i> (t.ATCC 27853)	
		CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Forma farmaceutică - 1 – produsul CB -12	diluție	>1:512	1:32	>1:512	1:4	>1:128	>1:128	>1:128	>1:128
	μg/ml cip)	<b>5,8593*</b>	<b>93,75 *</b>	<b>5,8593*</b>	750	23,4375	23,4375	<b>23,4375*</b>	<b>23,4375*</b>
	μg/ml bus	7,81*	125,0*	7,81*	1000	31,25	31,25	31,25*	31,25*
Forma farmaceutică - 2 (ciprofloxacina)	diluție	>1:256	1:16	>1:256	1:4	>1:128	>1:128	>1:64	>1:64
	μg/ml cip)	<b>11,7185*</b>	<b>187,5*</b>	<b>11,719*</b>	750	23,4375	23,4375	<b>46,875*</b>	<b>46,875*</b>
	μg/ml bus	15,625*	250,0*	15,625*	1000	31,25	31,25	62,5*	62,5*
„Placebo excipienți, Forma 3” dil.		1:1	1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1
CIP substanțe active curate (date bibliografice), μg/ml		0,06-2,0		0,25-2,0		0,01-0,16		0,03-4,0	
<i>Oleum basilicum</i>	%	0,062	0,25	0,125	0,25	0,031	0,031	> 0,5	> 0,5
	μg/ml	620,0	2500,0	1250,0	2500,0	310,0	310,0	5000,0	5000,0

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

\* – Diferența statistic semnificativă dintre CB-12 și forma farmaceutică separată de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc față de  $p < 0,001$ .

Evident, activitatea antibacteriană a ciprofloxacinei, în amestec cu excipienții utilizați la prepararea picăturilor auriculare (Forma farmaceutică - 2), scade în comparație cu cea a ciprofloxacinei, substanță farmaceutică individuală. Dar rămâne destul de înaltă, fiind suficientă pentru exercitarea efectului la aplicare topică. Pe de altă parte, uleiul volatil de busuioc posedă activitate antibacteriană. Prin urmare, aceste rezultate confirmă datele bibliografice referitoare la multiplele utilizări a acestui produs în medicina populară, ca remediu antibacterian.

Rezultatele testărilor noastre denotă faptul că picăturile auriculare CB-12 (Forma farmaceutică -1) posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacina, față de unele tulpini bacteriene (*S.aureus* (t.209); *Ps.aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E.faecalis* (t.ATCC 19433)). De aici putem deduce: uleiul volatil de busuioc potențează activitatea ciprofloxacinei în combinație, în special asupra unor tulpini de microorganisme, care prevalează în declanșarea infecțiilor canalului auditiv.

**Tabelul 4.7. Rezultatele cercetărilor potențialului antimicrobian al CB-12 (partea a II-a)**

Substanța		Test-culturi bacteriene							
		<i>Pr.vulgaris</i> (t.HX 19222)		<i>Kl.pneumoniae</i> (t.3534/51)		<i>S.typhimurium</i>		<i>Acinetobacter</i>	
		CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
Forma farmaceutică - 1 – produsul CB -12	diluție	>1:512	>1:512	>1:128	1:2	>1:128	1:4	1:8	1:4
	μg/ml cip.	5,8593	5,8593	23,4375	1500	23,4375	750	375	750
	μg/ml bus.	7,81	7,81	31,25	2000	31,25	1000	500	1000
Forma farmaceutică - 2 (ciprofloxacină)	diluție	>1:512	>1:512	>1:128	1:2	>1:128	1:4	1:8	1:4
	μg/ml cip.	5,8593	5,8593	23,4375	1500	23,4375	750	375	750
	μg/ml bus.	7,81	7,81	31,25	2000	31,25	1000	500	1000
Placebo excipienți, Forma - 3 dil.		>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1	>1:1
CIP sub act. curate (date bibliografice) μg/ml		0,02-0,5		0,02-0,5		0,02-0,5		0,125-4,0	
<i>Oleum basilicum</i>	%	0.062	0.062	0.062	0.062	0.031	0.062	0.062	0.062
	μg/ml	620,0	620,0	620,0	620,0	310,0	620,0	620,0	620,0

S-a demonstrat că ciprofloxacina este activă împotriva majorității tulpinilor de microorganisme atât *in vitro*, cât și în infecțiile clinice:

*Bacterii aerobe gram-pozitive; Cocci aerobici gram-pozitivi:* Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva majorității tulpinilor de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* și *S. hemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* (grupa A p-hemolitic streptococi), *S. agalactiae* (streptococi din grupa B) și streptococi viridani, în general, sunt inhibați *in vitro* prin concentrații de ciprofloxacină de 4 mcg/ml sau mai puțin. Grupurile de streptococi C, F și G și streptococi din grupa D nonenterococică sunt inhibitate *in vitro*, prin concentrații de ciprofloxacină de 16 μg/ml sau mai puțin. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva unor tulpini de enterococi, inclusiv *Enterococcus faecalis* (fostul *S. faecalis*).

*Bacili aerobi gram-pozitivi.* Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva *Bacillus anthracis*, iar izolatele care apar în mod natural au fost inhibitate *in vitro* prin concentrații de 0,03-0,25 μg/ml. MIC-ul medicamentului, raportat pentru tulpina de *B. anthracis*, utilizat într-un studiu pe maimuță, rhesus infectată de antrax inhalator, a fost de 0,08 mcg/ml. Pe baza criteriilor interpretative stabilite pentru stafilococi, tulpinile de *B. anthracis* sunt considerate susceptibile la ciprofloxacină.

*Bacterii aerobe gram-negative - Neisseria.* Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva *Neisseria meningitidis* și împotriva majorității tulpinilor producătoare de *N. gonorrhoeae*. MIC<sub>90</sub> de ciprofloxacină este de 0,004-0,06 mcg/mL pentru *N. meningitidis* și de 0,002-0,05 mcg/mL pentru cele mai multe producătoare de *N. gonorrhoeae*.

*Haemophilus*. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva *Haemophilus influenzae* și MIC90 a medicamentului pentru aceste organisme este de 0,008-0,05 mcg/ml.

*Enterobacterii*. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva majorității *Enterobacteriaceae* importante din punct de vedere clinic și MIC90 a medicamentului pentru majoritatea acestor organisme este de 1 mcg/mL sau mai puțin. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva unor enterobacterii rezistente la aminoglicozide și/sau antibiotice  $\beta$ -lactamice.

*Pseudomonas*. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva majorității tulpinilor *Ps. aeruginosa* și, de asemenea, are o activitate împotriva altor *Pseudomonas*. MIC50 și MIC90 ale ciprofloxacinei pentru *Ps. aeruginosa* sunt 0,06-1 și, respectiv, 0,03-4 mcg/ml. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva unor tulpini de *Ps. Aeruginosa*, rezistente la aminoglicozide, la peniciline cu spectru extins și cefalosporine.

Astfel putem constata:

a) produsul medicamentos combinat CB -12, picături auriculare, și produsul de referință (ciprofloxacina) au manifestat activitate antibacteriană înaltă față de toate test-culturile bacteriene cercetate, microorganisme gram-pozitive și gram-negative;

b) substanța „Placebo excipienți, Forma 3” – activitate antibacteriană redusă față de *S.aureus* (t.209) în diluție 1:1. Față de celelalte test-culturi bacteriene, investigate în diluție 1:1, nu manifestă activitate antibacteriană. Picăturile auriculare CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacină, față de unele tulpini bacteriene *S.aureus* (t.209); *Ps.aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E.faecalis* (t.ATCC 19433)). Uleiul volatil de busuioc potențează activitatea ciprofloxacinei în combinație.

## **4.2. Evaluarea inofensivității produsului NH-01**

### **4.2.1. Determinarea toxicității acute a produsului NH-01**

#### ***Rezultatele investigațiilor pe șoareci***

Pe parcursul studiului nu s-au constatat modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor. Animalele erau în mișcare activă, întrebunțau adecvat hrană și apă. Starea mucoaselor și învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galbenă-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții - păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. Glandele mamare ale femelelor la palpare - fără indurații și fără eliminări. Organele genitale masculine - normal exprimate. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

La administrarea atât enterală, cât și intraperitoneală a dozei de 50 mg/kg și monitorizarea timp de șapte zile, nu s-au observat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea substanțelor cercetate în doze de 300, 1000, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Alte simptome patologice anatomice și fiziologice nu au fost constatate. Toate animalele au revenit la starea inițială pe

parcursul a primelor 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg/kg). La lotul, cărora li s-a administrat NH-01, s-au observat inapetență și diaree pe parcursul primelor 24-48 de ore. Doza maximă tolerantă (DMT) – 2000 mg/kg. Mortalitate în loturile de studiu și martor nu s-a remarcat. Rezultatele detaliate ale investigațiilor sunt prezentate în tabelele 4.6-4.7.

La monitorizarea consumului de alimente și al apei nu am constatat modificări statistice semnificative între loturile cercetate și cel martor. În a doua zi a studiului s-a remarcat o oarecare pierdere a greutatei corporale la animalele din toate loturile, inclusiv cel martor. Analizând datele, nu am evidențiat diferențe semnificative în dinamica de greutate corporală între animalele experimentale și cele din lotul-martor. O creștere ceva mai semnificativă în greutate s-a observat la animalele din lotul-martor, comparativ cu cele experimentale. Explorarea nu a purtat un caracter semnificativ. La necropsie, în loturile experimentale și martor, modificări patologice vizibile nu au fost constatate.

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile nu s-au observat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea NH-01 în doze de 300, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducerea reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg/kg). La animalele, cărora li s-a administrat NH-01, am constatat inapetență și diaree pe parcursul primelor 48-72 de ore. La o femelă, căreia i s-a administrat NH-01 în doză de 2000 mg/kg, s-au observat diaree, o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (gasping) și decesul acesteia în decurs de 48 de ore (la a doua zi). Rezultatele investigațiilor sunt prezentate în tabelul 4.6.

În perioada de una-trei zile după administrarea preparatelor studiate, ocazional, la dozele de 300 și 2000 mg/kg, la animale s-au remarcat: somnolență, adinamie, inapetență, diaree, simptome care au revenit la normalitate în una-două zile. Luând în considerare rezultatele obținute, la șobolani a fost estimat LD<sub>50</sub> (tabelul 4.8). De asemenea, nu s-au constatat deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din loturile de cercetare și martor. La necropsie, modificări patologice vizibile în loturile experimentale și martor nu au fost observate [76].

**Tabelul 4.8. Mortalitatea. Toxicitatea acută NH-01 (șoareci)**

Doza	Masculi, intraperitoneal		Femele, intragastral		Decesul animalelor	
	Nr. animale	Deces	Nr. animale	Deces	Nr. animale	Deces, %
50 mg/kg	6	-	6	-	6	0
300 mg/kg	6	-	6	-	6	0
1000 mg/kg	6	-	6	-	6	0
2000 mg/kg	6	-	6	-	6	0



**Tabelul 4.9. Mortalitatea. Toxicitatea acută NH-01 la șobolani (enteral)**

Doza	Numărul animalelor	Numărul deceselor
Lotul-martor	6	-
NH-01 50 mg/kg	6	-
NH-01 300 mg/kg	6	-
NH-01 600 mg/kg	6	-
NH-01 2000 mg/kg	6	1

**Tabelul 4.10. Determinarea clasei de toxicitate, conform TG 423 pentru produsul NH-01**

Denumirea	Clasa de toxicitate	DL50/LD50 estimat mg/kg
NH-01	5	2000- 5000 (2500)

### 4.3. Studii preclinice de determinare a inofensivității a CAF-01

#### 4.3.1. Determinarea toxicității acute a produsului CAF-01

##### Rezultatele administrării CAF-01 la șoareci

Pe parcursul studiului nu am remarcat modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor. Animalele erau în mișcare activă, consumau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții – păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpare, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Organele genitale la masculi – normal exprimate. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

La monitorizarea procesului de alimentare și adăpare, nu s-au evidențiat modificări statistic semnificative între loturile cercetate și cel martor. În a doua zi a studiului s-a remarcat o oarecare pierdere a greutateii corporale la animalele din toate loturile.

La administrarea substanței de referință în doză de 100 mg/kg, cu supraveghere timp de șapte zile, nu s-au constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor (tabelul 4.11).

Administrarea produsului CAF-01 în doze de 300, 1000, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea inițială pe parcursul primelor patru ore (300 mg/kg) și 24 de ore (pentru 1000, 2000 mg). LD<sub>50</sub>, conform metodei TG 423: *Acute Toxic Class Method*, a fost estimată la  $\geq 5000$  mg/kg inofensivă, clasa de toxicitate – 5.

**Tabelul 4.11. Mortalitatea și toxicitatea acută a CAF-01 la șoareci**

Doza	Masculi (intraperitoneal)		Femele (intragastral)		Decesul animalelor (%)
	Numărul animalelor	Numărul deceselor	Numărul animalelor	Numărul deceselor	
Lotul-martor	6	-	6	-	0
50 mg/kg	6	-	6	-	0
300 mg/kg	6	-	6	-	0
1000 mg/kg	6	-	6	-	0
2000 mg/kg	6	-	6	-	0

Din cauza imposibilității determinării  $LD_{100}$ , nu a fost posibilă determinarea  $LD_{50}$  după metoda Kerber.

#### **Rezultatele administrării la șobolani**

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

Administrarea produsului CAF-01 în doze de 300, 2000 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 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg). La două animale am constatat diaree, care au revenit la normal pe parcursul a 24 de ore.

În primele trei zile după administrarea preparatelor studiate în doze de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost remarcate: somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după una-două zile.

În baza rezultatelor preclinice (tabelul 4.12), la șobolani a fost estimat  $LD_{50} > 5000$  mg/kg.

De asemenea, nu am stabilit deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din loturile cercetare și lotul-martor.

La necropsie, modificări patologice vizibile la examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel martor, la ambele metode de administrare, nu au fost constatate [67, 77].

**Tabelul 4.12. Mortalitatea în cadrul toxicității acute la șobolani**

Doza, mg/kg	Numărul total de animale animalelor	Numărul deceselor
Lotul-martor	6	-
CAF-01 50 mg/kg	6	-
CAF-01 300 mg/kg	6	-
CAF-01 600 mg/kg	6	-
CAF-01 2000 mg/kg	6	-

Potrivit rezultatelor experimentale, CAF-01, administrată unimomentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani), practic nu manifestă efecte toxice. La șoareci, administrarea intragastrală și cea intraperitoneală nu au provocat nici decesul animalelor și nici modificări macroscopice ale organelor interne. La șobolani, în urma investigațiilor efectuate conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD)*, s-a constatat că CAF-01 posedă toxicitate redusă: clasa de toxicitate 5 și  $LD_{50}$  estimat  $> 5000$  mg/kg.

Rezultatele cercetării pot servi ca premisă pentru evaluarea toxicității subacute și a celei cronice ale produsului medicamentos combinat CAF-01.

#### **4.3.2. Determinarea toxicității subcronice a produsului CAF-01 (Flamena, emulsie)**

***Influența preparatului asupra supraviețuirii și masei corporale.*** Pe parcursul studiului nu s-au constatat decese, modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor și cele experimentale. Șobolanii erau în mișcare activă, consumau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții – păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpate, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

De asemenea, în timpul desfășurării experimentului, nu s-a constatat decesul animalelor de laborator, ceea ce indică cumulearea redusă a preparatului testat și tendința de dezvoltare a obișnuinței farmacologice în dozele cercetate.

Rezultatele studierii dinamicii a masei corporale a șobolanilor privind influența CAF-01, administrată timp de 30 de zile, sunt expuse în tabelul 4.13.

Potrivit datelor obținute, masa animalelor a crescut nesemnificativ, uniform pe toată perioada studiului, precum în lotul-martor, așa și în lotul, căruia i s-a administrat doza de 100 mg/kg. În lotul care a administrat doza de 1000 mg/kg, nu s-a constatat creșterea masei corporale. Nicio diferențiere ce ține de nivelul de dozare nu s-a remarcat. Însă nu în toate loturile creșterea ponderală era veridică față de masa inițială.

După decapitare și prepararea organelor, s-a efectuat cântărirea lor, cu stabilirea următoarelor rezultate: la animalele din lotul în care s-a administrat CAF-01 100 mg/kg, în comparație cu cele din lotul-martor, după 30 de zile, s-a constatat o micșorare a masei rinichilor și a splinei ( $p < 0,01$ ). În lotul CAF-01 1000 mg/kg, în comparație cu lotul-martor, după 30 de zile, s-a remarcat o micșorare a masei rinichilor, a splinei ( $p < 0,01$ ) și a cordului ( $p < 0,05$ ) (tabelul 4.14).

Referitor la indicele raportului masa ficatului/masa corpului, putem stabili o tendință de creștere a indicelui respectiv în loturile experimentale, îndeosebi în cele cu doza de 1000 mg/kg, și mai puțin în cele cu doza de 100 mg/kg, dar aceste devieri s-au dovedit a fi fără relevanță statistică (tabelul 4.14). Deci în urma administrării produsului medicamentos, am sesizat o majorare nesemnificativă a masei ficatului.

### **Rezultatele investigațiilor hematologice**

Rezultatele investigațiilor hematologice au demonstrat faptul că administrarea produsului medicamentos testat nu modifică indicii eritrocitari. Nivelul eritrocitelor, hemoglobinei, hematocritului nu s-a modificat. Potrivit rezultatelor obținute, la administrarea CAF-01 1000 și, respectiv, 100 mg/kg, numărul leucocitelor se micșorează autentic față de valorile lotului-martor (tabelul 4.15).

În loturile supuse acțiunii CAF-01, în ambele doze, s-a înregistrat o limfopenie evidentă, manifestată prin micșorarea veridică a numărului absolut de limfocite. Influența produsului medicamentos CAF-01 asupra formulei leucocitare este prezentată în tabelul 4.16. Cercetările efectuate indică o diminuare veridică a nivelului neutrofilelor segmentate și o intensificare relativă a nivelului limfocitelor la administrarea produsului CAF-01 la 1000 mg/kg și, respectiv,  $57,5 \pm 1,78\%$ , față de valorile lotului-martor  $47,3 \pm 1,75\%$  ( $p < 0,01$ ).

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

### **Rezultatele investigațiilor biochimice**

În tabelele 4.17-4.22 sunt prezentate datele referitoare la influența CAF-01 asupra indicilor biochimici de bază ai sângelui șobolanilor albi, la studierea toxicității subacute. În loturile experimentale și cele de referință s-au determinat numeroși parametri, ce caracterizează metabolismele glucidic, proteic și lipidic, funcțiile ficatului, precum și indicii de bază ai stresului oxidativ și ai sistemului de protecție antioxidantă.

La administrarea CAF-01, modificări relevante ale indicilor proteinei totale la animalele din loturile de experiență, în raport cu cele din lotul-martor, nu au fost înregistrate. În același timp, se constata o majorare statistic semnificativă a activității ureei, albuminei și creatininei la ambele doze cercetate (tabelul 4.17). Rezultatele respective sunt caracteristice pentru modificările metabolismului azotic ale preparatului studiat în doze toxice.

Influența preparatului CAF-01 asupra stării funcționale a ficatului a fost evaluată prin studierea activității transaminazelor AlAT, AsAT și a fosfatazei alcaline (FA). Din datele prezentate în tabelul 4.18 reiese că produsul cercetat în dozele de 100 și 1000 mg/kg determină o atenuare statistic semnificativă dozodependentă a activității AsAT ( $p < 0,05$  la doza de 100 mg/kg și  $p < 0,01$  la 1000 mg/kg), iar activitatea AlAT și FA nu se modifică. Deci preparatul CAF-01 nu manifestă efecte hepatotoxice. Fiind administrat în dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg timp de 30 de zile, CAF-01 nu provoacă modificări cu semnificație statistică ale nivelului glicemiei, colesterolului total și trigliceridelor serice (tabelul 4.19). Produsul cercetat nu modifică esențial concentrația de calciu și fosfor (tabelul 4.20). Totodată, menționăm faptul că valorile medii ale acestui indice nu depășesc limita de sus a normei de referință pentru calciu, care oscilează între 2,25 și 2,75 mmol/l. Astfel, administrarea în dozele cercetate timp de 30 de zile nu provoacă nici tulburări ale metabolismelor proteic, glucidic, lipidic și mineral, nici dereglări în funcțiile ficatului.

Potrivit datelor expuse în tabelul 4.21, rezultă că administrarea produsului CAF-01 șobolanilor albi timp de 30 de zile nu influențează principalii indici ai stresului oxidativ – AGEs, PPOA și AIM, cu excepția PPOA care crește la administrarea dozei de 100 mg/kg. Rezultatele investigațiilor expuse în tabelul 4.22 demonstrează faptul că CAF-01 nu modifică AAT-ABTS, ci reduce veridic AAT-CUPRAC ( $771,8 \pm 20,51$  – lotul-martor, CAF-01 100 mg/kg -  $396,4 \pm 50,51$  și  $418,5 \pm 46,30$  nM/L - CAF-01 1000 mg/kg,  $p < 0,001$ ), ceea ce ar putea fi legat de reducerea rezervelor de antioxidanți (AO) hidrosolubili. Paralel, se înregistrează creșterea statistic veridică a nivelului SH-grupe în proteinele și albuminele serice, mai pronunțată la administrarea CAF-01 în doza de 100 mg/kg, fapt ce potențează sistemul antioxidant prin reducerea deficitului de AO hidrosolubili. Astfel, administrarea CAF-01 în dozele cercetate timp de 30 de zile nu manifestă acțiune toxică asupra metabolismelor proteic, lipidic și mineral, nu dereglează funcțiile ficatului la șobolanii albi. Substanțele medicamentoase testate influențează pozitiv echilibrul dintre sistemele pro- și antioxidante. În același timp, este cunoscută importanța disfuncțiilor ce au loc în sistemele respective pentru etiologia SSN [67, 78].

## REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR FARMACOLOGICE

**Tabelul 4.13. Influența CAF-01 asupra dinamicii masei corporale**

Lotul de studiu	Masa în prima zi (g) M±m	Masa în a 30-a zi (g) M±m
Lot martor	$226,9 \pm 10,13$ (100%)	$235,6 \pm 10,63$ (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	$232,5 \pm 7,50^*$ (118,9%)	$231,9 \pm 6,88^*$ (112,7%)
CAF-01 100 mg/kg	$230,0 \pm 8,24^*$ (116,8%)	$223,1 \pm 8,01$ (108,5%)

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

**Tabelul 4.14. Influența CAF-01 asupra indicilor de masă a organelor  
(raportul masa organului/masa corpului)**

Lotul de studiu	Cordul (g) M±m	Ficatul (g) M±m	Pulmonii (g) M±m	Rinichii (g) M±m	Splina (g) M±m
Lot martor	$1,36 \pm 0,09$ (100%)	$8,67 \pm 0,38$ (100%)	$2,12 \pm 0,09$ (100%)	$1,07 \pm 0,06$ (100%)	$0,92 \pm 0,06$ (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	$0,99 \pm 0,06^*$ (72,8%)	$7,06 \pm 0,48^*$ (81,4%)	$1,78 \pm 0,09^*$ (84%)	$0,83 \pm 0,01^{**}$ (77,6%)	$0,72 \pm 0,03^{**}$ (78,3%)
CAF-01 100 mg/kg	$1,06 \pm 0,03^*$ (77,9%)	$8,87 \pm 0,27$ (102,3%)	$1,82 \pm 0,13$ (85,9%)	$0,99 \pm 0,01$ (92,5%)	$0,70 \pm 0,04^{**}$ (76,1%)

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

## REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR HEMATOLOGICE

**Tabelul 4.15. Influența CAF-01 asupra indicilor sângelui periferic**

Lotul de studiu	Eritrocite, x10 <sup>12</sup> M±m	Hemoglobină, g/L M±m	Hematocrit, l/L M±m	Leucocite, x10 <sup>9</sup> M±m	Limfocite x10 <sup>9</sup> M±m
Lot martor	8,18±0,36 (100%)	171,6±10,68 (100%)	0,47±0,02 (100%)	9,25±0,19 (100%)	4,60±0,12 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	8,28±0,52 (101%)	176,5±10,87 (103%)	0,49±0,03 (104%)	6,73±0,41*** (73%)	3,61±0,25 ** (78%)
CAF-01 100 mg/kg	8,28±0,16 (101,2%)	164,3±3,41 (96%)	0,49±0,01 (103%)	5,70±0,27*** (62%)	3,81±0,16 ** (83%)

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

**Tabelul 4.16. Influența CAF-01 asupra formulei leucocitare**

Lotul de studiu	Nesegmentate, % M±m	Segmentate, % M±m	Eozinofile 10 <sup>3</sup> /mL M±m	Bazofile, % M±m	Limfocite, % M±m	Monocite, % M±m
Lot martor	3,63±0,46 (100%)	37,4±2,11 (100%)	4,71±0,61 (100%)	1,00±0,00 (100%)	47,3±1,75 (100%)	7,38±1,07 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	4,00±0,72 (110%)	31,4±1,71 (84%)	0,00±0,00 (0%)	0,00±0,00 (0%)***	57,5±1,78 (122%)**	7,63±0,78 (103%)
CAF-01 100 mg/kg	4,63±0,75 (127%)	33,4±2,76 (89%)	3,17±0,70 (67%)	0,00±0,00 (0%)	51,6±2,61 (109%)	7,75±0,84 (105%)

\*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001.

## REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR BIOCHIMICE

**Tabelul 4.17. Influența CAF-01 asupra indicilor metabolismelor proteic și azotic**

Lotul de studiu	Prot. tot., g/L M±m	Albumina, g/L M±m	Ureea, mM/L M±m	Creatinina, μM/L M±m
Lot martor	64,1±0,76 (100%)	31,1±0,59 (100%)	4,67±0,26 (100%)	62±3,79 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	62,1±1,18 (97%)	33,9±0,69** (109%)	5,49±0,23** (118%)	64,2±3,28*** (104%)
CAF-01 100 mg/kg	63,3±1,33 (99%)	34,3±0,55*** (110%)	5,46±0,21*** (117%)	67,5±2,78*** (109%)

\*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001

**Tabelul 4.18. Influența CAF-01 asupra nivelului transaminazelor AlAT și AsAT și fosfatazei alcaline în serul sanguin**

Lotul de studiu	AlAT, u/L M±m	AsAT, u/L M±m	Fosfataza alcalină, u/L M±m
Lot martor	22,1±0,68 (100%)	30,4±0,90 (100%)	206,5±11,24 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	15,8±0,61 (71%)	25±1,13** (82%)	208,5±11,41 (101%)
CAF-01 100 mg/kg	15,6±0,82 (70%)	25,6±1,63* (84%)	180,8±11,33 (88%)

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

**Tabelul 4.19. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai metabolismelor glucidic și lipidic**

Lotul de studiu	Glucoză, mM/L M±m	Colesterol, mM/L M±m	Trigliceride, mM/L M±m
Lot martor	4,85±0,14 (100%)	4,71±0,07 (100%)	1,57±0,01 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	4,96±0,13 (102%)	4,92±0,07 (104%)	1,64±0,02** (104%)
CAF-01 100 mg/kg	4,95±0,10 (102%)	5,09±0,13* (108%)	1,59±0,01 (101%)

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

**Tabelul 4.20. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai metabolismului mineral**

Lotul de studiu	Calciu, mM/L M±m	Fosfor, mM/L M±m
Lot martor	2,41±0,03 (100%)	1,67±0,05 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	2,23±0,08 (93%)	1,70±0,07 (102%)
CAF-01 100 mg/kg	2,29±0,03** (95%)	1,79±0,06 (107%)

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

**Tabelul 4.21. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai stresului oxidativ**

Lotul de studiu	AGEs, μg/ml M±m	PPOA, μM/L M±m	AIM, mM/L M±m
Lot martor	1435,8±23,76 (100%)	21,2±1,60 (100%)	0,54±0,01 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	1490,2±93,43 (104%)	24,2±1,70 (114%)	0,54±0,01 (100%)
CAF-01 100 mg/kg	1447,4±34,53 (101%)	29,9±3,41** (141%)	0,53±0,01 (98%)

AGEs – produșii finali de glicare avansată; PPOA – produșii proteici de oxidare avansată; AIM – albumina ischemic modificată.

\*\* – p<0,01.

**Tabelul 4.22. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai sistemului antioxidant și asupra nivelului SH-grupe în proteinele și albuminele serice**

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

\* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p<0,05;

\*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001

## REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR FARMACOLOGICE

**Tabelul 4.13. Influența CAF-01 asupra dinamicii masei corporale**

Lotul de studiu	Masa în prima zi (g), M ± m	Masa în a 30-a zi (g), M ± m
Lotul-martor	226,9 ± 10,13 (100%)	235,6 ± 10,63 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	232,5 ± 7,50* (118,9%)	231,9 ± 6,88* (112,7%)
CAF-01 100 mg/kg	230,0 ± 8,24* (116,8%)	223,1 ± 8,01 (108,5%)

\* Diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p < 0,05.

**Tabelul 4.14. Influența CAF-01 asupra indicilor de masă ai organelor (raportul masa organului/masa corpului)**

Lotul de studiu	Cordul (g), M ± m	Ficatul (g), M ± m	Pulmonii (g), M ± m	Rinichii (g), M ± m	Splina (g), M ± m
Lotul-martor	1,36 ± 0,09 (100%)	8,67 ± 0,38 (100%)	2,12 ± 0,09 (100%)	1,07 ± 0,06 (100%)	0,92 ± 0,06 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	0,99 ± 0,06* (72,8%)	7,06 ± 0,48* (81,4%)	1,78 ± 0,09* (84%)	0,83 ± 0,01** (77,6%)	0,72 ± 0,03** (78,3%)
CAF-01 100 mg/kg	1,06 ± 0,03* (77,9%)	8,87 ± 0,27 (102,3%)	1,82 ± 0,13 (85,9%)	0,99 ± 0,01 (92,5%)	0,70 ± 0,04** (76,1%)

\* Diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p < 0,05; \*\* – p < 0,01.

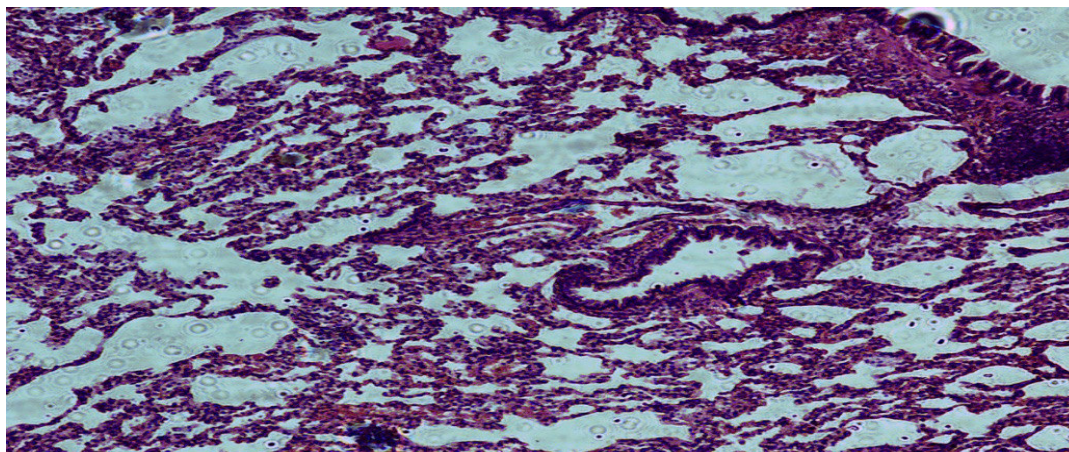


## Rezultatele cercetării patomorfologice

### *Rezultatele cercetării histologice asupra organelor de necesitate vitală a CAF-01*

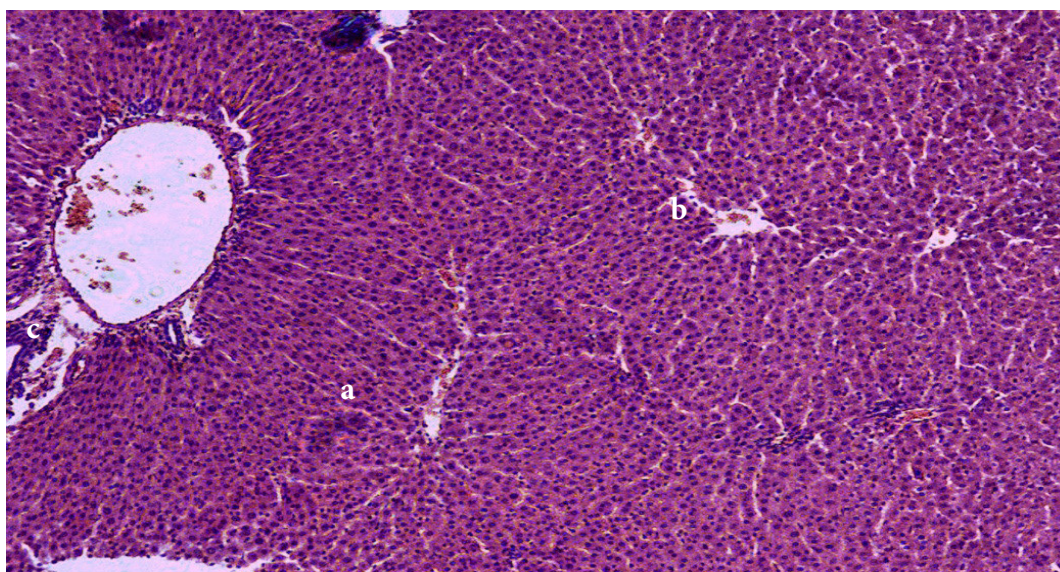
Obiectele au fost fixate în soluție de formalină de 10% și în parafină. Secțiunile organelor interne au fost colorate cu hematoxină-eozină, după Van Gison.

La examinarea preparatelor histologice a organelor studiate ale animalelor din lotul-martor și celor tratate cu produsele testate în doză de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg, diferențe nu s-au remarcat.



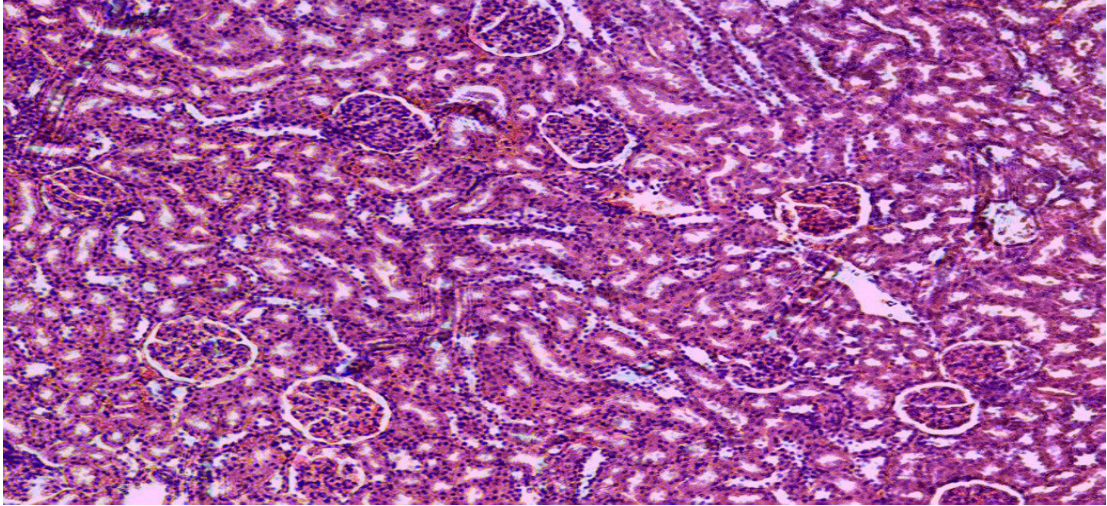
**Fig. 4.1.** Șobolani CAF-01-1000 mg/kg 14. Pulmonii. a) sectoare de emfizem cu dilatarea alveolelor, b) exfolierea epiteliului ciliar, c) congestie vasculară acută. H-E x 90. CAF-01

a) sectoare de emfizem cu dilatarea alveolelor, b) bronhiile mari - fără modificări, nucleele celulelor bine conturate, epiteliul ciliar exfoliat, c) congestie venoasă acută, d) nucleele epiteliului alveolar sunt clar delimitate, citoplasma – oxifilă. Epiteliul bronhiilor intrapulmonare – fără schimbări. Modificări inflamatorii acute în țesutul pulmonar nu s-au depistat.



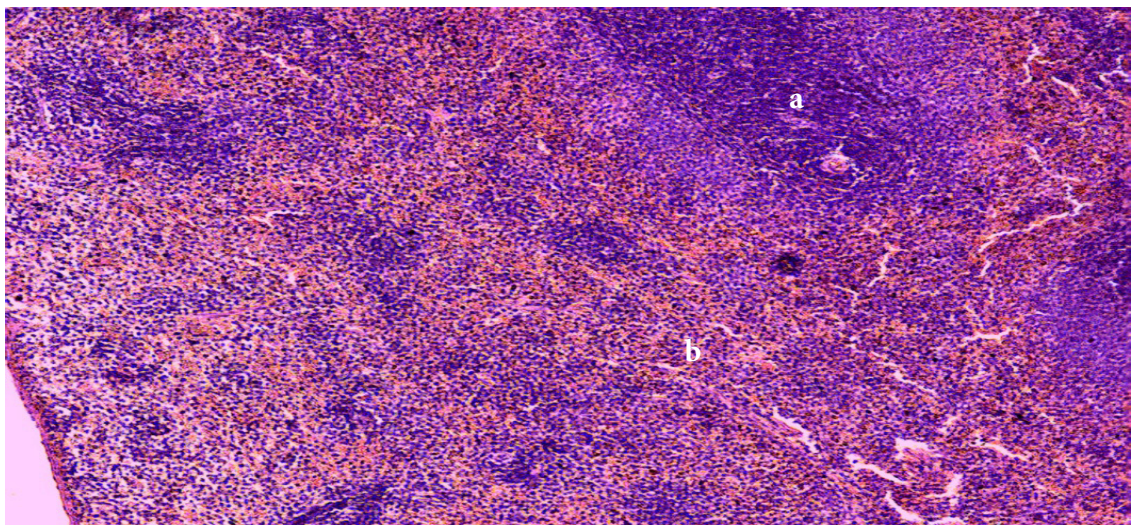
**Fig. 4.2.** Șobolani CAF-02-100 mg. Ficatul cu. a) tumescența citoplasmei cu formare de granule în zonele perilobulare, b) dilatarea spațiilor Disse, c) edem pericentrolobular. H-Ex90 CAF-02

Structura trabeculară a ficatului în secțiune, obținută din diferite obiecte a lobilor ficatului, modificări nu prezenta (fig. 4.2). Limitele hepatocitelor bine determinate (a), citoplasma granulară, slab oxifilă. Dereglări ale proprietăților tinctoriale ale citoplasmei nu s-au observat. Nucleele conțin nucleotide bine conturate și cu suficientă cromatină. Membrana nucleară este subțire. Sinusoidele hepatice - pline cu sânge (b) și edemațiate preponderent pericentrolobular (c).



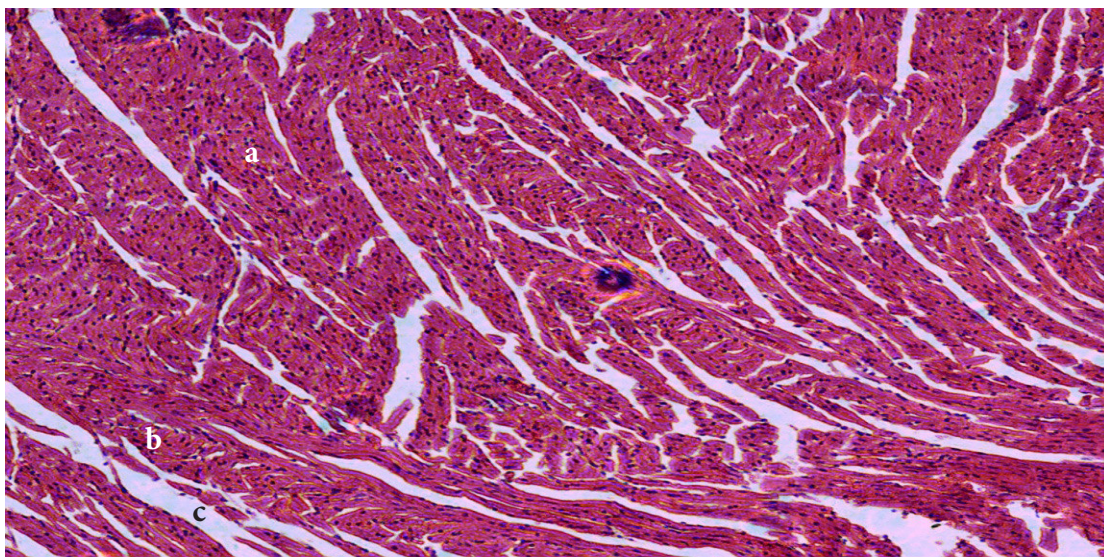
**Fig. 4.3.** Șobolani CAF-01-1000 mg. Rinichi. a) intumescența citoplasmei celulelor epiteliale cu exfoliere, oxifilă, b) dilatarea tubilor renali contorți și glomerulelor dintre capsulă și capilarele glomerulare. H-E x 140 CAF-01

Capilarele glomerulare și țesutului interstițial al rinichilor sunt congestionate (fig. 4.3.), citoplasma epitelului tubilor proximali a rinichilor - oxifilă (a), limitele celulelor se disting bine, nucleele nefroepiteliului sunt deschise și clare, tubii renali contorți sunt dilatați cu conținut coloid (b).



**Fig. 4.4.** Șobolani CAF-02-1000 mg. Splina: a) foliculi limfoizi cu nuclee bine conturate, hiperchrome, b) structura pulpei roșii – păstrată. H-E x 140 CAF-02

Elementele limforeticulare ale splinei (*fig. 4.4.*) - cu nuclee clar delimitate (a), distrugere sau atrofie de foliculi nu se determină. În pulpa roșie a splinei (b) se observă focare de hematopoeză cu megacariocite unice.



**Fig. 4.5.** Șobolani CAF01-100 mg. Cordul cu: a) nucleele cardiomiocitelor sunt conturate, hipercrome; b) striațiile cardiomiocitelor sunt păstrate; c) edem interfibrilar. H-E x 90

La investigația histologică (*fig. 4.5*) în structura cardiomiocitelor, cordul prezintă: nuclee conturate, hipercrome (a), striațiile cardiomiocitelor păstrate (b) și un edem neînsemnat interfibrilar difuz (c).

Astfel, conform rezultatelor studiului histologic, administrarea intravenoasă zilnică a preparatelor testate în doze de 100 și 1000 mg/kg timp de 30 de zile și a loturilor-martor la șobolani de ambele sexe nu cauzează iritații, inflamarea sau distrugerea țesutului în locul injectării și nu este însoțită de dezvoltarea modificărilor degenerative și distructive, precum și de focare sclerotice în celulele parenchimotoase și stroma organelor interne.

Modificări patomorfologice vizibile ale creierului, inimii, traheii, bronhiilor, plămânilor, esofagului și intestinelor, ficatului, pancreasului, splinei, rinichilor, vezicii urinare, ovarelor, la administrarea animalelor a substanței cercetate și la cele din lotul-martor nu au fost constatate. La examinarea cavităților toracică și abdominală, nu s-a depistat exsudat, nici modificări în amplasarea organelor interne nu s-au observat. Foițele parietală și viscerală ale pleurei și peritoneului – subțiri, lucioase și netede.

Rezultatele studiului efectuat au demonstrat: CAF-01 este practic netoxică și nu posedă proprietăți cumulative. Administrarea îndelungată a produsului medicamentos elaborat nu cauzează dezvoltarea proceselor toxice în organismul animalelor.

#### **4.4. Determinarea inofensivității produsului Merion (MI)**

##### **4.4.1. Determinarea toxicității acute a produsului Merion**

##### **Rezultatele investigațiilor pe șoareci**

###### ***Administrarea enterală***

Pe parcursul studiului nu s-au constatat modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor. Animalele erau în mișcare activă, consumau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galbenă-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții – păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpate, landele mamare ale femelelor erau fără indurații și fără eliminări. Organele genitale masculine – normal exprimate. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

Monitorizarea procesului de alimentare și consumare a apei nu a evidențiat modificări statistice semnificative între loturile cercetate și cel martor. În a doua zi a studiului s-a remarcat o oarecare pierdere a greutateii corporale la animalele din toate loturile, inclusiv din cel martor.

La administrarea substanței de referință și a dozei de 100 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile nu s-au constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea MI în doze de 300, 1000 și 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea inițială pe parcursul primelor patru ore (300 mg/kg) și 24 de ore (pentru 1000, 2000 mg). La câte o femelă, căreia i s-a administrat doze de 1000 și 2000 mg/kg, s-a remarcat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale (*gasping*) și decesul animalelor în decurs de 24 de ore la doza de 2000 mg/kg și 48 de ore la doza de 1000 mg/kg (tabelul 4.23). Ocazional, am sesizat convulsii.

LD<sub>50</sub> conform metodei TG 423: *Acute Toxic Class Method* a fost estimată la 2500 mg/kg - practic netoxică (tabelul 4.24).

Din cauza imposibilității determinării LD<sub>100</sub>, nu a fost posibilă determinarea LD<sub>50</sub> după metoda Kerber [74].

###### ***Administrarea intraperitoneală***

La administrarea dozei de referință, precum și a dozei de 100 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile, ocazional, s-a constatat hipodinamie, cu revenirea la starea inițială pe parcursul a 24 de ore. La administrarea dozelor de 300, 600 și 1000 mg/kg, la toate animalele s-au remarcat: hipodinamie, diminuare a activității motorii, cu reacție redusă la stimulii exogeni și revenirea la starea normală pe parcursul a 24-48 de ore. La trei masculi, cărora li s-a administrat doza de 300 mg/kg, la patru – doza de 600 mg/kg și la toate animalele - doza de 1000 mg/kg, hipodinamia și reacția redusă la stimulii exogeni au evaluat cu dezvoltarea unei stări terminale și decesul pe parcursul a 24 de ore (tabelul 4.25). Convulsii s-au constatat ocazional.

Conform clasificării propuse de OECD, pentru administrarea intraperitoneală, MI a fost plasat în categoria 5, fiind catalogat ca preparat cu toxicitate redusă (tabelul 4.26).

Determinarea  $LD_{100}$  la doza de 1000 mg/kg ne-a dat posibilitatea de a stabili  $LD_{50}$  după metoda Kurber, care a constituit 525 mg/kg și de asemenea denotă un nivel minim de toxicitate a preparatului studiat (tabelul 4.27). Analiza datelor nu a evidențiat diferențe semnificative în dinamica de greutate corporală între animalele din lotul de studiu și cel martor. S-a observat o creștere ceva mai mare în greutate la animalele din lotul-martor, comparativ cu cele experimentale. Explorarea nu purta un caracter statistic semnificativ, ci unul de tendință.

La necropsie, la examinarea organelor interne precum: limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămâni, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele, în loturile experimentale și cele martor, la ambele metode de administrare, modificări patologice vizibile nu au fost constatate.

Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că  $LD_0$  pentru administrarea enterală este de 300 mg/kg, iar pentru cea parenterală – 100 mg/kg.

Procentajul maxim de letalitate  $LD_{17}$  pentru administrarea enterală a fost stabilit la dozele de 1000 și 2000 mg/kg. Astfel, matematic, s-a calculat posibilul  $LD_{25} = 1471$  mg/kg, dozele  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{100}$  nefiind stabilite pe parcursul experimentului.  $LD_{50}$  a fost estimată după metoda TG 423 la doza 2500 mg/kg.

Procentajul maxim de letalitate  $LD_{100}$  pentru administrarea parenterală a fost stabilit la doza 1000 mg/kg. După metoda Kerber,  $LD_{50}$  a fost stabilit la doza de 525 mg/kg. Astfel, matematic, s-a evaluat posibilul  $LD_{25} = 263$  mg/kg și  $LD_{84}$  la doza de 840 mg/kg.

Rezultatele studiului denotă o toxicitate acută redusă atât la administrarea enterală, cât și la cea parenterală. Aceasta poate servi ca premisă pentru continuarea studiilor preclinice de determinare a toxicității cronice și a eficacității, cu planificarea ulterioară a studiilor clinice pentru produsul MI. În urma cercetărilor farmaceutice, a fost elaborat un nou produs combinat cu acțiune polivalentă. Pentru prima dată se propune, sub formă de suspensie, combinația dintre vitamine, microelemente și nanoparticule de Zn [67, 74].

**Tabelul 4.23. Mortalitatea la determinarea toxicității acute a MI la administrarea enterală**

Doza	femele		% deces
	N animale	deces	
<b>Lot martor</b>	6	-	0
100 mg/kg	6	-	0
300 mg/kg	6	-	0
1000 mg/ kg	6	1	17
2000 mg/kg	6	1	17

**Tabelul 4.24. Determinarea clasei de toxicitate a MI conform TG 423: Acute Toxic Class Method (OECD) pentru administrarea enterală**

Denumirea	Clasa de toxicitate	DL50/LD50 estimat mg/kg
MI	5 (practic netoxică)	2000 - 5000 = 2500

**Tabelul 4.25. Mortalitatea la determinarea toxicității acute a MI la administrarea intraperitoneală**

Doza	masculi		% deces
	N animale	deces	
<i>Lot martor</i>	6	-	0
100 mg/kg	6	-	0
300 mg/kg	6	3	0
600 mg/ kg	6	4	0
1000 mg/kg	6	6	17

**Tabelul 4.26. Determinarea clasei de toxicitate a MI conform clasificării OECD pentru administrarea intraperitoneală**

Denumirea	Clasa de toxicitate	DL50/LD50 estimat mg/kg
MI	5 (practic netoxică/slab toxică)	501-1250

**Tabelul 4.27. Toxicitatea acută a MI la administrarea intraperitoneală la șoricea după metoda Kerber**

Doza	100 mg/kg	300 mg/ kg	600 mg/kg	1000 mg/kg
Nr. de animale din lot	6	6	6	6
Nr. de animale decedate	0	3	4	6
A (diferența dintre două doze succesive)	200	300	400	-
B (media numărului de animale decedate dintre două doze succesive)	1,5	2,5	4,5	-
AxB	300	750	1800	-

Suma A x B = 2850

DL 50 = DL 100 – suma AxB/ n DL50 = 1000 mg/kg – 475 mg/kg = 525 mg/kg (LD50% după Kerber)

### Rezultatele investigațiilor pe șobolani

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg, cu supraveghere timp de șapte zile, nu s-au constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea produsului MI în doze de 300 și 2000 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 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg). La două animale s-a remarcat diaree, care au revenit la normal pe parcursul a 24 de ore.

În primele trei zile după administrarea preparatelor studiate în doze de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost observate: somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după una-două zile.

În baza rezultatelor preclinice, la șobolani a fost estimat LD<sub>50</sub> (tabelul 4.28).

De asemenea, nu s-au constatat deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din loturile cercetate și lotul-martor.

La necropsie, modificări patologice vizibile la examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel martor, la ambele metode de administrare, nu au fost sesizate [49].

**Tabelul 4.28. Toxicitatea acută a produsului MI la șobolani**

Doza Mg/k	Numărul animalelor	Numărul deceselor
Lotul-martor	6	-
MI 50 mg/kg	6	-
MI 300 mg/kg	6	1
MI 600 mg/kg	6	1
MI 2000 mg/kg	6	2

#### 4.4.2. Determinarea toxicității subcronice a produsului medicamentos

##### Merion (MI)

*Influența preparatului asupra supraviețuirii și masei corporale.* Pe parcursul studiului nu s-au constatat decese, modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor și cele experimentale. Șobolanii erau în mișcare activă, consumau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții – păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpate, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

De asemenea, în timpul desfășurării experimentului, nu s-a constatat decesul animalelor de laborator, ceea ce indică acumularea redusă a preparatului cercetat și tendința de dezvoltare a obișnuinței în dozele cercetate.

Rezultatele studierii dinamicii masei corporale a șobolanilor privind influența MI, administrată timp de 30 de zile, sunt expuse în tabelul 4.29. Potrivit datelor obținute, masa animalelor a rămas neschimbată la animalele din lotul-martor, uniform pe toată perioada studiului. În ambele loturi, cărora li s-a administrat produsul MI, s-a constatat micșorarea masei corporale în ziua sacrificării, comparativ cu prima zi de experiment ( $p < 0,01$  pentru MI 100 mg/kg și  $p < 0,05$  pentru

MI1000 mg/kg). Nicio diferențiere ce ține de nivelul de dozare nu s-a remarcat. Însă nu în toate loturile creșterea ponderală era veridică față de masa inițială.

După decapitare și prepararea organelor, s-a efectuat cântărirea lor, cu stabilirea următoarelor rezultate: la animalele, cărora li s-a administrat MI 100 mg/kg și MI 1000 mg/kg, în comparație cu cele din lotul-martor, după 30 de zile s-a remarcat o majorare dozo-dependentă a masei rinichilor  $2,06 \pm 0,24$  (MI 1000 mg/kg),  $2,02 \pm 0,23$  (MI 100 mg/kg) și  $1,85 \pm 0,09$  – lotul-martor ( $p < 0,05$ ). În lotul MI 1000 mg/kg, în comparație cu lotul-martor, după 30 de zile s-a observat o majorare a masei pulmonilor  $3,33 \pm 1,85$  g, comparativ cu  $2,70 \pm 1,27$  g în lotul-martor ( $p < 0,05$ ).

Referitor la indicele raportului masa ficatului/masa corpului, putem constata că indicele respectiv nu diferă la animalele tratate cu MI de cele netratate. O ușoară tendință de creștere a indicelui respectiv, dar nesemnificativă statistic, s-a remarcat la MI 1000 mg/kg. Rezultatele datelor referitoare la masa organelor sunt indicate în tabelul 4.30.

### **Rezultatele investigațiilor hematologice**

Rezultatele investigațiilor hematologice au demonstrat că administrarea produsului medicamentos testat nu modifică indicii eritrocitari. Nivelul eritrocitelor, hemoglobinei, hematocritului nu s-a modificat. Analiza rezultatelor obținute demonstrează că, la administrarea MI în dozele de 100 și 1000 mg/kg, numărul leucocitelor scade față de valorile lotului-martor, dar datele nu sunt statistic semnificative (tabelul 4.31).

Totodată, se observă o trombocitopenie statistic neconcludentă la administrarea MI 1000 mg/kg, cu 22% inferior față de lotul-martor,  $p < 0,05$  (tabelul 4.32).

În loturile MI 100 și MI 1000 mg/kg se constată tendința de micșorare, comparativ cu lotul-martor, a indicilor RDW-SD, RDW-CV, PDW, MPV, fapt ce indică acțiunea nefavorabilă a produsului în doze majorate asupra volumului și repartizării eritrocitelor și devierii lor standarde (tabelul 4.33).

Produsul studiat nu manifesta anumite efecte nefavorabile asupra formulei trombocitare (tabelul 4.34).

În loturile supuse acțiunii MI în ambele doze, s-a înregistrat o limfopenie, manifestată prin reducerea numărului absolut de limfocite.

Influența produsului medicamentos MI asupra formulei leucocitare este prezentată în tabelele 4.35-4.36. Cercetările efectuate indică o majorare a nivelului neutrofilelor segmentate și o micșorare statistic relativă a nivelului neutrofilelor nesegmentate la administrarea produsului MI, față de valorile lotului-martor: la 100 mg/kg –  $p < 0,01$ , iar la 1000 mg/kg –  $p < 0,05$ .

### **Rezultatele investigațiilor biochimice**

În tabelele 4.37-4.43 sunt prezentate datele despre influența MI asupra indicilor biochimici de bază ai sângelui șobolanilor la studierea toxicității subacute. În loturile experimentale și în cele de referință s-au determinat numeroși parametri, ce caracterizează metabolismele glucidic, proteic



și lipidic, funcțiile ficatului, precum și indicii de bază ai stresului oxidativ și ai sistemului de protecție antioxidantă.

La administrarea produsului MI în ambele doze cercetate, modificări relevante ale indicilor metabolismelor proteic și azotic la animalele din loturile de experiență, în raport cu cele din lotul-martor, nu au fost înregistrate. Produsul studiat nu manifesta acțiune negativă asupra unor astfel de indici ai metabolismului proteic precum proteina totală și creatinina, excepție fiind majorarea până la  $7,69 \pm 1,84$  mM/L, în comparație cu  $6,05 \pm 1,69$  mM/L la lotul-martor,  $p < 0,05$  (tabelul 4.37).

Influența preparatului MI asupra stării funcționale a ficatului a fost evaluată prin studierea activității transaminazelor ALAT, AsAT și a fosfatazei alcaline (FA). Din datele prezentate în tabelul 4.38 reiese că produsul cercetat în dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg determină o reducere ne semnificativă a activității ALAT, AsAT și o tendință de sporire a activității FA, dar fără relevanță statistică. În schimb provoacă modificări neunivoce ale funcționalității PCE, enzimă sintetizată în celulele parenchimale hepatice și care reflectă funcția proteosintetică a ficatului: în doza de 100 mg/kg - tendința de diminuare, iar în doza de 1000 mg/kg – sporirea dublă a activității enzimei date cu 96% superioară față de lotul-martor ( $p < 0,001$ ). Deci preparatul MI nu manifestă efecte hepatotoxice considerabile.

Produsul studiat, fiind administrat în dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg timp de 30 de zile, nu provoacă modificări cu semnificație statistică ale nivelului glicemiei, colesterolului și trigliceridelor serice (tabelul 4.39).

În cadrul cercetărilor metabolismului mineral, am stabilit că MI 100 și 1000 mg/kg nu modifică nivelul calcemiei, în schimb determină tendința de creștere a nivelului fosforului seric, în comparație cu lotul-martor, dar fără relevanță statistică (tabelul 4.40). Astfel, administrarea produsului MI în ambele doze cercetate timp de 30 de zile nu provoacă nici tulburări ale metabolismelor proteic, glucidic, lipidic și mineral și nici dereglări în funcțiile ficatului.

Prin urmare, conform datelor expuse în tabelul 4.41, rezultă că administrarea produsului studiat șobolanilor albi timp de 30 de zile influențează în mod diferit principalii indici ai stresului oxidativ: MI 100 mg/kg – manifestă proprietatea de a reduce statistic semnificativ valorile DAM, respectiv: 11,9 și 7,4 mM/l ( $p < 0,001$ ) și PPOA și AIM, dar fără semnificație statistică și tendință de a crește nivelul AGE ( $p > 0,05$ ). MI 1000 manifestă proprietatea de a reduce valorile DAM și AIM și de a majora neconcludent valorile PPOA și AGE.

Rezultatele investigațiilor expuse în tabelul 4.42 demonstrează: MI nu modifică AAT-ABTS, ci majorează veridic AAT-CUPRAC, ceea ce ar putea fi legat de sporirea rezervelor de antioxidanți (AO) hidrosolubili. Paralel, se înregistrează creșterea nivelului SOD, SH-grupelor proteinelor serice ( $4,32 \pm 0,93$   $\mu$ M/g prot. la MI 100 mg/kg, comparativ cu  $6,81 \pm 1,34$   $\mu$ M/g prot. – lotul-martor –  $p < 0,001$ ), mai pronunțată deci fiind la administrarea emulsiei MI în doza de 100 mg/kg, fapt ce potențează sistemul antioxidant prin reducerea deficitului de AO hidrosolubili (tabelul 4.43).

**Modificări patomorfologice** vizibile ale creierului, inimii, traheii, bronhiilor, plămânilor, esofagului și intestinelor, ficatului, pancreasului, splinei, rinichilor, vezicii urinare, ovarelor, la administrarea animalelor a substanței cercetate, precum și a celor din lotul-martor, nu au fost constatate. La examinarea cavităților toracică și abdominală, nu s-a depistat exsudat. De asemenea nu s-au observat nici modificări în amplasarea organelor interne. Foițele parietală și viscerală ale pleurei și peritoneului – subțiri, lucioase și netede.

**Tabelul 4.29. Influența MI asupra dinamicii masei corporale**

Loturile de studiu	Masa 1 zi (g)	Masa 30 zi (g)
martor	171,9±3,72 (100%) M±m	171,3±10,26 (100%) M±m
MI-100 mg/kg	235,6±8,21*** (137%)	197,50±19,82** (115%)
MI- 1000 mg/kg	203,8±9,91*** (118%)	191,25±22,95* (112%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.30. Influența MI asupra dinamicii indicelui masa organ/masa corp**

Loturile de studiu	Masa cord M±m	Masa ficat M±m	Masa pulmoni M±m	Masa rinichi M±m	Masa splina M±m
martor	1,49±0,16 (100%)	6,59±1,03 (100%)	2,70±1,27 (100%)	1,85±0,09 (100%)	1,29±0,17 (100%)
MI-100 mg/kg	1,67±0,37 (112%)	7,37±0,91 (112%)	2,73±1,35 (101%)	2,02±0,23* (109%)	1,17±0,29 (91%)
MI- 1000 mg/kg	1,56±0,16 (105%)	7,16±0,55 (109%)	3,33±1,85* (123%)	2,06±0,24* (111%)	1,30±0,14 (101%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelele statistice la cantitatea de celule și formula leucocitară**

**Tabelul 4.31. Rezultatele WBC, RBC, HGB, HLT a produsului MI**

Loturile de studiu	WBC *10 <sup>9</sup> /L M±m	RBC *10 <sup>12</sup> /L M±m	HGB g/l M±m	HCT % M±m
martor	5,91±1,47 (100%)	7,44±0,90 (100%)	143,25±18,11 (100%)	19,43±2,20 (100%)
MI-100 mg/kg	5,04±0,87 (85%)	7,31±0,92 (98%)	137,50±14,25 (96%)	21,53±6,71 (111%)
MI- 1000 mg/kg	4,7±1,53 (80%)	7,83±0,47 (105%)	144,50±9,37 (101%)	19,54±1,76 (101%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.32. Rezultatele MCV, MCH, MCHC, PLT a produsului MI**

Loturile de studiu	MCV fL M±m	MCH pg M±m	MCHC g/dL M±m	PLT *10 <sup>9</sup> /L M±m
martor	52,25±0,90 (100%)	19,24±0,73 (100%)	36,83±1,21 (100%)	499,25±176,54 (100%)
MI-100 mg/kg	50,39±2,33 (96%)	18,45±0,71 (95.9%)	36,61±1,48 (99%)	562,50±146,53 (113%)
MI- 1000 mg/kg	49,81±3,03 (95%)	18,51±0,83 (96%)	37,06±1,04 (101%)	391,50±109,66* (78%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.33. Rezultatele RDW-SD, RDW-CV, PDW, MPV a produsului MI**

Loturile de studiu	RDW - SD fL M±m	RDW-CV % M±m	PDW fL M±m	MPV fL M±m
martor	26,93±1,59 (100%)	14,95±0,79 (100%)	5,90±0,24 (100%)	6,31±0,17 (100%)
MI-100 mg/kg	21,31±2,77*** (79%)	13,16±0,94** (88%)	5,61±0,19* (95%)	6,10±0,20* (97%)
MI- 1000 mg/kg	23,08±1,03*** (86%)	13,49±0,97** (90%)	5,94±0,31# (101%)	6,24±0,18 (99%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.34. Rezultatele P-LCR, PCT a produsului MI**

Loturile de studiu	P-LCR % M±m	PCT % M±m
martor	3,79±1,26 (100%)	0,17±0,03 (100%)
MI-100 mg/kg	2,79±0,73 (74%)	0,18±0,05 (106%)
MI- 1000 mg/kg	3,16±0,68 (84%)	0,13±0,04 (76%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

### Tabele statistice pentru formula leucocitară

**Tabelul 4.35. Formula leucocitară a produsului MI**

Loturile de studiu	Segmentate % M±m	Limfocite % M±m	Monocite % M±m
martor	34,51±3,75 (100%)	53,69±6,23 (100%)	4,66±3,15 (100%)
MI-100 mg/kg	47,83±8,16 (139%)	42,75±7,10 (80%)	4,40±1,96 (94%)
MI- 1000 mg/kg	40,84±3,27 (118%)	47,56±4,69 (89%)	4,33±0,90 (93%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.36. Cantitatea eozinofile, bazofile și nesegmentate a produsului MI**

Loturile de studiu	Eozinofile % M±m	Bazofile % M±m	Nesegmentate % M±m
martor	4,79±1,35 (100%)	0,99±0,42 (100%)	1,36±0,50 (100%)
MI-100 mg/kg	4,73±1,12 (99%)	0,79±0,27 (80%)	0,68±0,28** (50%)
MI- 1000 mg/kg	5,95±2,55 (124%)	1,26±0,64 (127%)	0,90±0,65* (66%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.37. Indicii metabolismului proteic**

Loturile de studiu	Proteina totală, g/l	Creatinina, μM/L	Ureea, mM/L
martor	68,50±10,00 (100%) M±m	88,50±10,00 (100%) M±m	6,05±1,69 (100%) M±m
MI-100 mg/kg	70,82±12,64 (107%)	94,82±12,64 (107%)	7,69±1,84* (127%)
MI- 1000 mg/kg	64,56±12,53 (96%)	99,56±12,53 (113%)	7,39±2,38 (122%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.38. Activitatea enzimelor serice**

Loturile de studiu	ALAT, U/l M±m	ASAT, U/L M±m	Fosfataza alcalina, u/L M±m	PCE, μm/s.L M±m
martor	68,50±10,00 (100%)	88,50±10,00 (100%)	75,98±25,89 (100%)	82,02±8,15 (100%)
MI-100 mg/kg	70,82±12,64 (107%)	94,82±12,64 (107%)	91,07±18,06 (120%)	69,55±22,07 (85%)
MI- 1000 mg/kg	64,56±12,53 (96%)	99,56±12,53 (113%)	84,16±32,04 (111%)	161,06±62,68*** (196%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.39. Indicii metabolismului glucidic și lipidic**

Loturile de studiu	Gluciza, mM/L M±m	Colesterol, mM/L M±m	Trigliceride, mM/L M±m
martor	4,63±1,10 (100%)	4,37±0,12 (100%)	1,22±0,11 (100%)
MI-100 mg/kg	4,38±0,87 (95%)	4,41±0,16 (101%)	1,19±0,06 (98%)
MI- 1000 mg/kg	4,38±0,76 (95%)	4,61±0,24 (105%)	1,34±0,12 (110%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.40. Indicii metabolismului mineral**

Loturile de studiu	Calciu, mM/L M±m	Fosfor, mM/L M±m
martor	2,37±0,22 (100%)	1,08±0,08 (100%)
MI-100 mg/kg	2,34±0,22 (99%)	1,34±0,19 (124%)
MI- 1000 mg/kg	2,40±0,15 (103%)	1,13±0,09 (105%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.41. Indicii peroxidării lipidice**

Loturile de studiu	DAM, μM/L M±m	PPOA, μM/L M±m	AGE, μg/ml 330/390 M±m	AGE, μg/ml 370/440 M±m	AIM, mM/L M±m
martor	11,59±1,67 (100%)	47,95±14,12 (100%)	401,92±126,37 (100%)	120,77±47,69 (100%)	0,65±0,02 (100%)
MI-100 mg/kg	7,40±1,85*** (64%)	42,10±13,39 (88%)	469,59±81,09 (117%)	144,90±41,03 (120%)	0,61±0,07 (94%)
MI- 1000 mg/kg	10,78±3,21 (93%)	55,59±17,62 (116%)	491,01±74,69 (122%)	99,00±29,87 (82%)	0,59±0,05* (91%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.42. Indicii sistemului antioxidant (partea 1)**

Loturile de studiu	SOD, u/c M±m	AAT cu ABTS, μM/L M±m	AAT cuprac, mM/L M±m
martor	1509,96±105,08 (100%)	0,62±0,02 (100%)	0,68±0,23 (100%)
MI-100 mg/kg	1646,87±104,33 (109%)	0,63±0,01 (102%)	0,97±0,22 (143%)
MI- 1000 mg/kg	1538,34±188,22 (105%)	0,62±0,01 (100%)	1,61±0,98* (237%)

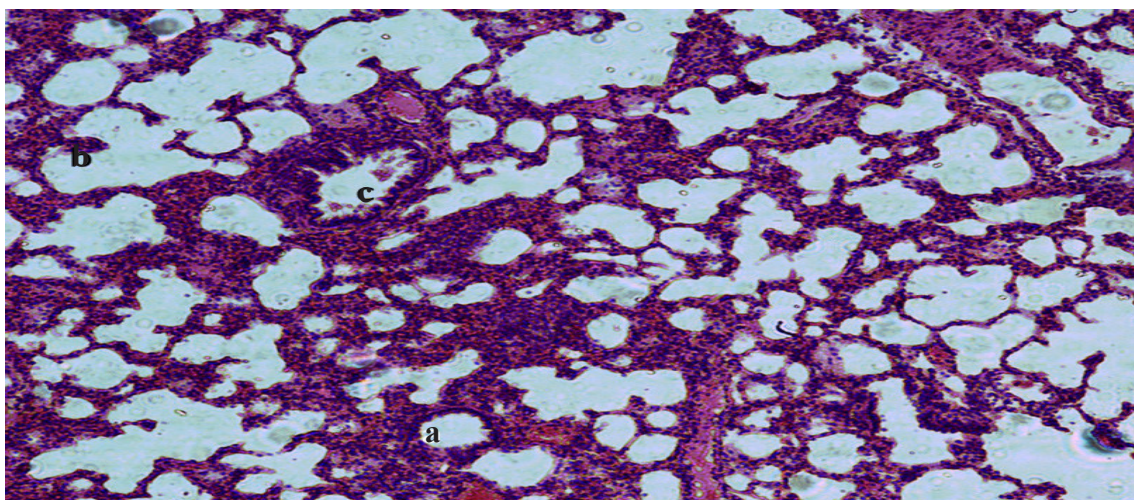
Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

**Tabelul 4.43. Indicii sistemului antioxidant (partea 2)**

Loturile de studiu	CP, mg/L M±m	SH-grupe, μM/g.prot M±m	γ-GTP, u/L M±m
martor	275,83±58,63 (100%)	6,81±1,34 (100%)	2,07±0,73 (100%)
MI-100 mg/kg	286,89±50,22 (104%)	4,32±0,93*** (63%)	2,87±1,02 (139%)
MI- 1000 mg/kg	354,80±123,13 (129%)	5,40±1,35 (79%)	2,68±1,24 (130%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001

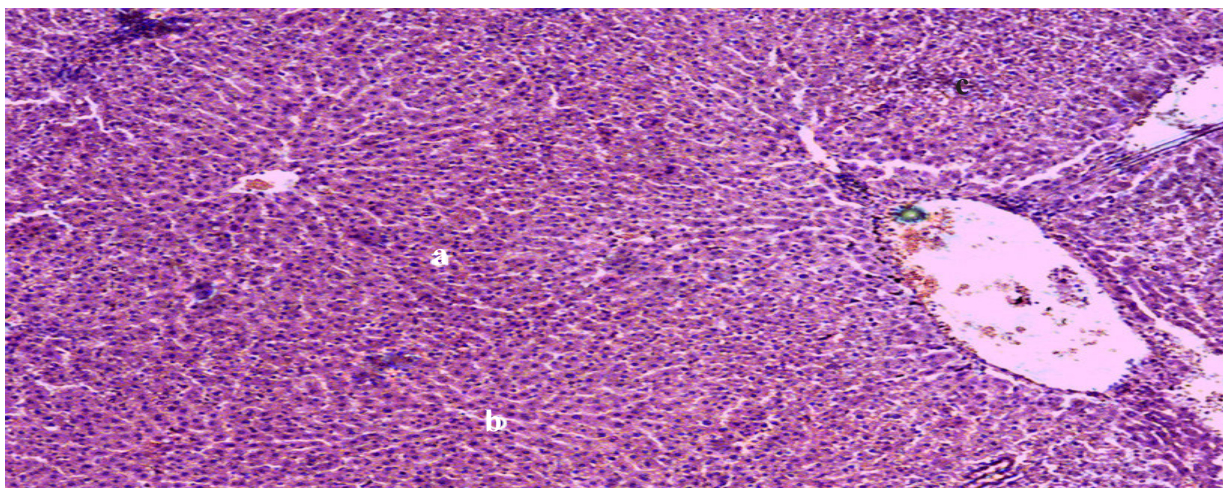
La examinarea preparatelor histologice ale organelor studiate ale animalelor din lotul-martor și celor tratate cu produsele testate în doză de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg, diferențe nu s-au remarcat.



**Fig. 4.6.** Șobolani MI-1000 mg kg. Epiteliul ciliat din peretele bronhiilor este păstrat (a), emfizem ușor cu dilatarea alveolelor (b), bronhii de calibru mic cu lumenul dilatat, conturat celular (c). H-E x 90

Epiteliul ciliat al traheii (fig. 4.6): a) este păstrat, b) emfizem ușor cu dilatarea alveolelor, c) bronhii de calibru mic cu lumenul dilatat, conturat celular

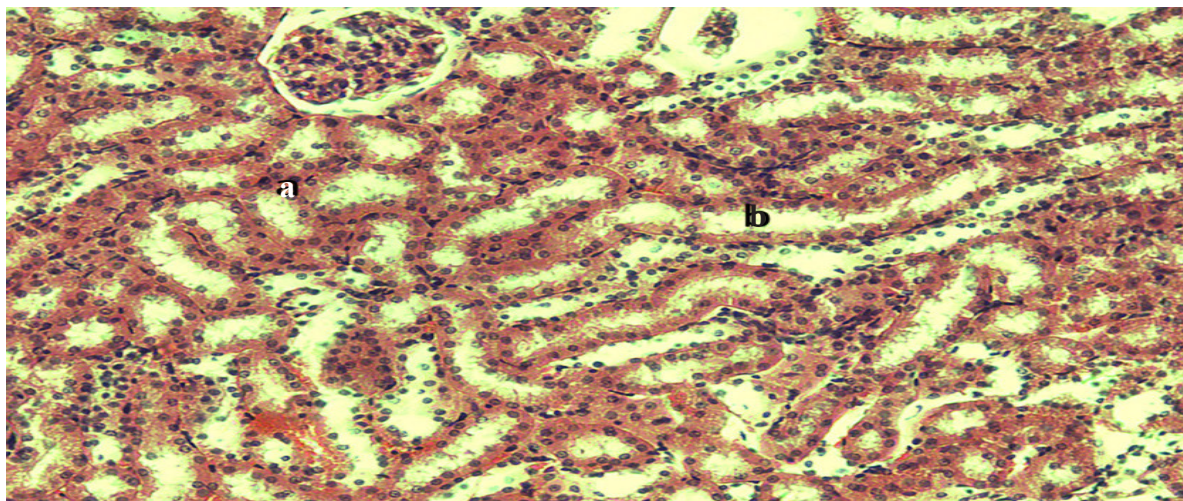
Epiteliul bronhiilor intrapulmonare - fără schimbări. Modificări inflamatorii acute în țesutul pulmonar nu s-au depistat.



**Fig. 4.7.** Șobolani MI -100 mg. Ficatul cu: a) tumescența citoplasmei cu formare de granule în zonele perilobulare, b) dilatarea spațiilor Disse, c) edem pericentriolar. H-E x 90

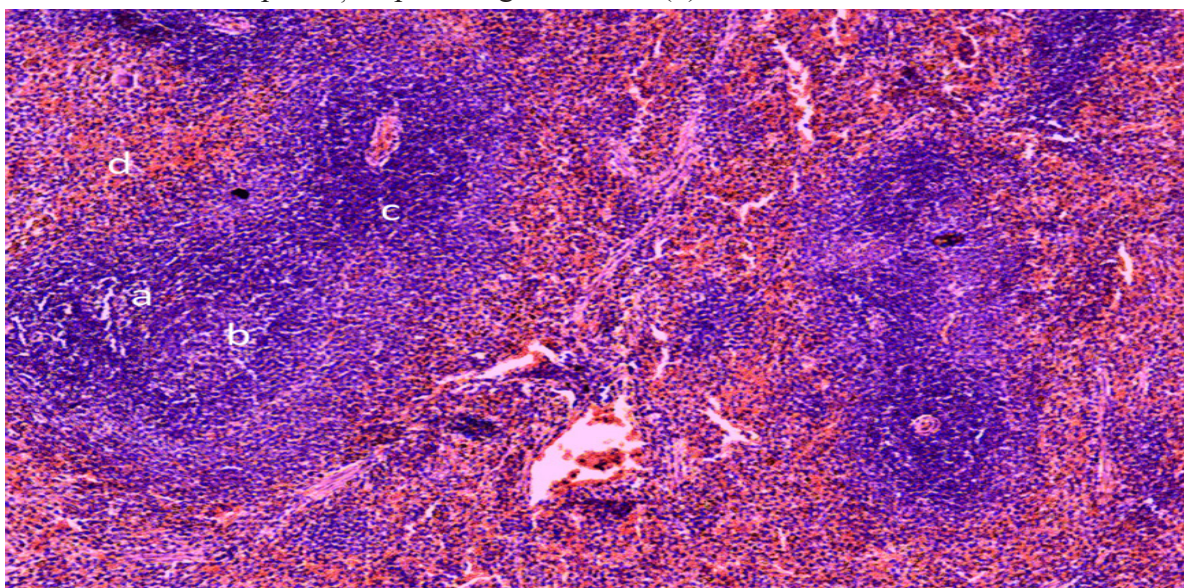
Structura trabeculară a ficatului în secțiune, obținută din diferite obiecte ale lobilor ficatului, modificări nu prezenta (fig. 4.7). Limitele hepatocitelor bine determinate (a), citoplasma granulară, slab oxifilă. Dereglări ale proprietăților tinctoriale ale citoplasmei nu s-au observat. Nu-

cleele conțin nucleotide bine conturate și cu suficientă cromatină. Membrana nucleară este subțire. Sinusoidale hepatice - pline cu sânge (b) și edemațiate preponderent pericentrolobular (c).



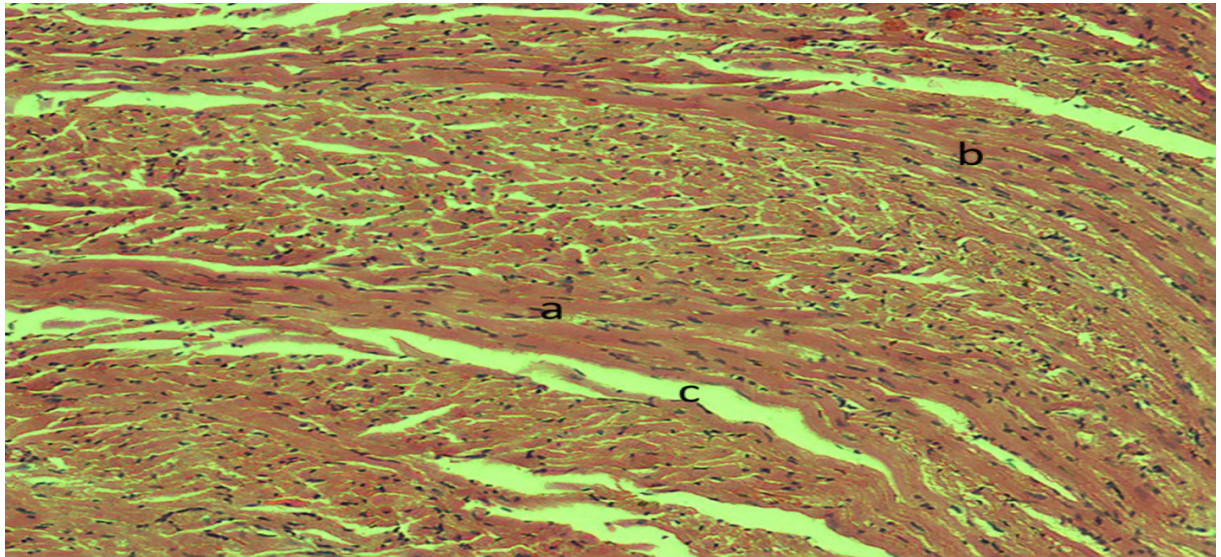
**Fig. 4.8.** Șobolani MI-1000 mg. Rinichii: a) intumescența citoplasmei celulelor epiteliale cu exfoliere, oxifilă

Capilarele glomerulare și țesutul interstițial al rinichilor sunt congestionate (fig. 4.8), intumescența citoplasmei celulelor epiteliale cu exfoliere, oxifilă (a), dilatarea tuburilor renale contorți și glomerulelor dintre capsulă și capilarele glomerulare (b).



**Fig. 4.9.** Șobolani MI-1000 mg. Splina: a) foliculi limfoizi cu nucleee bine conturate, hipercrome, b) structura pulpei roșii – păstrată. H-E x 140

Elementele limforeticulare ale splinei (fig. 4.9.): cu nucleee clar delimitate (a), distrugere sau atrofie de foliculi nu este. În pulpa roșie a splinei (b), se observă focare de hematopoieză cu megacariocite unice.



**Fig. 4.10.** Șobolani MI-100 mg. Cordul cu: a) nucleeele cardiomiocitelor sunt conturate, hiperchrome, b) striațiile cardiomiocitelor sunt păstrate, c) edem interfibrilar. H-E x 90

Cordul, la investigația histologică (fig. 4.10), prezintă în structura cardiomiocitelor: nucleee conturate, hiperchrome (a), striațiile cardiomiocitelor – păstrate (b) și un edem neînsemnat interfibrilar difuz (c). Astfel, conform rezultatelor studiului histologic, administrarea zilnică a preparatului MI, în doze de 100 și 1000 mg/kg, timp de 30 de zile, nu este însoțită de dezvoltarea modificărilor degenerative și distructive, de modificări focare sclerotice în celulele parenchimatose și stroma organelor interne.

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

Numeroase surse indică modelarea SSN la animalele de laborator, controlul reflexelor fiziologice la stimulii sonori și audiometria computerizată (OEA, PEA), în scopul studierii funcției analizatorului auditiv în diferite stări patologice [14, 67].

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

În literatura de specialitate sunt prezentate mai multe metode de inducere a SSN medicamentoase la animalele de laborator (antibacteriene ototoxice – neomicina, canamicina, gentamicina, streptomycină; antineoplazice – cisplastina etc.). Produsele respective pot fi administrate: intravenos, intramuscular, intraperitoneal, în bula otică [67, 182].

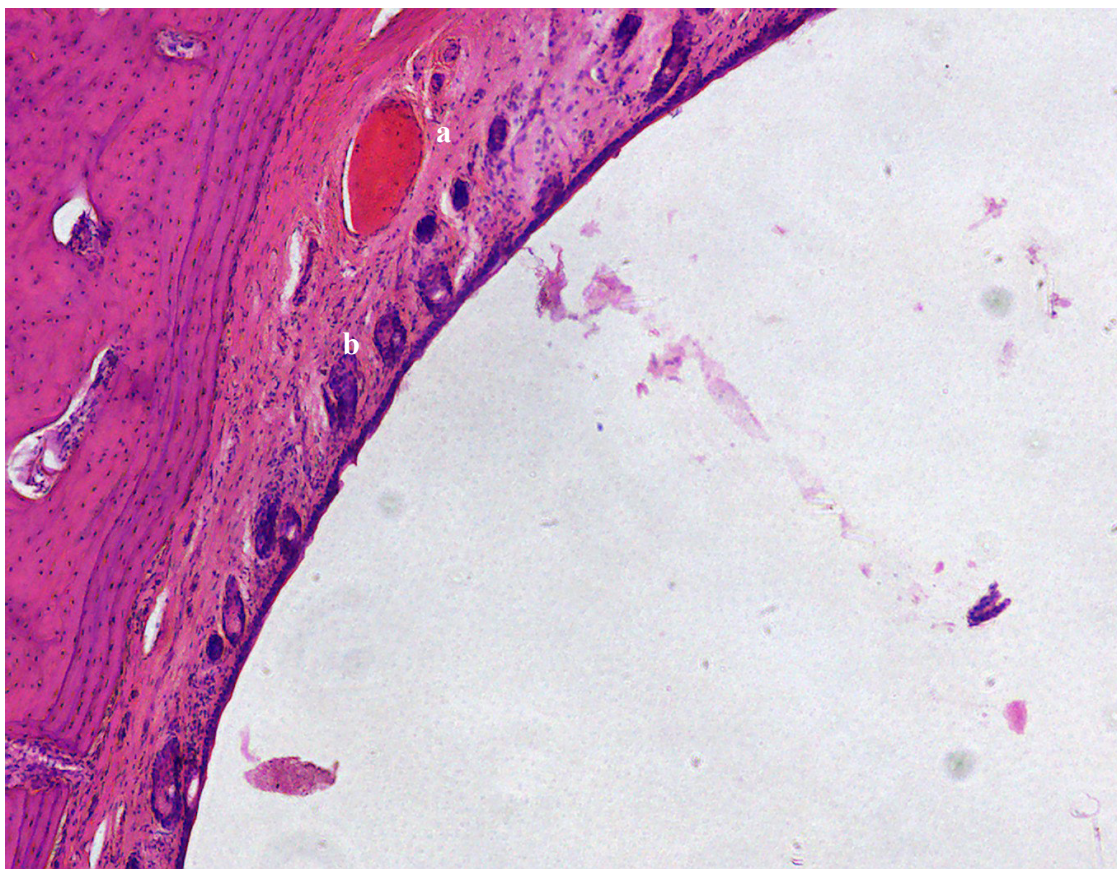
Studiile preclinice pe animale de laborator au fost efectuate la USMF „Nicolae Testemițanu”. Anterior, a fost demonstrată eficacitatea produsului CAF-01 în SSN indusă prin gentamicină la șobolani. Rezultatele au fost confirmate prin îmbunătățirea indicilor OEA și a reflexului Preyer la animalele, cărora li s-a administrat CAF-01 [67].



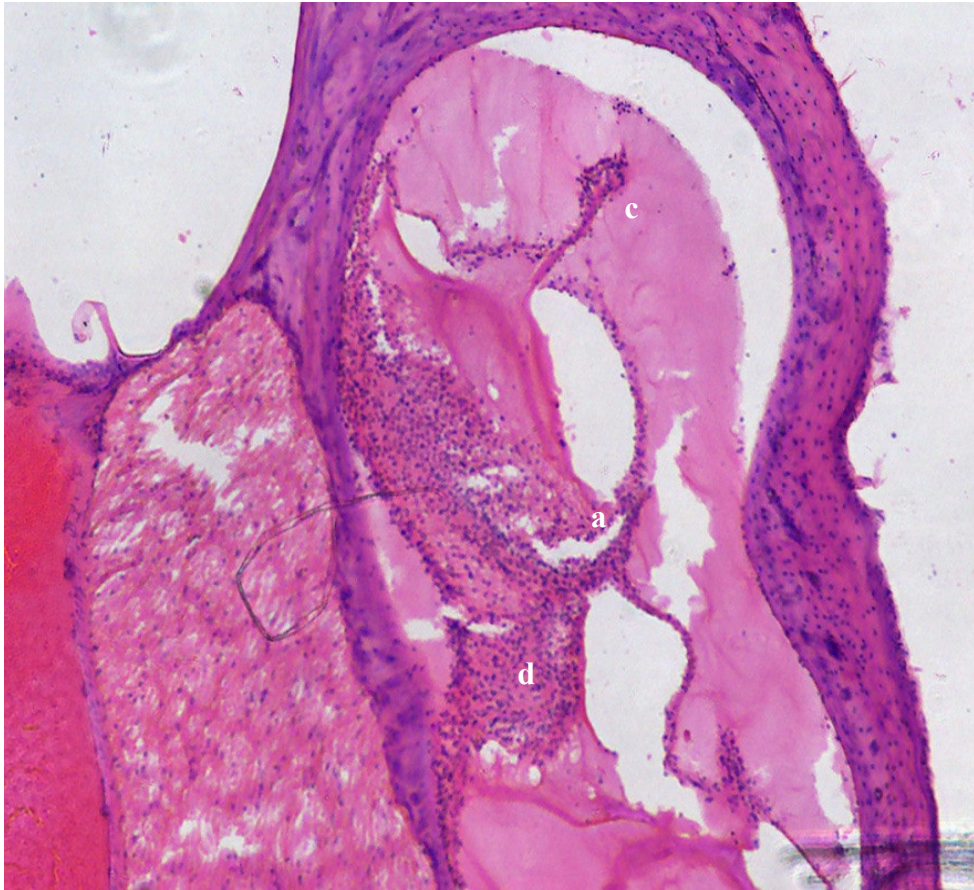
**Scopul studiilor preclinice:** determinarea efectelor farmacologice otoprotectoare pentru produsele CAF-01, MI și NH (Flamena, emulsie, Merion și Neamon-hepa). Cercetarea a fost efectuată pe 32 de șobolani albi, repartizați în patru loturi a câte opt indivizi: 1 – lotul-martor (animale sănătoase); lotul 2 - cu SSN indusă (li s-a administrat sol. 0,9% NaCl, i/g, 3 ml, 14 zile); lotul 3 - cu SSN indusă și Flamena +Merion, 3 ml, 14 zile: șapte zile până la ototoxicitate și șapte zile după; lotul 4 - cu SSN indusă și Neamon-hepa, 3 ml, 14 zile: șapte zile până la ototoxicitate și șapte zile după.

#### **4.5.1. Rezultate morfologice**

Morfologic, a fost demonstrată provocarea SSN prin administrarea soluției de gentamicină. La administrarea animalelor a gentamicinei, se constată structurile anatomice ale urechii interne și organului Corti neafectate (figurile 4.11 și 4.12). La animalele, cărora li s-a administrat gentamicină, morfologic a fost constatată SSN: organul Corti, stria vasculară prezintă elemente de distrofie, apoptoză și necroză (figurile 4.13 și 4.14).



**Fig. 4.11.** *Stria vasculară din canalul cohlear: a) vas sangvin;  
b) elemente celulare bine conturate*



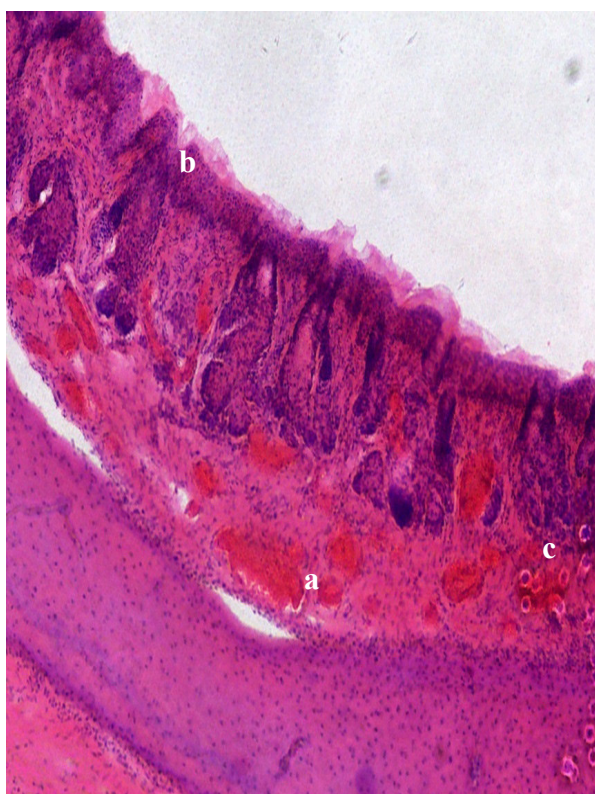
**Fig. 4.12.** Secțiune transversală a melcului: a) rampa timpanică; b) rampa vestibulară; c) plasmă omogenă; d) endolimfă cu elemente limfatice conturate. H-E×90

La subiecții din grupul de control, structura striei vasculare a fost normală, în timp ce la cei tratați cu gentamicină au fost constatate modificările striei vasculare, organitele celulare, mitocondriile, reticulul endoplasmatic au prezentat grave leziuni. În particular, celulele marginale au suferit și ele leziuni. Spațiile intercelulare au devenit mai largi, reducând numărul de mitocondrii pe suprafața liberă a celulelor striei vascularis. Mitocondriile s-au edemațiat, au prezentat rupturi, zone de degenerescență secundară, lizozomii și autofagozomii au crescut ca număr și au prezentat incluziuni modulative, indicând o severă ototoxicitate.

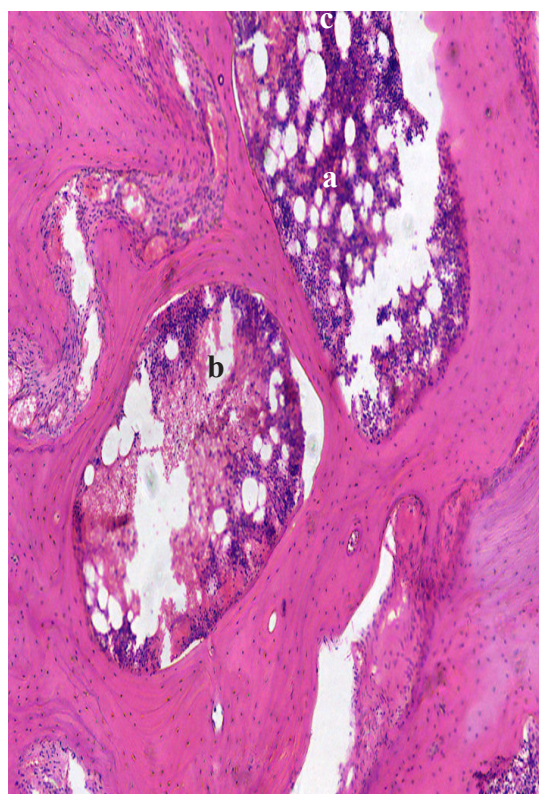
La cercetările microscopice, afectarea cea mai puternică a OC a fost constatată parțial în primul și total în al doilea tur spiralat al cohleei. Se determina majorarea volumului nucleelor celulelor ciliate externe, așa-numitul fenomen de pulsare, cauzat de majorarea hidrofilității carioplasmei în condițiile de intensificare a POL. Am constatat distrucția sau dispariția stereociliilor ale CCE și CCI, precum și deformarea plăcii (membranei) cuticulare a celulelor ciliate. Stereociliile sunt microvilozități implantate pe platoul cuticular de pe fața superioară a CCE/I după un aranjament caracteristic, care participă la procesul de traducere mecano-electică a stimulului sonor. Structura internă a stereocilului constă din microfilamente axiale compacte care corespund actinei F și sunt polarizate în direcția plăcii cuticulare. Placa cuticulară se află

la polul apical al CCE/I și prezintă la om și animale o densificare constituită dintr-un amestec de proteine contractile (actină, miozină) și de proteine legate de calciu. S-a determinat CCE în stare de picnoză cu margini diferențiate, cu structură nediferențiată a carioplasmiei, micșorate considerabil în volum (practic uscate). Distrucția izolată doar a CCE poate fi explicată prin sensibilitatea sporită la hipoxie. Manifestarea organospecifică a procesului necrozei de „mumificare” a CCE a OC reprezintă sectoare cu hotar diferențiat între celulele intacte și cele deformate, fapt ce poate fi explicat nu atât prin afectarea toxică directă a CCE, ci prin afectarea striei vasculare gentamicin-induse.

**Rezultatele morfologice în lotul cu ototoxicitate (figurile 3.2.13 și 3.2.14)**



**Fig. 4.13.** Stria vasculară: a) vase congestionate; b) diminuarea conturului celular; c) schimbări de apoptoză. H-E×90



**Fig. 4.14.** Secțiune transversală a canalelor melcului: a) endolimfă cu elemente celulare repartizate difuz, haotic; b) plasmă neomogenă; c) vezicule hidropice. H-E×90

La animalele de laborator din toate loturile experimentale, otoscopia nu a constatat modificări patologice ale CAE (fig. 4.16) și ale membranei timpanice (fig. 4.17). Acest lucru denotă funcția normală a urechii externe și a celei medii, la animalele incluse în experiment [67]. Lipsa modificărilor patologice ale urechii externe și ale celei medii a permis înregistrarea OEA.



**Fig. 4.15. Procesul de efectuare a otoscopiei la șobolan cu videootoscop**



**Fig. 4.16. Otoscopie. Conductul auditiv extern la șobolan**



**Fig. 4.17. Otoscopie. Membrana timpanică la șobolan**



**Fig. 4.18. Procesul de efectuare a determinării reacției șobolanilor la stimuli sonori puternici cu testerul sonor PA 5 (70dB)**



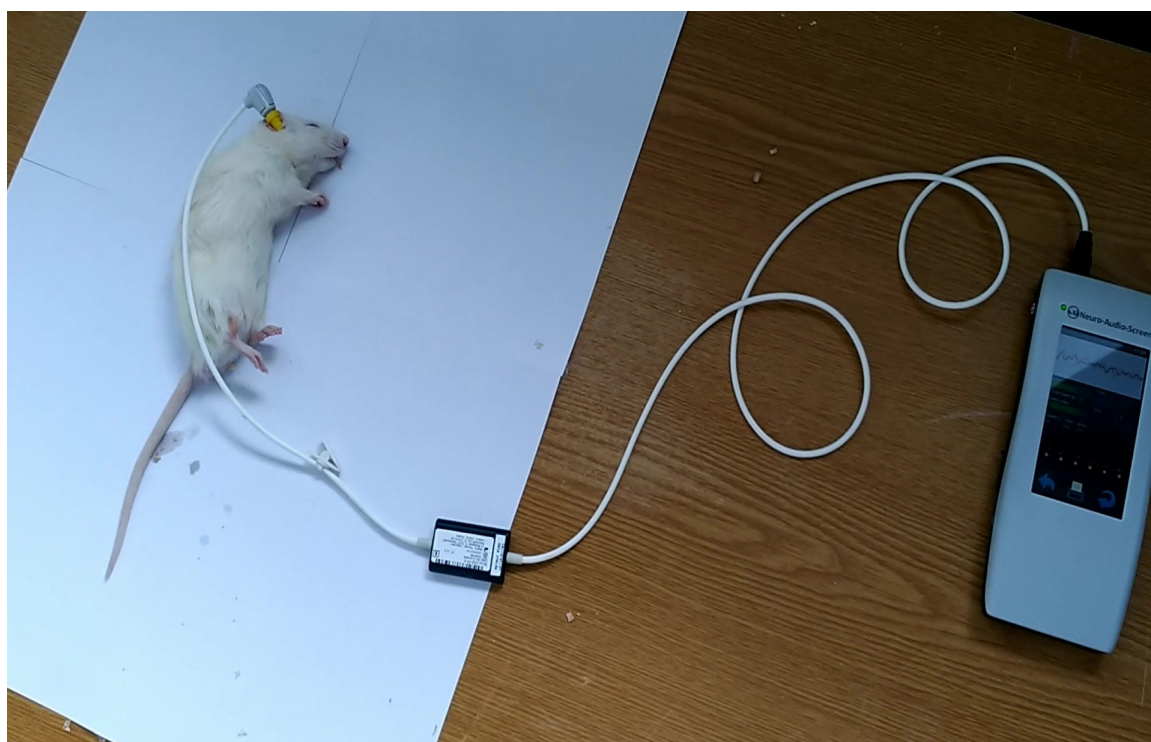
**Fig. 4.19. Reflexul Preyer. Animalele sunt relaxate, somnolente până la prezentarea stimu-**



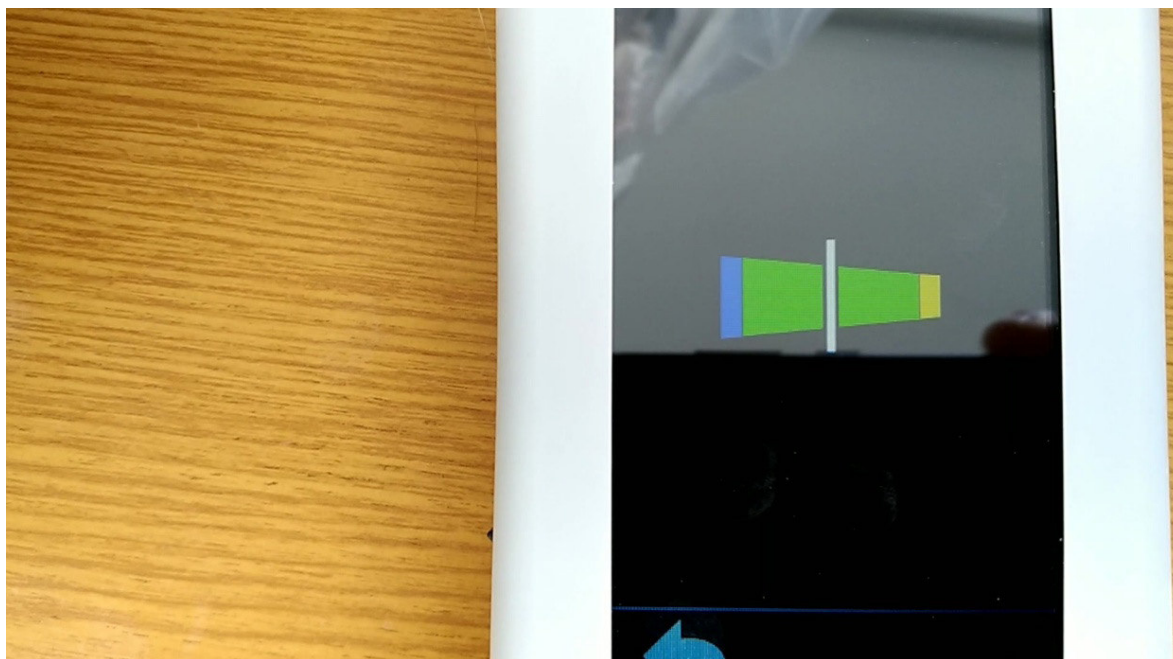
**Fig. 4.20. Reflexul Preyer. Animalele sunt alertate (se aranjează împreună) la stimulul so-  
nor intens**



**Fig. 4.21. Procesul de introducere a sondei auriculare a aparatului pentru înregistrarea OEA la șobolan în stare de somn medicamentos**



**Fig. 4.22. Procesul de înregistrare a OEA cu aparatul Neurosoft la șobolan în stare de somn medicamentos**



**Fig. 4.23. Procesul de calibrare automată a stimulului generat de sonda Neurosoft, introdusă în CAE la șobolan**



**Fig. 4.24. Procesul de înregistrare (analiză automată) a OEA, vizualizată la ecranul aparatului Neurosoft**



#### 4.5.2. Determinarea eficacității otoprotectoare a produsului CAF-01

Anterior, pe un lot de șase animale cu surditate indusă a fost demonstrată eficacitatea otoprotectoare a CAF-01.

Reflexul Preyer prezintă tresărirea animalelor de laborator – a șobolanilor (ciulirea urechilor, înlemnire etc.) la prezentarea stimulilor sonori puternici. Astfel, constatăm că, la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt (denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, procentajul a fost minor (până la 33%), ceea ce înseamnă că la majoritatea animalelor, cărora li s-a administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă. La administrarea majorității animalelor a CAF-01, rezultatele pozitive au constituit circa 75%, fapt ce poate fi atribuit efectului farmacologic benefic al produsului studiat (tabelul 4.44).

**Tabelul 4.44. Reflexul Preyer: răspunsurile pozitive (numărul de animale,%)**

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

Rezultatele testului sonor (reflexul Preyer) au fost confirmate prin audiometria obiectivă (înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii). În acest context am determinat deosebirea statistic semnificativă între pragul de înregistrare a otoemisiunilor acustice și raportul semnal/zgomotul de fon la animalele din lotul- martor, cărora i s-a administrat doar gentamicină, și lotul ,cărora i s-au prescris gentamicină și CAF-01. Așadar, constatăm: la animalele din lotul- martor, procentajul a fost înalt (ce denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, nu s-au înregistrat valori pozitive, fapt ce confirmă că la majoritatea animalelor, cărora li s-a administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă. La animalele din lotul, cărora i s-a prescris CAF-01, s-au constatat rezultate asemănătoare cu cele din lotul- martor, fapt ce confirmă obiectiv efectul otoprotector al produsului studiat (tab. 4.45).

Țesutul cerebral, afectat de hipoxie (un factor favorizant de dezvoltare a SSN), în condiția de reperfuzie ischemică după terapie vasoactivă, este expus la acțiune agresivă de oxidare din partea sângelui, cu dezvoltarea sindromului de afectare reperfuzională. Astfel, devine rațională utilizarea neuroprotectoarelor și antioxidanților în farmacoterapia SSN. Tratamentul respectiv este favorizat de conceptul „cascadă” a modificărilor patobiochimice în țesutul nervos ischemizat, în urma dereglărilor circulației cerebrale, și se bazează pe utilizarea citoprotectoarelor energostabilizante precum produsul CAF-01.

**Tabelul 4.45. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice la lotul CAF-01**

OEAT – surditate indusă, OEAT - surditate + CAF-01

Frecvența	TE (dB)	Diferența	TE (dB)	Diferența	P surditate/surditate + produs
1500 Hz	-2	-1	7	5	P<0,05
2000 Hz	0	2	8	6	P<0,05
2500 Hz	-2	1	7	3	P<0,05
3000 Hz	1	4	6	4	P<0,05
3500 Hz	-3	2	10	7	P<0,01
4000 Hz	-5	-3	15	5	P<0,01

Așadar, în preexperiment se determină efectul otoprotector al produsului CAF-01 prin prezența reflexului Preyer, confirmat de parametrii satisfăcători ai otoemisie acustice. Totuși putem constata veridicitatea redusă a reflexului Preyer cauzată, în opinia noastră, de caracterul subiectiv al metodei bazată în exclusivitate pe observarea reacției (comportamentului) animalului din experiment. De asemenea este dificilă efectuarea metodei. Din aceste considerente, în cercetările ulterioare ne-am bazat pe audiometria obiectivă/computerizată, și anume înregistrarea OEA. Am efectuat validarea metodei înregistrării OEAT în condițiile laboratorului, precum și confirmarea inducerii SSN prin administrarea parenterală a gentamicinei.

#### ***4.5.3. Determinarea eficacității otoprotectoare a produselor *Flamena*, emulsie (CAF-01), în combinație cu MI și Neamon-hepa (NH-01)***

Rezultatele audiometriei reflectorii au fost confirmate prin audiometria obiectivă (înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii). Așadar, atestăm o deosebire statistic semnificativă între pragul de înregistrare a otoemisiunilor acustice (OEAT) și raportul semnal/zgomotul de fon la animalele din lotul-martor, lotul care a administrat doar gentamicină și lotul căruia i s-a prescris gentamicină+CAF-01. În acest sens constatăm: la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt (ce denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, nu s-au înregistrat valori de raport semnal/zgomot pozitive, fapt ce confirmă că, la majoritatea animalelor care au administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă (tabelul 4.46). La administrarea animalelor a produselor medicamentoase CAF-01+MI și NH, am determinat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor, fapt ce confirmă obiectiv efectul otoprotector al produsului studiat (tabelele 4.47 și 4.49). Pe fondalul hipoxiei, efectul antioxidant protector al produselor CAF-01 și NH-01 se manifestă prin: reducerea concentrației lactatului și a activității lactatdehidrogenazei, sporirea activității succinatdehidrogenazei. Produsele respective inhibă hiperactivarea POL și sporește activitatea antioxidantă prin restabilirea glutatationului, a activității enzimelor antioxidante (catalaza, glutatationperoxidaza și superoxidismutaza). Prin mecanismele respective se poate explica acțiunea benefică otoprotectoare asupra componentelor senzorie neurale ale AA (organul Corti, nervul auditiv) a produselor CAF-01 și NH-01.

Așadar, constatăm că, la animalele din lotul-martor OEAT, au fost înregistrate la valori superioare de 5 *deciBelli*, *Sound Pressure Level* (dB SPL), cu un raport semnal/zgomot pozitiv. La animalele din lotul cu surditate indusă, nu s-au înregistrat valori  $\geq 0,50$  dB SPL (2000-3500Hz), iar la frecvența 4000 Hz s-a înregistrat valoare medie negativă  $- 6,17 \pm 1,8$  dB SPL, fapt ce confirmă că, la majoritatea animalelor care au administrat gentamicină, s-a instalat deficiența auditivă. Totodată, la animalele din lotul care a administrat NH-01 și CAF-01+MI, s-au constatat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor (nu se determină deviere statistic semnificativă nici la o frecvență studiată). În același timp, rezultatele din grupele respective sunt deosebite practic la toate frecvențele superioare de 3000 Hz față de lotul cu surditate indusă (tabelele 4.47 și 4.50). Deci se determină deosebiri statistic semnificative, în special la frecvențele 3500 și 4000 Hz între loturile-martor și surditatea indusă (tabelul 4.56), între lotul-martor și loturile cu surditate indusă + produsele studiate și între loturile cu surditate indusă + produsele studiate și lotul doar cu surditatea indusă.

**Tabelul 4.46. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului-martor *versus* lotul cu surditate indusă**

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

**Tabelul 4.47. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale loturilor cu surditate**

Frecvența	Surditate indusă	Surditate indusă+CAF-01 și MI	p
	OEAT, M $\pm$ m	OEAT, M $\pm$ m	
1500 Hz	1,55 $\pm$ 0,67	4,08 $\pm$ 0,24	< 0,001
2000 Hz	1,36 $\pm$ 0,90	6,85 $\pm$ 0,29	< 0,001
2500 Hz	1,15 $\pm$ 0,81	7,11 $\pm$ 0,31	< 0,001
3000 Hz	0,78 $\pm$ 0,96	6,87 $\pm$ 1,48	< 0,001
3500 Hz	-0,46 $\pm$ 1,03	9,38 $\pm$ 0,42	< 0,001
4000 Hz	1,42 $\pm$ 1,12	10,11 $\pm$ 0,55	< 0,001

**Tabelul 4.48. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice CAF-01**

Frecvența	Lotul-martor	Surditate indusă+CAF-01 și MI	p
	OEAT, M $\pm$ m	OEAT, M $\pm$ m	
1500 Hz	5,07 $\pm$ 0,31	4,08 $\pm$ 0,24	> 0,05
2000 Hz	8,05 $\pm$ 0,41	6,85 $\pm$ 0,29	> 0,05
2500 Hz	7,75 $\pm$ 0,46	7,11 $\pm$ 0,31	> 0,05
3000 Hz	8,28 $\pm$ 0,47	6,87 $\pm$ 1,48	< 0,01
3500 Hz	10,05 $\pm$ 0,56	9,38 $\pm$ 0,42	> 0,05
4000 Hz	12,24 $\pm$ 0,73	10,11 $\pm$ 0,55	> 0,01

**Tabelul 4.49. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului-martor *versus* lotul cu surditate indusă + NH-01**

Frecvența	Lotul-martor	Surditate indusă + NH-01	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M ± m	
1500 Hz	5,07 ± 0,31	3,12 ± 0,21	> 0,05
2000 Hz	8,05 ± 0,41	4,73 ± 0,32	> 0,05
2500 Hz	7,75 ± 0,46	6,12 ± 0,81	> 0,05
3000 Hz	8,28 ± 0,47	5,66 ± 1,67	< 0,01
3500 Hz	10,05 ± 0,56	7,11 ± 0,48	> 0,05
4000 Hz	12,24 ± 0,73	9,11 ± 0,51	> 0,01

**Tabelul 4.50. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului cu surditate indusă *versus* surditate indusă + NH-01**

Frecvența	Surditate indusă	Surditate indusă + NH-01	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M ± m	
1500 Hz	1,55 ± 0,67	3,12 ± 0,21	< 0,05
2000 Hz	1,36 ± 0,90	4,73 ± 0,32	< 0,05
2500 Hz	1,15 ± 0,81	6,12 ± 0,81	< 0,01
3000 Hz	0,78 ± 0,96	5,66 ± 1,67	< 0,01
3500 Hz	-0,46±1,03	7,11±0,48	<0,001
4000 Hz	1,42±1,12	9,11±0,51	<0,001

**Tabelul 4.51. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului cu surditate indusă + CAF-01 *vs* lot surditate indusă + NH-01**

Frecvența	Surditate indusă+CAF01 și MI	Surditate indusă+NH-01	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M±m	
1500 Hz	4,08 ± 0,24	3,12 ± 0,21	> 0,05
2000 Hz	6,85 ± 0,29	4,73 ± 0,32	> 0,05
2500 Hz	7,11 ± 0,31	6,12 ± 0,81	> 0,05
3000 Hz	6,87 ± 1,48	5,66 ± 1,67	> 0,05
3500 Hz	9,38 ± 0,42	7,11 ± 0,48	<0,05
4000 Hz	10,11 ± 0,55	9,11 ± 0,51	> 0,05

Odată ce rezultatele la 1500-3000 Hz diferă puțin între toate grupurile de studiu, considerăm că SSN a fost generată în special la frecvențele cuprinse în spectrul 3500-4000 Hz și mai mult. Comparând loturile care au administrat CAF-01+MI și NH, putem concluziona despre eficacitatea puțin mai ridicată a CAF-01+MI (deosebire statistic semnificativă la 3500 Hz,  $p < 0,05$ ). Cercetările morfologice la animalele din loturile de studiu (CAF-01) indică lipsa fenomenelor de necroză celulară. Se constată polimorfismul nucleelor CCE, odată cu lipsa cariopiclozei (predomi-

nă numai distrofie cu tendința de mixorare volumului). CCI aveau nuclee vizual intacte. Șobolani percep sunetele de la 500-70 000 Hz, labirintul osos având trei spire, și nu 2,5 ca la om. În același timp, unul dintre pereții labirintului membranos crește cu labirintul osos, iar altul se unește prin membrana bazilară de modiolul urechii interne. Referitor la diapazonul auditiv maxim, datele sunt diferite: conform unora, auzul optim ar fi de aproximativ 1000 sau 3000-4000 Hz, alți autori consideră 6000-10000 Hz [10, 17]. Rezultatele cercetărilor noastre ne fac să concluzionăm despre sensibilitatea sporită a organului auditiv la șobolani, la frecvențele medii și acute ( $\geq 3500$  Hz).

OC, așezat pe membrana bazilară, este constituit dintr-un ansamblu de celule de susținere (Deiters, Hensen, Claudius, Boettcher) și CCE, CCI așezate într-o manieră complexă [261, 263]. Păstrarea microstructurii extracelulare la apoptoza CC permite formarea cicatricei epiteliale, ca urmare a hipertrofiei compensatoare a celulelor de susținere Deiters [227, 264]. Aceasta, la rândul ei, face posibilă protejarea plăcii cuticulare a CC. Astfel nu se agravează defecțiunile micromecanicii percepției sonore la regiunile adiacente ale OC cu CC păstrate.

Produsele CAF-01, MI, NH reprezintă combinații echilibrate de vitamine, minerale și oligoelemente, cu acțiune antioxidantă și alte efecte polivalente, și constituie o sursă echilibrată de compuși necesari pentru metabolismul uman în caz de carențe, afecțiuni cronice, supraefort fizic și intelectual [28]. Rezultatele obținute în urma determinării inofensivității și eficacității produselor evidențiază efectele lor otoprotectoare și pot servi ca bază pentru inițierea unor studii clinice în vederea determinării efectului benefic în tratamentul complex al SSN.

Vitamina A derivă din pigmenții naturali, denumiți carotenoizi (provitamina A). La nivelul celulelor ciliate ale organului Corti, prin activarea proceselor de expresie genică și regenerare celulară, contribuie la regenerarea neuroreceptorilor. Prin inhibiția POL, la nivelul țesuturilor urechii interne, contribuie la reducerea apoptozei celulelor organului auditiv și deci la încetinirea proceselor degenerative și reducerea riscului progresiv al deficienței auditive [249].

Vitamina D este necesară pentru formarea oaselor și reglarea metabolismului fosfo-calcic. În general, alimentele sunt sărace în vitamina D și, din acest motiv, este necesară suplimentarea dietei cu vitamina D, mai ales la copii. Vitamina E include un grup de compuși, denumiți tocoferoli, și manifestă efect antioxidant cu rol protector/stabilizator pentru membranele celulare. De asemenea, contribuie la prevenirea aterosclerozei și acționează ca imunomodulator [253].

Vitamina B1 (tiamina) manifestă influențe benefice la nivelul AA: la nivelul endolimfei, contribuie la stimularea neurotransmisiei prin participarea la producerea acetilcolinei; prin participarea la procesele de mielinizare și în calitate de coferment la utilizarea glucozei contribuie la normalizarea proceselor metabolice, neuroprotecția organului Corti (OC) și a nervului auditiv [9]. Vitamina B2 (riboflavină) îmbunătățește microcirculația la nivelul UI – profilaxia proceselor distrofice; la nivel OC și NA, manifestă acțiune antioxidantă și neuroprotectoare în cadrul afecțiunilor degenerative prin participarea ca un coferment al flavoenzimelor și glutatioreductazei și prin menținerea arhitecturii OC și NA [26, 171]. Vitamina B6 (piridoxina) este un coferment și participă la sinteza aminoacizilor și proteinelor, manifestând astfel acțiune neurotransmisivă și

neuroprotectoare la nivelele OS și NA. De asemenea este un vasoprotector la nivelul UI prin diminuarea colesterolului, homocisteinei și stimularea formării EPA și DHA [151, 255].

Vitamina C (acidul ascorbic) este un agent reducător puternic, care contribuie la formarea substanței intercelulare din pereții vaselor capilare, a colagenului, a elastinei și țesutului osos; este implicată în oxidarea celulară și stimulează sinteza NO (monoxidului de azot) de endoteliul celular. În același timp, este stabilit rolul NO în reglarea tonusului vascular. Vitamina C este necesară pentru creșterea și maturizarea normală a celulelor. Alături de vitamina E și beta-caroten (precursorul dietetic al vitaminei A), vitamina C este un antioxidant care poate avea un rol în susținerea nutrițională a copiilor bolnavi în stare gravă (în stres catabolic). Organismul uman nu este înzestrat cu capacitatea de a produce vitamina C și, de aceea, se limitează la procurarea acesteia din alimente. Un aport crescut de vitamina C este necesar mai ales la persoanele afectate de maladii, la cei aflați în convalescență, în cazul expunerii la eforturi fizice și psihice și la oamenii care trăiesc în mediu poluat [161, 215]. Este stabilit, în același timp, că dihidroquercetina, care se conține în produsul CAF-01, potențează efectele capilaroprotectoare ale vitaminei C.

Mineralele și oligoelementele precum magneziul, seleniul, cuprul și sodiul sunt esențiale pentru creștere și dezvoltare. Acestea reprezintă un rol proeminent în procesele energetice și în transportarea unor substanțe, fiind implicate în multe reacții biochimice moleculare, constituie componente ale scheletului. Magneziul este un constituent celular cu rol catalizator pentru multe funcții metabolice și sisteme de transmisie celulară. Toate aceste elemente reprezintă nutrienți esențiali pentru procesele vieții [51, 52].

Zincul (Zn) este un element esențial care oferă multe beneficii terapeutice. Zn este un component structural necesar joncțiunii proteinelor ADN și protejează de asemenea membrana celulară împotriva lizei. Zn reglează nivelurile de vitamina A și cantitatea în care aceasta este eliberată de ficat. Metabolismul este de asemenea parțial dependent de prezența zincului care ajută la transformarea tiroxinei în triiodotironină. În plus, analizatorii gustativ, olfactiv, vizual și auditiv nu ar funcționa în lipsa unei cantități adecvate de Zn în organism [74]. Contribuțiile Zn în funcția normală a AA sunt următoarele: CO - participă la metabolismul vitaminei A, manifestă efect antioxidant prin participarea la complexul Cu-Zn superoxidismutaza și astfel protejând lipidele de POL. Fermenții care conțin Zn participă la metabolismul proteic și al colagenului la CC (celulele ciliate). Zn participă la procesul de mielinizare a axonilor, manifestând efect neuroprotector la NA [141, 171].

Efectul hipoxic local în UI poate accelera modificările atrofile care în mod normal au loc în țesutul de susținere al canalului cohlear. Hipoxia poate provoca schimbări în sensul alterării masei și structurii ligamentului spiral sau a membranei bazilare. Prin urmare, există o pierdere neurosenzorială de auz în otitele medii supurative cronice, datorită hipoxiei locale consecutivă îngroșării membranei ferestrei rotunde [232].

Micșorarea schimbărilor degenerative ale CC (lipsa proceselor de cariopinoză la CCE, nucleee vizibil intacte la CCI) din spiralele 1 și 2, OC pe fundalul funcției păstrate a verigii de percepție a OC, conform rezultatelor OEAT, denotă efectele benefice ale produselor NH-01 și CAF-01

la surditatea indusă prin gentamicină. Efectele otoprotectoare ale produselor studiate pot fi elucide date prin eliminarea spasmului arteriolelor și capilarelor striei vasculare din labirintul membranos, prin micșorarea intensității procesului distructiv al POL asupra membranelor CC, astfel asigurând menținerea funcțiilor trofice și electrochimice și preîntâmpină agravarea complicațiilor ischemice.

Mecanismul efectelor antioxidante ale dihidroquercetinei se efectuează prin aranjarea moleculelor principiilor active în cadrul compartimentelor lipidice ale membranelor celulare și inhibă direct radicalii liberi, protejează structura membranei și, astfel, le protejează de fosfolipaze, ameliorează sistemele de fosforilare, este în legătură cu lipidele, care sunt necesare pentru neutralizarea superoxidanionului [222, 253].

Acidul glutamic, arginina și glicina ameliorează procesele anabolice (majorarea ADN, ARN, proteinelor, glicogenului, ATP), asigură dirijarea proceselor catabolice care sunt inițiatorii formării ROS, astfel se inhibă rețeaua finală a POL. Zincul, de asemenea, servește în calitate de cofactor pentru reacțiile fermentative și participă în procesele anabolice [255, 257]. Astfel putem considera că administrarea combinată a CAF și MI poate cauza inhibarea întregului lanț de POL. Astfel, se structurează membranele celulare și se contribuie la aranjarea adecvată a sistemelor fermentative din membrane.

Cercetările anterioare [245] au demonstrat [227, 229] că, în cazul SSN subcronice, celulele ciliate pot timp îndelungat (până la trei-patru luni) să se păstreze în stadiu de „mumificare”, în cazul menținerii intacte a plăcii cuticulare. Funcția de fagocităză va fi îndeplinită de epiteliocitele de menținere. La distrucția CC sub placa cuticulară a OC, fagocitoza va fi menținută de celulele Deiters. Dacă materialul patologic, de exemplu, format în urma hemoragiei locale în endolimfă, la expunerea acustică intensă, nu este acoperit de placa cuticulară și liber circulă prin endolimfă, fagocitoza va fi asigurată de celulele Hensen, Claudius, Boettcher [9, 79, 227]. Astfel este argumentată, din punct de vedere științific, necesitatea efectuării tratamentului farmacologic în stadiile acute și subacute ale SSN și a celui medicamentos „profilactic” de menținere a AA sub aspect morfofuncțional.

Efectele farmacologice ale produselor cercetate în cadrul studiului pot fi explicate, de asemenea, prin eliminarea spasmului arteriolar și a celucapilar ale striei vasculare a UI (indus de aminoglicozidic), asigurând funcțiile trofice și electrochimice și prevenind complicațiile ischemico-reperfuzice. Potențialul antiapoptotic este asigurat prin posibilitatea glicinei de a inhiba activitatea endonucleazelor Ca dependente. Produsele farmacologice intervin prin blocarea receptorilor adenozinici, inhibarea fosfodiesterazei trombocitare cu creșterea concentrației AMPc (care preîntâmpină trecerea endoperoxizilor ciclici sub acțiunea ciclooxygenazei în tromboxan A<sub>2</sub>, care este o substanță endogenă cu proprietăți agregante marcate) și a duratei lui de acțiune, mobilizarea ionilor de calciu. Astfel se obține: acțiune vasodilatatoare cu creșterea fluxului sangvin în zonele ischemice; îmbunătățirea proprietăților reologice ale sângelui și ameliorarea microcirculației prin micșorarea agregării plachetare; amplificarea potențialului energetic al AA prin creșterea substanțelor energetice (glucoză, fosfat) și intensificarea oxidării lor.

#### 4.5.5. Algoritm de conduită a investigațiilor audiologice experimentale

Rezultatele obținute ne-au permis să elaborăm un algoritm de modelare a SSN la animalele de laborator (fig. 4.25).

Algoritmul este format din două etape consecutive, și anume: determinarea tipului de analgezie; stabilirea genului de substanță pentru inducerea și dirijarea decurgerii SSN, metodele audiometrice experimentale (OEA, impedansmetrie, reflex Preyer) pentru constatarea și monitorizarea SSN; produsul farmacologic și determinarea eficacității prin metodele audiometrice menționate mai sus. Datorită metodei respective, a fost obținută proprietatea intelectuală prin acordarea certificatului de inovator.

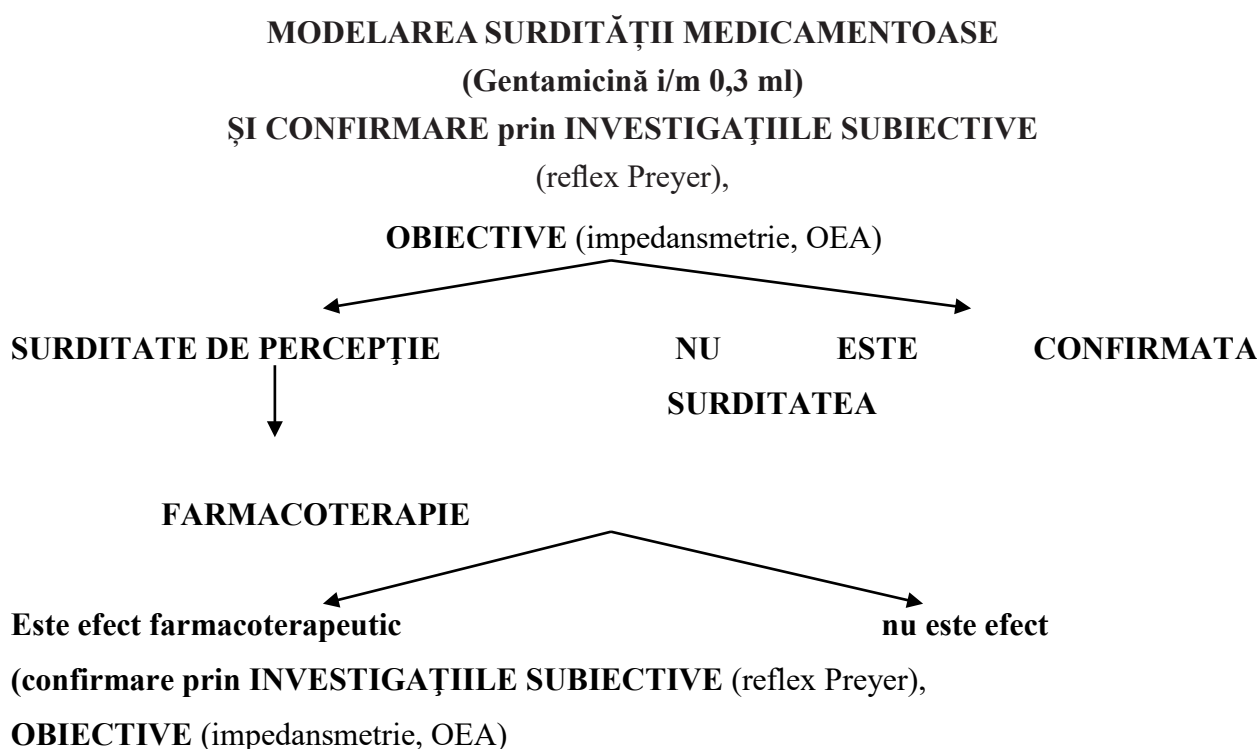


Fig. 4.25. Algoritm de modelare a SSN la animalele de laborator

#### 4.6. Sinteza capitolului 4

1. Rezultatele experimentale au arătat că produsul CAF-02 pentru administrarea acută unimomentană la animalele de laborator (șoareci, șobolani) practic nu prezintă efecte toxice.

2. La șoareci, administrarea intragastrală și intraperitoneală nu a cauzat decesul animalelor și nu s-au depistat modificări macroscopice ale organelor interne. La șobolani, în urma investigațiilor efectuate conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD)*, posedă toxicitate redusă, astfel fiind clasificate: CAF-01 clasa de toxicitate 5 și LD50 estimat > 5000 mg/kg, iar CAF-02 clasa de toxicitate 5 și LD50 estimat - 2500 mg/kg.



3. După examinarea toxicității cronice a produsului CAF-02 putem concluziona că, pe parcursul utilizării acestuia timp de 30 de zile, s-a constatat o creștere ponderală mai importantă la animalele din loturile-martor, fără modificări esențiale ale masei corporale și masei organelor interne, reflectate prin indicii masă organ/masă corp.

4. La analiza hematologică s-a remarcat faptul că produsul CAF-01 poate provoca o leucopenie dozo-dependentă ne semnificativă. Utilizarea sistematică timp de o lună a compusului sub formă de gel la lotul-martor și loturile studiate nu a modificat esențial parametrii metabolismelor glucidic, proteic și lipidic, deși s-a constatat o creștere ne semnificativă a nivelului proteinei totale, a colesterolului care avea caracter dozo-dependent.

5. Analiza spectrului enzimatic ne-a relevat o reducere dozo-dependentă a activității transaminazelor. Administrarea timp de o lună a preparatului testat în doze de 100 și 1000 mg/kg a determinat efectul antioxidant al compusului, micșorarea dozo-dependentă ne semnificativă a Ca, precum și creșterea concentrației ureei, creatininei.

6. La examinarea macroscopică, microscopică și histopatologică, modificări patologice statistic veridice între loturile-martor și cele experimentale nu s-au constatat.

7. Rezultatele toxicității subcronice ne permit să recomandăm produsul cercetat pentru continuarea studiilor preclinice farmacologice de determinare a eficacității și inofensivității, precum și planificarea ulterioară a studiilor clinice.

În cadrul studiului preclinic pe animale de laborator (șobolani) s-a constatat că produsul medicamentos CAF-01 nu posedă efect ototoxic. Astfel, poate fi administrat local, în conductul auditiv extern, pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și urechii medii, cu și fără perforația membranei timpanice.

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

9. Potrivit cercetărilor biochimice, MI nu provoacă acțiune toxică semnificativă asupra metabolismelor proteic, lipidic și mineral, nu dereglează funcțiile ficatului la șobolani albi. Substanțele medicamentoase testate influențează pozitiv echilibrul dintre sistemele pro- și antioxidante. În același timp, este cunoscută importanța disfuncțiilor ce au loc în sistemele respective pentru etiologia SSN.

10. Datorită progreselor înregistrate în farmacoterapie la nivel internațional, tratamentul SSN acute și subacute rămâne un domeniu deschis, în care se pot realiza studii clinice. Numărul de studii clinice referitoare la tratamentul patologiei respective este insuficient. După decenii de multiple studii clinice și experimentale, nu s-a ajuns la un protocol terapeutic, unanim acceptat, pentru tratamentul surdității brusc instalate.

11. Rezultatele toxicității subcronice a produsului CAF-01 ne permit să-l recomandăm pentru continuarea studiilor preclinice farmacologice de determinare a eficacității și inofensivității, precum și pentru planificarea ulterioară a studiilor clinice.

12. Farmacoterapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii subacute și cronice, inclusiv cu SSN, sunt în corelație cu valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor lor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide. Numărul surselor vegetale cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor și nivelul scăzut de asimilare a lor, în cazul suplimentelor cu conținut de acestea, sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor cu succes în ameliorarea diverselor situații clinice [51]. Întru soluționarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea medicamentelor combinate, obținute din preparate cu eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrate, cu efecte polivalente. În acest context, produsul CAF-01 (care reprezintă o combinație dintr-un principiu activ de sinteză – *glicina* și unul vegetal – *dihidroquercitina*) și BioR, capsule (extract din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*), posedă un potențial efect otoprotector și pot fi utilizate în schemele farmacoterapeutice ale SSN. De perspectivă sunt studiile clinice de determinare a eficacității produselor NH-01 și MI în tratamentul complex al bolnavilor cu afecțiuni cronice asociate cu SSN. O direcție importantă pentru tratamentul SSN constituie elaborarea și utilizarea în practica medicală a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Cercetările preclinice ne-au permis să elaborăm un algoritm de modelare și monitorizare audiologică preclinică a eficacității farmacologice a produselor medicamentoase la animalele de laborator.

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

### 5.1. Rezultatele diagnosticului genetic al mutației genei GJB2 în surditatea senzorieurală

Utilizând informațiile stocate în baza de date, cum ar fi NCBI [National Center for Biotechnology and Information], am preselecat din publicațiile recente o mutație patogenică cu impact major în apariția SSN prelinguale congenitale în populația de origine europeană [Gasparini et. al., 2000]. Mutația studiată la nivelul genei GJB2 a fost deleția 35delG, cea mai frecventă mutație a acestei gene la nivelul populației caucaziene/europene [Rabbani B., Mandieh N., 2009].

**Tabelul 5.1. Prevalența mutației 35delG în populațiile țărilor Europei Centrale și Europei de Sud-Est**

Țara	Frecvența mutației 35delG	Referența
Croația	55,85%	Sansovic I., et.al., 2005
Rusia	42-57,5%	Lalaian M.R., 2011
Belarus	53%	Danilenko N., 2012
Austria	23,2%	Frei K., et.al., 2002
Bulgaria	43,1%	Popova D.P., et.al., 2012
România	27,3%	Lazar C., et.al, 2017
Ungaria	38%	Toth T., et.al., 2004
Polonia	35,2%	Wiszniewski W., et.al, 2001
Slovenia	33%	Medica I., et.al., 2005
Estonia	32,4%	Teek R., et.al., 2010
Turcia	15-23,5%	Baysal E., et.al., 2008

Dintre țările europene apropiate, România prezintă o frecvență a acestei mutații de 27,3% [Lazar C., et.al.], Bulgaria – de 43,1%, Rusia – o frecvență cuprinsă între 42 și 57%, iar Belarus – de 53% [253].

Au fost selectați 20 de pacienți cu SSN pe baza anamnezei, examinării clinice și audiologice. Criteriul de includere în studiu a fost prezența SSN congenitale cu debut prelingual. Lotul de studiu a inclus șase subiecți de sex feminin (30%) și 14 de sex masculin (70%).

În lotul de referință au fost incluse 100 de persoane, aparent sănătoase. Lotul de referință s-a caracterizat prin subiecți cu vârsta cuprinsă între 18 și 29 de ani, mediana fiind 19 ani, valoarea întâlnită la 50 de persoane (50 %). Lotul a inclus 67 de subiecți de sex feminin (67%) și 33 de sex masculin (33%).

Studiul molecular-genetic s-a realizat conform unei metodologii de genotipare, bazată pe soluția tehnică TaqMan PCR, elaborată în Laboratorul de genetica a USMF „Nicolae Testemițanu”, în cadrul temei instituționale de cercetare nr. 61 din 25.06.2013 „Sporirea eficienței diagnosticului prin testare genetică în surditate neurosenzorială” (investigator principal - Ghenadie Curocichin, dr. hab., prof. univ.). Metoda respectivă a fost perfectată în varianta finală în cadrul proiectului de cercetare bilateral moldo-român „Optimizarea tratamentului cu implant cochlear la copiii cu hipoacuzie senzorieurală autosomal recesivă nonsindromică, cu mutații la nivelul genei GJB2” (cifru proiectului 16.80013.8007.13/Ro). Real-time PCR (TaqMan) este o reacție de polimerizare în lanț cu detecție în timp real a produsului PCR acumulat, prin măsurarea fluorescenței emise.

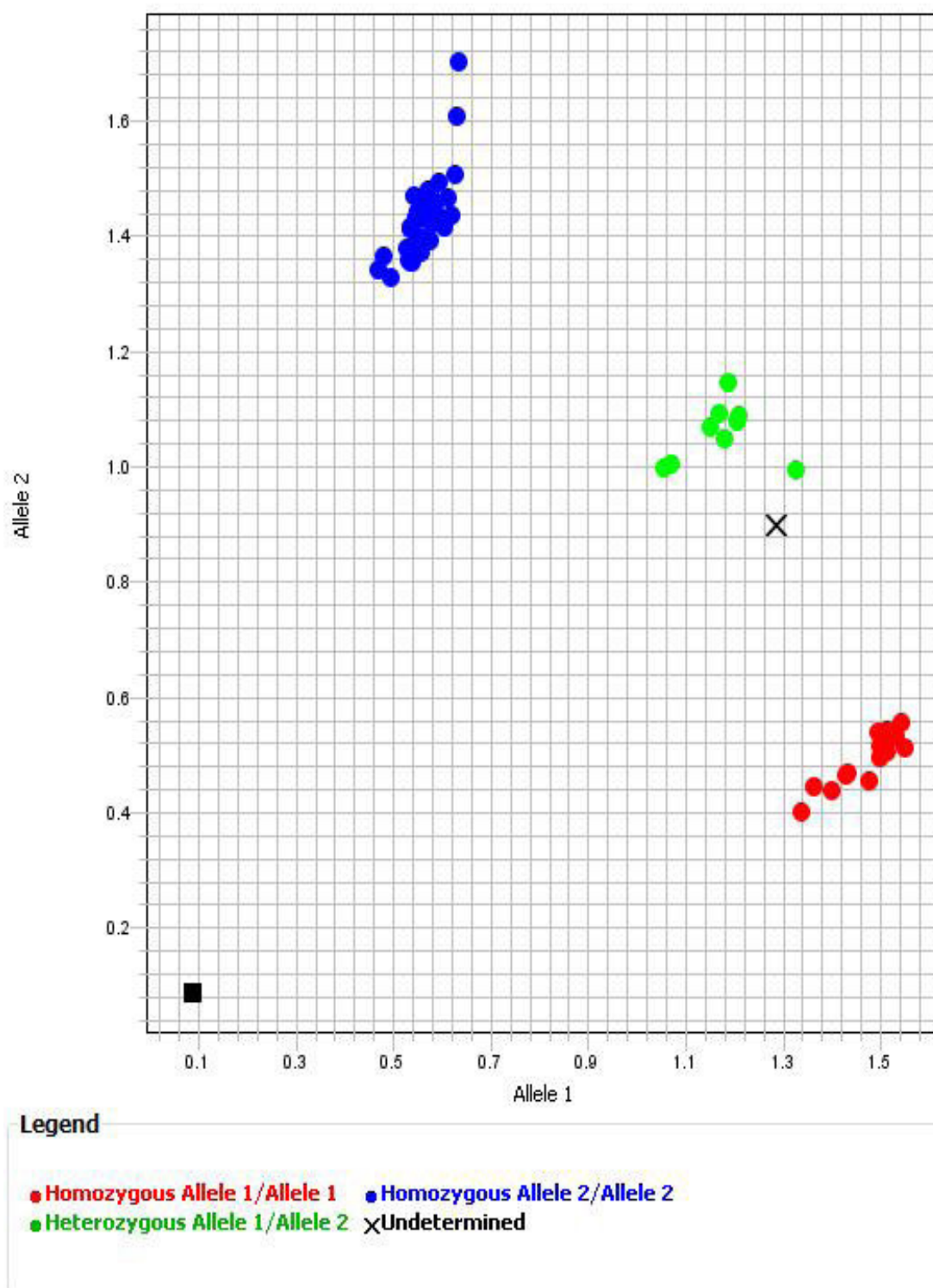
#### **SNP genotiparea**

Evidențierea polimorfismului mononucleotidic s-a efectuat prin tehnica TaqMan PCR. A fost utilizat setul Custom TaqMan SNP Genotyping Assay, Human (4351379, ThermoFisher Scientific, <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4351379>), cu următoarea descriere tehnică de sonde oligonucleotidice cu fluorescență, corespunzător, FAM - pentru identificarea Wild Type Allele (wt) și VIC - pentru recunoașterea formei alelice cu deleția 35delG (rs80338939).

**Tabelul 5.2. Sensibilitatea și specificitatea detectării mutației 35delG prin tehnica TaqMan PCR la persoanele cu SSN**

	<b>35delG present alele 1 + alele 2</b>	<b>35delG absent alele 1 + alele 2</b>
<b>SNP positive</b>	24	1
<b>SNP negative</b>	2	73
	24/ (24+2)	73/ (1+73)
	<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>
	0.92 // 92%	0.98 // 98%

## Allelic Discrimination Plot



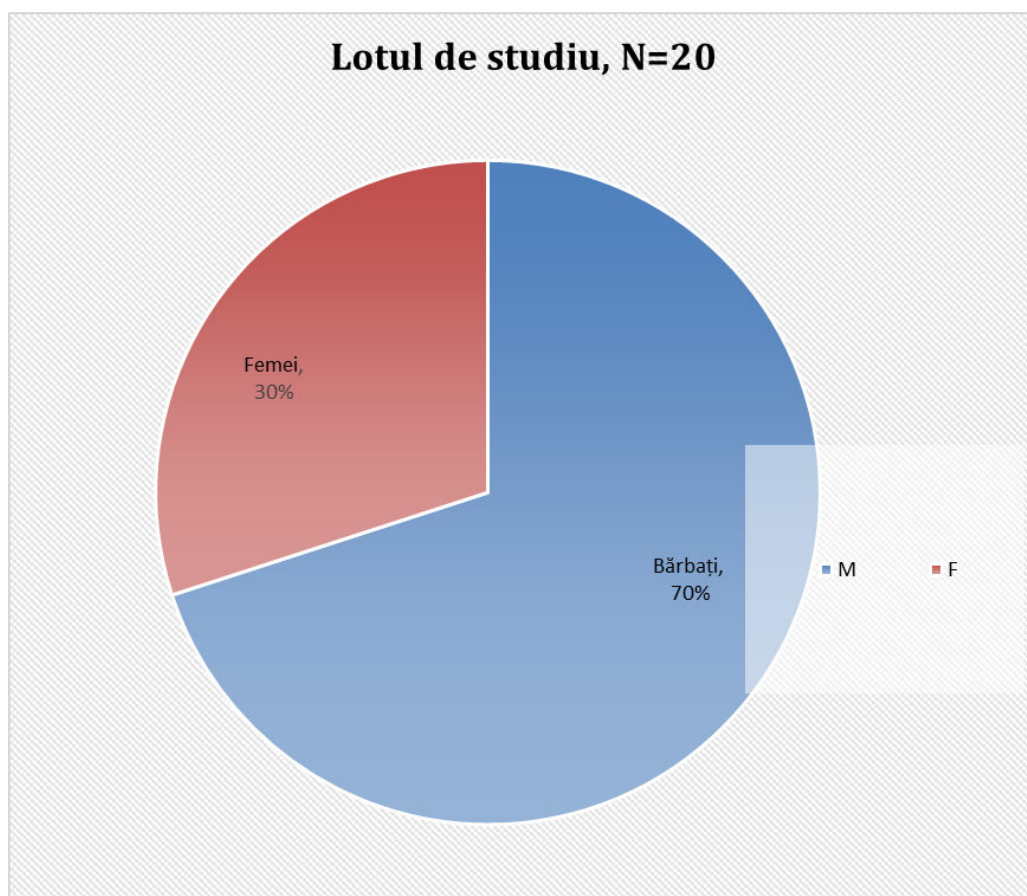
**Fig. 5.1. Rezultatele genotipării SNP GJB2\_rs80338939 (m.35delG)**

Alela X – alela mutantă 35delG, rs80338939 (VIC); Alela Y – alela normală (alela WT) (FAM)

Astfel, în cadrul cercetării a fost elaborat setul de reactivi (sonde și primeri) pentru genotiparea prin metoda TaqMan, pentru detecția mutației 35delG din gena GJB2.

**Repartiția cazurilor investigate molecular-genetic după prezența și frecvența mutației m.35delG (rs80338939).**

Frecvența de apariție a acestei mutații în lotul studiat s-a determinat în felul următor: opt pacienți au prezentat mutația 35delG sub formă homozigotă (35delG/35delG), ceea ce reprezintă 40% de cazuri, doi – mutația 35delG sub formă heterozigotă (wt/35delG) – 10%, zece pacienți – genotip normal (wt/wt) – 50%. Pentru validarea rezultatelor genotipate prin metoda Taq Man, probele au fost secvențiate la Universitatea din Freiburg, Germania, în cadrul proiectului bilateral moldo-român „Optimizarea tratamentului cu implant cochlear la copiii cu hipoacuzie sensorineurală autosomal recesivă nonsindromică, cu mutații la nivelul genei GJB2”. Gradul de coincidență a probelor a constituit 98% [82].



**Fig. 5.2. Ponderea subiecților după sex în lotul pacienților cu SNN**

Frecvența de apariție a homozigoților pentru alela patologică în lotul pacienților cu SNN a fost de 40%. În cazul copiilor homozigoți, putem afirma cu certitudine că aceasta este cauza apariției SSN. În cadrul lotului studiat, la cei opt bolnavi care prezintă un genotip homozigot pentru mutația 35delG, s-a determinat forma severă profundă, rezultate comparabile cu alte cercetări, în care s-a constatat o concordanță importantă între genotipul genei GJB2 și gradul hipoacuziei [96, 190]. La aproximativ 5% din bolnavi nu au avut deleția 35delG, ceea ce sugerează faptul că sunt alte defecte în gena GJB2, GJB6 sau altele nestabilite (tabelul 5.3).

**Tabelul 5.3. Repartiția genotipurilor determinate la pacienți cu SSN (Nr. =20)**

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

Pentru pacienții cu SSN heterozigoți pentru mutația 35delG (reprezentând 10% din cazurile în lotul studiat) și cei homozigoți pentru alela normală (reprezentând 50% din cazurile investigate molecular-genetic), ar trebui continuate investigațiile molecular-genetice, în sensul căutării tuturor mutațiilor la nivelul genei GJB2, deoarece din cercetările recente [97] se știe cu certitudine că asocierea acestei mutații cu una non-35delG pentru gena GJB2 sau cu o mutație pentru gena GJB6 în caz de transmitere digenică pot fi cauzate de apariția SSN. Probabil, trebuie efectuată testarea mai profundă prin secvențierea acestei gene, mai ales pentru pacienții cu SSN, și la alți membri ai familiei, care au prezentat genotip normal în formă *wt/wt*, ceea ce poate depista și alte mutații la nivelul genei GJB2, chiar dacă acestea sunt mult mai rare decât mutația 35delG, răspunzătoare de apariția hipoacuziei congenitale în populația Republicii Moldova.

Datele obținute se pot considera ca fiind în concordanță cu autorii [96, 190] care afirmă existența unei corelări între gradul hipoacuziei și amploarea mutației, dar remarcă și existența unei variabilități semnificative a fenotipului în cadrul aceluiași genotip. Această variabilitate fenotip-genotip se poate explica atât prin efectul genelor modificatoare, cât și prin efectul factorilor de mediu, care pot genera o penetranță incompletă și o exprimare variabilă. Considerăm că analiza genetică a acestei mutații GJB2, cel mai frecvent implicată în apariția SSN, trebuie să facă parte din analizele din perioada prenatală, direcționând investigațiile genetice ulterioare și sfatul genetic.

#### **Repartiția cazurilor investigate genetic din lotul de referință**

În lotul de referință de 100 de persoane sănătoase, preselectate conform criteriilor stabilite pentru genotipare SNP-ului rs803389939, mutația 35delG la nivelul genei GJB2 n-a fost depistată, fiind homozigoți *wt/wt* (100%) după alela normală. În continuare lotul a fost extins până la 500 de persoane cu auz normal bilateral. La patru persoane a fost depistată mutația 35delG sub formă heterozigotă (*wt/35delG*). Concluzionând, putem afirma că, pentru depistarea purtătorilor acestei mutații, este necesară efectuarea diagnosticului respectiv la toți copiii de vârstă precoce cu SSN și trebuie de extins lotul de referință până la circa 1000 de persoane.

Până în prezent au fost descrise mai multe mutații implicate în patologia auzului, dar cercetările recente au stabilit că mutațiile genei GJB2 sunt responsabile de peste 50% din cazuri de surditate bilaterală ereditară. Dintre 150 de mutații patogene ale genei GJB2, cea mai frecvent întâlnită la populația de origine caucaziană este mutația 35delG - deleția guaninei în poziția 35 (cu frecvența 70-90%). Frecvența mutației 35delG în rândul purtătorilor sănătoși (carrier), la populația europeană, variază la diferite populații între valorile 0,5-4,5% [8, 9]. În alte populații decât cea

europăană sunt întâlnite și alte mutații patogeneice, precum mutația 235delC (1-3%) la japonezi și la alte populații asiatice, 167delT - la evreii ashkenazi (4%), R143W - la africani (3%), W24X – la indieni și romi (3,5%) [2, 9-11].

La nivelul genei GJB6 sunt detectate două deleții largi care includ o porțiune mare din exonii 1, 2 și o parte a exonului 3 ale genei cu lungimea 309 kb și 232 kb, respectiv: del(GJB6 – D13S1830) și del(GJB6 – D13S1854) [3, 12]. Studiile recente au demonstrat faptul că circa 2% din cazuri de surditate neurosenzorială nonsindromică sunt datorate genotipului heterozigot cu ambele alele mutante ale pattern-ului digenic GJB2/GJB6 [2, 12].

În stadiu de elaborare este brevetul de invenție cu titlul „Genotiparea polimorfismului mononucleotidic GJB2\_rs80338939 prin tehnica TaqMan Real Time PCR”. „Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG) prin soluția TaqMan PCR” crește performanțele diagnosticării molecular-genetice ale SSN și poate fi recomandată ca metodă de screening copiilor cu patologia dată.

Pe lângă screening-ul audiologic obișnuit, la evaluarea persoanelor cu deficitul auditiv trebuie să fie recomandată și testarea molecular-genetică a surdității neurosenzoriale pentru genele GJB2 și GJB6 ale locusului DFNB1. Depistarea purtătorilor mutațiilor recesive patogeneice ale acestor gene este foarte importantă pentru acordarea serviciilor de consiliere genetică privind posibilitatea de transmitere a acestora la descendenți, deoarece nașterea unui copil cu hipoacuzie la părinți sănătoși poate avea un impact deosebit.

## 5.2. Rezultatele diagnosticului auditiv la nou-născuți și sugari

UI este formată din mai multe cavități mici ce alcătuiesc **labirintul osos**, care cuprinde: **vestibulul osos**, **canalele semicirculare osoase** și **melcul osos**. În interiorul labirintului osos, dar de dimensiuni mai mici, se află **labirintul membranos**, reprezentat de formațiuni cavitate închise, ce comunică numai între ele și conțin un lichid, numit **endolimfă**. Între pereții labirintului osos și labirintul membranos se găsește un alt lichid, numit **perilimfă**.

Endolimfa are o compoziție chimică asemănătoare cu a plasmei interstițiale, iar compoziția chimică a perilimfei este similară cu a lichidului cefalorahidian (LCR). Endolimfa este abundentă în K<sup>+</sup> și insuficientă în Na<sup>+</sup>; în perilimfă, repartiția acestor ioni este inversă. Endolimfa este prezentă în rampa medie (labirintul membranos), iar perilimfa – în rampele vestibulară și timpanică; acestea comunică cu spațiul arahnoidian, de unde și compoziția chimică asemănătoare. Endolimfa este prezentă și în utriculă, și în saculă și în canalele semicirculare ale aparatului vestibular [5, 11].

La nivelul melcului membranos se găsește **receptorul acustic (organul Corti)**, care este format din: o membrană bazilară, vibratorie, ale cărei fibre conjunctive constituente au diferite mărimi, fiind mai lungi spre vârf și mai scurte spre baza melcului; **celule senzoriale (celule ciliate externe – CCE, celule ciliate interne – CCI)** care au rolul primordial de a transforma energia mecanică sonoră în impuls nervos, astfel generând senzația auditivă. Axonii neuronilor din gan-



*glionul Corti* formează ramura acustică a nervului cranian VIII. Acesta face sinapsă cu neuronii din nucleele cohleare pontine (deutoneuronul căii). Majoritatea axonilor deutoneuronilor se încrucișează în punte și fac sinapsă cu al treilea neuron, în corpul geniculat medial (metatalamus). Din metatalamus informația auditivă ajunge la scoarța cerebrală [67].

Astfel, modificările acestor structuri pot provoca afectarea AA, o deficiență auditivă, recuperabilă sau nerecuperabilă, în funcție de locul anatomo-funcțional afectat și durata maladiei. În acest context, diagnosticul precoce al deficiențelor auditive este primordial pentru încadrarea ulterioară a persoanei hipoacuzice în activitatea socială.

În cadrul serviciului audiometrie am examinat 505 pacienți nou-născuți (la termen normal) la Spitalul privat Medpark. Băieți – 250, fete – 255 (în total, 1010 urechi examinate). La toți copiii, investigațiile audiologice primare au fost efectuate în perioada cuprinsă între 21 și 28 de zile. Din punctul de vedere al rezultatelor testelor auditive, la prima etapă de testare a otoemisiunii acustice tip TEOEA, au fost 484 de copii (95,84%), cazuri cu rezultate *pass bilateral (test pozitiv caracteristic funcției normale a analizatorului auditiv)*, 19 (3,76%) rezultate *refer unilateral* și 2 (0,40%) caz *refer bilateral*. La etapa a doua, surditatea SSN bilaterală a fost confirmată doar la un pacient (0,20%) (tabelul 5.4). Deci rezultate false pozitive au fost înregistrate doar la 20 de cazuri (copii) din 505, ceea ce constituie doar 3,96%. Acest indice este net inferior tuturor metodelor de screening auditiv, efectuat în prima săptămână după naștere, unde rata rezultatelor false pozitive (presupusa deficiență auditivă în cazul unui auz normal) este în medie de 10% (56, 89, 107, 129). Cauzele pot fi: prezența lichidului miconeal în CAE, prolapsul porțiunii cartilaginoase al CAE, întâlnit mai des în primele zile și, nu în ultimul rând, efectuarea procedurii de către personalul medical cu instruire imperfectă în domeniul audiometriei pediatrice.

Principiile de bază ale evaluării auditive la sugari: pierderea de auz poate fi confirmată în primele luni de viață; un complex de teste este necesar pentru confirmarea și descrierea pierderii de auz; rezultatele evaluării audiologice sunt importante pentru planificarea strategiilor de intervenție; evaluarea audiologică la sugari este un proces în derulare. De exemplu, nivele prag comportamentale pot fi obținute cel mai devreme la vârsta de șase luni [10, 38, 40].

**Tabelul 5.4. Rezultatele screening-ului auditiv la nou-născuți**

Etapa	Total copii	PASS	REFER unilateral	REFER bilateral
Etapa întâi	505 (100%)	484 (95,8%)	19 (3,8%)	2 (0,4%)
Etapa a doua	21 (100%)	20	0 (0%)	1 (%)

**Protocolul pentru evaluarea audiologică a sugarului.** Istoricul copilului – evidențierea factorilor de risc ce indică pierderi de auz la sugari; Inspecția otoscopică - trebuie să se verifice dacă conductul auditiv extern (CAE) este curat și nu are cerumen; Impedansmetria - determinarea stării urechii medii, reacția comportamentală OAE, la necesitate ABR. Evaluarea prin OEA pre-

supune folosirea stimulilor potriviți; testarea într-o cameră liniștită și copilul neagit; Normal – o sensibilitate poate fi dedusă pentru toate frecvențele la care OAE sunt prezente; Lipsa OAE poate indica o pierdere de auz senzorială mai mare de 30-35 dB HL și/sau o disfuncție a urechii medii; Parțial normal – prezența OAE la câteva frecvențe, dar nu la altele poate ajuta la estimarea configurației audiometrice. Dacă OAE sunt prezente pe toată raza frecvențială de la 1000 la 4000 Hz, poate fi scoasă din discuție o hipoacuzie periferică. Dacă nu există factori de risc pentru neuropatie auditivă, nu trebuie făcut ABR. Dacă ABR cu click și OAE sunt normale, testarea este terminată. Hipoacuzia este confirmată, dacă pragul auditiv la ABR este ridicat. Sugarilor, care au urmat ABR, dar nu au trecut OAE, trebuie exclusă patologia urechii medii sau neuropatie auditivă. Indiferent de situație, părinții trebuie să dea informații despre dezvoltarea limbajului, despre începutul hipoacuziei sau progresia ei [97].

Desfășurarea optimă și eficientă a screening-ului auzului la nou-născuți permite o detecție precoce a hipoacuziei uni/bilaterale permanente, un diagnostic obiectiv al acesteia până la vârsta de trei luni și o intervenție terapeutică adecvată până la vârsta de șase luni. Astfel se asigură condițiile optime pentru achiziția normală a informațiilor sonore și dezvoltarea normală a limbajului copilului [7, 97].

OEA (otoemisiuni acustice) sunt semnale acustice care pot fi detectate în conductul auditiv extern. Acestea pot apărea spontan sau după stimularea urechii și se datorează vibrațiilor produse în urechea internă. OEA evaluează funcția urechii interne și este cel mai răspândit test de screening auditiv [5, 7, 21, 22, 23].

Nivelul științific de cunoaștere și experiența din practica actuală indică faptul că aproximativ toți copiii, chiar și cei cu surditate profundă, pot fi educați să audă și, astfel, să însușească limbajul sonor. Pentru obținerea acestor rezultate impunătoare este necesar de a efectua: depistarea și diagnosticarea precoce a deficienței de auz (screening-ul audiologic al nou-născutului); protezarea auditivă timpurie; verificarea critică permanentă a eficacității aparatelor auditive; intervenția pedagogică imediată în cazul deficienței de auz în scopul formării unei personalități integre a copilului; dezvoltarea auzului și formarea comunicării verbale (4, 19). Deci principiul de bază în asigurarea calității în cadrul audiologiei și, în special, audiologiei pediatrice îl constituie colaborarea interdisciplinară a părinților, medicilor, profesorilor de educație specială și audioproteziștilor.

În concluzie, otoemisiunile acustice reprezintă metoda de bază în diagnosticul precoce al deficiențelor auditive. Cea mai eficientă modalitate de screening se bazează pe asocierea celor două teste obiective. Screening-ul deficiențelor auditive neurosenzoriale contribuie semnificativ în diagnosticul precoce al surdității la copii, oferind, în același timp, și date epidemiologice. Programul de screening auditiv necesită a fi extins la alte maternități din republică, pentru a facilita diagnosticul precoce și reabilitarea adecvată a copiilor hipoacuzici în scopul integrării ulterioare a acestora în societate. Eficacitatea diagnosticului precoce și, ulterior, a reabilitării depinde de membrii echipei din care fac parte: medici neonatologi, familia, medic pediatru/medic de familie, audiologi, otolaringologi, psihologi, logopezi, educatori ai copiilor cu surditate [72].

### 5.3. Elaborarea principiilor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală

Starea auzului rezidual la hipoacuzici caracterizează următorii indici clinici și audiologici ca: rezultatele examenului ORL, etiologia, diagnoza clinică, caracterul deficienței de auz, în special gradul hipoacuziei la urechea dreaptă și la cea stângă, configurația curbei audiometrice, la AD și AS, raportul dintre pragul auditiv tonal pe conductibilitatea aeriană la frecvențele zonei vorbirii și pragul disconfortului auditiv, diapazonul dinamic al auzului, prezența sau lipsa acufenelor.

Audiometria tonală reprezintă cea mai accesibilă metodă de diagnosticare a deficienței de auz. Rezultatele audiometriei tonale liminare denotă deosebire între pragul auditiv și gradul surdității, concomitent cu micșorarea pragului auditiv și a numărului de răspunsuri pozitive la frecvențele acute [1, 79].

Problema pe care o rezolvă metoda propusă constă în sporirea eficacității diagnosticului audiologic, datorită unei metode de pronostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală.

Avantajul constă în obiectivizarea pronosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală. Metoda propusă permite diagnosticul în lipsa testelor de audiometrie vocală, fapt ce ulterior este important pentru reabilitare și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Matematic, problema, fiind formalizată, se reduce la deducerea unei reguli în baza analizei datelor audiometriei tonale care permite a pronostica parametrul scorului maxim de inteligibilitate în dB, în urma rezultatelor audiometriei tonale liminare și celei supraliminare. Utilizarea analizei de regresie în prelucrarea datelor statistice despre pacienții investigați ne-a permis să deducem formula propusă *infra* și care constituie esența metodei de pronosticare.

Esența metodei constă în selectarea criteriilor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală, în baza rezultatelor audiometriei tonale liminare, și celei supraliminare, conform formulei matematice reprezentate în figura 5.3.

Un scor maxim de inteligibilitate vocală, înregistrat până la 40 dB, este caracteristic pentru auzul normal. Un scor maxim, înregistrat la valori mai mari de 40 dB, este caracteristic pentru hipoacuzie. Diferența dintre scorul maxim de inteligibilitate pronosticat și cel real (diferența dintre valoarea reală și cea pronosticată), determinat în limitele cuprinse între valorile 0-5%, este considerată excelentă; > 5-10% - bună; 10% - joasă.

Controlul modelului propus pe date reale (51 de urechi examinate) a permis să constatăm că o eroare, ce nu depășește 5% din valoarea reală, constituie 54,9%, iar o eroare care nu depășește 10% din valoarea reală – 94,1 % din numărul de urechi investigate.

$$y = 0,784*PA + 0,230*PD - 1,192*xCA - 0,214*IA - 0,590*GS + 51,055,$$

unde:

CA reprezintă aspectul curbei audiometrice, determinat la: audiometria tonală liminară descendentă – 1, descendent abruptă – 2, plată – 3, ascendentă – 4, în clopot – 5;

PA - media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (100-6000 Hz), măsurat în deciBeli (dB);

GS – media gradului de surditate, stabilit la audiometria tonală (500, 1000, 2000 Hz), măsurat în deciBeli (dB);

PD - media pragului de disconfort, stabilit la audiometria tonală (500-4000 Hz), măsurat în deciBeli (dB);

IA - indicele de articulare, stabilit în baza audiometriei tonale liminare (%).

Coeficientul de determinație  $R^2$  pentru modelul în cauză, la pacienții testați, este destul de mare:  $R^2 = 0,7255$ . Coeficientul de determinație  $R^2$  cu valori cuprinse: între 0-0,2999 - nesatisfăcător; 0,3000-0,6999 - satisfăcător; 0,7000-1 - înalt. Rezultatul constă în majorarea eficacității diagnosticului audiometric.

Prin rezultatul prognosticat se facilitează diagnosticul topografic al patologiilor auditive și selectarea individuală adecvată a protezelor auditive. Rezultatul constă în creșterea exactității pronosticării scorului audiometriei vocale mai efectivă, operativă și ieftină.

Pragurile de auz la efectuarea audiometriei tonale se determină pe conducerea aeriană și osoasă separat, la fiecare ureche în parte. Audiometria tonală liminară începe cu prezentarea sunetului continuu la o intensitate confortabilă, la frecvența de 1000 Hz (fiind frecvența cea mai ușor identificabilă, primordială a zonei de conversație). Ulterior se descreștea în pași a câte 10 dB HL, până când pacientul nu mai răspundea și de aici se începea căutarea pragului de auz. Se creștea în pași a câte 5 dB HL pe două-trei secunde, până când pacientul răspundea din nou. Examinarea se repeta de două-trei ori. Ulterior, se examinau frecvențele de 2000, 4000, 6000, 8000 Hz, apoi cele de 500, 250, 125 Hz. Examinarea se sfârșea cu determinarea repetată a pragului auditiv la frecvența de 1000 Hz. La determinarea pragului de disconfort (audiometria tonală supraliminară), pacientul era instruit că intensitatea sunetului se va mări progresiv; dacă sunetul era neplăcut (foarte greu de suportat), trebuia să ridice mâna sau să apese butonul. Investigația a fost realizată la frecvențele de 500, 1000, 2000, 4000 Hz, la ambele urechi. Începând de la nivelul perceperii, sunetul era treptat mărit până la primirea răspunsului de senzație neplăcută. Rezultatele erau fixate pe blancul audiogramei. Stabilirea scorului maxim de inteligibilitate vocală (100%) a fost pronosticat prin evaluarea următorilor indici ai audiometriei tonale liminare și supraliminare: aspectul curbei audiometrice (CA), media pragului auditiv (PA) și cea a gradului de surditate (GS), stabilite la audiometria tonală, media pragului de disconfort (PD), indicele de articulare (IA).

Exemplu 1: Pacientul N., 12 ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă moderată. Analiza audiometriei tonale liminare și a celei supraliminare a stabilit următorii indici: aspectul curbei audiometrice (CA) – descendentă; media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (PA) – 45 dB; media gradului de surditate, evaluat la audiometria tonală (GS) – 48 dB; media pragului de disconfort (PD) – 101,25 dB, indicele de articulare (IA) – 23%. Scorul maxim de inteligibilitate, constatat în cadrul audiometriei vocale de 100%, a fost stabilit la intensitatea de 75 dB. La utilizarea formulei matematice elaborate pentru prognozarea scorului

maxim de inteligibilitate, am obținut valoarea 75,19 dB, diferența dintre valoarea reală și cea prognosticată constituind 0,25%.

Exemplu 2: Pacientul A., 37 de ani, diagnosticul surditate neurosenzorială, formă severă. S-a selectat aparat auditiv pentru forma moderată de surditate. Analiza audiometriei tonale liminare și a celei supraliminare a stabilit următorii indici: aspectul curbei audiometrice (CA) – descendentă; media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (PA) – 60,63 dB; media gradului de surditate, evaluat la audiometria tonală (GS) – 50 dB; media pragului de disconfort (PD) – 90 dB, indicele de articulare (IA) – 41 %. Scorul maxim de inteligibilitate a fost stabilit la intensitatea de 85 dB. La utilizarea formulei matematice, elaborate pentru prognozarea scorului maxim de inteligibilitate, am obținut valoarea 79,82 dB, diferența dintre valoarea reală și cea pronosticată constituind 6,09%.

Investigațiile au fost efectuate pe un lot de 26 de pacienți, de ambele sexe, cu vârsta cuprinsă între 7 și 42 de ani, cu diagnosticul SSN, protezați auditiv. S-au efectuat: examenul clinic primar (inclusiv statutul ORL), acumetria fonică, audiometria tonală, audiometria vocală. Analiza matematică a permis de a calcula faptul că o eroare, ce nu depășește 5% din valoarea reală, constituie 54,9%, iar o eroare, care nu depășește 10% din valoarea reală – 94,1 % din numărul de urechi investigate. Indicație pentru utilizarea acestei metode constituie diagnosticul audiologic la pacienți cu surditate, în scopul întocmirii ulterioare a protocolului de tratament și reabilitare electroacustică a auzului. Contraindicații nu sunt [73].

#### **5.4. Elaborarea principiilor de prognostic al eficacității protezării auditive**

Este cunoscută metoda de evaluare a eficacității protezării auditive, conform anchetei „hearing handicap inventory for the elderly” (HHIE), propusă de Ventry I., Weinstein B.: efectul protezării auditive se estimează în baza unei anchete completate de pacienți. Dezavantajul ei constă în faptul că nu prevede prognozare în baza rezultatelor investigațiilor audiometrice, conține numeroase compartimente, necesită mult timp pentru efectuarea ei și este recomandată preponderent persoanelor de vârstă înaintată.

Potrivit datelor din literatură, numai 40-50% dintre utilizatorii protezelor auditive sunt satisfăcuți de rezultatele protezării auditive. Un rol important, în acest context, revine reglării individuale cât mai reușite a protezelor auditive. Astfel, devine oportună implementarea unor principii de prognozare a eficacității protezării auditive.

Materialul acestui studiu a inclus analiza datelor anamnestice, clinice, instrumentale, informativitatea diverselor metode de investigații audiometrice și a selectării protezelor auditive la 73 de pacienți de ambele sexe cu SSN. Factorii decisivi de prognostic au fost stabiliți în baza comparațiilor frecvenței diferitor factori în două grupuri de pacienți: I grup la care, în perioada de reabilitare, după selectarea primară a protezei auditive, s-a constatat unul sau mai multe efecte adverse la utilizarea aparatelor auditive: acufene, oboseală rapidă, cefalee, iritabilitate, și grupul II - pacienții care nu au prezentat astfel de acuze la aplicarea protezei auditive.

În baza analizei discriminante, au fost selectați factorii decisivi de pronostic. Esența metodei constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții care suferă de surditate, în baza datelor anamnestice și investigațiilor audiometrice. Funcția discriminantă (F) se calculează conform unei formule, la baza căreia sunt următorii indici: vârsta pacientului (ani împliniți); factorul etiologic de surditate - infecțiile virotice și bacteriene (gripa, rujeola, rubeola, oreionul, parotita, meningita etc.), suportate în anamneză: nu – 0, da – 1; evoluția surdității: regresivă, progresivă, stabilizantă; pragul auditiv, stabilit la audiometria tonală cu casca de telefon, cuprinde limitele între 0 și 120 deciBeli (dB HL); indicele de articulare exprimă scorul de recunoaștere a vorbirii (%) și reprezintă o aplicație care manifestă transpunerea spectrului vorbirii în graficul audiometriei tonale. Proporția, în care sunt auzite informațiile necesare pentru perceperea vorbirii, se numește indice de articulare (IA). Deci IA este o măsură care arată ce proporție din informația unui semnal de vorbire normală este disponibil într-o situație oarecare de ascultare. Se exprimă printr-un indice, care are valoarea cuprinsă între 0 și 1 (sau 1-100 %), și reprezintă semnalul mediu de vorbire ce este auzit de un subiect dat. IA are următoarele aplicații clinice: servește la explicațiile date pacientului despre impactul hipoacuziei asupra capacității de a percepe vorbirea; indicele de articulare are o relație cunoscută cu capacitatea de recunoaștere a cuvintelor, astfel încât scorurile de recunoaștere a vorbirii pot fi reprezentate prin IA (6).

În cazul în care  $F > 0$ , se face pronosticul unui rezultat favorabil al protezării auditive (lipsa efectelor adverse), iar  $F < 0$  – a unui rezultat nefavorabil (prezența efectelor adverse), deoarece necesită reglări suplimentare mai frecvente ale protezelor auditive și o perioadă de reabilitare mai îndelungată.

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

Matematic, problema, fiind formalizată, se reduce la deducerea unei reguli, criteriu de discriminare, în baza analizei datelor a două selecții (pacienți la care s-a constatat unul sau mai multe efecte adverse la utilizarea protezelor auditive, și anume: cefalee, oboseală rapidă, iritabilitate, acufene și pacienți care nu au acuzat inconvenientele sus-numite), care permite a atribui un nou element (pacient protezat auditiv) la una dintre cele două mulțimi cu o exactitate destul de bună. Utilizarea analizei discriminante în prelucrarea datelor statistice despre pacienții protezați auditiv ne-a permis să deducem funcția discriminantă propusă *infra* și care reprezintă esența metodei de pronosticare.

Esența invenției constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții care suferă de surditate, în baza datelor anamnestice și

investigațiilor audiometrice. Funcția discriminantă (F) se calculează conform formulei (brevet de invenție MD 291 Z din 16.07.2011) :

$$F = - 7,927 + 0,144 * VP - 0,476 * FS - 0,975 * ES + 0,073 * PA + 0,065 * IA,$$

unde:

VP reprezintă vârsta pacientului (ani împliniți);

FS – infecțiile virotice, bacteriene, ca factor declanșator al surdității: nu – 0, da – 1;

ES – evoluția surdității: regresivă – 0, progresivă – 1, stabilizantă – 2;

PA – pragul auditiv, stabilit la audiometria tonală, cuprinde limitele între 0 și 120 deciBeli (dB);

IA – indicele de articulare, ce exprimă scorul de recunoaștere a vorbirii (%).

În cazul în care  $F > 0$ , se face pronosticul unui rezultat favorabil al protezării auditive (lipsa efectelor adverse), iar dacă  $F < 0$  – a unui rezultat nefavorabil (prezența efectelor adverse), deoarece necesită reglări suplimentare mai frecvente ale protezelor auditive și o perioadă de reabilitare mai îndelungată. Rezultatul constă în creșterea exactității pronosticării efectelor adverse ale protezării auditive la pacienții cu surditate, datorită utilizării în metoda dată a parametrilor clinici și anamnestici.

La analiza retrospectivă a pacienților protezați, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP), prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS), evoluția deficienței auditive (ES), pragul auditiv sau severitatea surdității (PA), indicele de articulare (IA).

Analiza discriminantă a permis de a calcula ponderea fiecăruia din acești factori în riscul dezvoltării inconvenientelor protezării auditive. Precizia clasificăției, conform acestor cinci factori pentru grupul cu pronostic nefavorabil, este de 93,75% și pentru grupul cu pronostic favorabil – de 84,21% (tabelul 5.5). Verificarea funcției discriminante s-a efectuat la 73 de pacienți cu diagnosticul surditate neurosenzorială. Rezultatul a fost considerat favorabil în cazul în care  $F > 0$  și nefavorabil, dacă  $F < 0$ .

**Tabelul 5.5. Rezultatele prognosticului efectelor adverse la protezarea auditivă**

Rezultatul scontat	Rezultate reale, corect pronosticate		
	Lipsa efectelor adverse	Prezența efectelor adverse	Total pacienți
Lipsa efectelor adverse	48 (84,21%)	9 (15,79%)	57
Prezența efectelor adverse	1 (6,25%)	15 (93,75%)	16
Total	49 (67,12%)	24 (32,88%)	73

Indicație pentru utilizarea acestei metode constituie depistarea pacienților cu risc sporit de dezvoltare a efectelor adverse ale protezării auditive, în scopul întocmirii unui algoritm optim de selectare, reglare și adaptare la dispozitivele electroacustice. Contraindicații nu sunt.

#### Exemplul 1:

Pacientul N., 12 ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă severă. A fost selectat un aparat auditiv pentru forma severă de surditate. La analiza retrospectivă a pacienților protezați, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP) -12 ani, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS) = 1, evoluția deficienței auditive (ES) = 1, pragul auditiv sau severitatea surdității (PA) = 72 dB, indicele de articulare (IA) = 0%. Valoarea calculată a funcției discriminante  $F = -2,394$ , adică  $F < 0$ , ceea ce permite pronosticul unei evoluții clinice cu prezența efectelor adverse. Metoda aplicată a demonstrat coincidența pronosticării cu rezultatul real la trei săptămâni de la protezare: pacientul acuza cefalee, oboseală rapidă în timpul conversațiilor cu proteza auditivă și iritabilitate pronunțată la expunerea în zgomot. În urma corijărilor efectuate la algoritmul de reabilitare, efectele nescontate au fost diminuate.

#### Exemplul 2:

Pacientul A., 37 de ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă moderată. S-a selectat aparat auditiv pentru forma moderată de surditate. La analiza retrospectivă a pacienților protezați, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP) – 37 de ani, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS) = 0, evoluția deficienței auditive (ES) = 1, pragul auditiv sau severitatea surdității (PA) = 42 dB, indicele de articulare (IA) = 14%. Valoarea calculată a funcției discriminante  $F = 0,402$ , adică  $F > 0$ , ceea ce permite pronosticul unei evoluții fără efecte adverse în perioada de adaptare la proteza auditivă, fapt ce demonstrează coincidența pronosticării cu rezultatul clinic favorabil.

#### Exemplul 3:

Pacientul C., 37 de ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă ușoară. A fost selectat aparat auditiv pentru forma ușoară de surditate. La analiza retrospectivă a pacienților protezați, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP) – 37 de ani, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS) = 1, evoluția deficienței auditive (ES) = 2, pragul auditiv sau severitatea surdității (PA) = 37 dB, indicele de articulare (IA) = 36 %. Valoarea calculată a funcției discriminante  $F = 0,016$ , adică  $F > 0$ , ceea ce permite pronosticul unei evoluții favorabile. În realitate însă, examenul repetat peste o lună indica persistența efectelor adverse (acufene), fapt ce demonstrează necoincidența pronosticului cu rezultatul clinic. În urma reglărilor suplimentare și extinderii perioadei de adaptare, efectele adverse la utilizarea protezei auditive au fost eliminate.

Astfel, pentru a obține efectul maxim al protezării auditive, trebuie să ținem cont de un complex de factori și condiții ce asigură pacientului o percepție confortabilă a vorbirii. În acest complex intră factorii fiziologici și psihoemotivi, rezultatele investigațiilor clinice și audiometrice, ce caracterizează: auzul rămas al bolnavului, exteriorul protezei auditive, culoarea, caracteristicile amplitudine/ frecvență a protezei auditive.

Atât factorii, cât și condițiile enumerate sunt necesare la alegerea modelului concret al protezei auditive. În fiecare caz concret, selecția trebuie să fie individuală, evidențiind factorii fiecărui



pacient. În general, rezultatele obținute permit de a spori eficacitatea reabilitării sociale a auzului de diferită etiologie.

Proteza auditivă, odată ce extinde perceperea sunetelor înconjurătoare, are un efect benefic. În același timp, ea demască defectele față de oamenii sănătoși, ce uneori poate fi cauza unei traume psihice. Apare necesitatea considerării acestui factor în recomandările la alegerea protezelor auditive, la antrenarea ulterioară cu hipoacuzicii protezați.

Analizând în ansamblu rezultatele diagnosticului și protezării auditive a bolnavilor cu SSN periferică de diferite tipuri, putem conchide despre particularitățile metodelor atât obiective, cât și subiective ale diagnosticului diferențial al formelor cohleare și retrocohleare. Au fost descriși factorii declanșatori ai SSN la copii și la adulți.

Eficiența protezării auditive corelează vârsta, motivarea bolnavului hipoacuzic cu gradul deficienței de auz, prezența inconvenientelor protezării auditive, reglării lor conform regulilor de calcul al câștigului protezei auditive și a parametrilor electroacustici [65].

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

La 18 pacienți cu hepatite cronice B, C și ciroză hepatică, din loturile care au administrat Neamon-hepa, și la 15 pacienți din loturile-martor, atât la IMSP SCR, cât și la IMSP SBI „Toma Ciorbă”, au fost efectuate cercetări asupra efectului antioxidant al preparatului NH-01 în cadrul Laboratorului de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu”. La investigarea biochimică a enzimelor anitoxidante și a hidroxiperoxizilor lipidelor, s-a constatat o ameliorare substanțială a indicilor stresului oxidativ la pacienții din lotul tratat cu produsul studiat. Testările au stabilit o ameliorare în sistemul antioxidant, manifestată prin majorarea veridică a indicilor SOD: inițial –  $1096 \pm 23,5$  U/g, după tratament –  $1199 \pm 30,6$  U/g; a indicilor ceruloplasminei: inițial –  $243 \pm 17$  mg/l, după tratament –  $316 \pm 11,4$  mg/l ( $p < 0,05$ ), precum și o creștere a activității antioxidante totale, a catalazei și Zn la pacienții tratați cu Neamon-hepa. Totodată, s-a constatat și micșorarea indicilor pro-oxidanți, cum ar fi dialdehida malonică, și reducerea activității hidroperoxizilor lipidici [66]. Pentru a aprecia starea sistemului pro-oxidant la pacienții cu ciroza hepatică, s-a determinat nivelul dialdehidei malonice și al hidroperoxizilor lipidici (HPL).

Indicii sistemului antioxidant s-au precizat prin determinarea următorilor parametri: activitatea antioxidantă totală [AAT], nivelul superoxidismutazei [SOD] și al catalazei, activitatea glutatationperoxidazei [GPO], nivelul ceruloplasminei, Zn, Cu.

Un indiciu caracteristic stresului oxidativ este dialdehida malonică, produsul final al peroxidării lipidelor și hidroperoxizii lipidici care s-au atestat majorați veridic în lotul pacienților cu ciroză hepatică. La fel, la acești pacienți s-a apreciat o activitate redusă a parametrilor sistemului antioxidant.

Rezultatele obținute după tratament cu Neamon-hepa nu au demonstrat un efect statistic concludent în sistemul de peroxidare a lipidelor, ci o ameliorare în sistemul antioxidant, mani-

festată prin majorarea veridică a SOD și ceruloplasminei, precum și o intensificare a activității antioxidante totale, a catalazei și Zn la pacienții tratați cu Neamon-hepa. Totodată, s-a remarcat și micșorarea indicilor pro-oxidanți, cum ar fi dialdehida malonică, și reducerea activității hidroperoxizilor lipidici (tabelul 5.6).

Una dintre cauzele SSN induse este stresul oxidativ. Afectările provocate de radicalii de oxigen, care posedă activitate chimică sporită, inclusiv în organul Corti, în stadiile inițiale sunt reversibile. Mecanismul primordial de apărare de leziunile provocate de radicalii liberi este ciclul de oxidoreducere a glutatationului. Organul auditiv este supus stresului oxidativ. Pentru prevenirea POL, celulele ciliate ale OC trebuie să posede următoarele caracteristici: să nu permită inițierea reacției în lanț a radicalilor liberi, de exemplu prin micșorarea sintezei de O<sub>2</sub>; să inhibe reacția în lanț a radicalilor, de exemplu prin utilizarea peroxiradicalilor; să posede efect regenerativ prin prezența fermenților, care să asigure astfel de procese în proteine și ADN.

**Tabelul 5.6. Evaluarea indicilor sistemului de peroxidare a lipidelor la pacienții tratați cu NH-01**

Indicii	Inițial	După tratament	P
Numărul pacienților	18	17	M ± m
Ceruloplasmina, mg/dL	243 ± 17	316 ± 11,4	p<0,05
Catalaza, mM/L	11,8 ± 1,1	12,3 ± 1,04	p>0,05
Glutationperoxidaza, mM/L	7,0 ± 0,5	7,2 ± 0,5	p>0,05
Superoxidismutaza, uc/L	1096 ± 23,5	1199 ± 30,6	p<0,05
Mg, mM/L	0,79 ± 0,005	0,79 ± 0,006	p>0,05
K, mM/L	4,35 ± 0,3	4,2 ± 0,3	p>0,05
Zn, mM/L	30,7 ± 0,86	31,1 ± 0,8	p>0,05
Cu, mM/L	18,77 ± 0,33	18,15 ± 0,30	p>0,05
Dialdehida malonică, mM/L	40,12 ± 1,66	39,8 ± 0,9	p>0,05
Hidroperoxizi lipidici (HPL) - I izopropil, uc/ml	385,6 ± 1,13	384,05±0,61	p>0,05
HPL-M izopr., uc/ml	447,9 ± 1,12	446,05±0,54	p>0,05
HPL-T izopr., uc/ml	450,02 ± 1,32	446,9 ± 0,66	p>0,05
HPL-I hexan., uc/ml	75,6 ± 1,18	75,5 ± 0,11	p>0,05
HPL-M hexan., uc/ml	75,01 ± 0,17	74,9 ± 0,07	p>0,05
HPL-T hexan., uc/ml	75,6 ± 0,18	74,9 ± 0,07	p>0,05
Activitatea antioxidantă totală izopr., mM/L	1,37 ± 0,12	1,41 ± 0,11	p>0,05

Produsul NH-01 posedă astfel de proprietăți, deci poate fi util ca medicament cu proprietăți antioxidante în tratamentul SSN dobândite, în stadiile acute și subcronice reversibile [104]. BioR – antioxidant puternic. Aspartatul de arginină are un efect metabolic activ, îmbunătățind funcțiile trofice și anabolismul celular. Prezența spironolactonei, ca produs diuretic K-protector, face posibil de recomandat produsul Neamon-hepa, în formele de afecțiuni ale AA, în care intervine edemul cerebral (SSN acută pe fond de traumatism craniocerebral) sau edem al labirintului membranos din urechea internă (maladia Meniere în faza acută).

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

În procesul dezvoltării stării patologice la bolnavii cu cancer și în urma tratamentului radioterapeutic și chimioterapeutic, au loc procese de intoxicație endogenă tumorală, de formare a radicalilor liberi, de denaturare a proceselor de oxidoreducere și de dereglare a microcirculației. Cele menționate argumentează includerea în tratamentul complex a preparatelor cu acțiuni și proprietăți antioxidante, detoxifiante, metabolice și angioprotectoare. Mecanismele enumerate se includ în acțiunea componentelor emulsiei Flamena [30, 89]. A fost pus în evidență faptul că, în prezența speciilor reactive, cum ar fi  $H_2O_2$  unii neuroni și celule gliale permit influxul de  $Ca^{2+}$  prin canale specifice de cationi, inițiind o cascadă dăunătoare, care culminează cu leziuni ale citoscheletului celular. Scopul studiului clinic: evaluarea eficacității și inofensivității compusului medicamentos Flamena (emulsie, 100 ml), ca adjuvant în terapia complexă a cancerului glandei mamare; repartizarea pacienților în studiu: lotul I – 20 de femei cu diagnosticul cancer al glandei mamare (CGM), după polichimioterapie neoadjuvantă, care au urmat terapia de bază + preparatul studiat.

Rezultatele investigațiilor hematologice, biochimice și imunologice au demonstrat eficacitatea statistic semnificativă a produsului, în comparație cu lotul studiat și cel de control [30]. În urma administrării emulsiei Flamena, în doza de 100 ml, indicii hemoglobinei în loturile de studiu s-au majorat de la  $110 \pm 0,71$  până la  $116,0 \pm 1,28$  g/L ( $p \leq 0,05$ ) și, respectiv, de la  $109,44 \pm 0,43$  până la  $120,18 \pm 0,4$  g/L ( $p \leq 0,05$ ), iar în loturile de control nu s-a determinat o diferență statistic semnificativă,  $p > 0,05$  [30]. Emulsia Flamena 100 ml posedă proprietăți detoxifiante evidente: micșorează bilirubina totală cu  $1,1 \pm 0,3$  ( $p < 0,05$ ), îmbunătățește indicii sistemului de peroxidare a lipidelor: glutationperoxidazei – cu  $1,1 \pm 0,02$  mM/L, catalazei – cu  $2,05 \pm 0,07$  mM/L, ceruloplasminei – cu  $53,3 \pm 1,2$  mg/dL, dialdehidei malonice – cu  $0,7 \pm 0,04$  mM/L, hidroxipiroxizilor lipidici, activității antioxidante totale – cu  $1,1 \pm 0,03$  mM/L.

Produsul medicamentos Flamena (emulsie, 100 ml) a manifestat o acțiune specifică imunomodulatoare prin ameliorarea și creșterea indicilor imunologici, chiar și a celor care inițial au fost denaturați. Acest fapt argumentează administrarea emulsiei în combinație cu preparatele citostatice și chimioterapeutice, cu radioterapie și de sine stătător, în calitate de imunomodulator specific. A fost înregistrată creșterea nivelului imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM, IgE în medie cu  $0,8 \pm 0,05$  ( $p < 0,05$ ). S-a stabilit o acțiune benefică asupra imunității celulare.

S-a atestat majorarea indicilor imunității celulare, a anticorpilor monoclonali CD<sub>3</sub>, CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub>, CD<sub>16</sub> în medie cu  $0,4 \pm 0,02$  ( $p < 0,05$ ) și intensificarea activității de fagocitare a neutrofilelor [30].

S-au îmbunătățit considerabil indicii sindromului de dezintoxicare: superoxidismutaza, ureea, creatinina (tabelul 5.7). În urma efectuării studiului clinic, s-a constatat: administrarea produsului farmaceutic Flamena, emulsie orală, 100 ml, la bolnavii oncologici de profil mamologic și oncoginecologic, a înregistrat acțiuni benefice: îmbunătățirea stării generale, creșterea poftei de mâncare și a masei corporale cu  $1,8 \pm 0,2$  (kg) ( $p < 0,05$ ), ameliorarea statusului psihoemoțional, diminuarea sindromului astenovegetativ cu 30%, a sindromului dispeptic cu 10% și a sindromului dolo. Preparatul Flamena 100 ml este acceptabil, comod de administrat și se recomandă bolnavilor oncologici după polichimioterapie și radioterapie, ca adjuvant, detoxifiant și imunostimulator.

**Tabelul 5.7. Rezultatele investigațiilor de laborator efectuate la pacientele din lotul cu CGM care au administrat CAF-01**

Parametrii	Până la începerea tratamentului	La sfârșitul tratamentului	p
<b>Parametrii hematologici</b>			
Hemoglobina, g/L	$110 \pm 0,71$	$116,0 \pm 1,8$	$p < 0,05$
Eritrocite, $*10^{12}$	$3,78 \pm 0,04$	$3,9 \pm 0,14$	$p < 0,05$
Leucocite, $*10^9$	$3,8 \pm 0,17$	$4,7 \pm 1,02$	$p < 0,05$
Trombocite, $*10^3/\text{mL}$	$180 \pm 0,0001$	$182 \pm 0,02$	$p < 0,05$
Nesegmentate	0,040 (2%)	0,09 (3%)	$p < 0,05$
Segmentate	2000 (47%)	5150 (56%)	$p < 0,05$
Eozinofile, $*10^3/\text{mL}$	0,7%	2,2%	$p < 0,05$
Limfocite, $*10^9/\text{mL}$	1200 (20%)	2,800 (29%)	$p < 0,05$
<b>Sistemul de peroxidare a lipidelor</b>			
Ceruloplasmina, mg/dL	$242 \pm 16$	$334 \pm 12,6$	$p < 0,05$
Catalaza, mM/L	$10,8 \pm 1,2$	$13,4 \pm 1,06$	$p < 0,05$
Glutationperoxidaza, mM/L	$6,5 \pm 0,5$	$7,8 \pm 0,5$	$p < 0,05$
Superoxidismutaza, uc/L	$1092 \pm 22,5$	$1201 \pm 288$	$p < 0,05$
Mg, mM/L	$0,78 \pm 0,003$	$0,80 \pm 0,06$	$p < 0,05$
K, mM/L	$4,20 \pm 0,4$	$4,3 \pm 0,2$	$p < 0,05$
Zn, mM/L	$29,8 \pm 0,86$	$30,1 \pm 0,36$	$p < 0,05$
Cu, mM/L	$17,22 \pm 0,31$	$18,1 \pm 0,23$	$p < 0,05$
Dialdehida malonică, mM/L	$39,4 \pm 1,25$	$40,2 \pm 1,02$	$p < 0,05$

Hidroperoxizi lipidici-I izopr., uc/ml	378,6 ± 1,12	380,1± 0,94	p < 0,05
HPL-M izopr.	442,9 ± 1,10	444,3± 1,12	p < 0,05
HPL-T izopr.	442,02 ± 1,30	443,09± 1,28	p < 0,05
HPL-I hexan.	70,2 ± 1,15	71,6±1,42	p < 0,01
HPL-M hexan.	72,8 ± 0,14	74,6±0,21	p < 0,05
HPL-T hexan.	72,6 ± 0,15	73,8±0,34	p < 0,01
Activitatea antioxidantă totală izopr., mM/L	1,32 ± 0,14	1,52±1,02	p < 0,05

Investigațiile clinice și paraclinice nu au atestat nicio diferență în dezvoltarea procesului tumoral în loturile de studiu și în cele de control, fapt ce denotă inofensivitatea și neimplicarea preparatului Flamena în procesele proliferative tumorale. Cercetarea și analiza clinică a preparatului Flame-na, cu scop de administrare și aplicare în medicină, au fost realizate în conformitate cu Protocolul cercetării clinice, cu legislația națională și cu principiile de bună practică ale studiului clinic.

De asemenea, șapte pacienți cu SSN din loturile care au administrat produsul studiat au fost supuse investigațiilor audiologice până și după administrare (certificat de inovator – Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorie neurale ale analizatorului auditiv, nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu”). Au fost efectuate: audiometria tonală liminară, audiometria tonală supraliminară (proba *Short Increment Sensitivity Index* – determinarea nivelului de disconfort), tinnitus-audiometria. Rezultatele indică: o îmbunătățire a pragului auditiv, majorarea diapazonului dinamic al auzului și micșorarea intensității acufenelor cu până la 10-15 dB. Prezintă interes continuarea studierii efectelor otoprotectoare ale produsului Flamena, emulsie, 100 ml, la pacienții cu SSN, dobândită în urma chimio- și radioterapiei.

Aminoacidul glicină este un metabolit natural, care reglează procesele metabolice în creier, reduce tensiunea psihoemoțională, crește capacitatea de muncă intelectuală. Manifestă acțiune de protecție a creierului, antistres, calmantă, ameliorează metabolismul cerebral. Glicina de asemenea contribuie la sinteza hemoglobinei. Ca precursor al glutationului, aceasta se combină cu acidul colic și formează glucozolați. Vitamina P este un sinergist al vitaminei C. Produsele din grupul vitaminei P (rutina, quercetina, dihidroquercetina) inhibă hialuronidaza, stabilizând substanța intercelulară, astfel manifestând efect antioxidant. Dihidroquercetina, de asemenea, preîntâmpină fragilitatea vaselor sangvine, intensifică rezistența organismului față de hipoxie, previne oxidarea acidului ascorbic și a catecolaminelor, prelungind acțiunea lor.

Particularitățile anatomo-histo-fiziopatologice ale cohleei sunt reunite în structurile neurosenzoriale ale acestia, deosebit de fragile la cele mai diferite noxe. Existența unei vascularizații de tip terminal, asigurată de vase cu traiect lung și sinuos, caracterizate prin raporturi intime între elementele vasculare și nervoase, explică de ce reversibilitatea fenomenelor patologice ce survin

la nivelul cohleei depinde de promptitudinea cu care se pune diagnosticul și se instituie o terapie corespunzătoare.

Urechea internă posedă o structură care poate fi semnificativ alterată de modificări ale debitului sangvine și, probabil, de creșterea permeabilității capilarelor. Stria vascularis este similar cu structura glomerulelor renale, a proceselor ciliare ale ochiului și plexului coroid al ochiului. Complecșii imuni, asemănători cu cei ce apar în diverse boli ca artrita reumatoidă și alte boli autoimune, pot să formeze depozite în vasele sangvine ale striei vascularis, iar acest lucru este favorizat de proprietățile hemodinamice particulare ale structurii respective. Este important să reținem faptul că titrul de autoanticorpi crește cu vârsta. Atunci când vorbim despre autoimunitate și autoanticorpi, nu trebuie să ne gândim la ceva dăunător sau patologic, pentru că autoimunitatea și autoanticorpii sunt importanți în eliminarea celulelor îmbătrânite.

Factorii dăunători din exo-, endogeni provoacă semne patologice comune: ischemie, hipoxie, creșterea POL care sunt ca urmare a catabolismului celular. Ele provoacă afectarea membranelor biologice, micșorarea formării energiei pentru funcția celulară, dezorganizarea proceselor biofizice și biochimice. Aceste procese patologice-cheie cauzează distrofie celulară și necroză. Administrarea comună a preparatelor antioxidante, antihipoxante (nootrope) mențin sistemele metabolice ale organismului, asigurând dirijarea hipoxiei și ischemiei. Flumena, emulsie, conținând un component antioxidant (dihidroquercetina) și nootrop (glicina), poate asigura tratamentul SSN.

### **5.7. Cercetări privind utilizarea rațională a medicamentelor otoprotectoare**

SSN acută se caracterizează prin schimbări monomorfe de caracter distrofic, iar SSN subacută – preponderent, prin necroză de coagulare și/sau apoptoză reversibilă. SSN cronică se caracterizează prin apoptoză ireversibilă și distrucția celulelor neuroepiteliale ale organului Corti. Pentru CCE, CCI, stările de distrofie, apoptoză și necroză posedă particularități cauzate de structura anatomo-funcțională a cohleei [78]. Deci în cazul SSN cronice, mai bine ar fi să vorbim despre tratamentul maladiilor somatice asociate. Farmacoterapia afecțiunilor cardiovasculare, a sistemului nervos central și a celui endocrin, corijarea statusului imun, concomitent, și constituie tratamentul profilactic de prevenire a agravării SSN cronice.

#### **Farmacoterapia profilactică primară:**

- eliminarea factorilor dăunători din mediul ambiant asupra organului auditiv (zgomot, vibrație, factori chimici, toxici);
- excluderea din tratament (în special la copii, la pacienții cu patologie renală) a medicamentelor cu efect ototoxic sau utilizarea lor la indicații vitale, cu prescrierea concomitentă a dezintoxicantelor (refortan, reopoliglucină), antihistaminicelor, vitaminelor;
- prescrierea vasodilatatoarelor cerebrale (pentoxifilină, vincamină etc.) pacienților care suferă de maladii infecțioase, cu factori de risc în dezvoltarea SSN (în special la infecția meningococică).

### **Mijloacele terapeutice de profilaxie secundară**

În stadiul progresiv de stabilizare, principiile de bază ale terapiei conservative medicamentoase sunt: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; ameliorarea metabolismului urechii interne; stimularea analizatorului auditiv și ameliorarea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase.

De două ori pe an este necesar de efectuat tratamentul profilactic (două-trei săptămâni) al SSN cu medicamente din grupele prezentate *infra* (vasodilatatoare, nootrope, multivitamine și minerale, antioxidante, fizioterapie, oxibaroterapie). Monitorizarea pacienților trebuie efectuată de specialiștii: neurolog, cardiolog, endocrinolog (la necesitate) [21, 43].

**Astfel, peste 90% din SSN cronice sunt ireversibile, în special formele cohleare. Formele severe profunde nu beneficiază de tratament curativ sau profilactic, ci doar de proteză auditivă sau de implant cohlear [7, 29, 70, 78].**

Analizând *Clasificatorul medicamentelor autorizate în Republica Moldova*, lucrările în domeniul farmacologiei [12, 19, 28, 31, 41], precum și fișele de indicații ale pacienților cu SSN, am selectat medicamentele utilizate în tratamentul SSN (tabelul 5.8).

**Reabilitarea electroacustică.** Deoarece SSN reprezintă o problemă atât medicală, cât și socială, reabilitarea acestei afecțiuni este complexă. După trei luni de la instalarea surdității, în caz de necesitate, se efectuează protezarea auditivă (deficiență de auz la ambele urechi de 35-40 dB și mai mult la frecvențele principale ale zonei vorbirii de 500-4000 Hz). În cazul formelor profunde de surditate, este indicat implantul cohlear. În cazul tulburărilor de vorbire, individual, sunt recomandate lecțiile surdopedagogului [4, 59].

**Prognosticul este incert** de prezența vertijului ca simptom asociat; severitatea afectării este de asemenea importantă – cazurile severe se recuperează mai puțin. Eficacitatea farmacoterapiei este redusă în cazul pacienților vârstnici. Recuperarea auzului la pacienții cu SSN cronică ireversibilă este realizată prin utilizarea dispozitivelor care îmbunătățesc transmiterea sunetului spre: urechea internă, nervul auditiv, centrii nervoși (protezare auditivă, implant de ureche medie, implant cohlear, implant de trunchi cerebral).

Dificultatea identificării mecanismelor de apariție a SSN a determinat imposibilitatea stabilirii, până în prezent, a unui tratament eficient, care să asigure cu certitudine o recuperare auditivă satisfăcătoare după administrare [90, 97]. Astfel, principiile terapiei medicamentoase a hipoacuziei neurosenzoriale sunt: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; terapia de deshidratare labirintică; terapia de dezintoxicare și hiposensibilizare; ameliorarea metabolismului urechii interne și a transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase; diminuarea excitabilității sistemului nervos central și a celui vegetativ [36, 41, 44, 50].

Este cunoscută utilizarea complexelor de multivitamine și minerale la pacienții cu SSN. În special, în tratamentul medicamentos al SSN, asociat cu tinnitus, este salutară utilizarea preparatelor îmbogățite cu *Zn*. Elementul chimic *Zn* participă la reglarea metabolismului și transmiterea impulsurilor nervoase în celulele ciliate ale organului Corti, posedă efecte antioxidant și regene-

rativ etc. (36). Deci prezintă interes utilizarea produsului respectiv în scopul evidențierii efectelor otoprotectoare în tratamentul SSN, de comun cu Flarena, emulsie, care, în opinia noastră, reduce durata de terapie fără manifestarea unor efecte adverse. Cercetările în domeniul respectiv au fost argumentate de Certificatul de inovator „Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzoriale ale analizatorului auditiv”, nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.

**Tabelul 5.8. Lista medicamentelor recomandate în tratamentul SSN și autorizate în RM și a metodelor de tratament**

<b>Denumirea medicamentului și a metodelor de tratament</b>		
<b>FARMACOTERAPIE</b> <b>I. Perfuzii intravenoase cu:</b>	<b>IV. Vitamine, minerale, antioxidante</b>	<b>IX. Desensibilizante</b> (la surditatea infecțioasă)
Polividonă	Slezavit*	<b>X. Antibiotice, antivirale</b> (la necesitate)
Dextroză 10%	Acid ascorbic	
Amidon hidroxietilat	Tiamină	<b>XI. Tranchilizante, sedative</b> (la necesitate)
Dextran	Cocarboxilază	
Clorură de sodiu	Riboflavină	<b>XII. Stimulatori biogeni</b>
<b>II. Vasodilatatoare</b>	Piridoxină Cianocobalamină	Humisol*
1. <i>Alcaloizi din vinca minor</i>	Cocarnit*	Adenozintrifostat de sodiu
Vincamină	Flarena*	Extract de aloe
Vinpocetină	Triovit*	<b>XIII. Anticolinesterazice</b>
2. <i>Derivați xantini</i>	BioR*	Neostigmină (Proserină)
Pentoxifilină	<b>V. Diuretice</b>	Galantamină, Ipidacrină
Aminofilină	Manitol	<b>ALTE METODE</b>
Xantinol nicotinat	Uree	<b>Fizioterapie</b>
3. <i>Alte vasodilatatoare</i>	Acetazolamidă	Electroforeză endaurală, cervicală cu:
Papaverină	Hidroclorotiazidă	<i>Vasodilatatoare</i>
Tolperisonă	Spironolactonă	<i>Anticolinesterazice</i>
Betahistină	<b>VI. Corticosteroizi</b>	<i>Stimulatori biogeni</i>
Cinarizină	Prednisolon	<i>Vitamine din grupa B</i>
Nimodipină	Dexametazon	Inhalații cu:
Nicergolină	Hidrocortizon	<i>Vasodilatatoare</i>
<b>III. Nootrope, metabolice</b>	<b>VII. Anticoagulante</b>	<i>Antihistaminice</i>
Piracetam	Heparină	<i>Vitamine</i>
Piritinol	Nadroparină	Oxibaroterapie



Acidul gamaaminobutiric	<b>VIII. Antidoturi</b> (la surditatea toxică)	Magnetoterapie
Pantogam	Unitiol	Acupunctură
Glicină	Tiosulfat de sodiu	Protezare auditivă
Extract de gingo Biloba	Pantotenat de calciu	Fangoterapie
Fenibut	Atropină	Implant cohlear

\*Denumirea comercială a medicamentului.

Tratamentul farmacoterapeutic al SSN în perioadele acută și cronică este complex și include administrarea remediilor medicamentoase din grupe farmacologice diferite și utilizarea metodelor fizioterapeutice. Eficacitatea terapiei SSN brusc instalate/acute este în strânsă corelație cu începerea tratamentului medicamentos și cu forma de administrare a preparatelor (de exemplu, la administrarea *i/v* a medicamentelor, eficacitatea terapiei este mai mare). Intoxicațiile medicamentoase și nemedicamentoase au un rol important în etiologia SSN, care reprezintă o afecțiune cu morbiditate avansată. Prevalența și caracterul potențial invalidizant al SSN justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților terapeutice și de reabilitare în acest domeniu.

Conform cercetărilor prof. Boris Parii, inofensivitate sporită posedă următoarele produse medicamentoase: cu temperatura de topire  $< 100^{\circ}\text{C}$ ; cu masa moleculară mică ( $\leq 1000$  UC); în stare amorfă; utilizate în doze  $< 0,5$  g; cu solubilitate înaltă ( $\geq 20$  g/l) [59, 60].

Deoarece procesele metabolice din organism au loc în mediu acvatic sau lipidic, solubilitatea medicamentelor în mediile respective este importantă pentru efectele lor farmacologice. Deci prognozarea farmacodinamiei și farmacocineticii substanțelor chimice de sinteză poate fi efectuată în baza proprietăților lor fizico-chimice, inclusiv a indicilor termodinamici (solubilitatea în apă sau lipide, starea de agregare, punctul de topire).

Medicamentele utilizate în tratamentul SSN pătrund în urechea internă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transportare, fie prin dizolvare în endoteliul capilar. Traversarea barierei hematolabirintice de către medicamente depinde de particularitățile chimice ale acestora. Medicamentele cu greutate moleculară sau încărcătură electrică mare traversează cu dificultate, în mod pasiv. Liposolubilitatea înaltă facilitează trecerea. Medicamentele care se leagă de proteine traversează mai anevoios. Potențialul pozitiv neobișnuit din labirint îngreuiază și mai mult trecerea, medicamentele încărcate pozitiv având de înfruntat un gradient electric [11,79].

Astfel, eficacitatea tratamentului medicamentos în formele subacute de SSN este rezervată, iar SSN cronice, în mare parte, nu sunt compliante farmacoterapiei [44]. Așadar, numeroasele metode de tratament farmacologic al SSN cronice nu au efectul benefic scontat, cauzele de bază fiind dificultatea penetrării de către produsele medicamentoase a barierei hematolabirintice și acțiunea incompletă asupra tuturor factorilor etiologici și verigilor patogenetice ale SSN. Perfectarea con-

ceptului de otoprotecție medicamentoasă a SSN necesită atât elaborarea noilor produse farmacologice, cât și revizuirea celor utilizate deja în tratamentul SSN, în baza cunoașterii tuturor aspectelor patogeniei și a mecanismelor efectelor otoprotectoare.

Prognosticul efectelor farmacologice ale medicamentelor este utilizat în cercetare prin metoda de prognosticare a efectelor alergizante ale medicamentelor [37, 39]. Spectrul grupelor de medicamente, utilizate concomitent în tratamentul farmacologic al SSN, impune elaborarea unor factori de prognosticare a eficacității farmacoterapiei otoprotectoare.

În pofida efectelor ototoxice pronunțate ale unor grupe de medicamente, derivații platinei (cisplastina, carbaplatina) se utilizează în tratamentul tumorilor desiminate, aminoglicozide sunt medicamentele de elecție la tuberculoză, bruceloză, tularemie, iar, în combinație cu b-lactamice, – la endocardita infecțioasă, meningita posttraumatică, infecții intraabdominale, osteomielită, artrita septică. Diureticele de ansă pot fi utilizate chiar și în tratamentul SSN brusc instalate. Din aceste considerente este important de a elabora mecanisme de farmacovigilență, care ar permite diminuarea efectelor adverse ototoxice a acestor grupe de medicamente.

Având în vedere multitudinea grupelor de preparate medicamentoase utilizate în tratamentul SSN, administrarea combinată a medicamentelor, corelația dintre particularitățile fizico-chimice ale medicamentelor și cele clinico-biologice ale organismului, polipragmazia întâlnită în farmacoterapia patologiei respective, utilizarea medicamentelor cu efect ototoxic, în special în tratamentul SSN acute, devin oportune și de perspectivă studiile privind prognosticarea efectului farmacoterapiei combinate la bolnavii cu afecțiuni senzorieurale și mixte ale analizatorului auditiv, în baza următorilor indici: caracterul și durata maladiei, rezultatele bilanțului audiometric, preparatul farmacologic, posologia, proprietățile chimico-farmaceutice, temperatura de topire a principiului activ etc.

În acest context noi am prezentat medicamentele utilizate frecvent în tratamentul SSN după metoda **profesorului** Boris Parii și am stabilit următoarele aspecte: majoritatea produselor au punctul de topire între 100 și 200°C, masă moleculară mică, dar în forma cristalină se denotă un grad mediu de reacții adverse. De aceea, medicul practician trebuie să fie foarte precaut, mai ales la utilizarea asociată a produselor medicamentoase în tratamentul SSN (tabelul 5.9).

#### **Prognosticul eficacității tratamentului medicamentos**

*Factorii pronosticului favorabil:* hipoacuzie ușoară moderată, hipoacuzie la frecvențele joase, medii; lipsa simptomatiei vestibulare; începerea tratamentului în stadiu timpuriu (primele ore-zile de la instalarea deficienței auditive); administrarea vasodilatatoarelor cerebrale, antioxidanților, nootropelor.

*Factorii pronosticului nefavorabil:* vârsta înaintată; formele severe profunde de surditate; hipoacuzie la frecvențele înalte; simptome vestibulare obiective; factorii de risc de origine vasculară; tratament tardiv (începutul farmacoterapiei peste două-trei săptămâni de la debut).

Pornind de la aceste aspecte, studiile de perspectivă vor avea drept scop: elaborarea principiilor de prognosticare a eficacității otoprotectoare a medicamentului; asocierea rațională a me-

dicamentelor otoprotectoare în tratamentul SSN; majorarea efectelor farmacoterapeutice; aprecierea posibilității dezvoltării reacțiilor adverse la aplicarea preparatelor otoprotectoare; elaborarea produselor medicamentoase în formă chimică amorfă, a compușilor de cuplare și a amestecurilor eclectice de produse medicamentoase, cu posibilitatea creșterii tolerabilității produselor farmaceutice.

**Tabelul 5.9. Proprietățile fizico-chimice ale unor produse medicamentoase utilizate în tratamentul SSN**

Substanța /F.F.	Temperatura de topire	Masa moleculară	Solubilitatea	Forma (cristalină sau amorfă)
Vinpocetină (tab.)	147-153°C	350,45 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în alcool	Cristalină
Nicergolină (tab.)	136-138°C	484,39 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în alcool	Cristalină
Betahistină (tab.)	148-149°C	136,19 g/mol	Solubilă în apă, eter, chloroform	Cristalină
Cinarizină (tab.)	192°C	368,51 g/mol	Solubilă în apă	Cristalină
Piracetam (tab.)	151,5-152,5°C	142,23 g/mol	Ușor solubil în apă	Cristalină
Glicină (tab.)	233°C	75,14 g/mol	Solubilă în apă	Cristalină
Pentoxifilină (tab.)	105°C	278,32 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în cloroform	Cristalină
Dexametazon (tab.)	262-264°C	392,46 g/mol	Insolubil în apă	Cristalină
Metilprednisolon (tab.)	228-237°C	374,47 g/mol	Insolubil în apă	Cristalină
Neostigmină (Prozerin) (tab.)	170°C	303,26 g/mol	Foarte solubilă în apă	Cristalină
Spirolactonă (tab.)	431-451°C	416,57 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în solvenți organici	Cristalină

Din punctul de vedere al sporii farmacovigilenței, în farmacoterapie este salutară administrarea principiilor cunoscute din punct de vedere biochimic, deoarece cele mai inofensive sunt produsele endogene, care fac parte din organismul uman. În acest caz nu se dezvoltă conflictul imun și se pot prognoșta reacțiile farmacologice la medicament, în concordanță cu mecanismele fiziologice și biochimice cunoscute.

Cercetările efectuate la interferența termodinamicii, fizicii statice, chimiei, farmaceuticii și farmacologiei sunt esențiale, mai ales sub aspectul prognozării efectelor farmacologice ale substanțelor noi. Aceste principii sunt veridice și în cazul grupelor de medicamente utilizate în tratamentul conservator al SSN.

## 5.8. Sinteza capitolului 5

Stabilirea mutației 35delG a genei GJB2 prin tehnica *TaqMan Real Time PCR* prezintă importanță deosebită în diagnosticul SSN. Screening-ul audiologic la nou-născuți și sugari este mai eficient după a treia săptămână de naștere, prezentând un număr redus de rezultate false pozitive. Metodele propuse de pronostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și de pronostic al eficacității protezării auditive sunt importante în managementul bolnavilor cu deficiență auditivă. Metoda de pronostic a efectului alergizant al medicamentelor, propusă de prof. B. Parii, poate fi utilizată în pronosticarea efectelor adverse în farmacoterapia afecțiunilor analizatorului auditiv. Cercetările efectuate ne-au permis să elaborăm un algoritm de management al bolnavilor cu afecțiuni inflamatorii și neinflamatorii ale AA.

Pe lângă screening-ul audiologic obișnuit, la evaluarea persoanelor cu deficitul auditiv trebuie să fie recomandată și testarea molecular-genetică a surdității neurosenzoriale pentru genele GJB2 și GJB6 ale locusului DFNB1. Depistarea purtătorilor mutațiilor recesive patogenice ale acestor gene este foarte importantă pentru acordarea serviciilor de consiliere genetică privind posibilitatea de transmitere a acestora la descendenți, deoarece nașterea unui copil cu hipoacuzie la părinți sănătoși poate avea un impact deosebit. În cadrul cercetării s-au efectuat: estimarea contribuției unor mutații recesive la nivelul genei *GJB2* în loturile de persoane studiate cu SSN; elaborarea și validarea unui algoritm de *screening* cu potențialul de a fi ulterior utilizat în alte laboratoare din regiune; identificarea unor subiecți cu defecte genetice care nu sunt asociate cu defectele genei *GJB2*, ce necesită în continuare explorări molecular-genetice profunde de performanță, evaluarea particularităților relațiilor genotip-fenotip în vederea pronosticării efectelor intervențiilor de corecție auditivă la populația Republicii Moldova; creșterea performanțelor de diagnosticare, a consilierii genetice, îmbunătățirea măsurilor profilactice și sporirea eficienței managementului medical ulterior al pacienților afectați; facilitarea deciziilor de abordare terapeutică precoce și ameliorarea recuperării auditive, îmbunătățirea eficienței serviciilor de integrare socială a persoanelor cu deficiențe de auz.

Realizările științifice din ultimele decenii privind structura, expresia și reglarea genelor au determinat o evoluție rapidă a științelor biomedicale, modificând radical imaginea și conceptele noastre despre procesele fundamentale ale materiei vii. Cercetările, care până nu demult se bazau în special pe caracteristici fenotipice, fiziologice și biochimice, au marcat un salt calitativ, asigurat de perfecționarea tehnicilor de investigare la nivel molecular. Pentru prima dată, studiul genetic a propus explorarea profilului molecular-genetic al SSN congenitală la nivelul genei GJB2 din Moldova, pentru elaborarea unui algoritm de diagnostic mai reușit. Această abordare corespunde direcțiilor de cercetare în domeniul medicinei personalizate, propuse de Comisia Europeană în cadrul Provocării Societale 1 „Sănătate, schimbări demografice și bunăstare”. În acest context vom crea premise care să permită personalizarea implantării cochleare în funcție de particularitățile fiecărui copil, astfel încât șansele de reabilitare ale acestora să fie maxime.

În același context este cunoscută utilizarea complexelor de multivitamine și minerale la pacienții cu SSN. În special în tratamentul medicamentos al SSN, asociat cu tinnitus, este bine venită utilizarea preparatelor antioxidante. Cercetările privind utilizarea preparatelor Flamenă, emulsie, și Merion au fost argumentate de Certificatul de inovator „Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzoriale ale analizatorului auditiv”, nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău. Odată cu sporirea farmacovigilenței în farmacoterapie, biochimic, este oportună administrarea principiilor cunoscute, întrucât cele mai inofensive sunt produsele endogene, care fac parte din organismul uman. În acest caz nu se dezvoltă conflictul imun și se pot prognoza reacțiile farmacologice la medicament, în concordanță cu mecanismele fiziologice și biochimice cunoscute.

Rolul medicamentelor în lumea modernă este enorm. Actualmente, practic orice act medical, inclusiv în sfera organelor ORL, definitivează cu prescrierea medicamentelor. Omul are dreptul la sănătate, iar medicamentul este unul dintre instrumentele cu care aceasta se menține.

## SINTEZA REZULTATELOR

**Analizatorul auditiv** este organul de simț care asigură perceperea și deosebirea undelor sonore, orientarea în spațiu și vorbirea, ca mijloc de comunicare interumană. Este format din trei părți: segmentul periferic (urechea externă, urechea medie, urechea internă), căile de conducere a impulsurilor nervoase, segmentul central, unde au loc analiza și sinteza definitivă a auzului [1, 198]. Astfel, modificările acestor structuri pot provoca afectarea AA, manifestată prin deficiență auditivă recuperabilă ori nerecuperabilă, în funcție de factorul etiologic (inclusiv genetic), de structura anatomo-funcțională afectată și durata maladiei [20, 67].

Problema diagnosticării și recuperării auditive atât la copii, cât și la adulți rămâne una dintre cele mai actuale în aspect medico-social [63, 204].

În Republica Moldova, numărul copiilor aflați la evidență audiologică depășește cifra de 3000, iar cel al persoanelor mature cu handicap al auzului – cifra de 10000. Deficiența de auz provoacă mare dificultate în comunicare, în procesul de învățare; o surditate severă cauzează invalidizarea persoanelor [7, 18].

Recuperarea auzului la astfel de bolnavi implică problema diagnosticării cât mai sofisticate a deficiențelor auditive și alegerii cât mai reușite a protezelor auditive după specificul maladiei [29]. În același timp, crearea noilor produse medicamentoase, inclusiv cu indicații în tratamentul afecțiunilor auriculare, este actuală [31, 71].

Prezenta lucrare a fost consacrată problemelor privind: elaborarea și studiul acțiunii curative a unor medicamente combinate otoprotectoare, actualizarea diagnosticului molecular-genetic și audiologic, precum și stabilirea factorilor de prognostic al eficacității recuperării auditive în afecțiunile inflamatorii ale urechii și SSN.

Pentru soluționarea obiectivului nominalizat s-au studiat experimental, pe animale de laborator, și în cadrul studiilor clinice, aspecte de diagnostic și tratament medicamentos (au fost elaborate preparate medicamentoase combinate) în cadrul afecțiunilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii, și anume: otita acută și SSN. Pentru prima dată a fost modelată SSN și evaluată preclinic funcția auditivă în baza audiometriei comportamentale și a otoemisiunilor acustice, conform unui algoritm elaborat.

Farmacoterapia modernă presupune utilizarea combinată a medicamentelor din diverse grupe farmacologice, fapt determinat în primul rând de necesitatea de a acționa concomitent asupra mai multor organe și sisteme. Asocierea rațională a medicamentelor include majorarea eficacității terapeutice cel puțin a unuia dintre componente sau micșorarea unor proprietăți nedorite [17, 19, 39]. O astfel de asociere trebuie să tindă spre următoarele aspecte: sporirea efectului farmacologic scontat, diminuarea efectului farmacologic nescontat și dirijarea

farmacocineticii substanței/substanțelor active ale compoziției date [19, 243]. Farmacologia multor medicamente în mare măsură este dozo-dependentă. Anume din aceste considerente, pentru a diminua efectele adverse, deseori, se recurge la administrarea asociată a medicamentelor, cu o farmacodinamie similară, dar în doze terapeutice reduse [15, 21].

Elaborarea produselor medicamentoase combinate constituie unul din domeniile de dezvoltare a noilor medicamente. Medicamentele combinate presupun asocierea, într-un singur preparat comercial, a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită, în doză fixă [69]. Ele, odată ce conțin substanțe active cu diferită acțiune, pot avea o șansă statistică de succes mai mare, întrucât, acționând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice, intensifică probabilitatea de a obține un răspuns terapeutic sporit [3, 31, 191]. Sunt posibile patru căi de obținere a medicamentelor combinate: asocierea compușilor bine cunoscuți, deja aprobați/utilizați în combinație; principii renumite, incluse pentru prima dată în medicamentul combinat; asocierea unei sau mai multor entități chimice noi cu una sau mai multe substanțe arhicunoscute; combinația a două sau mai multe entități chimice noi [10, 175].

Aproximativ jumătate din produsele medicamentoase combinate, prezente pe piața farmaceutică, sunt combinații fixe. Medicamentele combinate posedă numeroase avantaje precum: eficiența crescută a efectului terapeutic prin acțiunea aditivă sau sinergică la o parte din pacienți; reducerea efectelor secundare, rezultată din utilizarea unor doze mai mici de substanțe active cu reacții adverse diferite, creșterea tolerabilității medicației și complianței pacienților la tratament. Asocierea de agenți activi, cu acțiuni complementare la nivelul organelor-țintă, poate fi de asemenea benefică [20, 21, 31]. Putem prezenta numeroase exemple de medicamente combinate, utilizate cu succes în farmacoterapia actuală în diverse domenii clinice (cardiologie, ginecologie, pneumologie, gastrologie, afecțiuni inflamatorii ale rinofaringelui etc.) precum: amoxicilina și acidul clavulanic, paracetamolul și acidul acetilsalicilic, cinarizina și dimenhidrinatul, losartanul și hidroclorotiazida etc. [40, 187]. Pentru farmacologia clinică sunt de o mare perspectivă preparatele complexe noi, inclusiv cu componenți adaptogeni și biostimulante. Produsele combinate pot produce efect terapeutic maxim, cu doze minime [61].

În Republica Moldova, elaborarea și cercetarea farmacologică a produselor medicamentoase combinate s-au efectuat sub tutela ilustrului profesor Efim Muhin, începând cu anii '70 ai secolului precedent, la Catedra farmacologie a USMF „Nicolae Testemițanu”, în perioada respectivă fiind Institutul de Stat de Medicină din Chișinău. Ulterior, direcția respectivă de cercetare a fost dezvoltată în cadrul Centrului Farmaceutic Științific și de Producție al MS RM (1991-1995) și apoi la Institutul Național de Farmacie (1996-2005), sub conducerea regretatului profesor Boris Parii, discipol al savantului Efim Muhin. În perioadele respective au

fost elaborați: clatratul strofantinei cu heparină, aspirinei și hexametilentetraminei, a fost implementat aspicorglicoturonul (un produs medicamentos combinat care conținea aspirină solubilă, glicozid cardiac și izoturon, cu utilizare în diverse forme de șoc), precum și alți compuși farmacologici combinați [51, 59]. Din 2007, elaborarea produselor medicamentoase combinate cu indicații, inclusiv în domeniul maladiilor ORL, este efectuată în cadrul Centrului Științific al Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu” [69].

Afectarea aproximativ a oricărui sistem al organismului uman poate determina alterarea funcției auditive [21, 37]. În analogie cu complicațiile altor sisteme de organe (insuficiența cardiovasculară, insuficiența respiratorie, insuficiența renală), surditatea de percepție de asemenea poate patogenetic fi interpretată ca insuficiență auditivă [21, 25].

Medicația ototoxică sau alte substanțe ototoxice sunt cauzele apariției SSN și a tinnitului subiectiv (zgomote auriculare). În mod curent, un număr mare de grupe de medicamente include una sau mai multe componente cu proprietăți ototoxice [23, 97, 298].

Terapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii acute și cronice sunt indispensabile de valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide. Numărul de surse cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor, nivelul redus de asimilare sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor în ameliorarea diverselor situații clinice. Întru soluționarea problemei în cauză, oportună poate fi utilizarea produselor combinate polifuncționale cu eficiență clinică și inofensivitate demonstrată [21, 24, 28].

Utilizarea plantelor medicinale în scop terapeutic are o vechime de milenii și o eficiență deja dovedită [23]. Printre avantajele ei figurează: accesibilitatea (plantele sunt ușor de procurat și ieftine), acțiunea blândă și lipsa efectelor adverse (când se respectă dozele adecvate), tratarea complexă a bolnavului (plantele au efecte fizice și psihoemoționale și echilibrează organismul la toate nivelele). Se cunoaște și multitudinea de beneficii terapeutice ale produselor de origine vegetală, inclusiv cu acțiune antibacteriană, în tratamentul otitelor, printre care: favorizează regenerarea și cicatrizarea tegumentului conductului auditiv extern, facilitează și potențează eficacitatea curățării urechilor, diminuează aderarea secreției de pereții CAE, reglează formarea secreției, stopează înmulțirea microorganismelor, menține proporțiile fiziologice naturale, previne otita, care poate apărea prin contactul secreției auriculare cu apa. Produsele de origine vegetală sunt indicate pentru toate categoriile de vârstă [43]. Plantele medicinale pot avea efecte benefice în tratarea otitelor și a simptomelor care le însoțesc.

Ținând cont de particularitățile farmacoterapeutice ale principiilor active, produsul respectiv are un potențial de utilizare în tratamentul medicamentos al maladiilor din sfera



organelor ORL, inclusiv afecțiunile inflamatorii, traumatisme, plăgi, combustii ale urechii externe – ale pavilionului urechii și conductului auditiv extern [2, 74]. În Republica Moldova, prevalența generală prin bolile urechii constituie anual 105,3 la 10 000 de locuitori [5].

Conform datelor din literatură, cca 1,5-4% din populație suferă de diferite forme ale otitei medii cronice. Până la 30% din populație, cel puțin o dată în viață, a suferit un puseu de otită medie acută. Ponderea pacienților cu mezotimpanită cronică supurată este de 65-67%; cu epitimpanită cronică supurată – de 26-31%, iar 2-7% dintre pacienți dezvoltă „maladia urechii operate” după epi-mezotimpanită, din numărul total de otite medii supurate cronice [5, 29]. În România sunt raportate anual peste 130000 de cazuri de otită medie la copii [134].

Odată ce rata rezistenței bacteriene la antibiotice a crescut, un număr important de cazuri nu răspund la tratament (rezistență de peste 60% la tratamentul clasic cu peniciline) și de aici reiese necesitatea critică de molecule și produse noi (42). Studii recente denotă faptul că cele mai multe cazuri de otită medie sunt provocate de infecții cu *Streptococcus pneumoniae* (70%), care prezintă și cea mai mare rezistență la antibiotice, urmat de *Haemophilus influenzae* (21%), *Streptococcus pyogenes* (4,5%) și *Moraxella catarrhalis* (1,8%), în timp ce otitele externe pot fi de natură bacteriană (*Staphylococcus aureus* (50%), *Staphylococcus aureus* meticilinorezistent (10%) și *Pseudomonas aeruginosa* (30%) sau fungică (*Candida* spp. și *Aspergillus* spp.) [134, 192].

Farmacoterapia afecțiunilor inflamatorii din sfera organelor ORL include utilizarea combinată a remediilor antibacteriene, imunomodulatorii, simptomatice, regenerative etc. [2]. Volumul indicațiilor terapeutice depinde de etapa maladiei: în faza acută se efectuează preponderent farmacoterapie etiotropă și simptomatică, inclusiv cu preparate combinate; în faza subacută – diverse manipulări invazive și terapie medicamentoasă, cu includerea în complex a imunomodulatorilor; în cazul unui proces cronic se adaugă metodele chirurgicale și remediile medicamentoase complexe [184]. Astfel, intensitatea și calitatea terapiei la fiecare etapă determină succesul tratamentului.

Conform OMS, rezistența microbiană la antibiotice reprezintă o preocupare de nivel global, deoarece noi mecanisme de rezistență sunt în curs de dezvoltare și se răspândesc, amenințând capacitatea omenească de a trata eficient bolile infecțioase, având ca rezultat prelungirea bolii, invaliditate.

Administrarea locală a produselor medicamentoase este una dintre cele mai inofensive. Astfel de administrare este fiziologic primordială, deoarece în acest caz se tratează numai organul-țintă și se evită în mare parte efectele adverse sistemice. Pentru tratamentul local al

proceselor inflamatorii din urechea medie sunt necesare principii active, cu afinitate sporită, deoarece prin membrana timpanică pătrunde numai o parte a medicamentului [183].

În funcție de etiologia, de patogenia și localizarea maladiei, una dintre cele mai des utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul otitelor sunt picăturile auriculare [2, 55]. În ultimii ani, pe piața farmaceutică autohtonă a apărut un număr mare de medicamente sub formă de picături auriculare, dar majoritatea sunt de sinteză și au o contraindicație – perforația membranei timpanice. În același timp, în țară există doar un singur producător autohton, care produce o singură denumire de picături auriculare [21, 189].

În tratamentul otitelor se utilizează picături ce conțin, ca principii active, atât substanțe de sinteză, cât și cele naturiste, dar nu am întâlnit o combinație de aceste principii într-o formă farmaceutică. Valorificarea compușilor de origine sintetică cu acțiune antimicrobiană, prin combinarea acestora cu produse de origine vegetală, reprezintă o direcție actuală în elaborarea noilor preparate combinate pentru tratamentul maladiilor inflamatorii.

Uleiurile esențiale pot să deterioreze lipidele și proteinele. Deteriorarea peretelui celular și a membranei poate cauza scurgerea macromoleculelor și lizarea lor. Uleiurile esențiale derivate din plante sunt cunoscute a fi active împotriva unei largi varietăți de microorganisme. Efectele citotoxice au fost observate *in vitro* la majoritatea bacteriilor patogene gram-pozitive și gram-negative, în general, prin metoda difuziei discului sau prin metoda de diluare [55, 100].

Așadar, noi am reușit să elaborăm și să evaluăm farmacologic preclinic un produs medicamentos combinat, care conține substanțe active de sinteză și naturiste, cu indicații atât în otitele neperforative, cât și în cele cu perforația membranei timpanice. Produsul cu denumirea de lucru CB 12, picături auriculare, reprezintă o combinație [77] de ciprofloxacina clorhidrat, ulei volatil de busuioc, indicat în afecțiunile inflamatorii nesupurate și supurate ale urechii externe și urechii medii (Certificat de inovator nr. 5308 din 15.02.2014, IP USMF „Nicolae Testemițanu”).

Ciprofloxacina este un antibacterian fluorochinolon, cu spectru larg de acțiune, activ față de un număr mare de germeni patogeni. Mecanismul de acțiune constă în blocarea ADN-girazei microorganismelor sensibile și a replicării ADN-ului. Fluorul este responsabil de extinderea spectrului antibacterian pentru gram-negativi și a spectrului la gram-pozitivi. Ciclul piperazinic face preparatul activ contra pseudomonadelor.

Busuiocul (*Ocimum basilicum*) este o plantă din familia *Lamiaceae* și manifestă numeroase efecte terapeutice. Posedă acțiune antiinflamatorie, regenerativă, calmantă, antipiretică, ușoară anestezică etc. Este utilizat inclusiv în tratamentul afecțiunilor aparatului respirator superior și inferior [14, 18]. Ca rezultat al cercetărilor farmaceutice ale principiilor active - ciprofloxacina, ulei de busuioc (modificat la vâscozitatea de soluție pentru comoditatea

administrării locale în conductul auditiv extern) și a combinației lor, a fost elaborat un nou produs medicamentos, cu acțiune polivalentă pentru tratamentul otitelor externe și otitelor medii. Pentru prima dată s-a propus, sub formă de picături auriculare, combinația dintre un antibacterian fluorochinolon și un remediu naturist în tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii [77].

Studiile efectuate pe modele de infecții animale au demonstrat faptul că anumite teste și parametri farmacocinetici, cum ar fi corapoartele ASC/MIC și C<sub>max</sub>/MIC, sunt predictorii buni ai eficacității antimicrobiene a fluorochinolonelor. Antibioticele chinolone prezintă o activitate bactericidă, dependentă de concentrație: cu cât este mai mare concentrația medicamentului, cu atât mai mare este activitatea bactericidă pe care o reprezintă. Ratele de AUC/MIC și C<sub>max</sub>/MIC pentru douăzeci de ore egale cu 125 și, respectiv 12, sunt parametrii optimi pentru a prezice o eficacitate bacteriologică și clinică bună împotriva infecțiilor gram-negative pentru fluorochinolone.

Absorbția substanțelor medicamentoase din picăturile auriculare depinde atât de concentrația acestora, cât și de durata de contact a țesutului extern cu produsul medicamentos. Deoarece medicamentul este îndepărtat prin eliminarea fluidului și/sau absorbția în țesutul urechii, substanța activă se furnizează din vehicul polimeric. Astfel, utilizarea unui vehicul polimeric în picăturile auriculare CB-12 facilitează încărcarea țesutului otic, având în vedere rata de penetrare tipică lentă și redusă a antibioticelor insolubile în apă.

Analiza calitativă (identificare și puritate) a CB-12 a fost efectuată prin metode chimice (reacții de identificare a substanțelor active) și metode fizico-chimice: spectrofotometria UV-VIS și HPLC. Pentru analiza cantitativă a substanțelor medicamentoase din CB-12, s-au elaborat și validat metodele: spetrofotometrică UV și HPLC. Acestea au fost lineare, selective, exacte, precise și robuste [99].

Cercetările farmaceutice au demonstrat compatibilitatea ciprofloxacinei și uleiului de busuioc prin metode exacte și sensibile – spectrofotometria UV (*ultraviolet*), HPLC (*cromatografia lichidă de înaltă performanță*) și GC (*cromatografia de gaze*) –, ceea ce semnifică faptul că substanțele nu interferează și pot fi asociate în aceeași formă farmaceutică. Studiile de preformulare au contribuit la elaborarea formulei optime și a tehnologiei de preparare pentru picăturile auriculare. În acest sens au fost elaborate metodele de analiză și standardizare a principiilor active din picăturile auriculare; metoda spectrofotometrică în UV de dozare a ciprofloxacinei a fost validată [101].

Scopul oricărui medicament constă în manifestarea efectului terapeutic după administrare. De aceea, este extrem de important ca produsul să aibă un conținut corespunzător de substanță activă și să mențină proprietățile specifice ale substanțelor auxiliare până la depășirea termenului

de valabilitate. Astfel este important ca medicamentul elaborat să fie testat din punctul de vedere al stabilității în timp. Stabilitatea unui medicament reprezintă, alături de eficacitate, puritate și inocuitate, un factor important în asigurarea calității acestuia. Un medicament poate fi administrat doar dacă nu mai mult de 10% din substanța activă a suferit degradări, iar produșii de degradare nu sunt toxici. Un medicament se consideră stabil atât timp cât modificările apărute nu depășesc valorile prevăzute în specificațiile de normare ale calității. Testele de stabilitate a picăturilor auriculare CB-12 au determinat un termen de valabilitate de 24 de luni.

Produsul CB-12 a fost standardizat în baza regulamentelor farmaceutice, după următorii parametri: descriere, omogenitate, pH, proprietăți reologice, sterilitate, dozare și stabilitate. În urma studiilor de stabilitate prin metoda clasică, în timp real a fost determinat termenul de valabilitate de doi ani.

Față de picăturile auriculare care se introduc în urechea medie sunt cerințe speciale de sterilitate: ele trebuie să fie izoosmotice ori să aibă presiune osmotică cuprinsă între valorile de 260 și 460 mOsm. CB-12 se încadrează în cerințele respective.

Rezultatele farmacologice indică toxicitate redusă (clasa de toxicitate 5-LD<sub>50</sub> = 2500 mg/kg) a preparatului studiat și pot servi ca premisă pentru continuarea cercetărilor farmacologice de evaluare a eficacității și inofensivității, precum și planificarea studiului clinic al preparatului CB-12 (29, 32). În cadrul cercetărilor microbiologice s-a constatat că produsul CB-12 a manifestat activitate antibacteriană înaltă față de toate test-culturile bacteriene cercetate, microorganisme gram-pozitive și gram-negative. Uleiul volatil de busuioc potențează activitatea ciprofloxacinei în combinație. Picăturile auriculare CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacina, față de unele tulpini bacteriene (*S. aureus* (t.209); *Ps. aeruginosa* (t.ATCC 27853) și *E. faecalis* (t.ATCC 19433)).

În cadrul CȘM al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, în colaborare cu Compania farmaceutică SC „CSK Grup Plus”, a fost evaluat, farmacologic preclinic, un produs medicamentos combinat – Flamena, gel. Producător - „Standart SRL” (Federația Rusă). Forma de prezentare farmaceutică - gel în dispersator. Compoziția la 50 ml: glicină – 1500 mg, dihidroquercitină – 150 mg, lecitină – 1000 mg, sanguiritină – 4 mg. Produsul farmaceutic Flamena, gel, cu indicație în procesele inflamatorii acute și cronice ale mucoaselor, inclusiv de utilizare în otita externă, în cadrul cercetărilor farmacologice de inofensivitate, de asemenea manifestă toxicitate acută redusă, fiind clasificat în clasa de toxicitate 5, și doza letală medie, care provoacă decesul a 50% din numărul animalelor experimentale (LD<sub>50</sub>) > 2500 mg/kg – *practic netoxic*. Rezultatele cercetării toxicității subcronice, de asemenea, au remarcat toxicitatea redusă a produsului studiat [66, 76]. Alcaloizii de sanguiritină se conțin în planta *Macleaya*

*cordata Will.*, care se caracterizează prin activitate antimicrobiană față de bacteriile gram-pozitive și gram-negative. De asemenea, posedă acțiune antimicotică [13, 249, 254].

În concluzie, o direcție importantă pentru tratamentul maladiilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii constituie elaborarea și utilizarea în practica medicală a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Astfel, produsele Flamera, gel, și CB-12, picături auriculare, care, datorită proprietăților sale antimicrobiene, antiinflamatorii, regenerative, prezintă interes în tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și celei medii. Afecțiunile inflamatorii ale urechii – otitele externe și medii – sunt boli semnificative din punct de vedere socioeconomic, deoarece se dezvoltă preponderent la copii și adulți de vârstă activă. Farmacoterapia combinată este cea mai reușită metodă de tratament a otitelor. Elaborarea noilor produse combinate pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii este oportună și vine să completeze arsenalul de remedii pentru combaterea acestor maladii.

Surditatea senzorieală (SSN) se manifestă clinic prin deficiență auditivă de tip percepție și/sau acufene (zgomot auricular). Antrenarea, în procesul patologic, și a fibrelor porțiunii vestibulare a nervului cranian VIII, provoacă apariția simptomaticei vestibulare odată cu cele auditive: vertij, nistagm și dereglări de echilibru. SSN afectează procesul de percepere a sunetelor [69]. Din punctul de vedere al evoluției clinice, SSN se clasifică în: acute, subacute și cronice.

Substratul anatomic al SSN este situat nu la nivelul urechii externe și al celei medii, ci la nivelul urechii interne (organul Corti), nervului auditiv, centrilor nervoși subcorticali și corticali [21, 37]. Deci SSN poate fi cohleară, retrocohleară și centrală. Majoritatea leziunilor cohleare debutează prin lezarea celulelor ciliate externe (în special a leziunilor ototoxice, traumei sonore, presbiacuziei etc). Aspectul patomorfologic principal al SSN cohleare (peste 90% din cazuri) este procesul distrofic și apoptoza celulelor ciliate ale organului Corti, care deseori este reversibil în cazul farmacoterapiei precoce (îndeosebi la formele acute și subacute de SSN). La rândul său, medicația afecțiunilor cardiovasculare, a sistemului nervos central și a celui endocrin, corijarea statusului imun, concomitent, sunt și tratamentul profilactic de prevenire a agravării SSN cronice (metoda de recuperare auditivă de bază a căreia este protezarea auditivă și implantul cohlear [21, 37].

Se consideră că cele mai importante cauze ale SSN acute sunt: infecțiile, afectarea autoimună, ototoxicitatea, traumatismele, dereglările de circulație și bolile neurologice. În multe cazuri nu poate fi identificată o cauză determinantă [203]. În astfel de situații vorbim de o surditate brusc instalată idiopatică. Survine afectarea celulelor ciliate din urechea internă,

responsabile de transformarea vibrațiilor sonore în stimul nervos. În funcție de durata acțiunii cauzei care a produs surditatea și de precocitatea tratamentului, afectarea acestor celule poate fi tranzitorie sau definitivă [56, 67, 69, 75].

În patogeneza afecțiunilor circulației cerebrale, inclusiv ale porțiunilor analizatorului auditiv, un rol important îi revine endoteliului vascular, substanțelor endogene biologice active și microcirculației. Ca rezultat al ocluziei arterelor cerebrale, se reduce fluxul sangvin și aprovizionarea cu substanțe energetice ce cauzează lezarea neuronală. Ischemia cerebrală, la rândul ei, provoacă micșorarea conținutului de ATP, hipoxia stimulează trecerea la glicoliza anaerobă pentru menținerea sintezei de ATP. Ca rezultat al epuizării substanțelor energetice, se dereglează transportarea ionilor prin membrana celulară, suferă pompa Na-K, se produce depolarizarea membranei celulare și un influx al ionilor de Ca din lichidul interstițial în celulă, care, la rândul ei, cauzează necroza celulară.

Principiile de bază ale tratamentului SSN acute sunt: eliminarea factorului etiologic; începerea tratamentului în termen cât mai precoce de la debutul bolii, care să includă: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; terapia de deshidratare labirintică, detoxicare și hiposensibilizare; ameliorarea metabolismului urechii interne; îmbunătățirea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase; diminuarea excitabilității sistemului nervos central și a celui vegetativ [2, 17, 21, 67, 69, 193]. Dinamica fenomenelor patologice în focarul ischemic al AA creează premise pentru administrarea oportună a medicamentelor ce vor restabili microcirculația și vor susține o corelație optimă a metabolismului cerebral și a fluxului sangvin la diverse etape patofiziologice și vor crește rezistența zonei afectate a AA la ischemie. Medicamentele de prima linie, utilizate în tratamentul SSN (luând în considerație mecanismele de acțiune celulară a factorilor declanșatori), sunt: vasodilatatoare cerebrale, nootrope, antioxidante, vitamine, diuretice, corticosteroizi. Medicamentele pătrund în urechea internă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transport, fie prin dizolvare în endoteliul capilar [4, 7, 11]. Scopul principal al tratamentului tulburărilor sensorineurale ale AA constă în diminuarea și preîntâmpinarea agravării ulterioare a proceselor patologice ce provoacă instalarea deficienței auditive.

Actualmente, se utilizează și introducerea intratimpanică a preparatelor farmacologice [12, 20]. Traversarea barierei hematolabirintice de către medicamente depinde de caracteristicile chimice ale acestora. Medicamentele, cu greutate moleculară sau încărcătura electrică înaltă, traversează cu dificultate în mod pasiv [4, 20]. Liposolubilitatea sporită facilitează trecerea. Medicamentele care se leagă de proteine, traversează mai greu. Potențialul pozitiv neobișnuit din *scala media* a urechii interne (care conține endolimfă) îngreunează suplimentar trecerea

medicamentelor încărcate pozitiv, deoarece acestea au de înfruntat un gradient electric invers (4). Tratamentul SSN este caracteristic prin: administrarea preparatelor din diverse grupuri farmacologice, asocierea combinată a medicamentelor, utilizarea medicamentelor cu potențial efect ototoxic (diuretice, antiinflamatorii, antibacteriene), în special pentru tratamentul formelor acute. Aspectele menționate indică necesitatea studiilor privind elaborarea și utilizarea produselor combinate în farmacoterapia SSN [67].

În formele de SSN cronice sau ireversibile, care nu beneficiază de tratament preventiv sau curativ, se recurge la proteză auditivă sau implant cohlear. Deși nu există încă un tratament eficient unanim acceptat, în medicația SSN se utilizează câteva grupe de preparate, în funcție de etiologia bolii. [5, 18, 29, 39]. Schema terapeutică trebuie individualizată în funcție de comorbiditățile asociate, de istoricul fundamentat farmacologic și de terenul biologic al pacientului: în cazul afecțiunilor cardiovasculare, schema terapeutică trebuie completată cu tratamentul cardiologic; în cazul pacienților diabetic, se administrează antidiabetice orale sau insulinoterapie; în cazul pacienților hipotiroidieni, se indică tratament de substituție hormonală, iar la dislipidemie se recomandă tratament hipolipemiant, cu analiza și tratamentul sindromului antifosfolipidic etc.

Agenții terapeutici, cel mai frecvent utilizați în tratamentul SSN, sunt: vasodilatatoarele – îmbunătățesc cantitatea de oxigen adusă la cohlee de către fluxul sangvin; antiinflamatoarele/agenții imunologici; remediile nootrope – exercită o influență pozitivă asupra metabolismului neuronal; antioxidanții – protejează nervul cohlear de acțiunea radicalilor liberi (acidul alpha-lipoic, N-acetilcisteina, extracte de Ginkgo biloba, păducel și alte suplimente alimentare); oxigenoterapia hiperbară – este utilizată, întrucât permite creșterea fluxului de oxigen la cohlee (Carbogen (95% O<sub>2</sub> și 5% CO<sub>2</sub>), Oxigenul hiperbar); alți agenți și proceduri adjuvante: Vit. A, E (Tocoferol), Acupuntura, Fier, Procaina, Coenzima Q10, Zn, Mg [69, 188].

În farmacoterapie este salutară administrarea principiilor cunoscute din punct de vedere biochimic, deoarece cele mai inofensive sunt produsele endogene, care fac parte din organismul uman. În acest caz nu se dezvoltă conflictul imun și se pot prognoșta reacțiile farmacologice la medicament, în concordanță cu mecanismele fiziologice și biochimice cunoscute [184].

Astfel, ideea unei etiologii vasculare a surdității brusce instalate, ca fiind una dintre cele mai probabile, cunoscută fiind vascularizația de tip terminal a cohleei și dependența acesteia de un singur ram terminal al arterei labirintice, precum și afectarea directă a nervului auditiv în hipoacuzia neurosenzorială, au condus la asocierea unui agent vasodilatator cu efect nootrop (glicina), precum și potențarea acțiunii acestora prin asocierea cu un antioxidant de origine vegetală, cu tropism asupra celulelor neuronale – dihidroquercetina.

Produsul medicamentos combinat, Flamena, emulsie orală, este original prin faptul că la bază are un complex liposomal antioxidant-fosfolipidic, datorită căruia medicamentul posedă proprietăți biologice polivalente. Ca principii active, conține glicina și dihidroquercitina [76, 78].

Dihidroquercitina (taxifolin) este un flavonoid derivat din tulpina copacilor *Larix sib.*, *Larix dahurica*. Dihidroquercitina posedă următoarele acțiuni terapeutice: antioxidantă, capilaroprotectoare, regeneratoare, detoxifiantă și antiinflamatoare [235, 249]. Aminoacidul glicina (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor și reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos, manifestă acțiune neuroprotectoare [14]. Glicina influențează pozitiv asupra metabolismului cerebral, mărește consumul glucozei, viteza circuitului ATR și ARN, contribuie la sinteza fosfolipidelor, activează procesele respiratorii în mitocondrii. Glicina ameliorează structura neuronilor, în special asupra membranei celulare și nucleare, aparatului lizozomal, mitocondriilor, ribosomilor. Lecitina este o fosfolipidă și participă la constituirea membranelor celulare la nivelul celulelor nervoase. În cazul deficitului de lecitină, se reduce eficiența acetilcolinei în țesutul nervos. Lecitina participă la restabilirea activității funcționale a celulelor endoteliale, la sinteza și eliberarea factorului de relaxare endotelial, îmbunătățește microcirculația și proprietățile reologice ale sângelui. Lecitina inhibă procesele de peroxidare a lipidelor în sânge și țesuturi, susține activitatea sistemelor antioxidante ale organismului, manifestă acțiune membrano-protectoare [21]. Produsul Flamena provoacă efect vasodilatator, cauzat de inhibiția fosfodiesterazei, cu creșterea concentrației de AMPc în musculatura vaselor. De asemenea, efectul de vasodilatație se datorează reducerii captării adenozei în celulele cerebrale. Flamena intensifică transferul glucozei în creier și metabolismul ei, crește formarea de ATP, contribuie la modificări pozitive în lanțul respirator și utilizarea oxigenului, îmbunătățește circulația cerebrală, reduce fluxul de kalium în SNC, intensifică includerea fosforului în fosfolipidele neurogliei.

*Acest produs medicamentos manifestă o acțiune antihipoxică, crește viteza difuziei oxigenului în țesuturi, normalizează procesele respirației tisulare, îmbunătățește activitatea funcțională a celulelor endoteliale, contribuind la ameliorarea microcirculației și parametrilor reologici. Rezultatele toxicității acute și subcronice au permis continuarea studiilor de determinare a eficacității și inofensivității, precum și pentru planificarea ulterioară a strategiei studiului clinic [6, 41, 42]. Luând în considerare potențialul antitoxic și citoprotector, devine promițătoare utilizarea produsului Flamena, emulsie, în tratamentul farmacologic al SSN la pacienții cu SSN după chimio- și radioterapie. Rezultatele investigațiilor hematologice, biochimice și imunologice au demonstrat eficacitatea statistic semnificativă a produsului, în comparație cu lotul studiat și cel martor [47]. În urma administrării emulsiei Flamena în doza de*



100 ml, indicii hemoglobinei în loturile de studiu s-au majorat de la  $110 \pm 0,71$  până la  $116,0 \pm 1,28$  g/L ( $p \leq 0,05$ ) și, respectiv, de la  $109,44 \pm 0,43$  până la  $120,18 \pm 0,4$  g/L ( $p \leq 0,05$ ), iar în loturile de control nu s-a determinat o diferență statistic semnificativă,  $p > 0,05$  [30]. Emulsia Flamena, 100 ml, posedă proprietăți detoxifiante evidente: micșorează bilirubina totală cu  $1,1 \pm 0,3$  ( $p < 0,05$ ), îmbunătățește indicii sistemului de peroxidare a lipidelor: glutationperoxidazei – cu  $1,1 \pm 0,02$  mM/L, catalazei – cu  $2,05 \pm 0,07$  mM/L, ceruloplasminei – cu  $53,3 \pm 1,2$  mg/dL, dialdehidei malonice – cu  $0,7 \pm 0,04$  mM/L, hidroxipiroxizilor lipidici, activității antioxidante totale – cu  $1,1 \pm 0,03$  mM/L [47].

Produsul medicamentos Flamena (emulsie, 100 ml) a manifestat o acțiune specifică imunomodulatoare prin ameliorarea și creșterea indicilor imunologici, chiar și a celor care inițial au fost denaturați. Acest fapt argumentează administrarea emulsiei în combinație cu preparatele citostatice și chimioterapeutice, cu radioterapia și de sine stătător, în calitate de imunomodulator specific. A fost înregistrată creșterea nivelului imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM, IgE în medie cu  $0,8 \pm 0,05$  ( $p < 0,05$ ). S-a stabilit o acțiune benefică asupra imunității celulare. S-a atestat majorarea indicilor imunității celulare, anticorpilor monoclonali CD<sub>3</sub>, CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub>, CD<sub>16</sub> în medie cu  $0,4 \pm 0,02$  ( $p < 0,05$ ) și intensificarea activității de fagocitare a neutrofilelor [47].

Rezultatele studiului efectuat au demonstrat că emulsia Flamena este practic netoxică și nu posedă proprietăți cumulative. Administrarea îndelungată a produsului medicamentos elaborat nu cauzează dezvoltarea proceselor toxice în organismul animalelor [26, 27]. Studiile clinice de fazele 1 și 2 au înregistrat indicii farmacocinetici și farmacoterapeutici [15, 41]. A fost demonstrată eficacitatea produsului Flamena, emulsie, în tratamentul bolnavilor cu cancer după chimio- și radioterapie [15, 21].

Datele studiilor preclinice cu modelarea SSN pun în evidență efectul otoprotector al produsului Flamena. A fost constatată îmbunătățirea indicilor reflexului Preyer și a otoemisiunilor acustice, care indică funcția adecvată a organului auditiv. Rezultatele obținute în urma determinării inofensivității și eficacității produsului Flamena pe animale de laborator, cu modelarea SSN, pot servi ca bază pentru inițierea unor studii clinice postautorizare (faza a patra) în vederea determinării efectului benefic al produsului studiat în tratamentul complex al SSN [21, 202].

La șapte paciente cu SSN din loturile care au administrat Flamena în cadrul studiului clinic la Clinica de Oncologie au fost supuse investigațiilor audiologice până la și după administrare (certificat de inovator – Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorieurale ale analizatorului auditiv, nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu”). Au fost efectuate: audiometria tonală liminară, audiometria tonală supraliminară (proba *Short Increment*

*Sensitivity Index* – determinarea nivelului de disconfort), tinnitus-audiometria. Rezultatele indică o îmbunătățire a pragului auditiv, majorarea diapazonului dinamic al auzului și micșorarea intensității acufenelor cu până la 10-15 dB. Deci produsul Flamena, emulsie, poate fi utilizat în tratamentul complex al SSN acute, subacute și în tratamentul de menținere a SSN cornice, datorită proprietăților antioxidante, detoxifiante, metabolice și angioprotectoare [47]. Produsul Flamena asigură efectul terapeutic prin: creșterea fluxului cerebral; ameliorarea microcirculației cerebrale, inclusiv al urechii interne; intensificarea metabolismului în creier.

Datorită efectului vasodilatator al produsului Flamena, ameliorării microcirculației și proprietăților reologice, se restabilesc procesele metabolice și energetice în creier; se intensifică utilizarea oxigenului și glucozei, care contribuie la creșterea rezistenței la hipoxie. Efectul antioxidant face să predomine reacțiile aerobe de scindare a glucozei cu preîntâmpinarea acidozei.

În ultimele decenii, nanotehnologia și-a găsit numeroase aplicații în sfera medicinei și farmaciei. Nanoparticulele sunt particule a căror dimensiune variază între 1 și 100 de nanometri (nm). Medicamentele pătrund spre țesuturile sau celulele-țintă prin utilizarea nanoparticulelor special preparate. Nanoparticulele „încărcate” cu agenți terapeutici pot fi astfel protejate pentru a spori efectul terapeutic, devin rezistente la sucul gastric și capabile să transporteze substanțele active cu care sunt cuplate direct în circulația sangvină. Prin introducerea nanoparticulelor transportatoare ale substanțelor farmaceutice, se tinde spre o maximizare a biodisponibilității, atât din punctul de vedere al țesutului-țintă, cât și din punctul de vedere al perioadei de timp în care se eliberează substanța activă. Nanoparticulele pot transporta medicamentele în mediul intern al celulei fără a produce efecte adverse, întrucât ele devin active numai la atingerea „țintei” finale [74].

Pentru prima dată, nanoparticulele au fost sintetizate în 1963 și aplicate în diverse tehnologii industriale. O particularitate semnificativă a nanoparticulelor este că ele pătrund în membrana celulară și pot precipita la suprafața sferică a mai multor celule substanțe biologice active, medicamente, polimere etc. Aceste caracteristici au stat la baza aplicării nanoparticulelor cu scop de dezintoxicare și drept conductoare [74].

Produsul Merion reprezintă o combinație echilibrată de vitamine, minerale, nanoparticule, cu acțiune antioxidantă și alte efecte polivalente, și constituie o sursă echilibrată de compuși necesari pentru metabolismul uman în caz de carențe, afecțiuni cronice, supraefort fizic și intelectual (28). Contribuțiile Zn în funcția normală a AA sunt următoarele: CO - participă la metabolismul vitaminei A, manifestă efect antioxidant prin participarea la complexul Cu-Zn superoxid-dismutaza și, astfel, protejând lipidele de POL. Fermentații care conțin Zn participă la

metabolismul proteic și colagenul la CC (celulelor ciliate). Zn participă la procesul de mielinizare a axonilor, manifestând efect neuroprotector la NA [206].

Așadar, formarea radicalilor liberi reprezintă un rol de bază în dezvoltarea SSN. Este demonstrat faptul că administrarea antioxidantelor (vitaminele A, C, B, microelementele Zn, Mg) manifestă efect otoprotector. În cazul SSN brusc instalate, vitaminele A, C și E majorează efectul terapeutic. Este dovedită corelarea între administrarea micronutrienților antioxidanți și deficiența auditivă. Administrarea zilnică a antioxidantilor (A, C, E, Mg) se soldează cu ameliorarea scorului vocal și percepției sonore la frecvențe înalte [201]. De asemenea este demonstrat faptul că administrarea combinată a micronutrienților antioxidanți este mai efectivă decât administrarea separată a lor. Produsul Merion, prin componența sa, poate manifesta efect otoprotector în tratamentul afecțiunilor AA.

Rezultatele studiului de inofensivitate denotă toxicitate acută și toxicitate cronică redusă atât la administrarea enterală, cât și la cea parenterală a produsului Merion. Aceasta poate servi drept premisă pentru continuarea studiilor preclinice de determinare a eficacității, cu planificarea ulterioară a studiilor clinice pentru produsul Merion (suspensie 100 ml). În urma cercetărilor farmaceutice, a fost elaborat un nou produs combinat cu acțiune polivalentă. Pentru prima dată se propune combinația dintre vitamine, microelemente și nanoparticule de Zn sub formă de suspensie [74].

Peroxidarea lipidică (POL) este un mecanism autocatalitic, care cauzează alterarea oxidativă a membranelor biologice. Dereglarea echilibrului POL accelerează reacțiile de oxidare peroxidică a lipidelor în membranele biologice și reprezintă unul dintre factorii fundamentali în patogenia multipleror stări patologice: hiperoxie, hipoxie, hiper- și hipotermie, suprasolicitări fizice, combustii, hepatotoxicitate, ototoxicitate, ischemie, anemie hemolitică, ateroscleroză, diabet, inflamații etc. [6, 11, 21]. Numeroși factori, atât de origine genetică, cât și non-genetică, în opinia noastră, sunt implicați în creșterea nivelelor celulare de specii reactive de oxigen, peste capacitatea mecanismului de apărare antioxidantă. Acești factori induc deteriorarea celulară oxidativă a lipidelor, proteinelor și a ADN-ului, ceea ce cauzează o creștere și diferențiere anormală neuronală. Perturbările sistemului antioxidant și prezența stresului oxidativ au un rol definitoriu în cazul mecanismelor biochimice implicate în SSN. Astfel, în patogenia SSN, un rol deosebit îi revine dezechilibrului POL [208, 210]. În acest context, administrarea antioxidantilor este bine venită în farmacoterapia SSN.

În același timp este demonstrată acțiunea factorilor din exterior asupra decurgerii severității SSN precum: medicamentele ototoxice, traumatismul sonor acut și cronic, infecțiile virale

bacteriene, infecțiile virale, inclusiv hepatitele cronice și encefalopatia, în cadrul cirozei hepatice etc. [149].

În procesul evoluției ischemiei în neuronii cerebrați, inclusiv ale AA, se dereglează sinteza neuromediatorilor, precum și a unor aminoacizi ce îndeplinesc această funcție. În creier crește conținutul de acid gama-aminobutiric, dar se micșorează concentrația de glutamat și aspartat. Se constată diminuarea sintezei dopaminei și norepinefrinei, iar eliberarea serotoninei crește substanțial. Totalitatea reacțiilor fiziopatologice cauzează dereglarea autoreglării circulației cerebrale, spasmul vaselor, accelerarea agregării trombocitelor și staza intravasculară. Aceste procese agravează gradul ischemiei în structurile urechii interne, centrilor nervoși auditivi subcorticali și corticali, ea devenind în multe cazuri ireversibilă. Astfel, luând în considerare mecanismele fiziopatologice de dezvoltare a focarului ischemic pe parcursul farmacoterapiei, se poate recurge la preparate din diverse grupe farmacologice cu diverse mecanisme de acțiune. Unele dintre acestea posedă efecte polivalente și sunt în stare să influențeze asupra mai multor verigi patogenetice ale SSN.

Produsul medicamentos combinat Neamon-hepa (capsule, 834 mg), elaborat în cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu”, conține următoarele *substanțe active*: aspartat de arginină, spironolactonă și produsul indigen BioR pentru prima dată propuse sub forma unei combinații fixe de medicamente [219]. Modul de preparare a formei farmaceutice Neamon-hepa, capsule: cântărirea și măsurarea volumului componentelor, impregnarea lactozei cu soluția BioR, uscarea lactozei cu BioR și pulverizarea amestecului uscat. Pregătirea mixurilor: I – spironolactonă: lactoză anhidră în raport de 1 : 2; II – se amestecă mixul I cu lactoza impregnată cu BioR; III – se amestecă mixul II cu amidon de porumb, celuloză microcristalină, stearat de magneziu; IV (final) – se amestecă mixul III cu aspartat de L-arginină uscată, condiționarea în capsule [104].

Eficacitatea și inofensivitatea produsului au fost demonstrate mai întâi prin experimente preclinice pe un lot de 56 de șoricești, cu determinarea toxicității acute și subcronice și modelarea hepatitei toxice induse cu CCl<sub>4</sub> (tetraclorură de carbon). Rezultatele au indicat faptul că la animalele de laborator, cu afectarea cronică indusă a ficatului, cărora li s-a administrat preparatul Neamon-hepa, s-a redus semnificativ declinul masei corporale, s-a diminuat hepatomegalia, s-a ameliorat starea funcțională a ficatului, exprimată prin reducerea bilirubinei totale, AlAT, AsAT, fosfatazei alcaline, lactatdehidrogenazei și colesterolului seric (34). Efectele hepatoprotectoare și antioxidante ale produsului au fost demonstrate și în cadrul studiului clinic multicentric de faza a doua [96, 104, 194].

*Spirulina platensis* este un amestec echilibrat din punct de vedere fiziologic de proteine (60-70%), hidrocarburi (12-16%), vitamine, aminoacizi, micro- și macroelemente, acizi grași

esențiali, clorofilă, carotenoizi totalizând peste 50 de componente. Conține doar 5-7% de grăsimi și 0,8% de colesterol. Spirulina conține toți aminoacizii esențiali și neesențiali, în cantități incomparabil mai mari decât produsele tradiționale. S-a stabilit rolul aminoacizilor din Spirulină pentru producerea polipeptidelor, hormonilor cerebrali și corectarea funcționării sistemului endocrin în producerea hormonului vital - insulinei. Spirulina diferă de celelalte plante și prin aceea că depozitează glicogenul, și nu amidonul, precum plantele, ceea ce o apropie de regnul animal. Spirulina platensis conține ficocianină. Aceste substanțe au rol de oxidoreducători, cu reglaj în multe din procesele care au loc la nivel celular, ceea ce face ca aceasta să-și păstreze elasticitatea și puterea membranelor de transfer energetic.

BioR manifestă acțiune antioxidantă și de stabilizare a membranelor celulare și lizozomale prin normalizarea metabolismului glutatationului și menținerea la un nivel optim a echilibrului dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor și cel antioxidant [85]. În cadrul cercetărilor preclinice pe animale de laborator (șobolani), cu inducerea aminoglicozidică a SSN, a fost demonstrat efectul otoprotector al BioR și Neamon-hepa. Ulterior a fost demonstrată eficacitatea produsului BioR în cadrul SSN asociate cu tinnitus [86].

Peroxizii conțin grupa peroxidică O-O-. Inițiatorii POL sunt radicalii liberi (atomi, grupuri de atomi, molecule, care au pe orbita externă electroni neconjugați și capacitate de reactivitate chimică majoră). Ei se formează în urma procesului continuu de catabolism al substanțelor și reacțiilor de oxido-reducere. La oricare influențe exagerate asupra organismului a factorilor fizici, chimici și psihici, are loc intensificarea POL, care este mecanismul de declanșare a patologiei membranare (caracteristic și pentru CC a OC), se formează DAM. Intensificarea POL are loc în urma afectării proteinelor și lipidelor membranare (de exemplu, factorii toxici endo-, exogeni, hipoxia, ischemia etc).

Mecanismul comun al patologiei membranare, cauzat de intensificarea POL, constă în următoarele aspecte: majorarea hidrofilității membranelor celulare, astfel devenind mai permeabile pentru ionii de Ca etc.; intervenirea disfuncției în respirația și fosforilarea celulară; dereglarea funcțiilor fermentative; slăbirea legăturilor fosfolipidelor cu receptorii proteici ai membranelor celulare; inactivarea fermenților tiolici, SH-grupelor a aminoacizilor și proteinelor; afectarea ADN-ului; umflarea și liza membranelor, în special lizozomale, cu ieșirea din ei a fosfolipazelor și altor fermenți proteolitici care provoacă autoliza celulară. Astfel, POL exagerată cauzează micșorarea detoxifierii substanțelor endogene și a xenobioticelor, distrofia și necroza celulară (încetarea funcțiilor vitale). Mecanismul respectiv este valabil și în cadrul SSN.

Pentru reglarea POL, prin evoluție a fost creat mecanismul de oxidare biologică fermentativă a substanțelor prin oxigen molecular neoxidat (POL este micșorat cu ajutorul

protonilor). Pentru aducerea POL în limitele fiziologice, este necesară funcția rapidă și adecvată a fermenților celulari. SOD încetinește activarea POL, apoi catalaza și GTP micșorează toxicitatea H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> prin descompunere.

Medicamentele antioxidante pot interveni în procesul patologic prin inhibarea radicalilor liberi, reducându-i la forma stabilă prin cedarea hidrogenului și micșorând POL prin stimularea activității fermentative antioxidante, prin crearea condițiilor optime pentru sinteza proteinelor.

Produsele medicamentoase antioxidante au capacitatea de a inhiba POL membranelor biologice, stabilizând structura și funcția membranelor și, astfel, creând condiții optime pentru homeostazia celulelor și țesuturilor. Antioxidanții posedă efect antinecrotic, deoarece stabilizează membranele și nucleeele celulare. Astfel sunt benefice în tratamentul SSN, întrucât distrofia și necroza celulelor ciliate și altor structuri ale OC sunt factori declanșatori ai patologiei respective. Astfel, utilizarea produselor combinate Flomena, emulsie, și Neamon-hepa, capsule, având marcante efecte antioxidante, sunt bine venite în tratamentul complex al SSN.

Deficiența de auz, mai ales formele severe și profunde, modifică poziția persoanei respective în societate. Persoana își pierde capacitatea de lucru, se schimbă structura psihologică a acesteia. În același timp, eficacitatea tratamentului medicamentos al afecțiunilor analizatorului auditiv subcronice și, în special, formele cronice este destul de rezervată. Procesele inflamatorii ale urechii medii, la rândul lor, prezintă pericol prin posibilitatea dezvoltării SSN și a complicațiilor supurate endocraniene și generalizate, existând aspecte neelucidate ce țin de tratamentul farmacologic al afecțiunilor analizatorului auditiv. Astfel, au fost oportune studiile privind ameliorarea și/sau preîntâmpinarea consecințelor SSN și a otitelor. De asemenea, de perspectivă este elaborarea noilor medicamente pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii supurative și nesupurative ale analizatorului auditiv, inclusiv în scopul prevenirii dezvoltării complicațiilor senzorieurale ale urechii interne.

Farmacoterapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii subacute și cronice, inclusiv cu SSN, sunt în corelație cu valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor lor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide. Numărul surselor vegetale cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor și nivelul redus de asimilare a lor, în cazul suplimentelor cu conținut de acestea, sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor cu succes în ameliorarea diverselor situații clinice [67]. Întru soluționarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea medicamentelor polifuncționale obținute din preparate cu eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrate, cu efecte polivalente, cum ar fi Neamon-hepa, capsule, care este

promițător în tratamentul complex al SSN, în special asociată cu hepatita cronică și hidrops endolimfatic [69].

În acest context este cunoscută audiometria vocală – o metodă de evaluare a auzului. Prin căștile de telefon sau prin difuzoare, în câmp liber sonor, sunt emise testele vocale calibrate și pacientul trebuie să repete cuvintele percepute, astfel calculându-se scorul de inteligibilitate vocală, care este foarte necesar în diagnosticul audiologic și, ulterior, în reabilitarea protetică. Dezavantajul ei constă în necesitatea audiometrelor specializate, aparatului sofisticat de calibrare, testelor de audiometrie vocală cu specificul de dialect, dificultatea de efectuare la copii și la vârstnici. În același timp, pentru stabilirea diagnosticului topografic al patologiilor auditive și selectarea individuală adecvată a protezelor auditive, este important de a stabili scorul maxim de inteligibilitate a cuvintelor. Astfel, a devenit oportună întrebuințarea unor principii de prognozare a indicelui respectiv în baza datelor anamnezei, clinice, instrumentale, informativității diverselor metode de investigații audiometrice. Avantajul unei astfel de metode este obiectivizarea prognoșticării scorului maxim de inteligibilitate vocală, fapt ce permite stabilirea diagnosticului în lipsa testelor de audiometrie vocală, ceea ce este important în reabilitarea și, ca urmare, în încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Protezarea auditivă reprezintă o metodă de recuperare a auzului cea mai frecvent utilizată. Metodele alternative (stimularea structurilor cohleare și retrocohleare sau transmiterea informației sonore la alte organe senzoriale) se utilizează la surditatea profundă, dacă protezarea auditivă este practic ineficace. În prezent, numărul bolnavilor cu indicații pentru protezare auditivă este în creștere. Actualmente, conform diferitor surse, în lume sunt circa 25-30 mil. de oameni care utilizează proteze auditive [6, 7]. Diagnosticul și protezarea auditivă a pacienților cu SSN ar putea fi extinse de cunoașterea severității surdității și eficienței protezării auditive. În acest scop a fost perfectat indexul pronostic, care a cuprins două aspecte: primul - condițiile evoluției severității surdității, al doilea - factorii determinatori ai eficienței protezării auditive.

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

Cercetările științifice în domeniul audiologiei denotă faptul că nivelul de dezvoltare a limbajului este semnificativ mai bun în cazul copiilor diagnosticați până la vârsta de șase luni și care sunt reabilitați după diagnosticare (prin protezare auditivă sau implant cohlear), față de

copiii la care diagnosticul de hipoacuzie se stabilește după vârsta respectivă. Se consideră că până la 80% dintre copiii hipoacuzici în vârsta de cinci ani au deficiență auditivă permanentă din perioada neonatală. Otoemisiunile acustice și înregistrarea potențialelor evocate auditiv sunt principalele metode în diagnosticul precoce al deficiențelor auditive. Cea mai eficientă modalitate de screening se bazează pe asocierea celor două teste obiective.

Screening-ul deficiențelor auditive contribuie semnificativ în diagnosticul precoce al surdității la copii, oferind, în același timp, și date epidemiologice [207]. Diagnosticul primar, efectuat la intervalul de 20-28 de zile, micșorează vădit rata răspunsurilor false pozitive, care pot provoca disconfort considerabil părinților copilului. Programul de screening auditiv necesită a fi extins la alte maternități din republică, pentru a facilita diagnosticul precoce și reabilitarea adecvată a copiilor hipoacuzici în scopul integrării ulterioare în societate. Eficacitatea diagnosticului precoce și, ulterior, al reabilitării depinde de membrii echipei din care fac parte: medici neonatologi, familia, medic pediatru, medic de familie, audiologi, otolaringologi, psihologi, logopezi, educatori ai copiilor cu surditate.

Abordarea terapeutică tradițională, prin aplicarea aceluiași protocoale terapeutice tuturor pacienților posesori ai aceluiași diagnostic, s-a dovedit astăzi a avea anumite limite, care sunt datorate contrapunerii unui număr mare de factori care provoacă apariția, dezvoltarea, agravarea și complicarea bolilor, factori cu influențe și asupra eficacității și siguranței medicamentelor prescrise pacienților. Medicina de precizie este un concept medical nou, de abordare integrativă a pacientului, ce-și propune personalizarea serviciilor de asistență medicală, cu decizii și practici medicale adaptate fiecărui pacient în parte, utilizate pentru a selecta tratamente adecvate, optime acestuia, bazate pe necesitățile și caracteristicile genetice ale pacientului.

SSN de origine genetică se referă la boli monogenice, caracterizate de o mare eterogenitate. 50% din cauzele lor sunt de mediu sau interacțiune mediu-genetică și 50% – cauze genetice, dintre care 20% – hipoacuzie sindromică, iar 80% – hipoacuzie nonsindromică. După modalitatea de transmitere genetică, cea mai frecventă este transmiterea autosomal recesivă (75-80%), urmată de transmiterea autosomal dominantă (18-20%); celelalte modalități de transmitere genetică – X-linkată și mitocondrială, întâlnite foarte rar. Prin urmare, testările genetice trebuie să facă parte din evaluarea copiilor și adulților hipoacuzici, pentru o cunoaștere mai bună a cauzei și pentru eficientizarea intervenției de recuperare auditiv-verbală, terapiei și consilierii genetice.

Proteinele membranare codificate de gene, GJB2 și GJB6, participă la formarea contactelor intercelulare – conexoni – în țesuturile urechii interne, care sunt responsabile de transportarea moleculelor mici și oferă în special circulația  $K^+$  în cohlee. Dacă este dereglată sinteza acestor



proteine, se produce un dezechilibru al homeostaziei endolimfatice, ceea ce induce atrofierea celulelor ciliate și dezvoltarea SSN [205].

Mutațiilor din genele GJB2, GJB3, GJB6 le revin circa 90% din factorii etiologici ai SSN genetice la populația europeană. În același timp, este demonstrată acțiunea factorilor din exterior asupra severității surdității genetice – acțiunea medicamentelor ototoxice, traumatismului sonor, infecțiilor virotice, alimentației etc. [190].

Farmacogenetica (studiul factorilor genetici, care determină răspunsul la medicamente) este cel mai important factor al medicinei personalizate [195]. Scopul farmacogeneticii este de a percepe rolul componentei genetice în răspunsul la o anumită terapie medicamentoasă și apariția efectelor adverse la unii dintre pacienții tratați cu același medicament, de a stabili dozele optime pentru fiecare pacient în parte. Scopul personalizării este ca fiecare pacient să beneficieze de terapia cea mai eficientă și cu cât mai puține efecte secundare.

Farmacogenomica analizează impactul variațiilor genomului complet al unei persoane asupra efectelor terapeutice ale unui medicament. În farmacogenomică, studiul se desfășoară pe două direcții: [67] analiza genomului pacienților pentru identificarea variantelor genetice ce cauzează modificarea eficacității unui medicament (de exemplu, prin decelarea SNP-urilor – *Single Nucleotide Polymorphism*) și a altor factori genetici și epigenetici, răspunzători de modificări în căile de metabolizare a medicamentelor, modificări ale țintelor terapeutice, ale abilității organismului de a activa medicamentul administrat în forma sa activă etc.; studierea bazelor moleculare ale diferitelor maladii, cu stabilirea căilor metabolice implicate (a gradului de alterare al acestora) și a țintelor terapeutice (233).

Pe lângă conexiunile implicate direct în procesul de percepție a sunetului, s-a stabilit că mutațiile ce au loc în genele de ADN mitocondrial pot fi responsabile de „hipersensibilitate” la medicamente ototoxice și cauzarea deficienței auditive. Substituirea A1555G în gena 12S ARNr de ADNmt face ARNr mitocondrial uman o structură similară cu ARNr bacterian, acesta devenind ținta lor. Odată ce cererea de antibiotice aminoglicozidice este foarte răspândită, studiul frecvenței mutațiilor din gena A1555G 12SrRNA este relevantă pentru evaluarea riscului SSN. Prin urmare, este importantă profilaxia primară a SSN în sensibilitatea constituțională, determinată la factorii ototoxici (antibiotice aminoglicozidice, antineoplazice, antiinflamatoriile nesteroidiene).

În Republica Moldova, această problemă este actuală și impune dificultăți în soluționarea unor aspecte ale patologiei date, cum ar fi diagnosticul genetic și corectarea precoce a formelor genetice de surditate. În cadrul Laboratorului de genetică al USMF „Nicolae Testemițanu”, s-a efectuat un studiu complex al factorilor genetici cauzali de SSN, inclusiv SSN ototoxică, valabili

pentru Moldova. Cercetarea a avut ca obiective: determinarea, pentru prima dată pentru populația Republicii Moldova, a ponderii markerilor genetici pentru mutația 35 del G gena GJB2 în producerea SSN nonsindromice; testarea genetică a bolnavilor cu surditate; evaluarea riscului dezvoltării surdității ototoxice, cauzate genetic la copiii din cuplurile cu factori de risc.

În studiu au fost incluși copii și adulți, diagnosticați cu SSN, și persoane fără patologii auriculară de diferite etnii (bărbați, femei 1-20 de ani). Bateria testelor audiologice la pacienții cu surditate: audiometria tonală, audiometria vocală, impedansmetria, la necesitate – OEA, PEAP, ASSR. Determinarea mutației prin genotipare, a mutației 35delG gena GJB2 prin metoda Taqman Real time PCR. Au fost preluate probe de sânge de la 20 de pacienți cu SSN bilaterală, de formele severă și profundă, și la 100 de persoane cu auz normal. Studiul este în derulare, dar rezultatele provizorii indică faptul sensibilizării problemei screening-ului genetic la persoanele care necesită antibioterapie cu aminoglicozidice. Au fost stabilite următoarele rezultate ale analizei molecular-genetice: 20 de pacienți cu SSN: 18% (nouă pacienți) homozigoți cu mutații 35delG, 14% (șapte pacienți) - heterozigoți cu mutații 35delG

În cadrul cercetării: a fost creată biobanca de specimene biologice și de ADN, dedicate proiectului de studiu, a fost extras ADN-ul genomic, conform POS-urilor elaborate pentru genotiparea TaqMan. Au fost parțial asigurate etapele studiului molecular-genetic cu reactivii necesari în realizarea proiectului de cercetare. A fost realizată analiza molecular-genetică a lotului subiecților de studiu (pacienți) și persoanelor sănătoase și estimarea contribuției mutației genice (deleției 35delG a genei *GJB2*) cu impact major, asociată cu SNN în populația din regiunea Moldovei. În cadrul colaborării cu laboratorul Centrului Medical al Universității din Freiburg, Germania, a fost realizată validarea datelor de genotipare prin tehnica TaqMan a genei *GJB2* prin metoda alternativă – secvențierea de ADN cu ajutorul secvențiatorului Amersham MegaBACETM 500 (*American Biosciences, GE Healthcare Europe, Muenchen, Germany*). S-a efectuat stabilirea particularităților relațiilor genotip-fenotip caracteristice populației din regiunea Moldovei. Au fost realizate: analiza statistică a rezultatelor obținute, formularea concluziilor studiului, definirea perspectivelor de investigare ulterioară și a recomandărilor de nivel clinic.

În acest context a fost elaborată și completată metoda tehnologică „Genotiparea polimorfismului mononucleotidic GJB2\_rs80338939 prin tehnica TaqMan Real Time PCR”. Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG) prin soluția TaqMan PCR sporește performanțele diagnosticării molecular-genetice ale SSN și poate fi recomandată ca metodă de screening la copii cu patologia SSN. Sondele TaqMan sunt sonde de hidroliză, concepute pentru a crește specificitatea PCR cantitativă. Principiul sondei TaqMan se bazează pe activitatea exonucleazei 5–3’ a Taq polimerazei, pentru a cliva o sondă cu etichetă dublă în

timpul hibridării la secvența țintă complementară și detectarea pe bază de fluorofor. Ca și în alte metode PCR cantitative, semnalul de fluorescență rezultat permite măsurători cantitative ale acumulării produsului în timpul etapelor exponențiale ale PCR. Cu toate acestea, sonda TaqMan crește semnificativ specificitatea detectării.

Cunoașterea profilului genetic al pacientului poate contribui la prezicerea răspunsului acestuia la un anumit medicament. Farmacoterapia personalizată are drept obiectiv principal îmbunătățirea specificității, eficacității și siguranței medicamentelor, prin alegerea de produse țintite, pentru fiecare pacient în parte. Astfel sunt importante implementarea programelor de farmacogenomică clinică cu scopul de a îmbunătăți aderența, siguranța și rezultatele tratamentului.

Deși performanțele și avantajele tehnicilor genetice de ultimă generație sunt evidente, ele nu pot să substituie complet analiza cromosomică sau secvențierea genică clasică. În plus, prețul platformelor de genomică este costisitor, iar evaluarea datelor oferite de aceste analize impune o dotare informatică performantă. În concluzie, investigarea genetică de laborator, deși s-a dezvoltat de o manieră impresionantă, rămâne legată de clinică, care furnizează supoziția de diagnostic.

Pentru clinicieni este foarte importantă cunoașterea posibilităților și limitelor testărilor genetice, utilizate în cadrul diagnosticării SSN. Pentru a identifica cauza, este important să se coreleze informațiile obținute din examinarea fizică, testele clinice (inclusiv screening-ul auditiv la nou-născuți), istoricul familial (arborele genealogic) cu testele genetice. Acest lucru poate contribui la stabilirea tratamentului și managementului hipoacuziei și poate prezice posibilitatea transmiterii acestei afecțiuni generațiilor următoare. Pentru o cunoaștere mai bună a cauzei, precum și pentru eficientizarea intervenției de recuperare auditiv-verbală, a terapiei, a consilierii genetice și prevenirii reacțiilor ototoxice la pacienții predispuși genetic la SSN, testările genetice, în special pentru conexina 26 și A1555G, trebuie să facă parte din evaluarea pacienților cu SSN.

Medicina personalizată sugerează, chiar și în rândurile pacienților care suferă aparent de aceeași boală și cu aceleași simptome, tratamentul individualizat în baza unor teste predictive sau de prognoză [196]. Altfel spus, tratamentul presupune o abordare terapeutică, bazată mai mult pe tratamentul individual, decât pe cel al unor grupe de pacienți, pe unicitatea clinică, genetică, genomică a fiecărui individ. Acest tip de medicină poate fi definit și ca „folosirea datelor genomice și moleculare pentru o mai bună aplicare a tratamentului țintit, pentru a facilita descoperirea și testarea clinică de noi produși, dar și pentru a ajuta la determinarea predisunerii unei persoane la o anumită boală”.

Diferențele interindividuale ale secvențelor de ADN și capacitatea de a manifesta un anumit răspuns la medicamente datorate variațiilor genomului uman pot contribui la îmbunătățirea eficacității și siguranței terapeutice. Studiile farmacogenetice pot reduce riscurile de reacții adverse la pacienți și pot îmbunătăți rezultatele clinice prin stratificarea populațiilor pe grupuri prin diferențe genetice. Fiecare individ poartă propria amprentă genetică a riscului de a dezvolta maladia.

Pe lângă screening-ul audiologic obișnuit [197], la evaluarea persoanelor cu deficitul auditiv trebuie să fie recomandată și testarea molecular-genetică a SSN pentru genele GJB2 și GJB6 ale locusului DFNB1[199]. Depistarea purtătorilor mutațiilor recesive patogenice ale acestor gene este foarte importantă pentru acordarea serviciilor de consiliere genetică privind posibilitatea de transmitere a acestora la descendenți, deoarece nașterea unui copil cu hipoacuzie la părinți sănătoși poate avea un impact deosebit.

Pronosticul efectelor farmacologice ale medicamentelor este pe larg utilizat în cercetare (de exemplu, metoda de pronosticare a efectelor alergizante ale medicamentelor (B. Parii, 2007). Spectrul grupelor de medicamente, utilizate concomitent în tratamentul farmacologic al SSN, impune elaborarea unor factori de pronostic al eficacității farmacoterapiei. Având în vedere multitudinea preparatelor și corelațiilor lor cu particularitățile fizico-chimice și clinico-biologice ale organismului, devin oportune și de perspectivă studiile privind pronosticarea efectului farmacoterapiei combinate la bolnavii cu afecțiuni senzorie și mixte ale analizatorului auditiv în baza unor indici: caracterul și durata maladii, rezultatele bilanțului audiometric, preparatul farmacologic, posologia, proprietățile chimico-farmaceutice, temperatura de topire a principiului activ etc.

Activitatea analizatorului auditiv este condiționată de funcții vasculare, hematologice, metabolice și endocrine normale. Ca urmare, afectarea aproape a oricărui sistem al organismului uman poate determina alterarea funcției auditive. Tratamentul afecțiunilor urechii este caracteristic prin: administrarea preparatelor din diverse grupe farmacologice, indicarea combinată a medicamentelor, utilizarea medicamentelor cu potențial efect ototoxic (diuretice, antiinflamatorii, antibacteriene), în special, pentru tratamentul formelor acute de SSN.

Prevalența și caracterul potențial invalidizant al maladiilor auriculare justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților farmacoterapeutice și de reabilitare în acest domeniu. O direcție pentru tratamentul farmacologic al maladiilor urechii constituie elaborarea și utilizarea în medicină a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Pentru clinicieni este foarte important ca de la începerea tratamentului să se poate prezice efectele curative, secundare și adverse la fiecare pacient. În acest context, farmacoterapia medicamentoasă combinată a SSN

impune o colaborare între medic, farmacolog și farmacist clinician. Elaborarea și implementarea noilor compuși medicamentoși sau sporirea eficienței celor deja cunoscuți, care manifestă acțiunea scontată asupra organismului uman, constituie unul dintre obiectivele de bază ale biomedicinii.

Datorită progreselor înregistrate în farmacoterapie, tratamentul SSN acute și subacute este în continuare un domeniu deschis, în care se pot realiza studii clinice. Cu regret însă, numărul de studii clinice referitoare la tratamentul patologiei respective este insuficient. După decenii de multiple studii clinice și experimentale, nu s-a ajuns la un protocol terapeutic, unanim acceptat, pentru tratamentul surdității brusc instalate.

PMC studiate în cadrul studiului micșorează agregarea plachetară și eritrocitară, îmbunătățesc permeabilitatea vasculară, ameliorează circulația cerebrală și procesele metabolice în creier, cresc rezistența la hipoxie. Asocierea principiilor active este oportună din punct de vedere farmacocinetic și farmacodinamic.

PMC presupun asocierea, într-o formă farmaceutică, a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită, acționând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice. PMC manifestă: sporirea efectului terapeutic prin acțiune sinergică, reducerea efectelor secundare, creșterea toleranței medicației și complianței tratamentului. Elaborarea medicamentelor este un proces extrem de complex, care include numeroase cercetări farmacologice, toxicologice, farmacocinetice, tehnologice, farmaceutice, analitice, farmacoeconomice care, de comun, implică evaluarea calității, securității utilizării și eficacității preparatelor. O direcție importantă pentru tratamentul afecțiunilor analizatorului auditiv constituie elaborarea și utilizarea în practica medicală a PMC, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Alegerea rațională a principiilor active poate permite intensificarea efectului farmacoterapeutic ori reducerea efectelor adverse.

Pentru a aprecia valoarea diagnostică și a eficientiza eficacitatea farmacoterapiei, precum și a majora efectul de recuperare, am elaborat un **algoritm complex** de metode subiective și obiective de efectuare a diagnosticului SSN, farmacoterapie ce permite asigurarea, în limita posibilităților, a efectului scontat de reabilitarea auditivă.

Metodele algoritmului sunt divizate în două etape. La prima etapă are loc efectuarea metodelor audiometrice obiective și subiective, în favoarea stabilirii diagnosticului patologiei și formelor de surditate, precum și necesitatea protezării auditive cu utilizarea metodelor de pronostic al scorului vocal și al eficacității protezării auditive. Etapa a doua prevede metodele complexe de farmacoterapie, selectarea PA, controlul eficacității lor. Un factor important este controlul audiologic în dinamică (fig. 5.3).



În încheiere putem estima că examenul audiologic longitudinal al copiilor și maturilor cu SSN permite să apreciem eficacitatea de tratare și recuperare în termene tardive. Elaborarea principiilor de prognosticare a inofensivității farmacoterapeutice și a eficacității protezării auditive, a algoritmului de diagnostic și recuperare acustică a SSN va permite optimizarea farmacoterapiei și eficacității protezării auditive a pacienților care suferă de maladia descrisă.

În cadrul studiului disertațional au fost elaborate: un nou concept ce prevede utilizarea preparatelor medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul afecțiunilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii; principiile de pronostic al eficacității de diagnostic și recuperare auditivă în surditatea senzorieurală și diagnosticul genetic al SSN în vederea profilaxiei și majorarea eficacității farmacoterapiei SSN.

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

## CONCLUZII GENERALE

Realizarea cercetărilor și analiza rezultatelor obținute în cadrul tezei de doctor habilitat „Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv”, au generat formularea următoarelor concluzii generale:

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



bolnavii cu hipoacuzie, în baza factorilor anamnestici, audiometriei tonale liminare și supraliminare.

9. Studiile experimentale au permis de a elabora un protocol de monitorizare preclinică a produselor farmacologice, cu posibile efecte ototoxice sau otoprotectoare. De asemenea, studiile clinice audiologice, farmacologice și genetice au permis de a concepe un algoritm complex de explorare și tratament medicamentos și recuperare la pacienții cu afecțiuni ale analizatorului auditiv, în special, pentru conduita medicală a SSN.

### **RECOMANDĂRI PRACTICE**

1. Metodele de analiză și standardizare a produselor medicamentoase combinate (CB-12, picături auriculare, și NH-01, capsule) se recomandă pentru utilizare în cadrul laboratoarelor de control al calității medicamentelor și în departamentele de cercetare-dezvoltare a companiilor farmaceutice, care posedă, ca domeniu, producerea medicamentelor combinate.
2. Protocolul elaborat de determinarea funcției auditive la animalele de laborator, cu utilizarea reflexului Preyer, impedansmetriei și otoemisie acustice, poate fi utilizat pentru a stabili efectele ototoxice și otoprotectoare ale produselor medicamentoase și în alte cercetări preclinice asupra analizatorului auditiv.
3. Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG), prin soluția TaqMan PCR, sporește performanțele diagnosticării molecular-genetice și se recomandă ca metodă de screening genetic mai accesibilă la copii și adulți cu SSN.
4. Crearea unui nucleu multidisciplinar de competență în investigare, diagnosticul molecular-genetic, reabilitarea copiilor și adulților cu surditate senzorieală (SSN) pot fi implementate în vederea stratificării tratamentului conform principiilor medicinei personalizate.
5. Efectuarea unui studiu multicentric pentru a stabili răspândirea factorilor genetici ai SSN nonsindromice și nivelul de portaj în regiunile țării noastre poate servi la elaborarea unui program național pentru determinarea nivelului de risc al SSN la copiii părinților fenotipic sănătoși.
6. Metoda de diagnostic, cu prognosticarea scorului de inteligibilitate vocală, în baza a astfel de factori ca: aspectul curbei audiometrice, media pragului auditiv stabilit la audiometria tonală, media pragului de disconfort, indicele de articulare se recomandă a fi implementat în cadrul serviciilor audiologice și ORL din republică.
7. Metoda de prognostic al eficacității protezării auditive, bazată pe vârsta bolnavului, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene, evoluția deficienței

auditive, pragul auditiv sau severitatea surdității, indicele de articulare, se recomandă a fi utilizată în cadrul selectării protezelor auditive la bolnavii cu SSN cronică.

8. Produsul medicamentos combinat Flarena, emulsie orală, 100 ml, se recomandă a se administra în tratamentul complex al bolnavilor cu SSN.
9. Utilizarea algoritmului de diagnostic și farmacoterapie, precum și continuarea cercetărilor clinice privind elaborarea produselor combinate de sinteză și naturiste, sunt recomandate pentru tratamentul complex al afecțiunilor analizatorului auditiv.
10. Metodele aplicate și rezultatele obținute pot fi utilizate în procesul de instruire universitară și postuniversitară în cadrul disciplinelor: farmacologie și farmacologie clinică, farmacie clinică, otorinolaringologie, chimie farmaceutică și toxicologică, biologie și genetică umană; în activitatea Centrului Științific al Medicamentului, Laboratorul de otorinolaringologie, Laboratorul de genetică, precum și în centrele medicale (specialitatea otorinolaringologie).
11. Elaborarea, în baza rezultatelor studiului disertațional, a unui standard național de conduită farmacoterapeutică și protezare auditivă a bolnavilor cu SSN.

## BIBLIOGRAFIE

1. ABABII, I., POPA, VL., ANTOHI, I. *Otorinolaringologie (Vademecum clinic)*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, 2000, 150 p. ISBN:9975-945-31-7.
2. ABABII, I., MANIUC, M., ERENCOV, V. *Terapia medicamentoasă în otorinolaringologia pediatrică. Ghid*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, Chișinău, 2004. 455 p. ISBN 9975-907-45-8.
3. ABABII, I., MANIUC, M., SANDUL, A. *Otorinolaringologie (Manual)*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, 2019, 407 p. ISBN: 978-9975-56-618-6.
4. ABABII, I., **PARII, S.**, CHIABURU, A., DIACOVA, S., CHIRTOCA, D., CHIABURU-CHIOSA, D. Rezultatele impedansmetriei și produselor de distorsiune ale otoemisiunilor acustice în diagnosticul topografic al surdității neurosenzoriale. În: *Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. Ediția a XIV-a. Chișinău, 2013, vol. 4, pp. 228-236. ISSN 1857-1719
5. ABABII, I., MANIUC, M., DIACOVA, S., MAXIMENCO, E. *Otita medie acută la copil. Protocol clinic național*. Chișinău, 2016, 24 p.
6. ABABII, I., POPA, V., VETRICEAN, S., ANTOHI, I., ANTOHI, A. *Otita medie cronică supurată la adult. Protocol clinic național*. Chișinău, 2016, 25 p.
7. ABABII, I., CHIABURU, A., MANIUC, M., REVENCO, N., CHIRTOCA, D., CHIABURU-CHIOSA, D. *Standardul național privind screening-ul audiologic la nou-născuți*. Chișinău, 2017, 22 p.
8. ATAMAN, T., NEAGU, A., GONȚA. *Otoscleroza vârstei a treia*. Romanian Medical Journal. 2008, Vol. 55 Issue 3, pp. 211-212. ISSN: 1220-5478.
9. ATAMAN, T. *Audiologie Clinică*, Editura Sitech, București, 2009; 1:19-40. ISBN 978-606-530-658-5.
10. ATAMAN, T. *Chirurgie otologică*. București, 2002, 426 p. ISBN 973-31-2081-2
11. ATAMAN, T., GEORGESCU, M., ATAMAN, M. Otita medie și otomastoidita osificată. În: *„Revista specializată ORL.ro”*. București, România, nr. 219 (2/2013), pp. 40-41. ISSN 2067-6530.
12. BABILEV, F. *Chimia farmaceutică*, Editura Universitas, Chișinău, 1994, pp. 57-63. ISBN 5-362-01110.
13. BACINSCHI, N. *Farmacologia preparatelor entomologice și utilizarea lor rațională*. Autoreferat al tezei de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 2013, 48 p.
14. BITERE, O., COZMA, S., MÂRȚU, C., MÂRȚU, D., OLARU, R., RĂDULESCU, L.

- Potențialul de acțiune compus al nervului cohlear în evaluarea buclei electroneurale la pacienții cu implant cohlear. În: *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Iași* – nr 2/2016, supl. 1, pp. 43-53. ISSN: 2286-2560.
15. BOBOC, A.-M., BANDOL, G. Algoritm de management în cancerele de cap și gât. În: Volum de rezumate a cursului „Cancere ORL, sarcom, melanom”, Iași, 2019, pp. 25-26.
  16. BOJIȚĂ, M., MUNTEAN, D. *Controlul medicamentelor. Metode spectrale, cromatografice și electroforetice de analiză*, Tipografia Medicală Universitară, Cluj-Napoca, 2004, pp. 12-57, 98-125, 229-243. ISSN: 2068-3324.
  17. CALARAȘU, R., ATAMAN, T., ZAINEA, V., BOGDAN, C., PASCU, A. *Manual de patologie otorinolaringologică și chirurgie cervicofacială*, Ed. Universitară, „Carol Davila”, București, 2000, 227 p. ISBN: 9738047382. 9789738047389 9738047382
  18. CHIABURU, A. Audiometria obiectivă în diagnosticul surdității precoce la copii. În: *Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. 2012, nr. 4 (13), pp. 306-309. ISSN 1857-1719
  19. CHIABURU, A., ABABII, I., DIACOVA, S., **PARII, S.** Particularitățile potențialelor evocate auditiv ale trunchiului cerebral la copiii cu surditate și patologie perinatală a sistemului nervos central. În: *Analele științifice ale Universității USMF „Nicolae Testemițanu”*. Ediția a VI-a. Chișinău, 2005, vol. 3, pp. 288-291. ISBN 978-9975-113-45-8
  20. CHIRTES, F., ALBU, S. *Tratamentul intratimpanic în terapia sindroamelor cohleo-vestibulare*. Rezumat al tezei de doctorat. Cluj-Napoca, 2015, 50 p.
  21. *Clasificatorul medicamentelor autorizate în Republica Moldova*. 10.07.2019. Disponibil: <http://amed.md/ro/clasificator-medicamente>.
  22. COZMA, S., MÂRȚU, C., MANOLACHE, O., OLARU, R., DAMEAN, G., CAVALERIU, B., ZOTA, D., MÂRȚU, D., RĂDULESCU, L. 6 ani de screening auditiv neonatal universal la Iași – rezultatele unui parteneriat interdisciplinar. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. București, România, nr. 27 (2/2015), pp. 26-31. ISSN 2067-6530
  23. COJOCARU-TOMA, M., **PARII, S.**, NICOLAI, E., TOMA, M.M. ș.a. Determinarea toxicității acute a extractelor din *Argimoniae herba* și *Cichorii herba*: studiu experimental. În: *Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*, 2018, nr. 2 (16), pp. 35-43. ISSN 2345-1467.
  24. CUROCICHIN, GH., CEMORTAN, I., BARBACAR, N. Caracteristica molecular-genetică a dereglărilor metabolice la hipertensivi. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2010, nr.2 (311) pp. 58-68. ISSN: 1857-064X

25. EȚCO, C., RUSSU-DELEU, R., ZABRAILOV, N. *Proiectarea, elaborarea și redactarea lucrărilor științifice (Ghid)*. Chișinău: S. n., 2016 (Tipogr. „Primex-Com”). 246 p. ISBN 978-9975-110-55-5.
26. FILIMON, A. Studiul factorilor de risc în hipoacuzia neonatal. Importanța depistării precoce. Rezumat al tezei de doctor. Cluj-Napoca, 2009, 23 p. <http://www.umfcluj.ro/sustinite-ro/category/20-rezumate-2009?download=643:filimon-angelica-teodora&start=15>
27. GARBUZ, O.S.; GRAUR, V.O.; TAGADIUC, O.C.; ANDRONACHE, L.M.; SARDARI, V.V.; GULEA, A.P.; GUDUMAC, V.S. In vitro antiproliferative potential and antioxidant capacity of new coordination compounds. В: *Международный научно-исследовательский журнал. International research journal*. Екатеринбург, 2017, N.05 (59), часть 2, pp.122-125. ISSN 2303-9868 PRINT, ISSN 2227-6017
28. GEORGESCU, M. Infecția congenitală cu CMV și hipoacuzia. Reeducarea vestibulară la pacienții cu vertij. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. București, România, nr. 41 (4/2018), pp. 24-34. ISSN 2067-6530. doi. 10.26416/ORL.41.4.2018
29. GEORGESCU, M., ATAMAN, T. Hipoacuzia neurosenzorială – complicație în supurațiile urechii medii. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. București, România, nr. 21 (2/2013), pp. 36-37. ISSN 2067-6530.
30. GHEORGHE, D.C., NEAGU, A.C., BORANGIU, A. Sindromul Stickler tip III – prezentare de caz. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. București, România, nr. 219 (2/2013), pp. 38-39. ISSN 2067-6530.
31. GHICAVÎL, V., BACINSCHI, N., GONCIAR, V. *Antibioticoterapia în otorinolaringologie*. Tipografia Centrală, Chișinău, 2001, 40 p.
32. GHICAVÎL, V., BACINSCHI, N., GUȘUILĂ, G. *Farmacologie*, Tipografia Centrală, Chișinău, 2012, 129-132, 377, 383-384. ISBN: 978-9975-53-068-2.
33. GHICAVÎL, V., BACINSCHI, N., PODGURSCHI, L., ȚURCAN, L., GUȘUILĂ, G., GUȚU I. *Clinical cases in clinical pharmacology*. Chișinău: Chișinău, CEP „Medicina”, 2017, 190 p. ISBN 978-9975-82-054-7.
34. GHICAVÎL, V., STRATU, E., POGONEA, I., ș.a. *Îndrumar pentru lucrări de laborator la farmacologie*. Chișinău: Tipografia CEP Medicina, 2016, 396 p. ISBN 978-9975-82-037-0.
35. GONCIAR, V. *Optimizarea farmacologică și utilizarea rațională a enterosorbției*. Teză de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 2008, 50 p.
36. GONCIAR, V., CAZACU, V., CHEPTEA, E. *Farmacotoxicologie*. Chișinău, 2008, 264 p. ISBN 978-9975-918-77-0.

37. GONCIAR, V., OBRIJANU, D., NISTREANU, A. *Elemente de fitofarmacologie*. Ch.: S. n., 2012. p. 248 ISBN 9975-53-075-0.
38. GONCIAR, V., SCUTARI, C., BODRUG, E. *Medicația afecțiunilor specific și nespecific*. Ch.: S. n., 2015, 222 p. ISBN 978-9975-53-516-8.
39. GONCIAR, V., SCUTARI, C., BACINSCHI, G., BESLIU, A. Interacțiunile farmacodinamice ale fitopreparatelor și medicamentelor. În: *Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la nașterea profesorului Efim Alexeevici Muhin „Actualități în farmacologie și farmacologia clinică”*. Revista Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2018, nr. 4 (78), p.117-127. ISSN: 1729-8687.
40. HERMAN, S. *Aparate de rehabilitare auditivă*. București, 2006, Ed.Tehnoplast, 260 p. ISBN – 973-98254-1-9.
41. Legea RM nr. 265 din 28.07.2006 „Privind protecția animalelor folosite în scopuri experimentale sau în alte scopuri științifice”. În: „*Monitorul Oficial al RM.*”. Chișinău, 27.10.2006, nr. 168-169.
42. LICKER, M., BĂDIȚIOU, L., MUNTEAN, D. Rezistența la antimicrobiene: treunduri și abordări multimodale. *Revista Română de Medicină de Laborator Supliment 1 la Vol. 27, Nr. 2, Aprilie, 2019*, p.S10. ISSN 2284-5623.
43. MANEA, S. *Spirulina – nutrientul miracol*. Ed. Tridonia, București, 2004, 37 p.
44. MATCOVSCHI, C., PROCOPIȘIN, V., PARII, B. *Ghid farmacoterapeutic*. Chișinău, 2006, 1157 p. ISBN 978-9975-78-491-7.
45. MATCOVSCHI, C., SAFTA, V. *Ghid farmacoterapeutic*, Tipografia Centrală, Chișinău, 2010, pp. 834-835, p. 901-902, p. 925-926. ISBN 978-9975-4048-5-3.
46. MĂRȚU, D., TANASI, D., COZMA, S. Particularitățile tratamentului copilului hipoacuzic. Idei pentru prezent și viitor. *Audionews*. Vol. 1. 2002, pp. 22-26. ISSN: 0130-1535.
47. MEREUȚĂ, I., VALICA, V., PARII, S., CARAUȘ, V., CLECICOV, M., ȘVET, V., CERNAT, M. Rezultatele cercetării clinice: Studiul proprietăților citoprotectoare (chimio-, radioprotectoare) ale emulsiei orale Flamena 100 ml la pacientele cu cancer mamar și cancerul organelor reproductive supuse chimio- sau radioterapiei. În: *Revista InfoMed*. Chișinău, 2016, nr. 2/1, pp. 75-83. ISSN 1810-3936.
48. MUHIN, E., GHICAVÎI, V., GONCIAR, V., BACINSCHI, N. *Medicația dereglărilor circulației cerebrale și periferice*. Chișinău, 1998, 137 p.
49. MUNTEAN, D.L., BOJIȚĂ, M. *Controlul medicamentelor (Metode spectrale,*

- cromatografice și electroforetice de analiză*). Cluj-Napoca: Editura Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, 2004. – 303 p.
50. NAȘCU, H.I., JÄNTSCHI, L. *Chimie analitică și instrumentală*, Academic Pres & Academic Direct, Cluj-Napoca, 2006, 97-113, 231-248.
  51. NEAGU, A., ATAMAN, T. Hipoacuziile neurosenzoriale non-sindromice congenital și legatura lor cu conexina 26. În: *”Revista Medicală Română”* – Vol. LVII, nr. 2, 2010, pp. 88-92. ISSN: 1220-5478
  52. NEAGU, A., ATAMAN, T., DIMITRIU, P. Testările pentru hipoacuzie înainte de sarcină și în timpul sarcinii. În: *”Revista Medicală Română”* – Vol. LVIII, nr. 2, 2011, pp. 113-115. Disponibil: [https://rmj.com.ro/articles/2011.2/RMR\\_Nr-2\\_2011\\_Art-7.pdf](https://rmj.com.ro/articles/2011.2/RMR_Nr-2_2011_Art-7.pdf) ISSN 1220-5478
  53. NICOLAI, S., SCUTARI, C., CEKMAN, I., CÂRLIG, V. *Farmacologie*. Chișinău, Centrul Editorial-Poligrafic „Medicina”, 2003, 397 p. ISBN: 9975-907-55-5
  54. NICOLAI, E., UNCU, L., VISLOUH, O., STAVER, M., **PARII, S.** Determination of Ciprofloxacin in multicomponent mixture by HPLC method. In: *Book of abstracts, the 16th CEEPUS Symposium and Summer School on Bioanalysis*, Warsaw, Poland, p.75. [http://eprints.ugd.edu.mk/16107/2/Ivanova-Petropulos\\_Abtract\\_Poster%202-brandy.pdf](http://eprints.ugd.edu.mk/16107/2/Ivanova-Petropulos_Abtract_Poster%202-brandy.pdf)
  55. NICOLAI, E., **PARII, S.**, VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea conținutului de impurități de etilendiaminoderivat de ciprofloxacină în studiul stabilității picăturilor auriculare combinate. În: *Volumul de rezumate a Conferinței Naționale de Farmacie Clinică, ediția a II, ”Provocări ale farmacoterapiei contemporane”* București, 15-17 iunie 2017, p. 199. ISSN: 0014-8237
  56. Ordinul MS RM nr.358 din 12 mai 2017 „Cu privire la aprobarea Regulamentului privind efectuarea activităților de farmacovigilență”. În: *„Monitorul Oficial al RM”*, nr.244-251(6167 6174), pp. 129-143.  
Disponibil: <http://amed.md/sites/default/files/Medicamente/Farmacovigilenta/Ordinul%20MS%20358%20din%2012.05.2017.PDF>
  57. PAPUC, S., MASARIU, D. *Hipoacuzia neurosenzorială nonsindromică progresivă de cauză genetică*. ORL Supliment medical, București, Nr1, 2012, pp. 14-15.
  58. PARII, B. *Majorarea eficacității medicamentelor și prognozarea efectelor lor secundare*. Teză de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 1994, 201 p.
  59. PARII, B. *The dependence between physico-chemical and allergenic properties of xenobiotics. NBC Risks. Current Capabilities and future perspectives for protection*. Kluwer academic publishers., London, NATO science Series. Vol. 25., 1999., pp. 459-467.

DOI: 10.1007/978-94-011-4641-8\_35

60. PARII, B. *Efectele specifice și nespecifice ale medicamentelor – mecanisme la nivel molecular*. În: „Academos”, nr. 4(8), 2007, pp. 62-65. ISSN 1857-0461.
61. PARII, B., RUSNAC, L., **PARII, S.** The role and place of Magnesium among other bioelements: phisyo-chemical aspects. În: *Abstracts of XII International Magnesium Simposium*, Iasi Romania. Magnesium Research. Montreuil, France, 2009, vol.22, nr.3, pp. 208S-209S. ISSN 0953-1424.
62. PARII, B., TODIRAȘ, M., VALICA, V., RUSNAC L., **PARII, S.**, GOLOVIN, P. Medicamentele autohtone combinate. Actualități și perspective. În: „*Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*” (*științe medicale*). Chișinău, 2010, nr. 1, pp. 33-36. ISSN: 1857–064X.
63. **PARII, S.** *Particularitățile diagnosticului și selectării protezelor auditive la pacienții cu surditate neurosenzorială*. Teză de doctor în medicină. Chișinău, 2003, 152 p.
64. **PARII, S.** Particularități ale managementului pacienților cu tinnitus. În: *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*. 2011, nr. 4(12), pp. 339-333. ISSN 1857-1719.
65. **PARII, S.**, ABABII, I., CHIABURU, A., JUCOVSCI, C., DIACOVA, S. Pronosticul eficacității protezării auditive. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*. 2012, nr. 4 (13), pp. 292-296. ISBN 978-9975-113-45-8.
66. **PARII, S.** Evaluarea inofensivității unui nou produs medicamentos sub formă de gel. În: „*Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași*”, România, 2018, vol. 122, nr.2/supl. 1, pp. 195-202. ISSN 0048-7848.
67. **PARII, S.** *Surditatea și tratamentul medicamentos*. Chișinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic Medicina. 136 p. ISBN 978-9975-82-091-2.
68. **PARII, S.** Surditatea senzorieurală: farmacoterapia otoprotectoare și medicamente combinate. În: *Volumul de rezumate a Conferinței Naționale de Farmacie Clinică, ediția a II, „Provocări ale farmacoterapiei contemporane”* București, 15-17 iunie 2017, p. 30. ISSN: 0014-8237.
69. **PARII, S.** Produse medicamentoase combinate în farmacoterapia afecțiunilor auriculare. În: *Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la nașterea profesorului Efim Alexeevici Muhin „Actualități în farmacologie și farmacologia clinică”*. *Revista Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. Chișinău, 2018, nr. 4 (78), pp.78-88. (Categorie B) ISSN: 1729-8687.
70. **PARII, S.**, CHIABURU, A., DIACOVA, S., PARII B. Farmacoterapia surdității neurosenzoriale acute și cronice: medicamente ototoxice și otoprotectoare. În: „*Revista*



- Farmaceutică a Moldovei”. Chișinău, 2008, nr. 3-4, pp. 48-52. ISSN 1812-5077.
71. **PARII, S., GONCIAR, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E., VALICA, V.** Medicamente combinate și surditatea sensorineurală. În: *Volumul de rezumate a Simpozionului „Zilele Medicamentului- Medicamentul de la idee la clinică”*. Ediția a XXVI-a. Iași, România. 29-31 martie 2018, pp.89-90. ISSN-L 1843-1038.
  72. **PARII, S., JOSANU, V., CIOCANU, M.** Screening-ul auditiv la nou-născuți. În: *„Revista specializata ORL.ro”*. București, România, nr. 19 (2/2013), pp. 42-44. ISSN 2067-6530.
  73. **PARII, S., JUCOVSCI, C.** Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Brevet de invenție MD 792 Z din 2014.09.30. În: BOPI. Chișinău, 2014, nr. 02, pp. 29.
  74. **PARII, S., MEREUȚĂ, I., VALICA, V., CARAUȘ, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E.** Evaluarea toxicității acute a suspensiei Merion 100 ml. În: *„Revista InfoMed”*. Chișinău, 2016, nr. 2/2, pp. 240-244. ISSN 1810 – 3936.
  75. **PARII, S., RUDIC, V.** Utilizarea extractului din biomasa tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis (Nordst) Geitl CNMN-CB-02* pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie. Brevet de invenție 4277 C1, A61K 36/05, A61P27/16. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie ”Nicolae Testemițanu”. Nr. depozit a 2013 0056. Data depozit 24.05.2013. Publicat 31.03.2014. In: BOPI. 2014, nr. 3, p. 27.
  76. **PARII, S., VALICA, V., CARAUȘ, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E., COJOCARU, A.** Evaluarea toxicității acute a unor noi compuși medicamentoși combinați. În: *„Revista Farmaceutică a Moldovei”*. Chișinău, 2015, nr. 1-2, pp. 35-38. ISSN 1812-5077.
  77. **PARII, S., UNCU, L., VALICA, V., NICOLAI, E., MANIUC, M.** Elaborarea și evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos pentru tratamentul otitelor. În: *”Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași”*, România, 2016, vol. 120, nr.2/supl. 1, pp. 61-69. ISSN-L: 2286-2560.
  78. **PARII, S., VALICA, V., GUDUMAC, V., NACU, V., CARAUȘ, V., NICOLAI, E., UNGUREANU, A., PÂNTEA, V., COCIUG, A., JIAN, M.** Determinarea toxicității cronice a unui nou compus medicamentos combinat. În: *„Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale*. Chișinău, 2016, nr. 1, pp. 214-219. ISSN 1857-0011.
  79. PASCU, A. *Audiometrie*. Monografie. București. 2000. 274 p. ISBN 9738047153.
  80. POPA, V., ANDRIUȚĂ, V., HODONOAGĂ, N. *Ghid otorinolaringologic*. Ed. „Universitas”. Chișinău, 1994, 200 p. ISBN 5-362-01114-6.
  81. RADU, A., RIZESCU, M. *Hipoacuzia genetică*. ORL. Supliment medical. București, nr. 1, 2012, pp. 10-11.
  82. RADULESCU, L., MÂRȚU, C., RĂDULESCU, T., MÂRȚU, D. Bioetica și audiologia

- În: „*Revista specializata ORL.ro*”. București, România, nr. 15 (2/2012), pp. 7-9. ISSN 2067-6530.
83. RĂDULESCU. L., MĂRȚU. C., MĂRȚU. D., DAMEAN. G., COZMA. S. Hipoacuzia – indicațiile tratamentului cu proteze implantabile. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. București, România, nr. 27 (2/2015), pp. 22-25. ISSN 2067-6530.
  84. ROMAN, L., BOJIȚĂ, M., SĂNDULESCU, R. – *Analiza și controlul medicamentelor//Metode instrumentale de analiză și controlul medicamentelor*, Intelcredo, Cluj-Napoca, 2003, pp. 65-85,253-282,296-327. ISBN 9738197120.
  85. RUDIC, V. *BioR – Studii biomedicale și clinice*. Monografie. Chișinău, 2007, 375 p. ISBN 978-9975-9548-8-4.
  86. RUDIC, V., RUDI, L., CHIRIAC, T., CEPOI, L., MISCU, V., s.a. Activitatea antioxidantă și antiradicalică a biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-11 pe fon de stres indus în condiții de producere industrial. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*. nr. 1(331) 2017, pp.105-111. ISSN: 1857-064X.
  87. RUSNAC, L., UNGUREANU, A., VALICA, V., PARII, S., NICOLAI, E. Nanomedicine – regulatory aspects. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe Medicale*. Chișinău, 2014, nr.5, pp. 41-52. ISSN 1857-0011.
  88. SANDUL, A., ANTOHI, A., VETRICEAN, S., FORTUNA, V., DIDENCU, A., ENACHI, V. Abcesul Bezold. Prezentare de caz. În: *Analele științifice ale USMF „N. Testemițanu”*, 2013, nr. 4, pp. 326-329. ISBN 978-9975-113-45-8.
  89. SANDUL, A., BURACOVSCI, N., BURACOVSCI, M. Otomastoidita cervicală Bezold – caz clinic. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. București, România, nr. 31 (2/2016), pp. 16-19. ISSN 2067-6530
  90. SARAFOLEANU, D., SARAFOLEANU, C. *Urgențe în ORL*. Monografie. București, 1997, 127 p. ISBN 973-570-078-6.
  91. SARAMEȚ, G. *Combi-națiile fixe de substanțe active, provocări ale industriei farmaceutice*. Univers Farmaceutic, nr 3, București, 2015, pp. 20-21. ISSN 2537-2483.
  92. SCUTARI, C., GONCIAR, V., BACINSCHI, G., BESLIU, A. Interacțiunile farmacocinetice ale fitopreparatelor și medicamentelor. În: *Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la nașterea profesorului Efim Alexeevici Muhin „Actualități în farmacologie și farmacologia clinică”*. Revista Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2018, nr. 4 (78), pp.109-117. ISSN: 1729-8687.

93. SPINEI, L., LOZAN, O., BADAN, V. Biostatistica. CEP Medicina. Chişinău. 2009. 186 p. ISBN 978-9975-78-743-7.
94. STRUNGARU, C.R., CALARAŞU, R., BRÂNZAN, A., et al. Hipoacuzia la copil. Cauze genetice. În: „*Revista Medicală Română*”. Vol. LVIII, 2011, nr. 1, pp. 28-30. ISSN 1220-5478
95. TODIRAŞ, M. *Interrelații dintre factorii vasomotorici locali și rolul lor în reglarea tonusului vascular*. Teză de doctor habilitat în medicină, Chişinău, 2006. 224 p.
96. TOTOLIN, M. Metode clinice, audiologice și genetice de investigare a hipoacuziei neurosenzoriale congenitale. *Rezumat al tezei de doctor în medicină*. Craiova, România, 2011, 24 p.
97. TUDOR, A., MAZILU, R., TOADER, M., TOADER, C. Diagnosticul audiologic la copil. În: *Rezumatul Primului Congres Național de ORL Pediatrie*. Timișoara, România, 2011, pp. 37-38.
98. ȚURCAN, L., PODGURSCHI, L., GHICAVÎI, V. Medicina personalizată – un imperativ al timpului. În: *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*. 2013, nr. 1(14), pp. 288-285. ISSN 1857-1719.
99. UNCU, L., GONCEAR, T., NICOLAI, E., VISLOUH, O., PARIU, S. Evaluarea calitativa a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele Conferinței științifice cu participare internațională „Farmacia etică: istorie, realități și perspective” dedicată memoriei acad. Vasile Procopis și a conf. Nadejda Ciobanu*. Chişinău, 2018, pp. 172-173. ISBN 978-9975-3159-1.
100. UNCU, L., IURESCO, T., **PARIU, S.**, CIOBANU, N. Utilizarea medicamentelor combinate în tratamentul maladiilor otorinolaringologice. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chişinău, 2011, nr. 1-4, pp. 32-36. ISSN 1812-5077.
101. UNCU, L., NICOLAI, E., POMANĂ, E., VALICA, V., **PARIU, S.**, DONICI, E. Studiul stabilității picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina 3 mg/ml. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*, Chişinău, 2016, nr.1-4, pp. 65-67. ISSN 1812-5077.
102. VALICA, V. *Studii privind elaborarea unor produse farmaceutice antiinfecțioase. Tehnologie, analiză și standardizare*. Autoreferat al tezei de doctor habilitat în farmacie. Chişinău, 2003. 40 p.
103. VALICA, V., RUSNAC, L. Centrul Științific în Domeniul Medicamentului – actualități și perspective. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chişinău, 2014, nr. 1-2, pp. 15-18. ISSN 1812-5077
104. VALICA, V., TODIRAŞ, M., **PARIU, S.**, RUSNAC, L., DIUG, O., UNGUREANU, A.,

- GOLOVIN, P., NICOLAI, E., PETROVA, T., BALUȚEL, B. Neamon-hepa, capsule, în tratamentul hepatitelor și cirozei hepatice. În: *Materialele Conferinței științifico-practice dedicată aniversării a 70-a de la nașterea profesorului Boris Parii „Medicamentul de la idee la farmacie”, Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 1-2, pp. 37-42. ISSN 1812-5077.
105. AKHILA, S., AISWARYA, S., KAVYA, S. Development and validation of spectrophotometric methods for simultaneous estimation of citicoline and piracetam in tablet dosage form. In: *J Pharm Bioallied Sci.* 2013 Jul-Sep; vol.5(3) pp.202–207. DOI: 10.4103/0975-7406.116818 ISSN: 0975-7406
106. ALADAG, I., EYBILLEN, A. Role of oxidative stress in hearing impairment in patients with type two diabetes melitius. In: *The Journal of Laryngol and Otology* . vol 123/Issue09/2009 sep; pp. 957-963. DOI: 10.1017/S0022215109004502 ISSN: 00222151
107. *Australian Government Department of Health and Ageing. Compliance Medicines Working Group Report to Pharmaceutical Benefits Advisory Committee.* April 2010. Disponibil: <http://www.pbs.gov.au/publication/factsheets/shared/2010-09-20-CMWG-report-to-PBAC.pdf> (accesat 15.06.2019).
108. BA, A. Metabolic and structural role of thiamine in nervous tissues. In. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2008, vol.28., nr.7, pp. 923-931. DOI: 10.1007/s10571-008-9297-7, ISSN: 1573-6830.
109. BAMFORD, J.M., UUS, K., DAVIS, AC. Screening for hearing loss in childhood: issues, evidence and current approaches in the UK. In: *J Med Screen*, 2005,12( 3), pp.119-124. DOI: 10.1258/0969141054855256.
110. BANGALORE, S., KAMALAKKANNAN, G., PARKAR, S., MESSERLI, FH. Fixed-dose combinations improve medication compliance: a meta-analysis. In: *American Journal of Medicine* 2007; nr. 120(8): pp. 713-719, DOI : 10.1016/j.amjmed.2006.08.033 ISSN: 00029343.
111. BLIZNETZ, E.A., LALAYANTS, M.R., MARKOVA, T.G., BALANOVSKY, O.P., BALANOVSKA, E.V. *et al.* Update of the GJB2/DFNB1 mutation spectrum in Russia: a founder Ingush mutation del (GJB2-D13S175) is the most frequent among other large deletions. In: *Journal of Human Genetics.* 2017;62(8): pp. 789-795. <https://doi.org/10.1038/jhg.2017.42> ISSN: 1468-6244.
112. BORKOSKI-BARREIRO, S.A., FALCON-GONZÁLEZ, J.C., LIMINANA-CANAL, J.M., RAMOS-MACIAS, A. Evaluation of very low birth weight ( $\leq 1,500$  g) as a risk

- indicator for sensorineural hearing loss. In: *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2013; 64: pp. 403–408. ISSN: 0001-6519.
113. BRIAN, R., EARL, MARK, E. CHERTOFF. Mapping auditory nerve firing density using high-level compound action potentials and high-pass noise masking. In: *Journal Acoustic Society of America.* 2012 Jan; 131(1): pp. 337–352. doi: 10.1121/1.3664052. ISSN: 0001-4966.
  114. BRITISH PHARMACOPOEIA 2009, pp. 4172-4175, pp. 4776-4778. ISSN: 00071447
  115. BRUSCHINI, L., CIABOTTI, A., BERRETTINI S. Chronic tuberculous otomastoiditis: a case report. In: *J Int Adv Otol.* 2016; 12 (2) pp. 219-221. <https://doi.org/10.5152/iao.2016.2097> ISSN: 13087649.
  116. BUZA, A., LEVITCHI, A., **PARII, S.**, CHIABURU, A., CUROCICHIN, G. Molecular genetic profile of nonsyndromic sensorineural hearing loss. În: *Volum rezumate Conferinței Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare”*– Ediția a-XVI-a. Iași, România, 2018, pp. 89-90.
  117. CALEFFE-SCHENCK, N. Regenerating Hearing: Researchers Begin First-Ever Study of Stem Cells to Treat Hearing Loss. In: *The ASHA Leader.* 2012, nr. 4. pp. 187-193. ISSN: 10859586.
  118. CHANG-HE, WANGA., YU-XUAN, WANGB., HAI, JINGLIU. Validation and application by HPLC for simultaneous determination of vitexin-2''-O-glucoside, vitexin-2''-O-rhamnoside, rutin, vitexin, and hyperoside. In: *Xianyang* 2011, pp. 291-296. ISSN: 20951779.
  119. CHENG, A.G., CUNNINGHAM, L.L., RUBEL, E.W. Mechanisms of hair cell death and protection. In: *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 13, 2005, pp. 343–348, ISSN: 10689508.
  120. CHERKO, M., HICKSON, L., BHUTTA M. Auditory deprivation and health in the elderly. In: *Maturitas.* 2016;88: pp. 52-57. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.03.008> ISSN: 18734111.
  121. CHOI, Y-H et al. Antioxidant vitamins and magnesium and the risk of hearing loss in US general population. In: *Am J Clin Nutr.* Published online. November 2013. doi: 10.3945/ajcn.113.068437
  122. CONLIN, A.E., PARNES, L.S. Treatment of sudden sensorineural hearing loss: A systematic review. In: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007 Jun;133(6): pp. 573-81 ISSN: 08864470.
  123. CONNOR, J., RAFTER, N., RODGERS, A. Do fixed-dose combination pills or unit-of-use packaging improve adherence? A systematic review. In: *Bull World Health Organ* 2004;82: pp. 935–9. [PubMed] ISSN: 0042-9686.

124. CROCKETT, R., BAKER, H., UUS, K., BAMFORD, J. AND MARTEAU, T. Maternal anxiety and satisfaction following infant hearing screening: a comparison of the health visitor distraction test and newborn hearing screening. In: *Journal of Medical Screening*, Vol 12, No 2, June 2005, pp. 78-82 ISSN: 09691413.
125. CRYNS, K. A genotype-phenotype correlation for GJB2 (connexin 26) deafness. In: *Journal of Medical Genetics* (2004) 41(3) pp. 147-154 DOI: 10.1136/jmg.2003.013896.
126. DANILENKO, N., MERKULAVA, E., SINIAUSKAYA, M., OLEJNIK, O., LEVAYA-SMALIAK, A., et al. (2012). Spectrum of Genetic Changes in Patients with Non-Syndromic Hearing Impairment and Extremely High Carrier Frequency of 35delG GJB2 Mutation in Belarus. In: *PLoS ONE* 7(5): e36354. doi:10.1371/journal.pone.0036354 ISSN: 19326203.
127. DARRAT, I., AHMAD, N., SEIDMAN, K., SEIDMAN M.D. Auditory research involving antioxidants. In: *Current Opinion in Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, 2007, 15 pp. 358-363. ISSN: 10689508.
128. DEENADAYAL, D.S., VIDYASAGAR, D., BOMMAKANTI, V., GOEL, K., NAEEM, N. Role of Intratympanic Steroids in the Management of Meniere's Disease — A Review of 151 Cases. In: *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2016;2(5): pp. 108-113. ISSN: 2168-5452
129. DEMARCANTONIO, M., CHOO, D.I. Radiographic Evaluation of Children with Hearing Loss. In: *Otolaryngol Clin North Am*. 2015;48(6): pp. 913-932. ISSN: 00306665
130. DIACOVA, S., DESVINGHES, V., CHIABURU, A., CHIRTOCA, D., **PARII, S.** Tympanostomy and adenoidectomy for treatment of otitis media in children. In: *Abstracts of 4-th Congress of the European Academy of Paediatric Societies*, Archives of disease in childhood. Vol. 97, London, UK, 2012, p. 453. ISSN: 1468-2044
131. ELAHEH, GHOLAMI PARIZAD., HOUSHANG, GERAMI MATIN., ESKANDAR, GHOLAMI PARIZAD., and AFRA, KHOSRAVI. The Prevalence of Hearing Loss in Patients with Hepatitis B Infection Compared with Healthy Volunteers. In: *Iranian Journal of Otorhinolaryngol* 2017 May; 29(92): pp. 127–132 ISSN 2251-726X
132. EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 6<sup>th</sup> edition, 2008, p. 2035-2038. Disponibil: <http://rims.ruforum.org/317BDC4/european-pharmacopoeia-6th-edition.pdf> (accesat 12.06.2019).
133. EWERT, D.L., LU, J., LI, W., DU, X., FLOYD, R., KOPKE, R. Antioxidant treatment reduces blast-induced cochlear damage and hearing loss. In: *Hear Res*. 2012 Mar; 285(1-2): pp. 29-39. doi: 10.1016/j.heares. 2012.01.013. Epub 2012 Feb 6.

ISSN: 03785955.

134. FALUP-PECURARIU, O., LEIBOVITZ, E., MERCAS, A., BLEOTU, L., et al. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. In: *Int J Infect Dis.* 2013, 17(9), pp.702-706. ISSN: 12019712
135. FAZEL, M.T., JEDLOWSKI, P.M., CRAVENS, R.B JR., ERSTAD, B.L. Evaluation and Treatment of Acute and Subacute Hearing Loss: A Review of Pharmacotherapy. In: *Pharmacotherapy.* 2017, pp.17-22. doi: 10.1002/phar.2044.
136. FELDMAN, L., EFRATI, S., EVIATAR, E., ABRAMSOHN, R., YAROVYOY, I., GERSCH, E. et al. *Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine.* *Kidney International,* 2007, 72(3), pp. 359-36. ISSN: 00852538.
137. FETONI, A. R., GARZARO, M., RALLI, M., LANDOLFO, V., SENSINI, M., PECORARI, G. et al. The monitoring role of otoacoustic emissions and oxidative stress markers in the protective effects of antioxidant administration in noise-exposed subjects: A pilot study. *Medical Science Monitor.* In: *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research,* 2009, 15(11), pp. PR1-8. ISBN: 1643-3750.
138. FJALSTAD, J.W., LAUKLI, E., VAN DEN ANKER, J.N., KLINGENBERG, C. High-dose gentamicin in newborn infants: is it safe? In: *European Journal of Pediatrics.* 2014; pp. 173:4:489-495. <https://doi.org/10.1007/s00431-013-2194-1> ISSN: 1432-1076.
139. FRANCIS, S. P. et al. A novel role of cytosolic protein synthesis inhibition in aminoglycoside ototoxicity. In: *J. Neurosci.* 2013, vol. 33, pp. 3079–3093. ISSN: 0270-6474.
140. GADZHANOVA, S., ILOMAKI, J., ROUGHHEAD E.E. Antihypertensive use before and after initiation of fixed-dose combination products in Australia: a retrospective study. In: *Int J Clin Pharm* 2013, vol. 35, pp.613–620. ISSN: 22107703.
141. GERALD, M., HAASE, M.A, KEDAR, N. et al. Antioxidant micronutrient impact on hearing disorders: concept, rationale, and evidence. 2009. In: *American Journal of Otolaryngology.* 2011, vol. 32(1), pp. 55-61. DOI: 10.1016/j.amjoto.2009.09.002. ISSN: 01960709.
142. GHIBSON, G.E., ZHANG, H. Interaction of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. In: *Neurochem. Int.*2002, vol.40, nr.6, pp.493-504. ISSN: 0197-0186.
143. GHIRRI, P., LIUMBRUNO, A., LUNARDI, S., FORLI, F., BOLDRINI, A., BAGGIANI, A. Berrettini Universal neonatal audiological screening: experience of the University

- Hospital Ital. In: *J Pediatr.* 2011, pp.16-37 ISSN: 17208424.
144. GOPINATH, B et al. Dietary antioxidant intake is associated with the prevalence but not incidence of age-related hearing loss. In: *J Nutr Health Aging.* 2011, vol. 15, pp. 896-900 ISSN: 12797707.
  145. *Guide on clinical development of fixed combination medicinal products.* Disponibil: <https://www.ema.europa.eu/en/clinical-development-fixed-combination-medicinal-products>. (accesat 05.06.2019).
  146. HARIHARAN, N., ZHA, I P., & SADOSHIMA, J. Oxidative stress stimulates autophagic flux during ischemia/reperfusion. In: *Antioxid. Redox Signal.* 14, 2011, pp. 2179–2190. ISSN: 1523-0864
  147. HATANO, M., URAMOTO, N., OKABE, Y., FURUKAWA, M., AND MAKAOOTO, I. Vitamin E and vitamin C in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Acta Oto-Laryngologica.* 2008, vol.128, pp.116-121. ISSN: 00016489
  148. HUTCHINS, V., ZHANG, B., FLEURENCE, R.L., et al. A systematic review of adherence, treatment satisfaction and costs, in fixed-dose combination regimens in type 2 diabetes. In: *Curr Med Res Opin.* 2011, vol. 27, pp.1157–1168. ISSN: 0300-7995.
  149. JOACHIMS, H.Z., SEGAL, J., GOLZ, A., NETZER, A., AND GOLDENBERG, D. Antioxidants in Treatment of Idiopathic Sudden Hearing Loss. In: *Otology & Neurotolog.* 2003 vol 24, pp. 572-575. ISSN: 15317129.
  150. Joint Committee on Infant Hearing (2007) Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. In: *Pediatrics* 120, pp.898-921 doi:10.1542/peds.2007-2333.
  151. KASEMODEL, A., COSTA, L., MONSANTO, R, et al. Sensorineural hearing loss in the acute phase of a single episode of acute otitis media. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2019 Jul 2. pp: S1808-8694(19)30059-X. doi: 10.1016/j.bjorl.2019.06.001.
  152. KAYA, H., KOC, A.K., SALYN, I, GUNES, S., et. al. Vitamins A, C, E and selenium in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Eur Arch Otorhinolaryngol.*, 2015 may; 272(5), pp. 1119-1125. ISSN: 14344726
  153. KEMP, D., RYAN, S., BRAY, P. *A guide to the effective use of otoacoustic emissions // Ear Hear.* 1990, Vol. 11, pp. 93-105. ISSN: 15384667
  154. KIM, Y. J., et al. Autophagic flux, a possible mechanism for delayed gentamicin-induced ototoxicity. In: *Sci. Rep.* 7, pp. 413-456; doi: 10.1038/srep41356 (2017) ISSN: 20452322
  155. KILLIAN, S.J. *Vitamine A/retinol and maintenance of pluripotency of stem cells.* *Nutrients.* 2014, vol 6(3), pp.1209-1222. doi: 10.3390/nu6031209.



156. KOTECHA, B., & RICHARDSON, G. P. Ototoxicity *in vitro*: effects of neomycin, gentamicin, dihydrostreptomycin, amikacin, spectinomycin, neamine, spermine and poly-L-lysine. In: *Hear. Res.* 1994, vol. 73, pp. 173–184. ISSN: 03785955.
157. KOSTAL, M., JAKUB, D. Rheopheresis in treatment of idiopathic sensorineural sudden hearing loss. *Journal Otolaryngol Head Neck Surg.* 2017, vol. 29(92), pp. 127–132. ISSN: 2251726.
158. LAMM, H., MÜLLER KORTKAMP, C, ATHANASIA WARNECKE et al. *Concurrent hyperbaric oxygen therapy and intratympanic steroid application as salvage therapy after severe sudden sensorineural hearing loss.* *Clin Case Rep.* 2016, vol 4(3), pp. 287–293. doi: 10.1002/ccr3.510 ISSN: 19160216.
159. LAZAR, C., POPP, R., TRIFA, A., et al. Prevalence of the c35delG and p.W24X mutations in the *GJB2* gene in the patients with nonsyndromic hearing loss from North-West Romania. In: *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2010, vol. 74(4), pp. 351 – 355. ISSN: 01655876
160. LE T.N., STRAATMAN, L.V., LEA, J., WESTERBERG, B. Current Insights in Noise-Induced Hearing Loss: a Literature Review of the Underlying Mechanism, Pathophysiology, Asymmetry, and Management Options. In: *Journal of Otolaryngology — Head&Neck Surgery.* 2017, pp. 41-46. doi:10.1186/s40463-017-0219-x ISSN: 19160216
161. LE PRELL C., HUGHES L.F., MILLERA J.M. Free radical scavengers, vitaminis A, C, and E plus magnesium reduces noise trauma. In: *Free Radic Biol Med.*, 2007, vol. 42(9): pp. 1454-1463. ISSN: 08915849
162. LIN, F.R., METTER, E.J., O'BRIEN, R.J., RESNICK, S.M., ZONDERMAN, AB., FERRUCCI, L. Hearing loss and incident dementia. In: *Archives of Neurology.* 2011, vol. 68(2): pp. 214-220. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.362>. ISSN: 00039942.
163. LOKE, W.M., PROUDFOOT, J.M., STEWART, S., MCKINLEY, A.J., NEEDS, P.W., KROON, P.A., HODGSON, J.M., CROFT, K.D. Metabolic transformation has a profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin: lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. In: *Biochem. Pharmacol.* 2008, vol. 75(5), pp.1045-1053. ISSN: 00062952.
164. MAEDA, S., NAKAGAWA, S., SUGA M., YAMASHITA, E., OSHIMA, A., FUJIYOSHI, Y., TSUKIHARA, T. *Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution* In: *Nature.* 2009, vol. 458, pp. 597–602. DOI: 10.1038/nature07869. ISSN: 00280836.

165. MAHDIEH, N, RABBANI, B. Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: a meta-analysis of carrier frequency. *International Journal Audiol.* 2009, vol.48(6), pp. 363-370. doi: 10.1080/14992020802607449.
166. MAŁGORZATA Nabrdalik., KATARZYNA Grata. Antibacterial activity of *Ocimum basilicum* L. essential oil against Gram-negative bacteria. In: *Post Fitoter.* 2016, vol. 17(2), pp. 80-86. Disponible: <http://www.czytelniamedyczna.pl/5632,antibacterial-activity-of-ocimum-basilicum-l-essential-oil-against-gramnegative.html>
167. MARTÍN-SALDAÑA, S., PALAO-SUAY, R., TRINIDAD, A., AGUILAR, M.R. Otoprotective properties of 6?-methylprednisolone-loaded nanoparticles against cisplatin: In vitro and in vivo correlation. In: *Nanomedicine.* 2016, vol. 12(4), pp. 965-976 ISSN: 15499642. DOI: 10.1016/j.nano.2015.12.367
168. MASIDOVA, I., VARGA, L., STANIK, J., et al. Molecular and hereditary mechanisms of sensorineural hearing loss with focus on selected endocrinopathies. In: *Endocrin Regul.*, 2012, vol. 46(3), pp. 167-186. DOI: 10.4149/endo\_2012\_03\_167.
169. MASLARSKA, V. Development and Validation of a Rapid RP-HPLC Method for Estimation of Nicergoline in Tablet Dosage Forms. In: *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars (IJPRS)*, 2014, vol.3(1), pp. 284-288. ISSN2277-7873.
170. MORITA, Y., TAKAHASHI, K., IZUMI, S., KUBOTA, Y., OHSHIMA, S., HORII, A. Vestibular Involvement in Patients With Otitis Media With Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis. In: *Otol Neurotol.* 2017, vol. 38(1), pp. 97-101 ISSN: 15374505.
171. *National Institute on Deafness and other Communication Disorders (NIDCD). Statistics and epidemiology.2019* [online] Disponibil: <https://www.nidcd.nih.gov/health/statistics/quick-statistics-hearing> (accesat 27.07.2019).
172. NEAMȚU, M., ABABEI, D-C., BILA, V. Implicarea stresului oxidativ în afecțiunile neuropsihiatrice. Medicamentul: tradiție și modernitate. Iași, vol 1, 2019, pp. 25-71. ISBN 978-606-544-625-0.
173. OMICHI, R., SHIBATA, S., MORTON C., SMITH, R. Gene therapy for hearing loss. In: *Hum Mol Genet.* 2019,vol.28, pp.65-79. doi: 10.1093/hmg/ddz129.
174. ORLANDO, S., CHIORINI, J.A. et al. Coordinated control of connexin 26 and conexin 30 at the regulatory and functional level in the inner ear. In: *Proc Natl Acad Scietifics.* 2008, vol. 105(48), pp. 18776-81. ISSN: 0027-8424.
175. PARKER, M . Biotechnology in the Treatment of Sensorineural Hearing Loss: Foundations and Future of Hair Cell Regeneration. *Journal of Speech, Language, and*

- Hearing Research*. 2011, vol. 54(6), pp. 1709–1731. ISSN: 1092-4388.
176. PERZANT, R. et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet*. 1993, vol.4(3), pp.289-294. ISSN 1061-4036
  177. PORTER, H.L., NEELY, S.T., GORGA, M.P. *Ear Hear*. “Using benefit-cost ratio to select Universal Newborn Hearing Screening test criteria”. 2009, vol.30(4), pp. 447-457. ISSN: 01960202.
  178. RAMBHADE, S., CHAKARBORTY, A., SHRIVASTAVA, A., et al. A survey on polypharmacy and use of inappropriate medications. In: *Toxicol Int*. 2012, vol. 19, pp. 68–73. ISSN: 0971-6580.
  179. C. RADULESCU, D. MIRCESCU, A. TOFAN, et al. P12 PLGA Nanoparticles – a promising alternative to improve the biological activity of lutein and vitamin E. In: *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2019, vol. 27(1), nr. 2, pp. S34-S35. ISSN 2284-5623.
  180. RĂDULESCU, L., MÂRȚU, C., BIRKENHÄGER, R., COZMA, S., UNGUREANU, L., LASZIG, R. Prevalence of mutations located at the DFNb1 locus in a population of cochlear implanted children in eastern Romania. In: *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012, vol. 76(1), pp. 90-94. doi: 0.1016/j.ijporl. 2011.10.07. Epub 2011 Nov 8. ISSN: 01655876
  181. RĂDULESCU, L., CUROCICHIN, G., BUZA, A., **PARII S.**, MERIACR,E T., CHIABURU-CHIOSA, D., BUTNARU, C., BIRKENHAGE,R R., MARTU, C. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: „*Revista de Chimie*”. București, România, 2018, vol.69, nr.8, pp. 2273-2277. ISSN: 00347752
  182. REVOLTELLA, R., PAPINI, S., ROSELLINI, A., MICHELINI, M., FRANCESCHINI, V., CIORBĂ, A., MARTINI, A. Cochlear repair by transplantation of human cord blood CD133 cells to non-scid mice made deaf with kanamycin and noise. In: *Cell Transplantation*, 2008, vol. 17, pp. 665–678. ISSN: 09636897.
  183. ROLAND, P.S., DOHAR, J.E, LANIER, B.J., et al: Topical ciprofloxacin/dexamethasone otic suspension is superior to ofloxacin otic solution in the treatment of granulation tissue in children with acute otitis media with otorrhea through tympanostomy tubes. In: *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004, vol.130(6): pp. 736-41 doi:10.1016/j.otohns.2004.02.037.PMID: 15195060
  184. SCHEDLBAUER, A., DAVIES, P., FAHEY, T. *Interventions to improve adherence to lipid lowering medication*. Cochrane Database Syst Rev 2010:CD004371. Scholtz W.

- Clinical Drug Investigation, 2012, vol. 32(6), pp. 387-399. doi: 10.1002/14651858.CD004371.pub3.
185. SCHILDER, A.G., MAROM, T., BHUTTA, M.F., CASSELBRANT, M.L., COATES, H., GISSELSSON-SOLÉN, M., HALL, A.J., MARCHISIO, P., RUOHOLA, A., VENEKAMP, R.P., MANDEL, E.M. Otitis Media: Treatment and Complications. In: *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2017, vol. 156(4), pp.88-105. <https://doi.org/10.1177/0194599816633697>
  186. SINGLETON, C.K., MARTIN P.R. Molecular mechanisms of Thiamine utilization. In: *Cur.Mol.Med.*, 2001, vol 1, nr 2, p.197-207. ISSN: 15665240
  187. SIMONS, L.A, ORTIZ, M., CALCINO, G. Persistence with a single pill versus two pills of amlodipine and atorvastatin: the Australian experience, 2006-2010. In: *Med Jour Aust.* 2011, vol. 195, pp.134–137. ISSN: 0025729X
  188. SMITH, R.J., BALE, J.F. JR., WHITE, K.R. Sensorineural hearing loss in children. In: *Lancet* 2005, vol. 365, pp. 879–890. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71047-3 ISSN: 01406736
  189. SMITH, A., GUTTERIDGE, I., ELLIOTT, D., CRONIN, M. Acute otitis media associated bilateral sudden hearing loss: case report and literature review. In: *J Laryngol Otol.* 2017, vol.131 (S2), pp.57-61. <https://doi.org/10.1017/S0022215117000779>. ISSN: 17485460.
  190. SNOECKX, R.L, HASSAN, D.M, KAMAL, N.M., et al. Mutation analysis of the GJB2 (connexin 26) gene in Egypt In: *Hum Mutat.* 2005, vol.26(1), pp.60-71. DOI: 10.1002/humu.9350.
  191. SREEDHAR, D., SUBRAMANIAN, G., UDUPA, N. Combination drugs: are they rational? In: *Current Sci.* 2006, vol. 91, p. 406. ISSN: 00113891
  192. SRIKANTH, S., ISAAC, R., REBEKAH, G., RUPA, V. Knowledge, attitudes and practices with respect to risk factors of otitis media in a rural South Indian community. In: *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.* 2009, vol. 73(10), pp. 1394-1398. ISSN: 01655876. doi. 10.1016/j.ijporl.2009.06.024
  193. STACHLER, R.J., CHANDRASEKHAR, S.S., ARCHER, S.M., et al. Clinical practice guideline: sudden hearing loss. In: *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012, vol. 146(3), pp.1-35. doi: 10.1177/0194599812436449. ISSN: 01945998.
  194. TODIRAȘ, M., RUDIC, V., **PARII, S.**, GUDUMAC, V., RUSNA, C L., GOLOVIN, P., CHIRIA, C T., VALICA, V. Neamon-Hepa on Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Antioxidant properties. În: *Curierul Medical.* Chișinău, 2010, nr. 4, p. 3-6. ISSN 1875-0666

195. TRIPATHI, K.D. *Drugs and fixed dose combinations banned in India*. New Delhi: Jaypee Brothers; 2004. pp. 847–848. DOI: 10.5005/jp/books/12256
196. UMURIGE, A., LEE, S., KIM, D., CHOI, M. et al. Avenanthramide-C prevents noise- and drug-induced hearing loss while protecting auditory hair cells from oxidative stress. *Cell Death Discov.* 2019 vol.5, no.115. doi: 10.1038/s41420-019-0195-1.
197. UUS, K., BAMFORD, J.M., YOUNG, A.M., MCCRACKEN, WM. Readiness of paediatric audiology services for newborn hearing screening: findings and implications from the programme in England. In: *International Journal of Audiology*, 2005, vol. 44, pp. 712-720. ISSN: 14992027
198. VAN DE GRAAFF, K. *Human Anatomy*. Published by Mcgraw-Hill College, 2000, 370 p. ISSN: 1873-3573
199. VANCE, WARNOS, KCAREY J., et all. Genetics evaluation guidelines for the etiologic diagnosis of congenital hearing loss, *Genetics in Medicine*. 2002, vol. 4(3), pp. 162-171. DOI: 10.1097/00125817-200205000-00011.
200. VENEKAMP, R.P., SANDERS, S.L., GLASZIOU, P.P., DEL MAR, C.B., ROVERS, M.M. *Antibiotics for acute otitis media in children*. The Cochrane database of systematic reviews 2015, jun23 (6). DOI: 10.1002/14651858.CD000219.pub4. ISSN: 1469493X.
201. WAGNER, N., CAY-THOMASEN, P., LAURELL, G., et al. Cochlear hair cell loss in single-dose versus continuous round window administration of gentamicin. In: *Acta Otolaryngol.* 2005, vol. 125(4), pp.340 345. ISSN: 00016489.
202. WEIJL, N. I., ELSEENDOORN, T. J., LENTJES, E. G., HOPMAN, G. D., WIPKINK-BAKKER, A., ZWINDERMAN, A. H., et al. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapyinduced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. In: *European Journal of Cancer*. 2004, vol. 40(11) pp. 1713-1723. DOI: 10.1016/j.ejca.2004.02.029
203. WILSON, BS., TUCCI, DL., MERSON, MH., O'DONOGHUE, GM. Global hearing health care: new findings and perspectives. In: *Lancet*. 2017, vol. 390 (10111), pp. 2503-2515 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31073-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31073-5) ISSN: 1474547X
204. *World Health Organization.Factsheet №300 – Deafness and hearing loss* (updated March 2015), Disponibil: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en/>.
205. WU, BL., KENNA, M., LIP, V., IRONS, M., PLATT, O. Use of a multiplex PCR/sequencing strategy to detect both connexin 30 (GJB6) 342 kb deletion and connexin 26 (GJB2) mutations in cases of childhood deafness. In: *Am J Med Genet*. 2003, vol. 121, pp. A102-108. DOI: 10.1002/ajmg.a.20210

206. YANG, C.H., KO, M.T., PENG, J.P., HWANG, C.F. Zinc in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Laryngoscope*. 2011, vol. 121(3), pp. 617-621. ISSN: 0023852X.
207. YOSHINAGA-ITANO C. From Screening to Early Identification and Intervention: Discovering Predictors to Successful Outcomes for Children With Significant Hearing Loss. In: *Journal of Deaf Studies and Deaf Education*, 2003, vol. 8(1), pp. 11-30. DOI: 10.1093/deafed/8.1.11
208. ZHANG, Y., JIANG, Q., WU, X. et al. The Influence of Metabolic Syndrome on the Prognosis of Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss. In: *Otol Neurotol*. 2019, vol.40(8), pp. 994-997. doi: 10.1097/MAO.0000000000002352
209. АБДУЛКЕРИМОВ, Х.Т., БОБОШКО, М.Ю., ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А. и др. *Сенсоневральная тугоухость у взрослых*. Клинические рекомендации. Москва, 2016, 27 с. Disponibil:<http://pro-audiologia.ru/categories/recommendations-and-standards/item/212-sensonevralnaya-tugoukhost-u-vzroslykh>
210. АЗИЕВА, З.О. Сенсоневральная тугоухость с тоски зрения этиологии и патогенеза. В: *Кубанский научный медицинский вестник*. №2 (157) 2016, с. 161-164. ISSN 1680-6228
211. АФОНЬКИН, В.Ю., ДОБРЕЦОВ, К.Г., СИПКИН, А.В. Новая схема применения кавинтона в лечении хронической нейросенсорной тугоухости. В: *Вестник оториноларингологии*. 2009. № 6, с. 69-70. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
212. БАБИЯК, В.И., ПАЦИНИН А.Н., ТУЛКИН, В.Н. *Лабиринтные нарушения при сосудистых заболеваниях головного мозга*. Disponibil: <http://pro-audiologia.ru/item/301-laburinth-breaches-under-a-vascular-disease-of-the-cerebrum> (accesat 10.07.2019).
213. БАЗАРОВ, В.Г., РОЗКЛАДКА, А. И. Оценка нарушений слуха при различных формах тугоухости. В: *ЖУНГБ*. 1989, № 3. с. 28-33. ISSN 0044-4650.
214. БАРАШКОВ, Н.А. *Молекулярно-генетическое изучение наследственной несиндромальной сенсоневральной глухоты в Республике Саха*. Автореферат диссертации кандидата биологических наук. Уфа, 2007, 23 с.
215. БАРЫШНИКОВА, М.А., ЗАНГИЕА, М.Т., БАРЫШНИКОВ, А.Ю. Взаимодействие липидных наночастиц с клеткой. В: *Российский биотерапевтический журнал*. №1/12, 2013, с. 11-15. ISSN: 1726-9794.
216. БОБОШКО, М.Ю., ГАРБАРУК, Е.С. МАРКОВА, Т.Г. и др. *Сенсоневральная тугоухость у детей*. Клинические рекомендации. Москва, 2016, 29 с. Disponibil:

<http://pro-audiologia.ru/categories/recommendations-and-standards/item/211-sensonevralnaya-tugoukhost-u-detej>

217. БОБОШКО, М.Ю., ЕФИМОВА, М.В., САВЕНКО, М.В. Современные аспекты диагностики ушного шума и его лечение у лиц пожилого возраста. В: *Вестник оториноларингологии*. 2011, № 3, с. 23-25. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
218. БОБОШКО, М.Ю., БЕРДНИКОВА, И.П., ГАРБАРУК, Е.С., САЛАХБЕКОВ, М.А., МАЛЬЦЕВА, Н.В. Влияние центральных слуховых расстройств на разборчивость речи при сенсоневральной тугоухости. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, № 3 83(2), с. 4-8. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
219. ВАЛИКА, В.В., **ПАРИЙ, С.Б.**, РУСНАК, Л.Г., УНГУРЯНУ, А.И., НИКОЛАЙ, Е.С., ТОДИРАШ, М.П. Результаты доклинических исследований нового комбинированного гепатопротектора Neamon-hera. В: *Фармакологія та лікарська токсикологія*. Киев, Украина, 2014, № 1(37) с. 40-47. ISSN 2227-7943
220. ВАСИЛЬЕВ, В.Г. *Контроль качества лекарственных средств и объектов растительного происхождения методом спектроскопии ЯМР<sup>1</sup>H без использования стандартных образцов*. Автореферат диссертации кандидата химических наук. Москва, 2018, 30 с. Disponibil: <https://www.sechenov.ru/upload/medialibrary/fdc/avtoreferat-gegechkori-pechat.pdf>
221. ВЕСЕЛАГО, О. В. Алгоритмы диагностики и лечения шума в ушах. Нервные болезни. Москва, 2006, № 2, с. 9-16. ISSN 2226-0757.
222. ВИЧКАНОВА, С.А. Данные клинического исследования антимикробного растительного препарата Сангвиритрин. В: *Русский медицинский журнал*. 2012, №2, с. 75-80. ISSN 2225-2282; eISSN 1682-4024.
223. ВИЧКАНОВА, С.А., КОЛХИР, В.К., КРУТИКОВА, Н.М. и др. Сангвиритрин – представитель нового поколения препаратов антимикробного действия. В: *Труды ВИЛАР «Химия, Технология, медицина»*. М., 2000. с.300–309.
224. ГОЛОВАНОВА, Л.Е. Методика оценки эффективности слухопротезирования у людей пожилого возраста. В: *Российская оториноларингология*. 2006, №1, с. 56-60. ISSN 1810-4800.
225. ГУРОВ, А.В., ЛЕВИНА, Ю.В., ГУСЕВА, А.Л., ЕЛЧУЕВА, З.Г., ЕФИМОВА, С.П., ГОРДИЕНКО, М.В. Микробиологические и клинические особенности острого среднего отита. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, 83(1), с. 36-39. ISSN 0042-4668 <https://doi.org/10.17116/otorino201883136-39>. ISSN 0042-4668

226. ДЪЯКОНОВА, И. Н., РАХМАНОВА, И. В., ИШАНОВА, Ю.С., БУРМИСТРОВА, Д.С. Слуховая функция недоношенных детей после лечения ототоксическими антибиотиками. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, 83(2), с. 9-13. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
227. ЖУРАВСКИЙ, С.Г., ЛОПОТКО, А.И., ТОМПСОН, В.В., ЦЫВЛЕВА, И.Д. Общепатологические аспекты повреждения волосковых клеток спирального органа. В: *Архив патологии*. 2004. №1, с. 44-50. ISSN 0004-1955
228. ЖУРАВСКИЙ, С.Г. *Сенсоневральная тугоухость: молекулярно-генетические, структурные и лечебно-профилактические аспекты (клинико-экспериментальное исследование)*. Автореферат диссертации доктора медицинских наук. СПб, 2006, 40 с.
229. ЗОЛОТОВА, Т.В. *Дифференциальный подход к лечению сенсоневральной тугоухости*. Автореферат диссертации доктора медицинских наук. Москва, 2004, 40 с.
230. КАРКИЩЕНКО, Н.Н. и соавт. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Москва. 2010, 358 с. ISBN 978-5-903950-10-2
231. КОВАЛЕВ, А.С., ВОЙНОВСКИЙ, А.Е., ИЛЬИН, В.А. и др. Применение перевязочных гелевых покрытий в лечении больных с ранами и поверхностными ожогами. В: *Материалы I международного конгресса "Раны и раневые инфекции"*. Москва, 2012, с. 188-189.
232. КОСЯКОВ, С.Я., МИНАВНИНА, Ю.В., ГУНЕНКОВ, А. В. Оценка качества жизни пациентов с различными формами хронического среднего отита. В: *Вестник оториноларингологии*. 2017, 82(5), с. 26-27. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
233. КУКЕС, В.Г. и соавт. *Новые подходы к оптимизации фармакотерапии некоторых заболеваний внутренних органов с позиции персонализированной медицины*. Монография. Москва, 2010, 168 с.
234. ЛАЛАЯНЦ, М.Р., МАРКОВА, Т.Г., БАХШИНЯН, В.В., БЛИЗНЕЦ, Е.А., ПОЛЯКОВ, А.В., ТАВАРТКИЛАДЗЕ Г.А. Аудиологическая картина и распространенность GJB2-обусловленной сенсоневральной тугоухости среди младенцев с нарушением слуха. В: *Вестник оториноларингологии*. 2014, № 2, с. 37-43. ISSN 0042-4668.



235. ЛАПОЧКИНА, Н.П. Фармакокинетика. Суспензия Фламена на здоровых добровольцах (фаза 1) и перспективы ее применения в онкологии. În: *Revista InfoMed*. Chişinău, 2016, nr. 2/1, p. 83-88. ISSN 1810 - 4800.
236. ЛАПОЧКИНА, Н.П., ДЖАЛАЛОВА, П.М. Опыт применения инновационного раневого покрытия Фламена при расхождении швов. В: *Материалы I международного конгресса "Раны и раневые инфекции"*. Москва, 2012, с. 188-189.
237. ЛОПОТКО, А.И., ПРИХОДЬКО, Е.А., МЕЛЬНИК, А.М. *Шум в ушах*. Монография. СПб, 2006, 278 с. ISBN 5-8469-0037-2.
238. МАРКОВА, Т.Г. Наследственные нарушения слуха. В кн.: *Оториноларингология/ Национальное руководство* / под ред. В.Т.Пальчуна В.Т. 2-е издание. – М.: Геотар, 2016. 1024 с. ISBN 978-5-9704-3746-9.
239. МАРКОВА, Т.Г., БЛИЗНЕЦ, Е.А., ПОЛЯКОВ, А.В., ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А. 20 лет изучения клинических проявлений GJB2-обусловленной тугоухости в России. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, № 83(4), с. 31-36. ISSN 0042-4668.
240. МАШКОВСКИЙ, М.Д. *Лекарственные средства. 16-ое издание*. Москва: Издательство Новая Волна. 2012, 1117 с. ISBN 978-5-7864-0303-0.
241. МОРОЗОВА, С.В., ШИБИНА, Л.М., ПОЛЯКОВА, Е.П. Шум в ушах как актуальная проблема практической медицины. В: *Вестник оториноларингологии*. 2015, № 80(5), с. 67-70. ISSN 0042-4668.
242. МОРОЗОВА, С.В., ШЕМПЕЛЕВА, Л.Э. Особенности психосоматического статуса у больных с вертеброгенными кохлеовестибулярными нарушениями. В: *Вестник оториноларингологии*. 2017, 82(1) с. 34-37. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
243. РУСНАК, Л.Г., ПАРИЙ, Б.И., ПАРИЙ, С.Б. Лекарственная аллергия- супрамолекулярные механизмы. В: *Материалы XVI Российский национальный конгресс „Человек и лекарство“*. Москва. 2009, с. 123.
244. САВЕНКО, И.В., БОБОШКО, М.Ю. Слуховая функция у детей, родившихся недоношенными. В: *Вестник оториноларингологии*. 2015, № 6, с. 71-76. ISSN 0042-4668.
245. СТАХОВСКАЯ, О.А. *Ототоксичность цисплатина и пути ее профилактики при лечении злокачественных опухолей у детей*: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2002. 25 с.
246. ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А. *Руководство по клинической аудиологии*. М., Изд. «Медицина», 2013, 674 с. ISBN 5-93189-023-8

247. ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А., МАРКОВА, Т.Г., ЧИБИСОВА, С.С., АЛЬШАРДЖАБ И ,И., ЦЫГАНКОВА, Е.Р. Российский и международный опыт реализации программ универсального аудиологического скрининга новорожденных. В: *Вестник оториноларингологии*. 2016, № 81(2), с. 7-12. <https://doi.org/10.17116/otorino20168127-12>. ISSN 0042-4668.
248. ТУФАТУЛИН, Г.Ш., БОБОШКО, М.Ю., АРТЮШКИН, С.А. Асимметричная сенсоневральная тугоухость во взрослой популяции. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, № 83(3), с. 20-24. <https://doi.org/10.17116/otorino201883320>. ISSN 0042-4668.
249. УМИНСКИЙ, А. А., ХАВСТЕЕН, Б. Х., БАКАНЕВА, Б. Ф. *Биохимия флавоноидов и их значение в медицине*. Монография. Пущино, 2007, 262 с. ISBN 978-5-903789-01-6
250. ФРАНЦУЗОВ, Б.Л., ФРАНЦУЗОВА, С.Б. *Лекарственная терапия уха, горла и носа*. Киев, 1988, 169 с. ISBN 5-311-00044-0
251. ХАБРИЕВ Р.У. и соавт. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Москва, 2005, 827 с. ISBN 5-225-04219-8
252. ЧАДХА, Ш. Глобальные действия при нарушениях слуха. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, № 83(4), с. 5-8. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
253. ШВЕЦ, В.И., КРАСНОПОЛЬСКИЙ, Ю.М. Липосомы в фармации. Продукты нанобиотехнологии. *Провизор* 2008; №3 стр. 18-24. Disponibil: [http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N03/lipos\\_308.php?part\\_code=62&art\\_code=6380](http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N03/lipos_308.php?part_code=62&art_code=6380)
254. ЩЕРБАКОВ, Д.А., РАЕМГУЛОВ, Р.А., БУХАРОВА, К.П., ДЮКОВА, И.А. Эффективность интратимпанального введения метилпреднизолона и гентамицина при болезни Меньера. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, № 83(5), с. 17-20. <https://doi.org/10.17116/otorino20188305117>. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
255. ЯБЛУЧАНСКИЙ, Н.И, САВЧЕНКО, В.Н, АБДУЕВА, Ф.М., БЫЧКОВА, О.Ю., БОНДАРЕНКО, И.А. *Терапевтическая фармакология*. Москва, 2011, 350 с. <https://studfiles.net/preview/3893984/page/>
256. ЯКОВЛЕВ, Д.С. Новый антагонист 5-НТЗ-рецепторов: изучение анксиолитических свойств. В: Д.С. Яковлев, Н.А. Колобродова, А.А. Спасов, В.А. Анисимова. В: *Биолог. осн-ы индивид. чувств. к псих-ным ср-вам* 2010. Приложение. с.76-77, 98.
257. ЯКОВЛЕВ, Д.С. Антитромботическая активность производного индола соединения sbt-119 на экспериментальных моделях тромбозов. В: Д.С. Яковлев, А.А. Спасов,

Т.М. Букатина, К.Ф. Суздалев. *Бюллетень экспериментальной фармакологии и медицины.* – 2014., Т.157., №7. с.6-63.

258. ЯКОВЛЕВ, С.В. Рациональная антимикробная терапия [Электронный ресурс]: руководство для практикующих врачей. под ред. С. В. Яковлева. - 2-е изд., перераб. и доп. М. : Литтерра, 2015. 1040 с. (Серия "Рациональная фармакотерапия".) - ISBN 978-5-4235-0171-6.
259. ЯНОВ, Ю. К., КУЗОВКОВ, В. Е., ЛЕВИН, С. В., КОРОЛЕВА И.В. Новые технологии в оториноларингологии: стволомозговая имплантация. В: *Русский медицинский журнал.* 2017, №23, с. 1695-1698. ISSN 2225-2282

## ANEXE

### Anexa 1. Proprietăți fizico-chimice ale produsului medicamentos Flamenă, emulsie orală

#### Descriere

Suspensie omogenă de culoare albă până la galbenă-pal, cu un ușor miros caracteristic. La păstrare, suspensia se stratifică și la suprafață se formează un lichid supernatant, iar sub el – un sediment friabil de culoare albă până la galben-pal, care la agitare se mixează.

#### Dihidroquercetină

##### *Denumirea chimică:*

[2,3-dihidro-3,5,7-trihidroxi-2-(3,4-dihidroxifenil)-4H-1-benzopiran-4-OH]

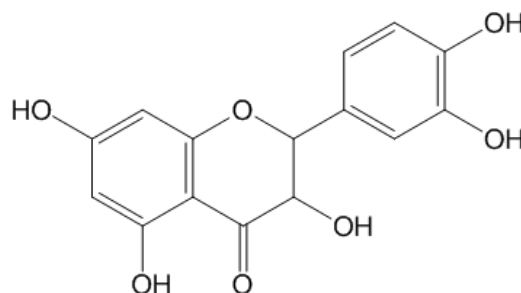


Figura A1.1. Formula de structură a dihidroquercetinei

##### *Formula empirică:*

$C_{15}H_{12}O_7$

##### *Masa moleculară:*

304,26

#### Glicină

##### *Denumirea chimică:*

Acidul 2 – aminoacetic

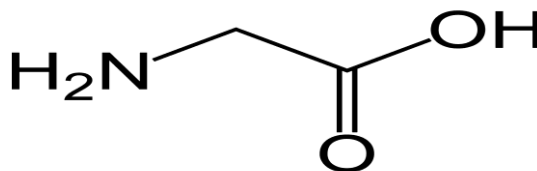


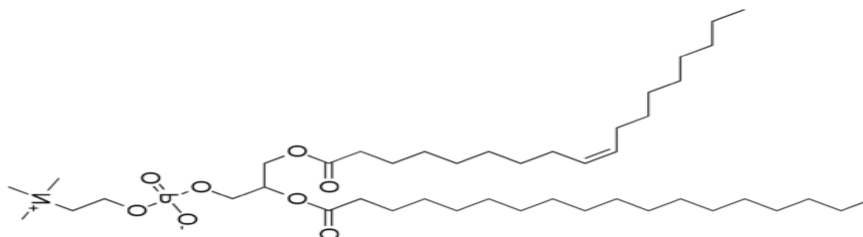
Figura A1.2. Formula de structură a dihidroquercetinei

*Formula empirică:*  $C_2H_5N_1O_2$

*Masa moleculară:* 75,07

## Fosfatidilcolină

**Denumirea chimică:** 1,2 – dihexadecanoil-sn-glicero-3-fosfocoline



**Figura A1.3. Formula de structură a lecitinei (fosfatidilcolinei)**

**Formula empirică:** C<sub>42</sub>H<sub>82</sub>NO<sub>8</sub>P

**Masa moleculară:** M = 329,1 + R + R' (760,22)

**Identificarea preparatului:**

Dihidroquercetină:

1. Reacție calitativă cu Zn în mediu acid.
2. Spectroscopie UV.
3. HPLC.
4. CSS.

Glicină:

1. Reacție calitativă cu ninhidrină.
2. CSS.

Fosfatidilcolină:

1. Reacție calitativă cu soluție de bromură de cadmiu.
2. CSS.

Stabilitatea de sedimentare se determină vizual. pH-ul suspensiei se poate stabili potențiomtric.

De asemenea se determină puritatea microbiologică a suspensiei.

**Determinarea cantitativă:**

Dihidroquercetină: HPLC, spectrofotometria UV (trebuie să constituie nu mai puțin de 0,1%).

Glicină: Spectrofotometria UV (trebuie să constituie nu mai puțin de 3%).

Fosfatidilcolină: HPLC (trebuie să constituie nu mai puțin de 1%).

S-a constatat: concentratul fosfolipidic (lecitina) este un sistem multi-component. Primul component caracterizează moleculele de triacilglicerol, care sunt regăsite sub formă de molecule individuale, cel de-al doilea – molecula triacilglicerol, sub formă asociată – dimeri, al treilea – moleculele fosfolipidice sub formă de asociații de fosfolipide de grad înalt, iar al patrulea – moleculele fosfolipidice sub formă de micelii, într-o compoziție ce conține zece molecule de fosfolipide. Deoarece lecitina, la separarea cromatografică, se manifestă în mai multe vârfuri de componente individuale, pentru a determina conținutul său a fost ales vârful principal al fosfatidilcolinei, a cărui fracțiune de masă în lecitină constituie aproximativ 73%.

Conținutul total de fosfor: Spectrofotometria UV (trebuie să constituie nu mai puțin de 1%).

## **Anexa 2. Rezumatul caracteristicilor produsului (RCP), certificatul de înregistrare și ambalajul preparatului medicamentos Flamena, emulsie orală**

### **1. DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI**

FLAMENA, 150 mg/6 mg/5 ml, emulsie

### **2. COMPOZIȚIA CALITATIVĂ ȘI CANTITATIVĂ**

5 ml emulsie conțin:

substanțe active: glicină – 150 mg, dihidroquercetină – 6 mg. Pentru lista tuturor excipienților, vezi pct. 6.1.

### **3. FORMA FARMACEUTICĂ**

Emulsie. Emulsie omogenă de culoare albă până la galben-deschis, cu miros caracteristic ușor.

La stocare se separă un strat de lichid și unul de sediment de culoare albă până la galben, iar la agitare intensă se omogenizează.

### **4. DATE CLINICE**

#### **4.1 Indicații terapeutice**

Datorită proprietăților detoxifiante și acțiunii citoprotectoare, este recomandat pentru ameliorarea sindromului de intoxicație de diferită genă, inclusiv în combustii, hepatite toxice, colecistite, coleastă de diversă etiologie, în terapia complexă a diareei, enterocolitei și disbacteriozei intestinale. Compoziția preparatului permite utilizarea eficientă a acestuia în stimularea procesului regenerativ al patologiilor eroziv-ulceroase, inclusiv în leziunile esofagului, stomacului, duodenului. Efectele nootrop și antioxidant permit utilizarea preparatului în: tratamentul complex al intoxicației de etiologie exogenă (alcool, săruri de metale grele, stupefiante); neurite, encefalopatii discirculatorii, hipoacuzie neurosenzorială, acufene; afecțiunile sistemului cardiovascular.

Produsul poate fi utilizat în tratamentul afecțiunilor dermatologice (neurodermatite, diateze) și cele sistemice ale țesutului conjunctiv (lupus eritematos sistemic, sclerodermia sistemică, artrita reumatoidă), procese septice complicate cu intoxicație; neutralizarea efectelor toxice ale terapiei cu citostatice și radioterapiei în afecțiunile oncologice.

Produsul se indică în cadrul terapiei complexe în insuficiența fetoplacentară și gestoza gravidelor.

#### **4.2 Doze și mod de administrare**

Doza pentru administrare zilnică - 20 ml de trei ori pe zi, cu 30 min. înainte de mese.

Durata tratamentului constituie 28 de zile. *Mod de administrare*

Produsul Flamena este disponibil sub formă de emulsie, în flacoane a câte 100 ml. A se agita energic înainte de utilizare!

#### **4.3 Contraindicații**

Hipersensibilitate la substanțele active sau la oricare dintre excipienții enumerați la pct. 6.1. În caz de hipersensibilitate individuală la preparate, se pot manifesta reacții alergice, urticarie, greață sau prurit. În acest caz, administrarea preparatului este sistată.

Siguranța și eficacitatea la copii nu au fost stabilite, de aceea utilizarea preparatului la copii este contraindicată.

#### **4.4 Atenționări și precauții speciale pentru utilizare**

Preparatul trebuie prescris cu precauție în cazul prezenței afecțiunilor ce predispun la dezvoltarea acidozei și/sau hiperkaliemiei.

#### **4.5 Interacțiuni cu alte medicamente și alte forme de interacțiune**

La respectarea dozei și condiției că preparatul și medicamentele concomitente se administrează separat în timp, produsul poate fi utilizat în terapia complexă cu alte preparate pentru profilaxie și tratament, precum și cu lacto-, bifidumbacterii, preparate adaptogene, fitopreparate.

#### **4.6 Fertilitatea, sarcina și alăptarea**

Se permite administrarea preparatului în timpul sarcinii, conform indicațiilor.

Preparatul este contraindicat în perioada de alăptare.

#### **4.7 Efecte asupra capacității de a conduce vehicule și de a folosi utilaje**

Preparatul nu manifestă efecte care influențează conducerea vehiculelor și folosirea utilajelor.

#### **4.8 Reacții adverse**

Frecvența reacțiilor adverse este determinată în următorul mod, conform convenției MedDRA: frecvente (>1/100, <1/10), mai puțin frecvente (>1/1000, <1/100), rare (>1/10 000, <1/1000), foarte rare (<1/10 000).

Până în prezent nu au fost observate reacții adverse asociate cu utilizarea preparatului Flamera. În caz de hipersensibilitate individuală la preparate, se pot manifesta reacții alergice, urticarie, greață sau prurit.

#### **Raportarea reacțiilor adverse suspectate**

Raportarea reacțiilor adverse suspectate după autorizarea medicamentului este importantă. Aceasta permite monitorizarea în continuare a raportului beneficiu/risc al medicamentului. Profesioniștii din domeniul sănătății sunt rugați să raporteze orice reacții adverse suspectate, prin intermediul sistemului național de raportare, disponibil pe site-ul oficial al Agenției Medicamentului și Dispozitivelor Medicale la următoarea adresă web: [www.amed.md](http://www.amed.md) sau e-mail: [farmacovigilenta@amed.md](mailto:farmacovigilenta@amed.md).

#### **4.9 Supradozaj**

Cazuri de supradozaj nu se cunosc.

### **5. PROPRIETĂȚI FARMACOLOGICE**

#### **5.1 Proprietăți farmacodinamice**

*Grupa farmacoterapeutică:* Alte produse terapeutice. Antitoxice în tratamentul citostatic.

*Codul ATC:* V03A F.

#### Mecanism de acțiune

Preparatul este original prin faptul că la bază are un complex liposomal antioxidant-fosfolipidic, datorită căruia medicamentul posedă proprietăți biologice unice. Acest produs medicamentos are o acțiune antihipoxică pronunțată, crește viteza difuziei oxigenului în țesuturi, normalizează procesele respirației tisulare, îmbunătățește activitatea funcțională a celulelor endoteliale, contribuind la o ameliorare semnificativă a microcirculației și parametrilor reologici.

#### Efecte farmacodinamice

Aminoacidul glicina (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor și reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos central, reduce tensiunea psiho-emoțională, crește capacitatea de muncă intelectuală. Manifestă acțiune neuroprotectoare, antistres, sedativă,

ameliorează metabolismul cerebral, normalizează somnul, reduce acțiunea toxică a alcoolului, are un efect de normalizare asupra proprietăților reologice ale sângelui și microcirculației. Nu provoacă dependență.

Dihidroquercetina, fiind unul dintre cei mai puternici antioxidanți naturali, asigură nu numai stabilitatea formei tridimensionale a complexului, ci și neutralizează efectele nocive ale radicalilor liberi, posedă acțiune antitoxică; îmbunătățește performanța capilarelor și restabilește microcirculația sângelui. Acțiunea complexă a preparatului asigură normalizarea nivelului de secreție a mediatorilor imunității și creează condiții pentru un răspuns imun eficace.

Lecitina este o fosfolipidă și participă la constituirea membranelor celulare la nivelul creierului și celulelor nervoase. În cazul deficitului de lecitină, scade eficiența acetilcolinei în țesutul nervos. Lecitina participă la restabilirea activității funcționale a celulelor endoteliale, la sinteza și eliberarea factorului de relaxare endotelial, îmbunătățește microcirculația și proprietățile reologice ale sângelui. Lecitina inhibă procesele de peroxidare a lipidelor în sânge și țesuturi, susține activitatea sistemelor antioxidante ale organismului, manifestă acțiune membrano-protectoare, crește imunitatea nespecifică.

#### Eficacitate și siguranță clinică

Studiul clinic a fost efectuat cu scopul demonstrării proprietăților citoprotectoare ale emulsiei orale Flamena, 100 ml, la pacientele cu cancer mamar și cancerul organelor reproductiv, supuse chimio- și radioterapiei. Cercetarea a demonstrat că sindromul astenovegetativ s-a diminuat în grupurile de cercetare cu 40% în grupul bolnavilor cu CGM (cancerul glandei mamare) și cu 20% în grupul bolnavilor cu CORF (cancerul organelor reproductiv la femei). În grupurile de control cu 5 și, respectiv, cu 5% ( $p < 0,05$ ).

Sindromul dispeptic s-a determinat cu 15% mai mic în grupul bolnavilor cu CGM și cu 5% în grupul cu CORF. În grupul de control, corespunde diminuării cu 5% la bolnavii cu CGM și stabilit în grupul CORF ( $p < 0,05$ ).

Sindromul dolo de asemenea a avut o evoluție diferită - diminuare cu 10% în grupul de cercetare a bolnavilor cu CGM și 10% în grupul bolnavilor cu CORF. În grupul de control nu s-a atestat nicio dinamică ( $p < 0,05$ ). Hemoragia a diminuat în grupurile de studiu, iar în cele de control - fără schimbări semnificative.

Administrarea preparatului Flamena, 100 ml, la bolnavii oncologici de profil mamologic și oncoginecologic, a înregistrat acțiuni benefice - s-a îmbunătățit starea generală a bolnavilor, a crescut pofta de mâncare, s-a majorat masa corporală cu  $1,8 \pm 0,2$  kg ( $p < 0,05$ ), statutul psihoemoțional al bolnavilor, atestându-se diminuarea sindromului astenovegetativ cu 30%, a sindromului dispeptic la 10%, diminuarea sindromului dolo.

Preparatul Flamena, 100 ml, dispune de proprietăți dezintoxicante evidențiate prin micșorarea bilirubinei totale cu  $1,1 \pm 0,3$  ( $p < 0,05$ ), îmbunătățirea indicilor sistemului de peroxidare a lipidelor glutatationperoxidaza cu  $1,1 \pm 0,02$ , catalaza cu  $2,05 \pm 0,07$ , ceruloplasmina cu  $53,3 \pm 1,2$ , dialdehida malonică -  $0,7 \pm 0,04$ .

Preparatul medicamentos Flamena, emulsie, 100 ml, a avut o acțiune specifică imunomodulatoare, manifestată prin ameliorarea și ridicarea indicilor imunologici chiar care inițial au fost denaturați, ce argumentează administrarea în combinație și de sine stătător cu preparatele citostatice, chimioterapeutice și a radioterapiei în calitate de imunomodulator specific.

#### **5.2 Proprietăți farmacocinetice**

În cadrul studiului clinic desfășurat cu scopul determinării proprietăților farmacocinetice ale preparatului Flamena, s-a constatat că timpul de înjumătățire a dihidroquercetinei constituie 0,94-1,2 ore. Timpul mediu de menținere a substanței în organism este de 2,15-3,11 ore, iar timpul în care se atinge concentrația plasmatică maximă ( $T_{max}$ ) este de 0,7-1,2 ore, independent de doza administrată. Concentrația plasmatică maximă ( $C_{max}$ ) a crescut de la 0,056 mcg/ml pentru doza unică de 25 ml, până la 0,245 mcg/ml pentru doza de 100 ml. Pe măsura creșterii de două ori a dozei



unice de administrare a preparatului de la 25 ml la 50 ml și de la 50 ml la 100 ml, AUC pentru dihidroquercetină a crescut de 1,80 și, respectiv, de 1,94 de ori.

### **5.3 Date preclinice de siguranță**

Rezultatele experimentale au demonstrat faptul că preparatul Flamenă, la administrarea unimomentană la animalele de laborator, practic, nu prezintă niciun efect toxic. Administrarea intragastrală și cea intraperitoneală nu au provocat decesul animalelor și modificări macroscopice ale organelor interne.

După examinarea toxicității subcronice a produsului Flamenă, s-a constatat că pe parcursul utilizării timp de 30 de zile s-a atestat o creștere ponderală mai importantă la animalele din grupurile-martor, fără modificări esențiale ale masei corporale și masei organelor interne, reflectate prin indicii masa organ/masă corp în cazul cordului, pulmonilor, ficatului, rinichilor, splinei.

Utilizarea sistematică timp de o lună a preparatului sub formă de suspensie la grupul-martor și grupurile studiate nu au modificat esențial parametrii metabolismelor glucidic, proteic și lipidic, deși s-a constatat o creștere nesemnificativă a nivelului proteinei totale și a colesterolului, care avea caracter dozo-dependent.

Analiza spectrului enzimatic a relevat o micșorare dozo-dependentă a activității transaminazelor. Administrarea timp de o lună a preparatului testat în doze de 100 și 1000 mg/kg a determinat efectul antioxidant al compușilor.

## **6. PROPRIETĂȚI FARMACEUTICE**

### **6.1 Lista excipienților**

Lecitină din  
nou Apă  
purificată

### **6.2 Incompatibilități. Nu este cazul.**

### **6.3 Perioada de valabilitate**

24 de luni. Perioada de valabilitate după deschiderea flaconului - șapte zile.

### **6.4 Precauții speciale pentru păstrare**

A se păstra la frigider (2-8 °C).

A se păstra în ambalajul original, pentru a fi protejat de lumină și umiditate. A se utiliza cel mult șapte zile după prima deschidere a flaconului.

### **6.5 Natura și conținutul ambalajului**

Cutie cu 1 flacon din sticlă de culoare brună, cu capacitatea de 100 ml, o linguriță dozatoare gradate, cu volumul de 5 ml, și prospectul pentru utilizator.

### **6.6 Precauții speciale pentru eliminarea reziduurilor**

Fără cerințe speciale.

## **7. DEȚINĂTORUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE**

SRL „STANDARD”, str. Gagarin, nr. 2, or. Reutov, Rusia

## **8. NUMĂRUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE – nr. 23972**

## **9. DATA AUTORIZĂRII - 16.11.2017**

## **10. DATA REVIZUIRII TEXTULUI – aprilie 2018.**

Informații detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenției Medicamentului și Dispozitivelor Medicale (AMDM) <http://nomenclator.amed.md/>

	AGENȚIA MEDICAMENTULUI ȘI DISPOZITIVELOR MEDICALE		GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA
<b>CERTIFICAT</b>			
<b>DE ÎNREGISTRARE A MEDICAMENTULUI</b>			
<b>MARKETING AUTHORIZATION OF MEDICINAL PRODUCT</b>			
<b>în baza ordinului MS RM (nr. 866 din 16 noiembrie 2017)</b>			
in accordance with order of MoH RM (nr. 866 from November 16, 2017)			
<b>se decide autorizarea produsului:</b>			
has been decided the registration of product:			
<b>Denumire comercială:</b>	Flamena		
Name:			
<b>Formă farmaceutică, doză, mărimea ambalajului:</b>	emulsie orală 150 mg + 6 mg/5 ml		
Dosage form, strength and package size:	100 ml N1		
<b>Compoziția:</b>	5 ml conține		
Composition:	substanțe active: glicină 150 mg, Dihidroquercetină 6 mg. excipienți: anexa 1		
<b>Deținător al Certificatului de Înregistrare:</b>	Standart SRL,		
Marketing Authorization Holder:	Rusia		
<b>Producător:</b>	Î.C.S. Eurofarmaco S.A.,		
Manufacturer:	Republica Moldova		
<b>Clasificare ATC:</b>	V03AF		
ATC classification:			
<b>Termen de valabilitate:</b>	24 luni		
Shelf life:			
<b>Număr de înregistrare, data emiterii:</b>	23972 din 16 noiembrie 2017		
Registration number and date of issue:			
<b>Rezumatul caracteristicilor produsului și prospect</b>	anexa 1		
Summary of the product and patient information leaflet			
sau			
<b>Instrucțiunea pentru administrare</b>			
Instructions for administration			
<b>Informații privind etichetarea</b>	anexa 2		
Information on the labeling			
<b>Parametrii de calitate ai produsului sunt cei prevăzuți în documentația care a stat la baza eliberării prezentului Certificat de Înregistrare. Orice modificare a datelor specificate în Certificatul de Înregistrare sau în documentația de autorizare trebuie raportată și aprobată de Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale. Prezentul Certificat de Înregistrare are o valabilitate de 5 ani de la data emiterii și nu condiționează importul.</b>			
The quality of the product is that which is stipulated by the documentations which were the basis for giving this particular Marketing Authorization. Any modification of the data stipulated by the Marketing Authorization or documentation must be reported to the Medicines and Medical Device Agency and have its approval. The Marketing Authorization is valid for 5 years after emission and doesn't guarantee the import of the medicinal product.			
<b>Director general</b>		 <b>Vladislav Zara</b>	

Figura A 2.1. Certificatul de înregistrare a produsului Flamena, emulsie

AGENȚIA MEDICAMENTULUI  
ȘI DISPOZITIVELOR MEDICALE  
MD-2028, mun. Chișinău, str. Koroienko, 2/1  
SECȚIA AUTORIZARE  
MEDICAMENTE



Mărimea caracterelor:  
cel puțin 7

Scara 1:1,11

Figura A2.2. Ambalajul secundar al produsului Flamena, emulsie

### Anexa 3. Metode de elaborare și raportul încercărilor de laborator ale produsului Merion

Procesul tehnologic de obținere a produsului „Siropul nutrițional administrat în scopul curativo-profilactic al maladiilor oncologice” – MERION, include următoarele etape:

1. Obținerea mixului:

substanțele active cântărite se trec în reactor-malaxor și se amestecă timp de 10 min.

2. Obținerea siropului:

dizolvarea sorbitolului, sorbatului de potasiu în extract.

Extractul filtrat în reactor-malaxor se încălzește până la temperatura 55-65°C, se încarcă pe rând (cu malaxorul conectat) sorbitolul și sorbatul de potasiu.

Se amestecă până la dizolvarea completă. Indicele de refracție trebuie să fie 1,4486-1,4532. Siropul se dă în aparatul cu vapori - vacuum.

a) obținerea siropului propriu-zis.

Pasteurizarea se face în aparatul cu vapori - vacuum, timp de cel puțin 20 de minute, la temperatura 98-100°C.

c) adăugarea mixului

Mixul obținut se adaugă în reactor, se amestecă timp de 20-30 de minute și se efectuează controlul fizico-chimic al produsului finit.

3. Condiționarea siropului. Siropul se condiționează în flacoane din polietilen tereftalat cu volumul de 100, 200, 250 ml și se etanșează cu dopuri din polietilenă.

4. Ambalarea și transportarea. Pe flacon se aplică eticheta, pe care se tipărește instrucțiunea de administrare. Fiecare flacon se plasează în cutia individuală din carton.

Cutiile individuale se plasează în cutii colective, înzestrate cu pereți despărțitori din carton gofrat sau în peliculă termoizolatoare. Se permite ambalarea flacoanelor fără plasarea în cutia individuală. Termenul de valabilitate – 3 ani.

Compoziția produsului Merion este prezentată în tabelul A3.1. Caracteristicile organoleptice și parametrii fizico-chimici ai suplimentelor alimentare sub formă de sirop trebuie să corespundă tabelului A3.2.

**Tabelul A3.1. Compoziția produsului Merion, suspensie**

DENUMIREA	Unitatea de măsură	Doza
Vitamina A - retinol	μg 0.0008%	800 (0,8 mg)
Vitamina D - ergocalicferol	μg 0.000005%	5 (0,005)
Vitamina E acetat de DL-alfa-tocoferil	mg 0.001%	10
Vitamina C acid L-ascorbic	mg 0.1%	100
Tiamina – colrhidrat de tiamina	mg 0.0035%	3
Riboflavina riboflavin-5-phosphat de sodiu	Mg 0.0036%	3,6
Niacină – niacinamid	mg 0.04%	40
Vitamina B <sub>6</sub> clorhidrat de piridoxina	mg 0.002%	2
Acid folic -	μg 0.0002%	200 (0,2)
Vitamina B <sub>12</sub> ciancobolamina	μg 0.000003%	3 (0,003)
Biotină D-biotina	μg 0.00006%	60
Acid pantotenic D- phantotenat de calciu	mg 0.0015%	15
Magneziu sulfat de magneziu	mg 0.375%	375
Cupru sulfat de cupru	Mg 0.001%	1
Seleniu - ...	μg 0.000055%	55 (0,055)
Crom – clorura de crom (III)	μg 0.00004	40 (0,040)
Nanoparticole Zn <sup>+++</sup>	Mg 0.004%	4,0/24h

**Tabelul A3.2. Caracteristici organoleptice Merion**

<b>Caracteristici</b>	<b>Criterii de acceptare pentru suplimentele alimentare sub formă de sirop</b>	<b>Metode de analiză</b>
Descriere	Lichid vâscos, netransparent. Pe parcursul păstrării se admite apariția unui precipitat neesențial	Organoleptic
Culoarea	De culoare galbenă-deschis până la galbenă- închis.	Vizual
Miros și gust	Dulce, cu miros caracteristic vitaminelor.	Idem sau GOST 1936
Uniformitate volum, ml Flacon 100 ml -volumul individual -volumul mediu	Cel puțin 98 ml și cel mult 102 ml Cel puțin 100 ml	Conform p.8.2.3
Uniformitatea masei unei doze	Cel mult ±10% de la masa medie. Pentru două doze din 20 se admite abaterea cel mult ±20%	Conform p.8.2.4

**Metode de testări farmaceutice ale produsului Merion**

**Cerințe generale** Asigurarea metrologică a încercărilor, conform SM 8-23:2005 „Sistemul Național de Metrologie. Asigurarea metrologică a încercărilor produselor în scopul asigurării conformității. Principii generale”.

Mijloacele de măsurare folosite pentru efectuarea încercărilor trebuie să fie verificate metrologic în conformitate cu RGML 12:2013 „Verificarea metrologică a mijloacelor de măsurare. Organizarea și modul de efectuare”, iar utilajul de încercări trebuie să fie atestat în conformitate cu SM 8-21.

8.1.2 Prelevarea probelor conform GOST 15113.0, pregătirea probelor pentru determinarea elementelor toxice conform GOST 26929, metodele de prelevare a probelor pentru analizele microbiologice conform GOST 26668 pregătirea probelor conform GOST 26669.

**8.2. Efectuarea încercărilor**

8.2.1. Determinarea caracteristicilor organoleptice se efectuează prin examinare vizuală și organoleptic.

8.2.2. Determinarea fracției masice de umiditate conform GOST 15113.4.

8.2.3. Determinarea uniformității volumului conform metodei:

De la fiecare serie de produs se prelevează câte zece flacoane.

Se înlătură eticheta, apoi flaconul se cântărește cu precizia 0,01 g. Flaconul se eliberează de conținut, se spală cu apă fierbinte, se înlătură rămășițele de apă prin prelucrare consecutivă cu *etanol (96 %) R* și *eter R*, se etanșează cu capacul și din nou se cântărește.

Masa conținutului flaconului se determină prin diferența dintre masa flaconului cu conținut și masa flaconului gol.

Volumul conținutului flaconului (V), în mililitri, se calculează conform formulei:

$$V = \frac{m}{d_{20}^{20}}, \text{ unde}$$

m – masa conținutului falconului, în grame;

$d_{20}^{20}$  – densitatea relativă.

Determinarea se repetă pe încă nouă flacoane și se calculează volumul mediu al conținutului flaconului.

Volumul individual al conținutului flaconului trebuie să fie cel puțin 98 ml și cel mult 102 ml.

Volumul mediu al conținutului flaconului trebuie să fie cel puțin 100 ml respectiv cu volumul declarat pe ambalaj.

8.2.4. Determinarea uniformității masei unei doze conform metodei: 20 de doze a câte 5 ml prelevate cu dispozitivul de măsurat, se cântăresc individual cu exactitatea 0,001 g și se calculează masa medie.

Abaterea procentuală a masei individuale, față de masa medie, nu trebuie să depășească  $\pm 10\%$ , cu excepția a două doze, la care se admite abaterea cel mult  $\pm 20\%$ .

8.2.5. Determinarea substanțelor de bază se efectuează conform Specificației pentru produs în laboratoare acreditate. Verificarea conținutului substanțelor de bază în flacon se efectuează la șarjarea de referință și se garantează de întreprinderea producătoare.

8.2.6. Determinarea conținutului de elemente toxice:

- mercur, conform GOST 26927 sau MU 5178;
- plumb, conform GOST 26932 sau GOST 30178, sau GOST 30538;
- cadmiu, conform GOST 26933 sau GOST 30178, sau GOST 30538;
- arsen, conform GOST 26930 sau GOST 30538.

8.2.7. Determinarea caracteristicilor microbiologice:

-cantitatea de microorganisme mezofile aerobe și facultativ anaerobe, conform GOST 10444.15;

- drojdii și filamente de mucegai, conform GOST 10444.12;
- Bacillus cereus, conform GOST 10444.8;
- Staphylococcus aureus, conform GOST 10444.2;
- bacterii coliforme, conform GOST 30518;
- bacterii de genul Salmonella, conform GOST 30519;
- bacterii E.coli, conform GOST 30726.

8.3. Verificarea stării ambalării și etichetării se efectuează prin examinare vizuală. În cadrul verificării defectate se consideră unitatea de ambalaj cu unul din următoarele defecte:

- deteriorarea mecanică a ambalajului;
- denaturarea textului pe etichetă;
- necoresponderea textului cerințelor prezentelor prescripții tehnice.

Nu se admite recepția suplimentelor cu ambalajul defectat, neetichetat sau etichetat.

Conținutul de elemente toxice în suplimente alimentare nu depășește limitele admisibile stabilite conform Hotărârii Guvernului al Republicii Moldova „Cu privire la aprobarea Regulamentului sanitar privind contaminanții din produsele alimentare” nr. 520 din 22.06.2010 și Normele fundamentale de radioprotecție. Cerințe și reguli igienice (NFRP-2000) din 27.02.2001 sau să corespundă normelor stabilite conform «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.1078-01», specificate în tabelul A3.3.

**Norme de conținut pentru suplimente alimentare**

**Tabelul A 3.3**

Denumirea	Caracteristici	Limitele de admisibilitate, mg/kg, max.
Suplimente alimentare pe bază de vitamine și minerale	Elemente toxice:	
	Plumb	5,0
	Arsen	3,0
	Cadmiu	1,0
	Mercur	1,0
	Pesticide*:	
	Hexaclorociclohexan	0,1
	DDT și metaboliți	0,1
	Heptaclor	Nu se admite
	Aldrin	Nu se admite
	Radionucleizi:	
	Ceziu-137	200
	Stronciu-90	100

Caracteristicile microbiologice ale suplimentelor alimentare trebuie să corespundă normelor stabilite conform «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.1078-01» sau indicilor stabilite în Regulile privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare, aprobate prin Hotărârea de Guvern nr. 221 din 16.03.2009; Regulile de igienă a produselor alimentare, aprobate prin Hotărârea de Guvern nr. 412 din 25.05.2010 și specificate în tabelul A3.4.

**Tabelul A3.4.**

**Caracteristici microbiologice**

Caracteristici microbiologice	Limite admise	Metoda de analiză
Numărul de microorganisme aerobe și facultativ-anaerobe, UFC/g, max.	$5 \cdot 10^4$	GOST 10444.15 GOST 10444.8
Drojdii și mușegai	Cel mult 100 UFC/g	GOST 10444.12
Masa produsului (g), în care nu se admite		
Bacterii coliforme	0,1	GOST 10444.8
E.coli	1,0	GOST 30726
Patogene, Salmonella	10,0	GOST 30519

**II. Cercetările microbiologice:**  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Mostra a sosit / Образец поступил 15 ora / час 40 min / мин 15 09 2015

Codul / Код 4876.5.1.1.15

Nr. de înregistrare / Регистрационный 507 în registru / в журнале Nr. / №. 507 Procesului – verbal / протокола испытаний din 22.09.2015

	2	3	4	5	6
1.	NGMAFA	< 1x10 <sup>2</sup> UFC/g		1 x 10 <sup>6</sup> UFC/g	GOST 10444.15-94
2.	Levuri, micete	< 10 UFC/g		1x10 <sup>2</sup> UFC/g	GOST 10444.12-88
3.	F.enterobacteriacea	< 3 UFC/g		1 x 10 <sup>1</sup> UFC/g	SM SR ISO 21528:1
4.	Salmonela	In 25.0g - absent		In 25.0g - absent	SM EN ISO 6579
5.	E.coli	In 10.0g - absent		In 10.0g - absent	SM ISO 7251:2014
6.	Micete, levuri	< 1x10 <sup>2</sup> UFC/g		1 x 10 <sup>2</sup> UFC/g	GOST 10444.12-88
7.	S.aureus	In 1.0g - absent		In 1.0g - absent	GOST 10444.2-94

N.P, funcția persoanei responsabile de оформirea raportului / Ф.И.О. должность лица ответственного за оформление данного протокола medic igienist Jana Oloinic

**Concluzie** / Заключение  
Proba investigată corespunde Regulilor privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare aprobat prin HG nr. 221 din 16.03.2009, Regulamentului Sanitar privind contaminanții din produsele alimentare aprobat prin HG nr.520 din 22.06.2010, specificații tehnice

**Amendamente:**

-Rezultatul se referă numai la proba analizată. Este strict interzisă reproducerea parțială a rezultatului.  
**Примечание:** Результат распространяется только на анализируемую пробу. Частичное воспроизведение результата строго запрещено.

\*- Parametrii cercetați nu sunt incluși în Domeniul de acreditare CÎL aprobat MOLDAC  
\*- Определяемые показатели не включены в Область аккредитации ИЛЦ MOLDAC

Nume, prenume, funcția vicedirector / Ф.И.О., должность Radu Cojocaru



**Figura A 3.1. Raportul încercărilor de laborator ale produsului Merion**



#### **Anexa 4. Prospectul de administrare, ambalajul și avizul sanitar pentru materia primă MERION Supliment alimentar**

**„MERION®” suspensie**

**Complex de vitamine și minerale**

**Un mililitru de suspensie conține:**

Magneziu – 3,75 mg, vitamina C – 1,0 mg, niacină – 0,4 mg, acid pantotenic – 0,15 mg, vitamina E – 0,1 mg, zinc – 0,04 mg, vitamina B2 – 0,036 mg, vitamina B1 – 0,03 mg, vitamina B6 – 0,02mg, cupru – 0,01 mg, vitamina A – 8,0 mkg, acid folic – 2,0 mkg, biotină – 6,0 mkg, seleniu – 0,55 mkg, crom – 0,4 mkg, vitamina D3 – 0,05 mkg, vitamina B12 – 0,03 mkg.

Alte ingrediente: lactoză monohidrat până la 100,00 ml.

\* DZR – procent din doza zilnică recomandată

**Acțiune:**

Supliment alimentar **MERION®** prezintă un complex de vitamine și minerale, care sunt necesare pentru funcționarea normală a sistemelor și organelor organismului uman. Datorită prezenței în complex a vitaminelor A și C, are un rol important în protejarea celulelor împotriva stresului oxidativ, metabolismul normal al fierului.

Cuprul, vitamina B2 și acidul pantotenic contribuie la funcționarea normală a sistemului imunitar și a metabolismului energetic normal.

Biotina și cromul contribuie la metabolismul normal al macronutrienților și la menținerea concentrațiilor normale ale glucozei din sânge.

Magneziul și vitamina D contribuie la reducerea oboselii și extenuării și la funcționarea normală a sistemului muscular.

Seleniu contribuie la menținerea sănătății părului, unghiilor și funcționarea normală a glandei tiroide.

Vitamina B6 contribuie la sinteza normală a cisteinei și metabolismul normal al proteinelor și al glicogenilor.

Zincul contribuie la metabolismul normal al carbohidraților, acizilor grași și macronutrienților, la funcția cognitivă normală, la sinteza normală a proteinelor.

**Mod de administrare:** intern.

A se agită înainte de întrebuințare.

Se administrează câte 10 ml de două ori pe zi.

\* DZR reieșind din doza de administrare este:

vitamina B1 – 54,5%, vitamina B2 – 51,4%, acid pantotenic – 50%, niacină – 50%, vitamina B6 – 28,6%, vitamina C – 25%, biotină – 24%, vitamina B12 – 24%.

**Forma de prezentare:**

Flacon din sticlă sau plastic de culoare brună, cu căpăcele din plastic, câte 100 ml de suspensie.

**Mențiuni:**

Acest produs este un supliment alimentar.

Suplimentele alimentare nu trebuie să înlocuiască un regim alimentar variat și echilibrat.

A nu se depăși doza zilnică recomandată.

Ca îndulcitor, conține lactoză monohidrat. Nu se recomandă persoanelor cu intoleranță la lactoză.

Consumul excesiv poate avea efecte laxative.

A se păstra la temperaturi sub 25°C, în ambalaj original.

A se consuma de preferință până la sfârșitul perioadei de valabilitate, inscripționate pe ambalaj.

A nu se lăsa la îndemâna copiilor!

**Reclamații:**

Orice reclamație trebuie să fie însoțită cu numărul de serie, înscris pe cutie.

**Producător**

**ÎM „FARMACO” SA**, Republica Moldova, mun. Chișinău  
str. Vadul lui Vodă, 2

tel./fax: (+ 373 22) 87-82-20, e-mail: [info@farmaco.md](mailto:info@farmaco.md)

**Deținător al notificării**

**ÎM „FARMACO” SA**, Republica Moldova, mun. Chișinău  
str. Vadul lui Vodă, 2

tel./fax: (+ 373 22) 87-82-20, e-mail: [info@farmaco.md](mailto:info@farmaco.md)



Figura A 4.1. Ambalajul produsului Merion

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
 РЕСПУБЛИКА МОЛДОВА  
 МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
 SERVICIUL DE SUPRAVEGHERE DE STAT  
 A SĂNĂȚII PUBLICE  
 СЛУЖБА ГОСУДАРСТВЕННОГО НАДЗОРА  
 ЗА ОБЩЕСТВЕННЫМ ЗДОРОВЬЕМ  
 CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂȚATE PUBLICĂ  
 НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
 ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ  
 2028, Chișinău, ul. T. Arosei 67 a  
 Tel: +373 22 574701, fax: +373 22 726725  
 IDNO 1037531001123  
 e-mail: sanap@sanap.md; ant.camara@sanap.md



DOCUMENTAȚIE MENȚIONALĂ / Меню процесу документация  
 FORMULAR C/2016 Nr. 303-2/c  
 APROBAT DE MSAL RM: Poziția nr. 58/99 / 31.03.11 Nr. 828  
 Centru de încredințare de laborator acreditat  
 în Sistemul Național de Acreditare în Domeniul  
 Evaluării Conformității Produselor  
 Независимый лабораторный центр  
 аккредитованный Национальным Аcreditационным  
 Центром РМ МОУ ДАК. Сертификат: LU044 din  
 03.06.2014, va abso. până la: 06.03.2015  
 Acreditat în Sistemul Ministerului Sănătății RM  
 Аcreditованный в Системе Министерства  
 Здравоохранения РМ. Сертификат: 229 din  
 24.10.2014, va abso. până la: 24.10.2019

**AVIZ SANITAR**  
**PENTRU PRODUSELE ALIMENTARE ȘI NEALIMENTARE. Nr. 2593**

Санитарное заключение для импортных и отечественных производств

dintru "29" septembrie 2015

Prin prezentul aviz sanitar se confirmă că producerea, importul, utilizarea și destacarea produselor  
 Настоящим санитарным заключением подтверждается, что производство, ввоз, использование и реализация продукции  
**Premix Onco Syrup – materie primă alimentară.**

sunt conforme Regulamentului (lor) sanitar (e) / соответствуют санитарному (ым) регламенту (ам) (se va indica denumirea  
 соответствующего Регламента (ов) санитар (е) / указать полное наименование санитарного (ым) регламента (ов)) / **Regulamentului**  
**sanitar privind contaminanții din produsele alimentare aprobat prin HG nr.520 din 22.06.2010, HG nr.221**  
**din 16.03.2009, Regulamentului sanitar privind aditivii alimentari aprobat prin HG nr. 229 din 29.03.2013.**

Organizația-producătoare/importatoare, țara de origine / Организация-производитель/импортёр, страна происхождения  
**"Vitablend Olanda", Olanda**

Destinatarul avizului sanitar / Иоргизатор санитарного заключения  
**Î.M. „FARMACO” SRI, str. Chișinău, str. Vadul lui Vodă, 2**

Ca temel pentru recunoașterea conformității produselor Regulamentului (lor) sanitar (e) menționat (e) au servit /  
 Основанием для признания продукции указанного (ым) санитарному (ым) регламенту (ам) / положены  
**Demers**  
**contract nr. 122 din 10.12.2013, certificat de înregistrare, analiză, calitate, origine, invoice,**

(se enumeră documentele de însoțire, buletinele de analiză/переводить со ссылкой на наименование, номер документа)  
 Caracteristica sanitară a produselor / санитарные характеристики продукции  
 Parametri (factorii) / показатели (факторы)      Normativul sanitar / санитарный норматив  
**Conform raportului a încercărilor de laborator nr.4876 din 23.09.2015**

Domeniul de utilizare / Область применения  
**Piașare pe piața consum**

Condițiile necesare de utilizare, depozitare, transportare, măsurile de securitate / Необходимые условия применения,  
 хранения, транспортировки меры безопасности: **Importul și plasarea pe piață în condițiile respectării**  
**legislației în vigoare în Republica Moldova, termenii de valabilitate, condițiile de păstrare**  
**AVIZUL SANITAR este valabil până la / Санитарное Заключение действительно до: 20 septembrie 2016**

AGENCIUL MEDICILUI-ȘEF SANITAR DE STAT AL REPUBLICII MOLDOVA  
 АГЕНЦИЯ ГЛАВНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО САНИТАРНОГО ВРАЧА РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА  
**ION BĂHNAREI,**  
 (nume, prenumele / Ф.И.О.)  
**CNSP/ИЦОЗ**  
**10XVI25**



(semnătură / подпись)  
**SSSSP /СГНОЗ**  
**0038777 03**

## Anexa 5. Proprietățile fizico-chimice, farmacologice ale substanțelor medicamentoase, conținute în picăturile auriculare. Monografia farmaceutică temporară a produsului CB-12

### Caracteristica generală a ciprofloxacinii

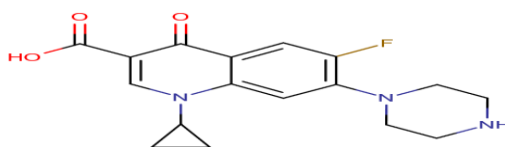


Figura A5.1. Formula chimică a ciprofloxacinii

**Denumire:** Ciprofloxacină ( fig.A5.1.)

**Tip:** Molecule mici

**Descriere:** Ciprofloxacină este o carboxifluorochinolină, cu acțiune antimicrobiană și spectru larg. Acțiunea bactericidă a ciprofloxacinii rezultă din inhibarea enzimelor topoizomeraza II și topoizomeraza IV, care sunt necesare pentru replicarea, transcripția, repararea ADN-ului bacterian și recombinarea acestora.

**Formula chimică :** C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

**Masa moleculară:** 331.341523 g/mol

**Denumirea IUPAC:** 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid

**Cod ATC:** J01M A02 [24]

**Farmacodinamica:** Ciprofloxacină este un agent antimicrobian, cu spectru larg de acțiune din clasa fluorochinolonei. Are activitate *in vitro* împotriva unei game largi de microorganisme gram-negative și gram-pozitive. Mecanismul de acțiune al chinolonei, inclusiv al ciprofloxacinii, este diferit de cel al altor agenți antimicrobieni, cum ar fi beta-lactame, macrolide, tetraciline sau aminoglicozide. Prin urmare, organismele rezistente la aceste medicamente pot fi susceptibile la ciprofloxacină. Nu există rezistență încrucișată cunoscută între ciprofloxacină și alte clase de antimicrobiene. [2, 6]

**Mecanism de acțiune:** Acțiunea bactericidă a ciprofloxacinii rezultă din inhibarea enzimelor topoizomeraza II (giraza ADN) și topoizomeraza IV, care sunt necesare pentru replicarea, transcripția, repararea ADN-ului bacterian și recombinarea ADN-ului bacterian.

**Absorbție:** Rapid este absorbit din tractul gastrointestinal. Biodisponibilitatea absolută este de aproximativ 70%, fără pierderi semnificative prin metabolizarea primară.

**Metabolism:** Se metabolizează în ficat. Au fost identificați patru metaboliți în urină umană care împreună reprezintă aproximativ 15% din doza orală. Metaboliții au activitate antimicrobiană, dar sunt mai puțin activi decât ciprofloxacină nemodificată. [7, 24]

**Calea de eliminare:** Aproximativ de la 40 până la 50% din doza administrată oral este excretată în urină ca medicament nemodificat.

**Timpul de înjumătățire:** patru ore.

**Toxicitatea:** efectul advers major în timpul administrării este iritarea gastrointestinală, reacție comună pentru multe antibiotice.

#### ***Caracteristica generală a uleiului volatil de busuioc***

Uleiul esențial de busuioc (*Basilici Aetheroleum*) este obținut prin antrenarea cu vapori de apă a părților aeriene proaspete de busuioc (*Ocimum basilicum*, fam. *Lamiaceae*, specie care prezintă aproximativ 150 de varietăți). [23]

**Descriere:** Busuiocul (*Ocimum basilicum*) este o plantă din genul *Ocimum*, familia *Lamiaceae*. Este o plantă ierboasă, originară din Asia tropicală.

*Rădăcina* este ramificată, situată superficial.

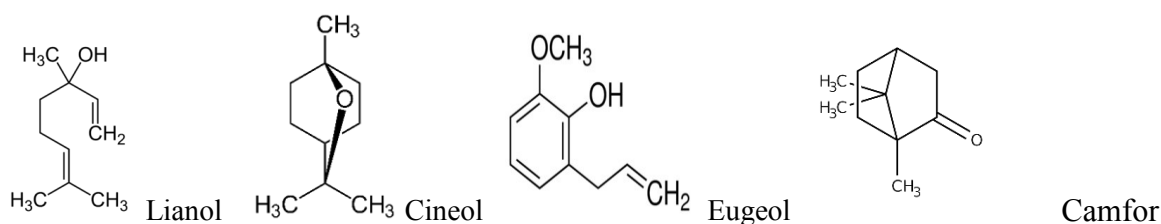
*Stem* direct, tetraedric, puternic ramificat, de 50-70 cm înălțime, bine frunzit.

*Frunzele* sunt scurte, alungite-ovate, rar-dințate. Stemul și frunzele sunt acoperite cu fire de păr.

*Flori* bilabiate, albe, pal-roz, mai puțin violete, cresc din sinusurile frunzelor apicale, dispuse în racem.

*Frucele* constau din patru nuci de culoare brun-închis, care după maturizare sunt separate una de alta. Masa la 1000 de semințe este de 0,5-0,8 g. Semințele își păstrează capacitatea de germinare timp de la patru până la cinci ani. [40]

**Compoziția chimică:** Partea aeriană a plantei conține 1-1,5% ulei esențial, până la 6% taninuri, glicozide, saponine, minerale, acid ascorbic, zahăr, fibre, proteine, vitamina P, provitamina A, camfor. Uleiul esențial conține eugenol, cineol, linalol, camfor, ocimene (fig. A3.2). Eugenolul este o componentă principală a uleiului esențial (până la 70%). Uleiul esențial este în principal în inflorescență. Cea mai mare producție de ulei este observată în faza de înflorire completă. Uscarea reduce foarte mult randamentul uleiului. Semințele conțin 12-20% ulei gras; în frunze se conține 0,003-0,009% caroten. Au mai fost identificate saponozide triterpenice, substanțe tantante. [10, 22]



**Figura A5.2. Formulele de structură a compușilor uleiului volatil de busuioc**

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"  
Centrul Științific al Medicamentului

Aprob  
Director Centrul Științific al  
Medicamentului

V. Val  
"01" MARTIE 2021  
Vladimir VALICA

MONOGRAFIA FARMACOPEICĂ TEMPORARĂ

(Proiect)

„CB – 12”, picături auriculare

MFT MD-08/

Pusă în aplicare din  
"01" MARTIE 2021

Prezenta Monografie Farmacopeică Temporară reglementează calitatea preparatului farmaceutic cu denumirea „CB – 12”, picături auriculare cu conținut de ciprofloxacina clorhidrat (acide 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-yl-quinoline-3-carboxylique) și ulei volatil de busuioc (ocimum basilicum), utilizat pentru uz extern.

Componența pentru o capsulă:

Nr.	Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiții de calitate
1	Ciprofloxacina clorhidrat	150,0	Ph.Eur
2	Ulei volatil de busuioc	200,0	Ph. Eur.
3	Polisorbat 20	200,0	FR X., Ph. Eur.
4	Polietilenglicol 400	500,0	FR X, Ph. Eur.
5	Nipagină	20,0	FR X, Ph. Eur.
6	Soluție tampon citrat cu pH=7,8 q.s.	45,0	FR X, Ph. Eur.
7	Apă purificată	până la 50 ml	FR X, Ph. Eur.
	<b>Masa totală</b>	<b>50,0 ml</b>	

Ediție oficială

Fig.A.5.3. Monografia farmacopeică temporară picături auriculare CB-12

## Anexa 6. Regulamente farmaceutice ale produsului Neamon-hepa (NH-01)

### Figura A.6.1. Monografia Farmacopeică Temporară


**EUROFARMACO**  
 str. Vadul lui Vodă,2  
 mun. Chișinău, Republica Moldova

  
**APROB**  
 Prim-vice-direc-tor al  
 Agen-ției Medicamentului  
*Vladimir Safta*  
 12 noiembrie 2009

### MONOGRAFIA FARMACOPEICĂ TEMPORARĂ

---

<b>Neamon-hepa</b> <i>capsulae</i>	<b>MFT MD-08/1123-11.09</b>
<b>Neamon-hepa</b> <i>capsule</i>	Se pune în aplicare prima dată

---

Pusă în aplicare din  
"15" noiembrie 2009

Valabilă până la  
"15" noiembrie 2012

Prezenta Monografie Farmacopeică Temporară reglementează calitatea produsul farmaceutic Neamon-hepa *capsule*, cu conținut de aspartat de arginină ((2S)-2-aminobutandioat de acid (2S)-2-amino-5-guanidinopentanic), spironolacton (7d-(acetilsulfanil)-3',4'-dihidrospiro-[androst-4-en-17,2'(5'H)-furan]-3,5'-dion) și BioR, fabricat de „Eurofarmaco” SA.

Componența pentru o capsulă:

Nr.	Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiții de calitate
1	Aspartat de arginină	450,0	Specificația producătorului
2	Spironolactonă	24,0	Ph. Eur.
3	BioR, soluție alcoolică 50 mg/ml (recalculat la substanța uscată)	9,0	MF MD-08/0544-04.09
4	Lactoza anhidră	240,0	Ph. Eur.
5	Amidon de cartofi	60,0	Ph. Eur.
6	Celuloza microcristalină	45,0	Ph. Eur.
7	Stearat de magneziu	6,0	Ph. Eur.
	<b>Masa totală</b>	<b>834,0</b>	

Ediția oficială Bazele de date internaționale



Figura A.6.2. Ambalajul primar și secundar a produsului Neamon-hepa

## Anexa 7. Analiza statistică – prognostic scor maxim de inteligibilitate vocală

$$y1 = 0.784 * mx102\_9 + 0.230 * mx120\_3 - 1.192 * x332 - 0.214 * x213 - 0.590 * x214 + 51.055;$$

$$dx144pr = \frac{\text{abs}((x144 - y) * 100)}{x144};$$

$$dx144pr1 = \frac{\text{abs}((x144 - y1) * 100)}{x144};$$

OBS	NANK	MX102_9	MX120_3	X332	X213	X214	X144	Y	DX144PR	Y1	
1	1	0.000	90.000	.	.	.	.	.	.	.	
2	2	5.625	115.000	.	.	.	.	.	.	.	
3	3	0.000	90.000	.	.	.	.	.	.	.	
4	4	0.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	
5	5	0.000	88.750	.	.	.	.	.	.	.	
6	6	0.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	
7	7	0.000	100.000	.	.	.	.	.	.	.	
8	8	5.000	90.000	.	.	.	.	.	.	.	
9	9	0.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	
10	10	0.625	93.750	.	.	.	.	.	.	.	
11	11	1.875	101.250	.	.	.	.	.	.	.	
12	12	0.625	91.250	.	.	.	.	.	.	.	
13	13	0.000	95.000	.	.	.	.	.	.	.	
14	14	0.000	103.750	.	.	.	.	.	.	.	
15	15	0.625	97.500	.	.	.	.	.	.	.	
16	16	5.000	102.500	.	.	.	.	.	.	.	
17	17	5.000	103.750	.	.	.	.	.	.	.	
18	18	10.000	98.750	.	.	.	.	.	.	.	
19	19	10.625	95.000	.	.	.	.	.	.	.	
20	20	10.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	
21	21	7.500	92.500	.	.	.	.	.	.	.	
22	22	10.000	87.500	.	.	.	.	.	.	.	
23	23	7.500	88.750	.	.	.	.	.	.	.	
24	24	8.750	95.000	.	.	.	.	.	.	.	
25	25	6.875	85.000	.	.	.	.	.	.	.	
26	26	10.000	85.000	.	.	.	.	.	.	.	
27	27	10.625	87.500	.	.	.	.	.	.	.	
28	28	5.000	86.250	.	.	.	.	.	.	.	
29	29	8.750	86.250	.	.	.	.	.	.	.	
30	30	3.750	88.750	.	.	.	.	.	.	.	
31	31	56.250	102.500	1	4	54	80	84.8027	6.0033	84.8220	6.0275
32	32	73.125	96.250	1	0	72	.	86.8305	.	86.8505	.
33	33	39.375	82.500	2	49	30	65	70.3103	8.1696	70.3300	8.2000
34	34	61.250	85.000	1	17	60	.	78.3759	.	78.3950	.
35	35	66.875	97.500	1	1	67	.	84.9545	.	84.9740	.
36	36	39.375	82.500	3	37	33	.	69.9182	.	69.9360	.
37	37	73.125	83.333	1	7	55	.	92.3917	.	92.4117	.



## Anexa 8. Aparatajul pentru audiologia experimentală preclinică



Figura A8.1. Testerul sonor PA5

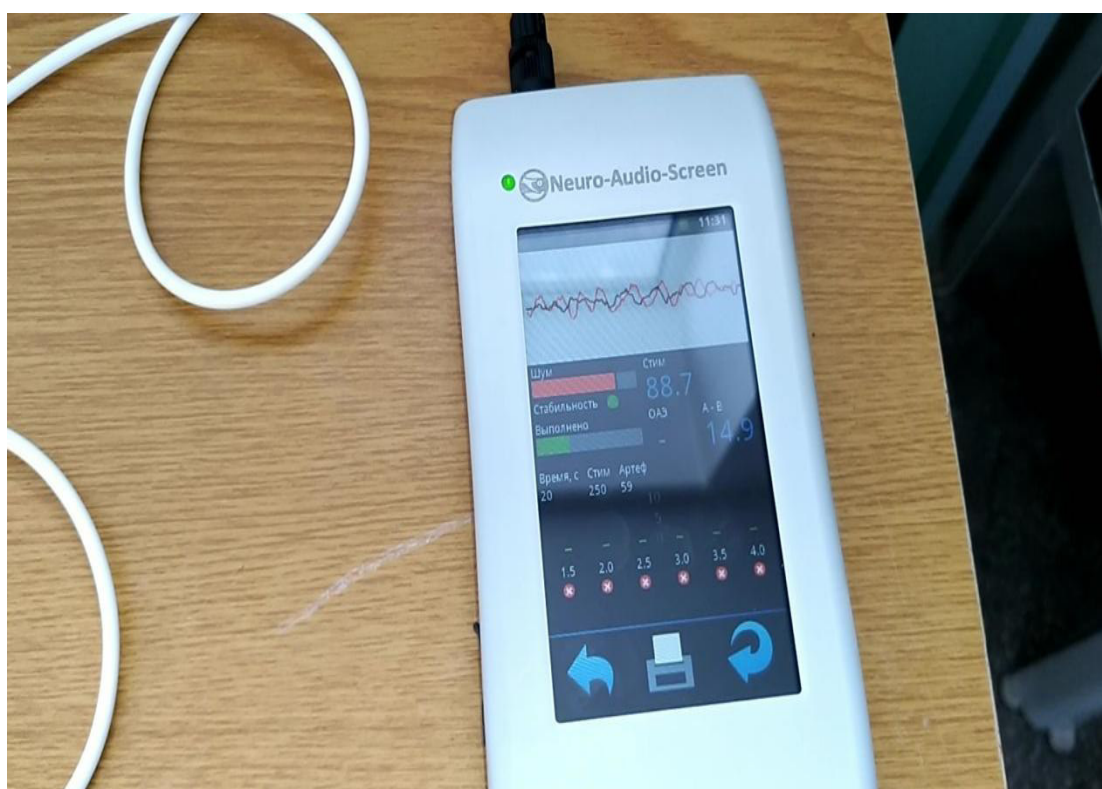


Figura A8.2. Aparatul NeuroAudioScreen pentru determinarea otoemisiunilor acustice (OEA)



**Figura A8.3. Otoscop cu set de olive auriculare (pentru introducerea în conductul auditiv extern)**

## **Anexa 9. Brevete de invenții și cetificate de inovator la tema tezei**

### **Brevete de invenții**

1. **I.Ababii, S.Parii, A.Chiaburu, C.Jucovschi.** Metodă de pronostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. MD 291 Z din 2011.07.16.
2. **S.Parii, C.Jucovschi.** Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. MD 792 Z din 2014.09.30.
3. **S.Parii, V.Rudic.** Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. MD 4277 C1 din 2014.10.27.
4. **Mereuță I., Valica V., Carauș V., Parii S.** Sirop pentru tratamentul stărilor precanceroase gastrice. MD 4341 C1 din 2015.04.30

### **Certificate de inovator la tema tezei**

1. **Parii B., Valica V., Parii S., Todiraș M., Rusnac L., Golovin P.** Preparat medicamentos Neamon-hepa, capsule. Nr. 5177 din 10.01.2013, USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
2. **Rudic V., Parii S.** BioR în tratamentul acufenelor. Nr. 5207 din 14.03.2013, USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
3. **Parii S.** Optimizarea metodei de screening audiologic. Nr. 5424 din 16.02.2015, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
4. **Parii S.** Metodă de prognostic al eficacității tratamentului farmacologic la bolnavii cu surditate. Nr. 5425 din 16.02.2015, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
5. **Maniuc M., Valica V., Parii S., Uncu L., Ababii P., Rusnac L., Nicolai E.** Picături auriculare pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii. Nr.5308, din 15.02.2014, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
6. **Parii S.** Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorieurale ale analizatorului auditiv. Nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.

## **Anexa 10. Acte de implementare a invențiilor și inovațiilor și certificate de înregistrare a preparatelor medicamentoase**

### **Certificate de înregistrare**

1. **„Flamena emulsie, 100 ml”**, preparat medicamentos. Certificat de autorizare în Republica Moldova nr. 23972 (conform Ordinului nr. 866 din 16.11.2017 al MS RM). Deținător al certificatului de autorizare – CSK Grup Plus, producător – Eurofarmaco SA (21).
2. **„Merion suspensie, 100 ml”**. Aviz Sanitar pozitiv al MS al RM pentru produsele alimentare și nealimentare (nr. 2253 din 24.09.2015), producător – „Farmaco SA”, deținător al certificatului – SC „CSK Grup Plus” SRL.

### **Acte de implementare în activitatea științifică și curativă la tema tezei**

#### **Acte de implementare a invențiilor**

1. **Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi**. Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. Act de implementare în procesul științifico-practic al Laboratorului ORL al USMF „Nicolae Testemițanu” din 16.11.2012.
2. **Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi**. Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. Act de implementare în activitatea clinică a SCRC „Em.Coțaga” din 16.11.2012.
3. **V. Rudic, S. Parii, V. Cabac, V. Valica, T. Chiriac**. Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. Act de implementare în activitatea clinică a Centrului medical privat „Neuroscan”, Chișinău, din 2016.
4. **S. Parii, C. Jucovschi**. Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Act de implementare în activitatea clinică a Centrului medical privat „Neuroscan”, Chișinău, din 2016.
5. **Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi**. Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. Act de implementare în lucrul curativ profilactic al secției Otorinolaringologie, IMSP Spitalul Clinic Municipal „Sf.Treime” din 2020.
6. **S. Parii, C. Jucovschi**. Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Act de implementare în lucrul curativ profilactic al secției Otorinolaringologie, IMSP Spitalul Clinic Municipal „Sf.Treime” din 2020.

7. **S. Parii, V. Rudic.** Metodă de tratament medicamentos al hipoacuziei. Act de implementare în activitatea științifico-practică a Clinicii ORL „Sf.Treime”, USMF „Nicolae Testemițanu” din 2020.

#### **Acte de implementare a inovațiilor**

1. **Rudic V., Parii S.** BioR în tratamentul acufenelor. Act de implementare în procesul științifico-practic al Centrului Științific al Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu” din 2013.
2. **Parii S.** Protocol de evaluare a acufenelor la pacienții cu surditate neurosenzorială. Act de implementare în procesul științifico-practic al Centrului Științific al Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu” din 2013.
3. **Buza A., Parii S., Chiaburu-Chiosa D., Levițchi A., Abdușa-Galea D., Butovscaia C., Maniuc M.** Genotiparea mutației 35delG/rs80338939 în gena GJB2 prin tehnica TaqMan Real Time PCR. Act de implementare în procesul științifico-practic al Laboratorului de genetică al USMF „Nicolae Testemițanu” din 2020.

#### **Acte de implementare în activitatea științifico-didactică**

1. **Uncu L., Parii S.** Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina clorhidrat și ulei volatil de busuioc. Act de implementare în procesul științifico-didactic al Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” din 2020.
2. **Parii S.** Determinarea efectelor otoprotectoare ale produselor farmacologice Flarena, emulsie, și Neamon-hepa, capsule, prin evaluarea rezultatelor cercetărilor preclinice în surditatea de percepție indusă la animale de laborator. Act de implementare în procesul științifico-didactic al Catedrei de farmacologie și farmacie clinică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu” din 2020.

## **Anexa 11. Mențiuni, distincții, diplome obținute (la tema tezei) la expoziții de invenție naționale și internaționale**

1. **I. Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi.** Expoziția Internațională Specializată INVENTICA, 19-21 iunie, Iași, România, 2013. **Medalie de aur.** Expoziția Internațională Specializată PRO INVENT, 19-21 martie, Cluj-Napoca, România, 2014. **Medalie de aur.**
2. **V. Rudic, S. Parii, V. Cabac, V. Valica, T. Chiriac.** Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. Expoziția Internațională Specializată EUROINVENT, 22-24 mai, Iași, România, 2014. **Medalie de argint.** Expoziția Internațională Specializată INVENTICA, 2-4 iulie, Iași, România, 2014. **Medalie de aur.** Salonul de Invenții și Inovații INVENTIKA, 15-18 octombrie, București, România, 2014. **Medalie de bronz.** INFOINVENT, 25-28 noiembrie, 2015. Chișinău, Republica Moldova. **Medalie de bronz.**
3. **S. Parii, C. Jucovschi.** Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Expoziția Internațională Specializată EUROINVENT, 22-24 mai, Iași, România, 2014. **Medalie de bronz.** Expoziția Internațională Specializată PRO INVENT, 25-27 martie, Cluj-Napoca, România, 2015. **Medalie de aur cu mențiune specială.**
4. **Mereuță I., Valica V., Carauș V., Parii S.** Sirop pentru tratamentul stărilor precanceroase. Expoziția Internațională Specializată INFOINVENT,
5. 25-28 noiembrie, 2015. Chișinău, Republica Moldova. **Medalie de aur.**
6. **Parii S., Rudic V., Maniuc M., Valica V., Uncu L., Ababii P., Nicolai E., Jucovschi C.** Expoziția Internațională Specializată EUROINVENT, ediția a VIII-a. Iași, România, 19-21 mai 2016. **Medalie de aur.** Expoziția Internațională Specializată INVENTICA, 29-30 iunie, Iași, România, 2016. **Medalie de aur.**
7. **Parii S., Gonciar V., Curocichin G., Uncu L., Buza A., Nicolai E., Valica V.** Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders. Salonul Internațional Specializat INVENTICA, editia a 24-a. Iași, România, 29-31 iulie 2020. **Medalie și diplomă de excelență.**
8. Parii B., Valica V., Parii S., Todiraș M., Rusnac L., Golovin P. Preparat medicamentos Neamon-hepa, capsule. Expoziția națională „Fabricat în Moldova”. Chișinău, 29.01.-02.02.2014. **Diplomă de mențiune.**

9. **S. Parii.** USMF „Nicolae Testemițanu”. *Diplomă* Cu ocazia Zilei Inventatorului și Raționalizatorului pentru rezultate remarcabile în activitatea inovativ-inventivă, 28 iunie 2012.
10. **S. Parii.** *Diplomă de excelență* în semn de apreciere și recunoaștere a competenței și inițiativei în sprijinirea Conferinței Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare”, ediția a XVI-a. 12-17 martie 2018, Iași, România.



MD 291 Z 2011.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 291 (13) Z

(51) Int. Cl.: A61B 10/00 (2006.01)  
A61B 5/12 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ

<p>(21) Nr. depozit: s 2010 0154 (22) Data depozit: 2010.07.19</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2010.11.30, BOPI nr. 11/2010</p> <p>(67)* Nr. și data transformării cererii: a 2010 0082, 2010.09.16</p>
<p>(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD</p> <p>(72) Inventatori: ABABII Ion, MD; PARII Sergiu, MD; CHIABURU Anghelina, MD; JUCOVSCI Constantin, MD</p> <p>(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD</p> <p>(74) Reprezentant: VOZIANU Maria</p>	

(54) Metodă de pronostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la medicină, în special la otorinolaringologie.

Esența invenției constă în aceea că metoda de pronostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă include examenul clinic și paraclinic ce relevă următorii parametri: vârsta pacientului (VP), infecțiile suportate (FS), evoluția surdității (ES), pragul auditiv în limitele 0...120 dB (PA), indicele de articulare

2

(IA), apoi se calculează funcția discriminantă (F) conform formulei:

$$F = -7,927 + 0,144 \cdot VP - 0,476 \cdot FS - 0,975 \cdot ES + 0,073 \cdot PA + 0,065 \cdot IA$$
, și în cazul în care  $F > 0$  se prognozează lipsa riscului de apariție a efectelor adverse, iar când  $F < 0$  - riscul apariției efectelor adverse.

Revendicări: 1

MD 291 Z 2011.07.31





MD 732 Z 2014.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 732 (13) Z  
(51) Int.Cl: A61B 5/12 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ

<p>(21) Nr. depozit: s 2013 0066 (22) Data depozit: 2013.04.12</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.02.28, BOPI nr. 2/2014</p>
<p>(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (72) Inventatori: PARII Sergiu, MD; JUCOVSCI Constantin, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (74) Mandatar autorizat: VOZIANU Maria</p>	

(54) Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală

(57) Rezumat:

<sup>1</sup>  
Invenția se referă la medicină, în special la otorinolaringologie și poate fi utilizată pentru aprecierea inteligibilității vocale.

Esența metodei constă în aceea că se efectuează examinarea audiometrică tonală cu stabilirea următorilor parametri: media pragului auditiv (PA), media pragului de disconfort (PD), aspectul curbei audiometrice

<sup>2</sup>  
(CA), indicele de articulare (IA), media gradului de surditate (GS), apoi în baza rezultatelor obținute se calculează scorul maxim de inteligibilitate vocală (y), conform formulei:

$$y = 0,784 \times PA + 0,230 \times PD - 1,192 \times CA - 0,214 \times IA - 0,590 \times GS + 51,055.$$

Revendicări: 1

MD 732 Z 2014.09.30



MD 4277 C1 2014.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4277** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: **A61K 36/05** (2006.01)  
**A61P 27/16** (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2013 0056 (22) Data depozit: 2013.05.24 (67)* Nr. și data transformării cererii: s 2013 0090; 2013.08.09</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.03.31, BOPI nr. 3/2014</p>
<p>(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (72) Inventatori: PARIU Sergiu, MD; RUDIC Valeriu, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (74) Mandatar autorizat : VOZIANU Maria</p>	

(54) Utilizarea extractului din biomasa tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Getil CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la medicină, în special la otorinolaringologie și poate fi utilizată pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială.

Conform invenției revendicate se utilizează extract din biomasa tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Getil CNMN-CB-

2  
02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială, câte 5mg, de 2 ori pe zi, înainte de masă, timp de 20 zile.

Revendicări: 1

MD 4277 C1 2014.10.31



MD 4341 C1 2015.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4341** (13) **C1**  
(51) Int.Cl: *A61K 9/08* (2006.01)  
*A61K 31/07* (2006.01)  
*A61K 31/592* (2006.01)  
*A61K 31/355* (2006.01)  
*A61K 31/375* (2006.01)  
*A61K 31/51* (2006.01)  
*A61K 31/525* (2006.01)  
*A61K 31/455* (2006.01)  
*A61K 31/4415* (2006.01)  
*A61K 31/714* (2006.01)  
*A61K 31/4188* (2006.01)  
*A61K 31/197* (2006.01)  
*A61K 33/06* (2006.01)  
*A61K 31/695* (2006.01)  
*A61K 33/04* (2006.01)  
*A61K 31/70* (2006.01)  
*B82Y 5/00* (2011.01)  
*A61P 1/04* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2013 0088 (22) Data depozit: 2013.11.21	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2015.04.30, BOPI nr. 4/2015
(71) Solicitant: MEREUȚĂ Ion, MD	
(72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; VALICA Vladimir, MD; CARAUȘ Vladimir, MD; PARII Sergiu, MD	
(73) Titular: MEREUȚĂ Ion, MD	

(54) **Sirop pentru tratamentul stărilor precanceroase gastrice**

(57) **Rezumat:**

1  
Invenția se referă la gastroenterologie, în special la substanțe biologice active în formă de siropuri care pot fi utilizate pentru tratamentul stărilor precanceroase gastrice.

Conform invenției, siropul revendicat conține: vitamina A, vitamina D<sub>2</sub>, vitamina E, vitamina C, vitamina B<sub>1</sub>, vitamina B<sub>2</sub>, niacină, vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub>, biotină, acid folic, acid pantoteic, oxid de magneziu, oxid de cupru, selenat de sodiu, nanoparticule de oxid de zinc și argint, luate în raport de 9:1, și sirop de zahăr, ingredientele fiind luate în următorul raport cantitativ pentru 100 ml:

vitamina A, mg	0,8
vitamina D <sub>2</sub> , mg	0,005
vitamina E, mg	10
vitamina C, mg	100

2	3
vitamina B <sub>1</sub> , mg	3,6
vitamina B <sub>2</sub> , mg	40
niacină, mg	2
vitamina B <sub>6</sub> , mg	0,003
vitamina B <sub>12</sub> , mg	0,06
biotină, mg	0,2
acid folic, mg	15
acid pantoteic, mg	375
oxid de magneziu, mg	1
oxid de cupru, mg	0,055
selenat de sodiu, mg	6
nanoparticule de oxid de zinc și argint, mg	restul.
sirop de zahăr, ml	

Revendicări: 1

MD 4341 C1 2015.11.30



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

## CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5177

Pentru inovația cu titlul

**NEAMON-HEPA**

Inovația a fost înregistrată pe data de **12.11.2012**  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**Parii Boris**, Valica Vladimir, Parii Sergiu,  
Todiraș Mihail, Rusnac Liliana, Golovin Pavel



Data liberării **10.01.2013**

*G. Ionescu*

(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

## CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5207

Pentru inovația cu titlul

**Preparatul BioR în tratamentul acufenelor**

Inovația a fost înregistrată pe data de **14.01.2013**  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**RUDIC VALERIU,**  
**PARII SERGIU**



Data liberării

*V. Păltaru*  
**14.02.2013**

(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

# CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5425

Pentru inovația cu titlul  
**Metoda de pronostic a eficacității  
tratamentului farmacologic la bolnavii  
cu surditate**

Inovația a fost înregistrată pe data de **16.02.2015**  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**Parii Sergiu**



Data eliberării

**04.03.2015**

(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

# CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5424

Pentru inovația cu titlul  
**Optimizarea metodei de screening audiologic**

Inovația a fost înregistrată pe data de **16.02.2015**  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**Parii Sergiu**



Data eliberării

**04.03.2015**

(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

## CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5497

Pentru inovația cu titlul

Picături auriculare pentru tratamentul  
otitelor și otomicozelor

Inovația a fost înregistrată pe data de 28.03.2016  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

Valica Vladimir, Cabac Vasile, Uncu Livia,  
Parii Sergiu, Ciobanu Nicolae



Data eliberării 25.04.2016

(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

## CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5498

Pentru inovația cu titlul

Metodă de tratament medicamentos al  
afecțiunilor senzorieurale ale analizatorului  
auditiv

Inovația a fost înregistrată pe data de 06.04.2016  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

Parii Sergiu



Data eliberării 27.04.2016

(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

# CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5308

Pentru inovația cu titlul  
**Picături auriculare pentru tratamentul  
afecțiunilor inflamatorii ale urechii**


Inovația a fost înregistrată pe data de **21.01.2014**  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**Maniuc Mihail, Valica Vladimir,  
Parii Sergiu, Uncu Livia, Ababii Polina,  
Rusnac Liliana, Nicolai Eugeniu**



Data eliberării **15.02.2014**

  
(Semnătura autorizată)



Republica Moldova  
Ministerul Sănătății

# CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5224

Pentru inovația cu titlul

**Algoritm de explorare și recuperare  
auditivă la pacienții cu surditate**

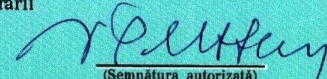
Inovația a fost înregistrată pe data de **18.04.2013**  
la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie  
"Nicolae Testemițanu"

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**Ababii Ion, Maniuc Mihail, Parii Sergiu,  
Chiaburu Anghelina, Diacova Svetlana,  
Chirtoca Diana**



Data eliberării **16.05.2013**

  
(Semnătura autorizată)



ANEXA 8. - Acte de implementare a invențiilor, inovațiilor și certificate de înregistrare a preparatelor medicamentoase

Certificate de înregistrare

	AGENȚIA MEDICAMENTULUI ȘI DISPOZITIVELOR MEDICALE		GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA
<b>CERTIFICAT</b> <b>DE ÎNREGISTRARE A MEDICAMENTULUI</b> <b>MARKETING AUTHORIZATION OF MEDICINAL PRODUCT</b>			
<b>în baza ordinului MS RM (nr. 866 din 16 noiembrie 2017)</b> in accordance with order of MoH RM (nr. 866 from November 16, 2017)			
<b>se decide autorizarea produsului:</b> has been decided the registration of product:			
<b>Denumire comercială:</b> Name:	Flamena		
<b>Formă farmaceutică, doză, mărimea ambalajului:</b> Dosage form, strength and package size:	emulsie orală 150 mg + 6 mg/5 ml 100 ml N1		
<b>Compoziția:</b> Composition:	5 ml conține substanțe active: glicină 150 mg, Dihidroquercetină 6 mg. excipienți: anexa 1		
<b>Deținător al Certificatului de Înregistrare:</b> Marketing Authorization Holder:	Standart SRL, Rusia		
<b>Producător:</b> Manufacturer:	Î.C.S. Eurofarmaco S.A., Republica Moldova		
<b>Clasificare ATC:</b> ATC classification:	V03AF		
<b>Termen de valabilitate:</b> Shelf life:	24 luni		
<b>Număr de înregistrare, data emiterii:</b> Registration number and date of issue:	23972 din 16 noiembrie 2017		
<b>Rezumatul caracteristicilor produsului și prospect</b> Summary of the product and patient information leaflet sau	anexa 1		
<b>Instrucțiunea pentru administrare</b> Instructions for administration			
<b>Informații privind etichetarea</b> Information on the labeling	anexa 2		
<b>Parametrii de calitate ai produsului sunt cei prevăzuți în documentația care a stat la baza eliberării prezentului Certificat de Înregistrare. Orice modificare a datelor specificate în Certificatul de Înregistrare sau în documentația de autorizare trebuie raportată și aprobată de Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale. Prezentul Certificat de Înregistrare are o valabilitate de 5 ani de la data emiterii și nu condiționează importul.</b>			
The quality of the product is that which is stipulated by the documentations which were the basis for giving this particular Marketing Authorization. Any modification of the data stipulated by the Marketing Authorization or documentation must be reported to the Medicines and Medical Device Agency and have its approval. The Marketing Authorization is valid for 5 years after emission and doesn't guarantee the import of the medicinal product.			
<b>Director general</b>		 <b>Vladislav Zara</b>	





MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
**CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ**

MD 2028, mun. Chișinău, str. Gh. Asachi 67A, Tel. +373 22 574 501; Fax. + 373 22 729 725,  
http://www.cnspp.md, e-mail: anticamera@cnspp.md, cnspp@cnspp.md, IDNO 1007601001123

18-12-2015 Nr 06s-7/ 235

La nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_

**AVIZ DE NOTIFICARE**

În conformitate cu prevederile Hotărârii Guvernului nr.538 din 02.09.2009 „Pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind suplimentele alimentare” Ordinului Ministerului Sănătății nr.263 din 30.03.2014 „Cu privire la implementarea Hotărârii Guvernului nr.538 din 02.09.2009”, Ordinului CNSP nr.37 din 09.04.2014 „Cu privire la organizarea notificării și înregistrării suplimentelor alimentare”, urmare examinării materialelor prezentate **se autorizează** plasarea pe piața Republicii Moldova următorului produs:

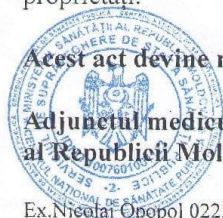
Denumirea produsului: **MERION**  
Forma de comercializare: **suspensie, 100 ml**  
Domeniu de utilizare: **supliment alimentar**

Compoziția per 100 ml.: Seleniu (selenit de sodiu)- 55,00 µg, Crom (clorură de crom III)- 40,00 mkg, Zinc (lactat de zinc) nanoparticule- 4,00 mg, Cupru (sulfat de cupru)- 1,00 mg, Magneziu (săruri de magneziu ale acidului citric)- 375,00 mg, Vitamina A (acetat de retinil)- 800,00 mkg, Niacină (nicotinamidă)- 40,00 mg, Biotină (D-biotină)- 60,00 mkg, Vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol)- 5,00 mkg, Vitamina B<sub>12</sub> (cianocobolamină)- 3,00 mkg, Vitamina B<sub>6</sub> (clorhidrat de piridoxină)- 2,00 mg, Vitamina B<sub>1</sub> (clorhidrat de tiamină)- 3,00 mg, Vitamina B<sub>2</sub> (riboflavin-5-fosfat de sodiu)- 3,60 mg, Vitamina E (acetat de DL-alfa-tocoferil)- 10,00 mg, Acid pantotenic (D-pantotemat de calciu)- 15,00 mg, Acid folic (L-metilfolat de calciu)- 200,00 mkg, Vitamina C (acid L-ascorbic)- 100,00, lactoză monihidrat.

Producător/Deținătorul notificării: **Î.M. FARMACO S.R.L., mun. Chișinău, str. Vadul-lui-Vodă 2, Republica Moldova**

Este interzisă inscripționarea ambalajului/și sau prospectului produsului cu proprietăți de prevenire, tratare sau vindecare a unor boli sau să se facă referire la asemenea proprietăți.

**Acest act devine nul în situația modificării compoziției și calității produsului.**



Adjunctul medicului șef sanitar de stat  
al Republicii Moldova

Ex. Nr. 022574682

Ion Bahnarel

## Acte de implementare a invențiilor



nr. 176 din 16.11.12

### ACT DE IMPLEMENTARE

Denumirea: Metodă de pronostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă

Autori: Ion Ababii, academician al AȘM, dr.hab., profesor universitar; Sergiu Parii, dr. med., conferențiar cercetător; Anghelina Chiaburu, dr.med., conferențiar universitar; Constantin Jucovschi.

Locul implementării: IMSP Spitalul Clinic Republican pentru Copii „Em.Cotaga”, Centrul de Audiologie, protezare auditivă și reabilitare medico-pedagogică.

Esența metodei aplicate în practică constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții ce suferă de surditate în baza datelor anamnestice și investigațiilor audiologice. Invenția a fost brevetată (copia brevetului MD 291 Z se anexează). Problema pe care o rezolvă invenția care este la bază constă în majorarea eficacității protezării auditive, datorită unei metode de pronostic a efectelor adverse la utilizarea protezelor auditive. Metodica propusă a fost verificată matematic la 73 pacienți cu surditate neurosenzorială și ulterior aplicată în activitatea de recuperare auditivă. Conform datelor obținute metoda de pronosticare a eficacității protezării auditive permite depistarea certă a bolnavilor cu risc de evoluție a inconvenientelor protezării auditive, facilitând nu numai pronosticarea apariției acestora ci și conduita ulterioară de reabilitare.

Vicedirector  
dr.med., conferențiar universitar

Tatiana Raba





“A P R O B”  
Prorector pentru activitate științifică  
al USMF “Nicolae Testemițanu”  
dr.hab., profesor universitar  
Viorel Prisacari  
2012

#### ACT

Cu privire la implementarea în procesul științifico-practic al Laboratorului Patologie ORL al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Denumirea ofertei: **Metodă de pronostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă**  
Autorii ofertei: **Ion Ababii**, academician al AȘM, dr.hab., profesor universitar; **Sergiu Parii**, dr. med., conferențiar cercetător; **Anghelina Chiaburu**, dr.med., conferențiar universitar; **Constantin Jucovschi**, dr.mat.

Esența implementării constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții ce suferă de surditate în baza datelor anamnestice și investigațiilor audiometrice precum vârsta pacientului, infecțiile suportate, evoluția surdității, pragul auditiv, indicele de articulare. Rezultatele implementării constau în creșterea exactității pronosticării efectelor adverse ale protezării auditive la pacienții cu surditate, datorită utilizării în metoda dată a parametrilor clinici și anamnestici. Metoda propusă permite depistarea precoce a bolnavilor cu risc sporit de dezvoltare a inconvenientelor, fapt ce impune o atenție majoră pentru categoria respectivă de pacienți cu corijare a programului de tratament, selectare a protezelor auditive și reabilitare.

Șef Laborator  
dr.hab., profesor universitar

Mihail Maniuc

## ACT DE IMPLEMENTARE

### în activitatea medicală a invenției

**Denumirea:** Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. Brevet nr MD 4277 din 2014.10.27.

**Autori:** Sergiu Parii, dr. șt. med., conferențiar cercetător; Valeriu Rudic, academician al AȘM, dr.hab.șt.med., profesor universitar;

**Locul implementării:** „Cercetări Medicale Private”, mun. Chișinău, str.Calea Teșilor,8.

**Anul implementării:** 2016

**Esența implementării** invenției constă în aceea că pentru tratamentul bolnavilor cu hipoacuzie neurosenzorială se administrează preparatul medicamentos BioR capsule 5 mg, câte 1 capsulă de 2 ori pe zi înainte de mese timp de 20 zile.

**Rezultatul** constă în obținerea unui scor mai înalt de terapie medicamentoasă la pacienții cu hipoacuzie neurosenzorială. Metoda a fost implementată în activitatea practică a serviciului audiologie.

**Eficacitatea implementării:** constă în aceea că preparatul propus contribuie la majorarea eficacității tratamentului maladiilor neurosenzoriale analizatorului auditiv.

Director



Alexandr Musteața

## ACT DE IMPLEMENTARE

### în activitatea medicală a invenției

**Denumirea:** Metodă de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală, (brevet nr MD 792 Z din 2014.09.30).

**Autori:** Sergiu Parii, dr. șt.med., conferențiar cercetător; Constantin Jucovschi.

**Locul implementării:** „Cercetari Medicale Private”, mun. Chișinău, str.Calea Ieșilor,8.

**Anul implementării:** 2016

**Esența implementării** invenției consta în selectarea criteriilor de pronostic a scorului maxim de inteligibilitate vocală în baza datelor anamnestice, clinice și audiometrice.

**Rezultatul** constă în majorarea eficacității diagnosticului audiologic prin metoda mai efektivă și operativă. Metoda a fost implementată în activitatea medicală a serviciului audiologie.

**Eficacitatea implementării:** Obiectivizarea pronosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală. Metoda propusă permite diagnosticul în lipsa testelor de audiometrie vocală, fapt important în reabilitarea electro-acustică și încardarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.


Director



Alexandr Musteața

## Acte de implementare a inovațiilor

**“A P R O B”**  
**Prorector pentru activitate științifică**  
**la USMF “Nicolae Testemițanu”**  
**dr.hab., profesor universitar**  
**membru-correspondent al AȘM**  
*Valeriu* **Viorel Prisacari**  
\_\_\_\_\_ **2013**



### ACT DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic)

**Denumirea ofertei:** Metodă de tratament al acufenelor la pacienții cu surditate neurosenzorială

**Autorii ofertei:** Valeriu Rudic, dr.hab., profesor universitar, academician al AȘM, Sergiu Parii, dr. med., conferențiar cercetător.

**Sursa de informație:** Prezenta propunere/metodă este elaborată la Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, și se bazează pe un lot de studiu de 20 pacienți ce suferă de surditate neurosenzorială și acufene.

**Locul implementării:** USMF „Nicolae Testemițanu”, Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor

**Eficacitatea implementării:** Semnificația științifică a implementării metodei propuse în procesul științifico-practic constă în includerea a protocolului de tratament al acufenelor la bolnavii cu surditate neurosenzorială în calitate de remediu antioxidant a preparatului medicamentos BioR.

**Obiecții/ propuneri:** Valoarea aplicativă a metodei o constituie îmbunătățirea calității și micșorarea timpului necesar pentru investigația pacienților care necesită protezare auditivă.

**Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație, certificată cu nr. 5207**

**Șef cadadră/laborator**  
(unde este implementată propunerea)  
Șef CȘDM  
dr.hab., profesor universitar,

Șef Secție Inovare,  
Marketing și transfer tehnologic

Semnătura



Numele pronumele

**Vladimir Valica**



**Eugenia Groza**



**“A P R O B”**  
**Prorector pentru activitate științifică**  
**și USMF “Nicolae Testemițanu”**  
**dr.hab., profesor universitar**  
**membru-corespondent al AȘM**  
**Viorel Prisacari**  
2013

**ACT**  
**DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI**  
**(în procesul științifico-practic)**

**Denumirea ofertei:** PROTOCOL DE EVALUARE A ACUFENELOR LA PACIENȚII CU SURDITATE NEUROSENZORIALĂ

**Autorul ofertei:** Sergiu Parii, dr. med., conferențiar cercetător.

**Sursa de informație:** Prezenta propunere/metodă este elaborată la Centrul Științific în Domeniul Medicamentului

**Locul implementării:** USMF „Nicolae Testemițanu”, Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor

**Eficacitatea implementării:** Semnificația implementării metodei propuse în procesul științifico-practic constă în majorarea calității asistenței de reabilitare la pacienții cu tinnitus prin includerea în protocolul de evaluare a noilor metode de investigații (spectrul diapazonului dinamic al auzului, statusului microelementelor), și de recuperare (farmacoterapie)

**Obiecții/ propuneri:** Valoarea aplicativă a metodei o constituie îmbunătățirea calității și micșorarea timpului necesar pentru investigația pacienților care necesită protezare auditivă.

**Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație, certificată cu nr. 5221**

**Șef catedră/laborator**  
(unde este implementată propunerea)

Șef CȘDM  
dr.hab., profesor universitar,

Șef Secție Inovare,  
Marketing și transfer tehnologic

Semnătura

Numele pronumele

**Vladimir Valica**

**Eugenia Groza**



APROB  
 Director al IMSP Spitalul Clinic  
 Municipal „Sf.Treime”  
 dr.șt.med., conf.cercet. Oleg Crudu  
 \_\_\_\_\_ 2020

**ACT DE IMPLEMENTARE**

în lucrul curativ-profilactic al secției otorinolaringologie a Spitalului Clinic Municipal „Sf.Treime” a rezultatelor cercetărilor științifice ale conferențiarului cercetător Parii Sergiu, șef Laborator de evaluare preclinică și clinică a medicamentului, Centrul Științific al Medicamentului, USMF ”Nicolae Testemițanu”

1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Determinarea scorului maxim de inteligibilitate vocală.
2. *Autorul ofertei:* Parii Sergiu, dr.șt.med., conferențiar cercetător, șef laborator, Centrul Științific al Medicamentului, USMF ”Nicolae Testemițanu”
3. *Surse de informație:*
  - Parii S. Surditatea și tratamentul medicamentos. *Monografie*. Chișinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*. pp. 19-20.
  - Metodă de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală. Brevet de invenție MD 792 Z din 2014.09.30.
4. *Locul și timpul implementării:* Secția Otorinolaringologie în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia în componența șefului Clinicii ORL „Sf.Treime” dr.șt.med., conferențiar universitar Cabac Vasile și medicul secției Otorinolaringologie Popov Alexandru confirmă, că datele clinice despre metoda de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală la pacienții cu deficiență auditivă sunt binevenite și raționale pentru includerea în diagnosticul afecțiunilor analizatorului auditiv.
6. *Obiecții și propuneri:* nu sunt.

Șef clinică ORL  
 dr.șt.med., conf. univ.

Cabac Vasile

Medic ORL

Popov Alexandru



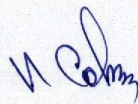
  
APROB  
Directorul IMSP Spitalul Clinic  
Municipal "Sf. Treime"  
dr.șt.med., conf.cercet. Oleg Crudu  
„\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2020

### ACT DE IMPLEMENTARE

în lucrul curativ-profilactic al secției otorinolaringologie a Spitalului Clinic Municipal „Sf. Treime” a rezultatelor cercetărilor științifice a conferențiarului cercetător Parii Sergiu, șef Laborator de evaluare preclinică și clinică a medicamentului al Centrului Științific al Medicamentului, USMF ”Nicolae Testemițanu”

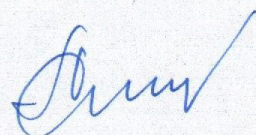
1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă.
2. *Autorul ofertei:* Parii Sergiu, dr.șt.med., conferențiar cercetător, șef laborator, Centrul Științific al Medicamentului al USMF ”Nicolae Testemițanu”
3. *Surse de informație:*
  - Parii S. Surditatea și tratamentul medicamentos. *Monografie*. Chișinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*. pp. 19-20.
  - Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. Brevet de invenție MD 291 Z din 2011.07.16.
4. *Locul și timpul implementării:* Secția Otorinolaringologie în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia în componența șefului Clinicii ORL ”Sf. Treime” dr.șt.med., conferențiar universitar Cabac Vasile și medicul secției Otorinolaringologie Popov Alexandru confirmă, că datele clinice despre metoda de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă la bolnavii cu hipoacuzie sunt binevenite și raționale pentru includerea în procesul de recuperare auditivă.
6. *Obiecții și propuneri:* nu sunt.

Șef clinică ORL  
dr.șt.med., conf. univ.



Cabac Vasile

Medic ORL

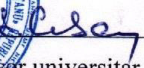


Popov Alexandru



APROB

Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”

 Emil Ceban,  
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

### ACT DE IMPLEMENTARE

în procesul științifico-didactic, a rezultatelor cercetărilor științifice ale conferențiarului cercetător **Parii Sergiu**, cercetător științific coordonator, Centrul Științific al Medicamentului, USMF „Nicolae Testemițanu”:

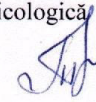
1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina clorhidrat și ulei volatil de busuioc.
2. *Autorii ofertei:* Uncu Livia, dr. șt. farm., conferențiar universitar; Parii Sergiu, dr. șt. med., conferențiar cercetător.
3. *Surse de informație:*
  - **S.Parii**, L.Uncu, V.Valica, E.Nicolai, M.Maniuc. Elaborarea și evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos pentru tratamentul otitelor. În: „*Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași*”, România, 2016, vol. 120, nr.2/supl. 1, p. 61-69.
  - L.Uncu, T.Gonciar, E.Nicolai, O.Vislouh, **S.Parii**. Evaluarea calitativa a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele Conferinței științifice cu participare internațională „Farmacia etică: istorie, realități și perspective”* dedicată memoriei acad. Vasile Procopișin și a conf. Nadejda Ciobanu. Chișinău, 2018, p.172-173.
  - L. Uncu, E. Donici, V. Valica, O. Vislouh, V. Gonciar, **S. Parii**. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova*. Chisinau. 2019, nr. 2(14). ISSN:1857-1727. doi: [10.19261/cjm.2019.607](https://doi.org/10.19261/cjm.2019.607) (IF: 0,52)
4. *Locul și timpul implementării:* Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a USMF „Nicolae Testemițanu” în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia, în componența șefului Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”, dr. hab. șt. farm., profesor universitar, Valica Vladimir și conferențiarul universitar, Treapițina Tatiana, confirmă, că datele științifice experimentale obținute în procesul de elaborare, analiză și standardizare a picăturilor auriculare cu conținut de clorhidrat de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc sunt valoroase, originale, fiind binevenite și raționale pentru a fi incluse în curriculele disciplinelor de la catedră pentru instruirea didactică a studenților Facultății de Farmacie și a rezidenților la specialitatea ”Farmacie analitică”. Totodată aceste rezultate pot servi ca premise pentru noi cercetări farmaceutice și clinice, cu includerea produsului medicamentos combinat elaborat sub formă de picături auriculare în farmacoterapia maladiilor inflamatorii ale urechii.
6. *Obiecții și propuneri:* nu sunt.

Șef catedră, Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
dr. hab. șt. farm., profesor universitar



Valica Vladimir

Șef de studii, Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
dr. șt. farm., conferențiar universitar




Treapițina Tatiana



APROB

Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”

 Emil Ceban,  
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

### ACT DE IMPLEMENTARE

În procesul științifico-practic, a rezultatelor cercetărilor științifice ale conferențiarului cercetător **Parii Sergiu**, cercetător științific coordonator, Centrul Științific al Medicamentului, USMF "Nicolae Testemițanu":

1. *Denumirea ofertei pentru implementare:* Genotiparea mutației 35delG/rs80338939 în gena GJB2 prin tehnica TaqMan Real Time PCR.
2. *Autorii ofertei:* Curocichin Ghenadie, dr. hab. șt. med., profesor universitar; Buza Anastasia, cercetător științific; Parii Sergiu, dr. șt. med., conferențiar cercetător; Chiaburu-Chiosa Doina, dr. șt. med., asistent universitar; Levițchi Alexei, dr. șt. biol.; Abdușa-Galea Daniela, dr. șt. biol.; Butovscaia Cristina, cercetător științific; Maniuc Mihail, dr. hab. șt. med., profesor universitar.
3. *Surse de informație:*
  - **S.Parii.** Hipoacuzia neurosenzorială genetică: particularități clinice și aspecte diagnostice. În: „Curierul Medical”. Chișinău, 2012, nr. 4, p. 50-53.
  - A.Buza, A.Levitchi, **S.Parii**, A.Chiaburu, Gh.Curocichin. Molecular genetic profile of nonsyndromic sensorineural hearing loss. În: Volum rezumate Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare” – Ediția a-XVI-a. Iași, Romania, 2018, pag. 89-90.
  - L.Radulescu, Gh.Curocichin, A.Buza, **S.Parii**, T.Meriacre, D.Chiaburu-Chiosa, C.Butnaru, R.Birkenhager, C.Martu. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: „Revista de Chimie”. Bucuresti, Romania, 2018, vol.69, nr.8, p. 2273-2277. (IF: 1,41)
4. *Locul și timpul implementării:* Laboratorul de genetică a USMF „Nicolae Testemițanu” în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării:* Comisia, în componența cercetătorului științific coordonator al Laboratorului de genetică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu, dr. șt. biol., conferențiar universitar, Popescu Victor și cercetătorul științific Olșanscaia Melania, confirmă că datele științifice experimentale despre determinarea mutației 35delG în gena GJB2 pentru stabilirea surdității neurosenzoriale nonsindromice sunt binevenite și raționale pentru cercetarea genetică, instruirea didactică a studenților și rezidenților, precum și în diagnosticul genetic în cadrul laboratoarelor medicale.
6. *Obiecții și propuneri:* nu sunt.

Cercetător științific coordonator, Laboratorul de genetică  
dr. șt. biol., conferențiar universitar



Popescu Victor

Cercetător științific, Laboratorul de genetică



Olșanscaia Melania



NATIONAL INSTITUTE OF  
INVENTICS, JASSY, ROMANIA

# Diploma

## GOLD MEDAL

### The Hamangia Thinker

Offered Mr / Ms

Ababii Ion, Parii Sergiu,  
Chiaburu Anghelina, Jucovschi Constantin

METHOD FOR PREDICTING THE DEVELOPEMENT  
OF ADVERSE EFFECTS IN HEARING AIDS FITTING

State University of Medicine  
and Pharmacy "N. Testimitanu"

**THE XVII-TH INTERNATIONAL EXHIBITION  
OF RESEARCH, INNOVATION AND  
TECHNOLOGICAL TRANSFER**

**"INVENTICA 2013"**

**IASI, ROMANIA  
19- 21 JUNE 2013**

General Manager  
Prof. Boris Plahteanu Ph.D





IAȘI - ROMÂNIA



# DIPLOMA

**Treatment of patients with sensorineural deafness using extract of  
Spirulina platensis (Nordst.) Geitl., CNMN-CB-02 cyanobacterium biomass**

**RUDIC Valeriu, PARIU Sergiu, CABAC Vasile, CHIRIAC Tatiana**

## SILVER MEDAL

President of International Jury  
Dr.Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

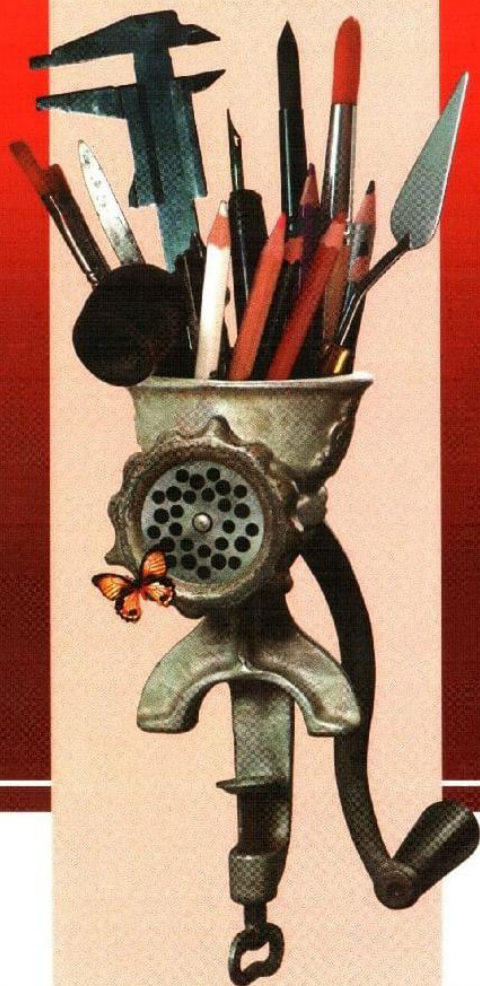
President of Exhibition  
Prof. Ion SANDU



EUROINVENT  
2014



24 May 2014



UNIVERSITATEA TEHNICA DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCATIEI NATIONALE si  
ACADEMIEI DE STIINTE TEHNICE DIN ROMANIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ  
PRO INVENT ediția a XII-a, 2014, Cluj-Napoca,  
România

**DIPLOMA**

DE EXCELENȚĂ și MEDALIA DE AUR

Se acordă: Ababii Ion, academician ASM, profesor universitar, doctor habilitat în medicină; Parii Sergiu, doctor în medicină, conferențiar cercetător; Chiaburu Anghelina, doctor în medicină, conferențiar universitar; Jucovschi Constantin, doctor în matematică

Pentru: METODĂ DE PRONOSTIC AL APARIȚIEI EFECTELOR ADVERSE LA PROTEZAREA AUDITIVĂ

PREȘEDINTELE SALONULUI,  
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU  
Rector al  
Universității Tehnice din Cluj-Napoca



PREȘEDINTELE JURIULUI,  
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

# DIPLOMĂ

— se acordă —

UNIVERSITĂȚII DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

Utilizarea extractului din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst)  
Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială

— Autori —

Rudic V., Parii S., Cabac V., Chiriac T.

*cu ocazia celei de a 16-a editii a*

SALONULUI DE INVENȚII ȘI INOVAȚII

## INVENTIKA

15 - 18 OCTOMBRIE 2014 | București, România

Mihnea COSTOIU

Ministru delegat



MINISTERUL  
EDUCAȚIEI  
NAȚIONALE



Cătălin TRIFU

Director General

 ROMEXPO S.A.

EIS "INFOINVENT"

# DIPLOMĂ

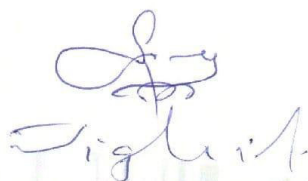
MEDALIA DE BRONZ

se acordă

**PARII SERGIU, RUDIC VALERIU, CABAC VASILE,  
VALICA VLADIMIR, CHIRIAC TATIANA**

pentru

**METODĂ DE TRATAMENT MEDICAMENTOS AL AFECȚIUNILOR  
ANALIZATORULUI AUDITIV**

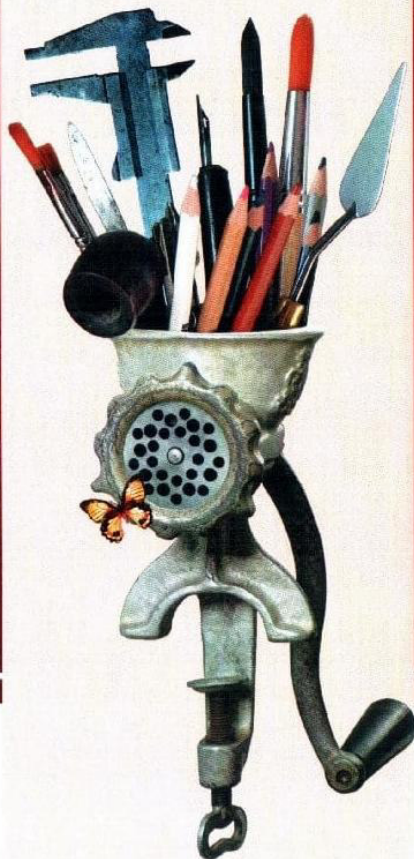


**PREȘEDINTELE  
COMITETULUI ORGANIZATORIC**

**PREȘEDINTELE  
JURIULUI INTERNAȚIONAL**

25-28 noiembrie 2015, Chișinău, Republica Moldova





UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI ȘI CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE  
și ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

## SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ

PRO INVENT, Ediția a XIII-a, 2015, Cluj-Napoca, România

# DIPLOMA

DE EXCELENȚĂ  
ȘI MEDALIA DE AUR CU MENȚIUNE SPECIALĂ

Se acordă **SERGIU PARII, JUCOVSCI CONSTANTIN**

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINA ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU"  
REPUBLICA MOLDOVA

Pentru METODA DE DETERMINARE AL SCORULUI MAXIM DE INTELIGIBILITATE VOCALA

PREȘEDINTELE SALONULUI,  
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU  
Rector al  
Universității Tehnice din Cluj-Napoca

PREȘEDINTELE JURIULUI,  
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU





IAȘI - ROMÂNIA



# DIPLOMA

**New methods for audiology diagnosis, predicting the hearing instrument care and pharmacological treatment in ear disorders**

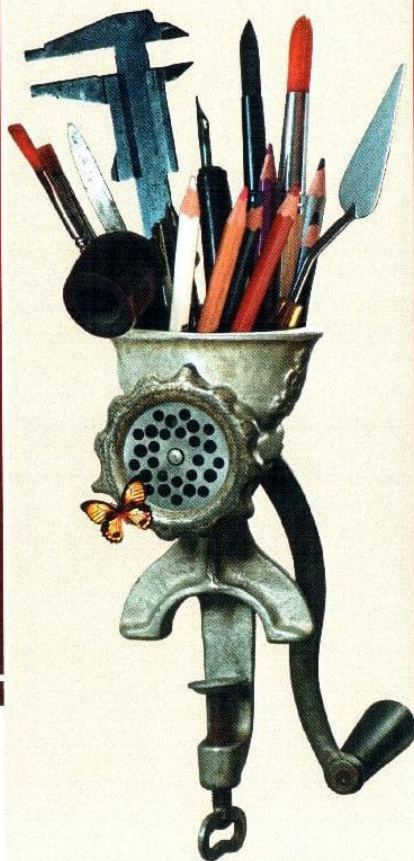
PARII Sergiu, RUDIC Valeriu, MANIUC Mihail, VALICA Vladimir, UNCU Livia, ABABII Polina, NICOLAI Eugeniu, JUCOVSCI Constantin

## GOLD MEDAL

President of International Jury  
Dr.Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

President of Exhibition  
Prof. Ion SANDU





UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI NAȚIONALE ȘI CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE  
și ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ

PRO INVENT, Ediția a XIV-a, 2016, Cluj-Napoca, România

**DIPLOMA**

DE EXCELENȚĂ  
ȘI MEDALIA DE AUR CU MENȚIUNE SPECIALĂ

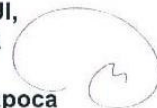
Se acordă:

*Parti S, Rudic V, Maniuc M, Valica V, Uncu L,  
Aghahii P, Nicolai E, Jucovschi C.*

Pentru:

*New method of audiology diagnosis, predicting  
hearing aids effectiveness an drug treatment in ear disorders*

PREȘEDINTELE SALONULUI,  
Prof. dr. ing. VASILE ȚOPA  
Rector al  
Universității Tehnice din Cluj-Napoca



PREȘEDINTELE JURIULUI,  
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

*Radu Munteanu*



Acordată la Salonul INVENTICA, Iași 2016



NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS,  
IASI, ROMANIA

# Diploma

## GOLD MEDAL

### INVENTICA 2016

Offered to Mr / Ms

**PARII SERGIU, RUDIC VALERIU, MANIUC MIHAIL,  
VALICA VLADIMIR, UNCU LIVIA, ABABII POLINA,  
NICOLAI EUGENIU, JUCOVSCI CONSTANTIN**

**NEW METHODS OF AUDIOLOGY DIAGNOSIS,  
PREDICTING HEARING AIDS EFFECTIVENESS AND  
DRUG TREATMENT IN EAR DISORDERS**

in recognition of high scientific contribution  
and loyalty to the XX-th International Salon of Research,  
Innovation and Technological Transfer

## INVENTICA 2016

Iasi, Romania,  
June 29 - July 01, 2016.



**PRESIDENT**  
**INVENTICA 2016**  
Prof. Boris PLAHTEANU PhD

**GENERAL MANAGER**  
**NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS**  
Prof. Neculai SEGHEDEIN PhD

43. HRVATSKI SALON INOVACIJA  
S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM

14. IZLOŽBA INOVACIJA, PROTOTIPOVA I  
STUDENSKIH POSLOVNIH PLANOVA

43<sup>TH</sup> INTERNATIONAL INVENTION SHOW

14<sup>TH</sup> INVENTION AND PROTOTYPE SHOW AND  
STUDENT BUSINESS PLAN COMPETITION

enterprise  
europe  
network

budi  
uzor

inova

**GOLD**

**MANIUC Mihail, VALICA Vladimir, PARII Sergiu,**

**UNCU Livia, ABABII Polina,**

**NICOLAI Eugeniu, STEFARTA Roman**

Republic of Moldova

**MEDICINAL PREPARATION FOR TREATMENT  
OF OTITIS**

ZAGREB, CROATIA, November 14-17, 2018

Međunarodni ocjenjivački sud  
International Jury  
Predsjednik/President  
Andrej Škrinjar, mr.sc.

*Andrej Škrinjar*



Savez hrvatskih inovatora  
Croatian inventors network  
Predsjednica/President  
Ljiljana Pedišić, mag.ing.chem.ing.

*Ljiljana Pedišić*

**inova - budi uzor zagreb croatia**



# Diploma of Excellence

## MEDAL INVENTICA 2020

Offered to

**PARIU SERGIU, GONCIAR VEACESLAV, CUROCICHIN GHENADIE,  
UNCU LIVIA, BUZA ANASTASIA, NICOLAI EUGENIU, VALICA VLADIMIR**

„Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy

**IMPROVEMENT OF DIAGNOSIS AND  
PHARMACOTHERAPY OF THE EAR DISORDERS 26.14.11.2016**

in recognition of high scientific contribution and loyalty to  
the XXIV-th INTERNATIONAL EXHIBITION OF INVENTICS

## **INVENTICA 2020**

Iasi, Romania

29-31 July 2020

GENERAL MANAGER  
NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS  
Prof. Neculai SEGHEDEIN PhD

EXPOZIȚIA NAȚIONALĂ  
SUB PATRONAJUL GUVERNULUI REPUBLICII MOLDOVA



# DIPLOMĂ

SE DECERNEAZĂ  
PARTICIPANTULUI LA EXPOZIȚIE

*Domnului dr. Sergiu PARII și coautorii*

GHEORGHE CUCU

PREȘedintele  
CAMEREI DE CĂMEREȚ ȘI INDUSTRIE  
A REPUBLICII MOLDOVA



29 ianuarie - 02 februarie 2014

• CHIȘINAU •



# DIPLOMĂ

Universitatea de Stat de Medicină și  
Farmacie "Nicolae Testemițanu"

acordă

Dlui *Sergiu PARII*

Cu ocazia Zilei Inventatorului și Raționali-  
zatorului pentru rezultate remarcabile în  
activitatea inovativ-inventivă

Rector



28 iunie 2012, Chișinău

Ion ABABII

Republica Moldova





UNIVERSITATEA  
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
GRIGORE T. POPA IAȘI

CLINICA O.R.L  
A SPITALULUI CLINIC DE RECUPERARE  
IAȘI

# DIPLOMĂ DE EXCELENȚĂ

Se acorda doamnei/ domnului

**Conf. Univ. Dr. Sergiu PARII**

În semn de apreciere și recunoaștere a competenței și inițiativei în sprijinirea  
**CONFERINȚEI ZILELE SPITALULUI CLINIC DE RECUPERARE IAȘI**

Ediția a XVI-a  
12-17 martie 2018

Coordonator Program,  
Luminița RĂDULESCU



# DIPLOMĂ

Se acordă ~~D-nei~~/D-lui

**SERGIU PARII**

pentru participarea la lucrările Conferinței Naționale

**“Medicamentul de la idee la clinică”, sub egida “Zilele Medicamentului”,**

**ediția a XXVII-a, 10 - 12 octombrie 2019,**

**Congress Hall - Centrul de Evenimente Palas, Iași, în calitate de**

**LECTOR INVITAT.**

Președinte Conferință,  
Prof. Univ. Dr. Veronica Bild



## **DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII**

Subsemnatul, Parii Sergiu, declar pe proprie răspundere că materialele prezentate în teza de doctorat se referă la propriile activități și realizări, în caz contrar urmând să suport consecințele, în conformitate cu legislația în vigoare.

Parii Sergiu

Data 24.08.2019

## **Declaration on accountability**

I declare the personal responsibility that information presented in this thesis are the result of my own research and scientific achievements. I realize that, otherwise, will suffer the consequences in accordance with law.

Parii Sergiu

Data 24.08.2019

INFORMAȚII  
PERSONALE



**Parii Sergiu**

📍 str. O.Ghibu 1, ap.111, cod poștal MD-2051, mun. Chișinău, Republica Moldova

☎ 0-22-205-239 📠 +373-69616999

✉ sergiu.parii@usmf.md

Sexul Masculin | Data nașterii 22/10/1974 | Naționalitatea Republica Moldova

TITLUL ȘTIINȚIFIC

Doctor în științe medicale (2004), conferențiar cercetător (2011). IP  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”,

CATEGORIA MEDICALĂ

Medic ORL-audiolog, categorie superioară (2007)

EXPERIENȚA  
PROFESIONALĂ

**2010 - prezent**

**Șef laborator/ cercetător științific coordonator**

Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor  
Centrul Științific al Medicamentului, USMF “Nicolae Testemițanu”  
Domeniul de activitate: farmacologie și farmacologie clinică,  
Tipul sau sectorul de activitate: management studii preclinice și studii  
clinice, cercetare

**2011 – 2020**

**Medic ORL-audiolog**

Spitalul privat „Medpark International Hospital”, Chisinau  
Tipul sau sectorul de activitate: practică medicală

**2015 - prezent**

**Lector**

Școala Doctorală, USMF “Nicolae Testemițanu”, modul Bunele Practici  
de Laborator/Bunele Practici în Studiul Clinic (GLP/GCP)  
- elaborarea materialelor didactice pentru doctoranzii anului I-II  
- instruirea doctoranzilor Tipul sau sectorul de activitate: didactic

**2020 - prezent**

**Medic ORL-audiolog**

AMT-Centru, Chișinău  
Tipul sau sectorul de activitate: practică medicală

**2004 - 2010**

**Asistent universitar**

USMF “Nicolae Testemițanu”, catedra Otorinolaringologie  
- instruirea studenților  
Tipul sau sectorul de activitate: didactic și de cercetare

**2002 - 2009**

**Medic ORL-audiolog**

Centrul republican funcțional de audiologie, protezare auditivă și  
reabilitare medico-pedagogică din cadrul IMSP Spitalul Clinic Republican  
pentru Copii “Emilian Coțaga” al MS RM.

Tipul sau sectorul de activitate: practică medicală

## EDUCAȚIE ȘI FORMARE

**2018-2019**
**Curs de perfecționare**

„Metodologia cercetării clinice”. Organizator: Universitatea de medicină și farmacie “Gr.T. Popa”, Iași, România.  
 Desfășurare: USMF “Nicolae Testemițanu”, Chișinău  
 - Perfecționarea cunoștințelor în domeniul studiului clinic

**2012-2013**
**Curs de perfecționare**

- Curs acreditat de tehnician acustician-audioprotezist-  
 Asociația pentru studiul Auzului, Clinica Urechii,  
 Bucuresti, Romania

**Decembrie 2011**
**Training practic în cercetare**

- Delbruck Center for Molecular Medicine (Berlin, Germany)
- Necropsia animalelor de laborator, procesarea țesuturilor;
- Interpretarea rezultatelor farmacologice experimentale preclinice.

**Februarie 2008**
**Curs de Farmacologie**

USMF “Nicolae Testemițanu”, catedra Farmacologie și farmacologie clinică  
 ▪ Competențe în domeniul farmacologiei clinice

**2000 - 2003**
**Doctorat**

ISCED 8

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”

- Diagnostic audiologic, tratament farmacologic, protezare auditivă la copii și adulți cu maladii ale urechii Colectarea anamnezei, prescripții pre- și post-operatorii pentru pacienții cu limfadenopatii;
- Teza: “Particularitățile diagnosticului și selectării protezelor auditive la bolnavii cu surditate sensoroneurală” susținută în 2003

**1997 - 1999**
**Rezidențiat**

ISCED 7

- USMF “Nicolae Testemițanu”, Catedra de otorinolaringologie  
 (bazele clinice: Spitalul Clinic Republican, SCRC “Em.Coțaga”, Spitalul Municipal nr. 4)

- Competențe practice și teoretice în diagnosticarea și tratamentul maladiilor organelor din sfera ORL

**1991 - 1997**
**Medic generalist**

ISCED 7

- IP USMF “Nicolae Testemițanu”,  
 ▪ Competențe practice și teoretice necesare medicului generalist

## COMPETENȚE PERSONALE

Limba maternă

**Română, rusă**

Alte limbi străine cunoscute

Engleza

INTELEGERE		VORBIRE		SCRIERE
Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	
B2	B1	B1	A2	A2

Competențe de comunicare	▪ bune competențe de comunicare dobândite prin muncă didactică și managenială pe parcursul anilor 2002 – 2019.
Competențe organizaționale	▪ experiență organizatorică în coordonarea activității Laboratorului de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al CȘM (2010-2019);
Competențe dobândite la locul de muncă	▪ otorinolaringologie-audiologie, farmacologie
Competențe informatice	▪ o bună cunoaștere a instrumentelor Microsoft Office™(Word, Excel, Access, Power Point), Adobe Photoshop, statistica medicală.
Permis de conducere	▪ B

## INFORMATII SUPLIMENTARE

### Publicații

**210 publicații**, 130 în ultimii 5 ani, dintre care **1 monografie monoautor**, **3 articole** în reviste de specialitate cotate **WoS și SCOPUS**, 3 lucrări în volume ale unor manifestări științifice internaționale indexate ISI, 7 articole în reviste din străinătate recunoscute, 60 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, **6 brevete** de invenții, 1 ghid, 3 recomandări metodice

1. **S.Parii**. Surditatea si tratamentul medicamentos. Chisinau, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic Medicina. 136 p.

2. L.Radulescu, G.Curocichin, A.Buza, **S.Parii**, T.Meriacre, D.Chiaburu-Chiosa, C.Butnaru, R.Birkenhager, C.Martu. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: „Revista de Chimie”. Bucuresti, Romania, 2018, vol.69, nr.8, p. 2273-2277. **(IF 1,6)**

3. L. Uncu, E. Donici, V. Valica, O. Vîslouh, V. Gonciar, S. Parii. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova*. Chisinau. 2019, nr. 2(14). ISSN:1857-1727. doi: [10.19261/cjm.2019.607](https://doi.org/10.19261/cjm.2019.607) **(IF: 0,52)**

4. Парий Б.И., Тодираш М.П., **Парий С.Б.**, Валика В.В., Руснак Л.Г., Унгурияну А.И., Головин П.Б. Гепатопротекторное и антиоксидантное действия многокомпонентного препарата Neamon-hera при гепатите индуцированном четыреххлористым углеродом. В: журнал “Лекарственные препараты и рациональная фармакотерапия”. Москва, Российская Федерация, 2013, № 2, стр. 34-42.

5. **S.Parii**, V.Josanu, M.Ciocanu. Screening-ul auditiv la nou-născuți. În: “Revista specializata ORL.ro”. București, Romania, nr. 19 (2/2013), p. 42-44. doi: 10.26416/Orl **(Index Copernicus)**

6. I.Ababii, **S.Parii**, A.Chiaburu, C.Jucovschi. Method for predicting the development of adverse effects in hearing aids. In: *Europe PubMed Central (PMC) Repository*. Disponibil: <https://europepmc.org/patents/PAT/MD291Y>.

7. **S.Parii**, V.Rudic. Utilizarea extractului *Spirulina platensis* (Nordst) pentru tratamentul pacientilor cu hipoacuzie neurosenzoriala. În : Buletinul Oficial

de Proprietate Industrială. Chișinău, 2014, nr.03, p. 27. MD 4277 C1

- Proiecte** Membru de echipă a **12 proiecte** în domeniul *Sănătății și biomedicinii*: 3 proiecte de cercetare instituționale aplicative (cercetător științific superior-2, coordonator -1); 3 proiecte naționale din cadrul Programelor de Stat (cercetător științific superior); 2 proiecte de inovare și transfer tehnologic (cercetător științific superior); 2 proiecte de cercetare bilaterale (Republica Moldova-Romania – 1 - cercetător științific coordonator, 1- director proiect); 1 proiect de cercetare bilateral R.Moldova-R.Belarusi (cercet. șt. superior); 1 proiect internațional de asistență medicală (medic). Cele mai relevante:
- „Deschiderea claselor integrative pentru copiii cu dereglări auditiv-verbale”. “Every Child” (USA, UE) Filiala din Moldova în parteneriat cu Guvernul Republicii Moldova, 2011
  - ”Optimizarea tratamentului cu implant cochlear la copiii cu hipoacuzie senzorieurală autosomal recesivă nonsindromică cu mutații la nivelul genei GJB2”. Proiect bilateral de cercetare in domeniul Sanatatii umane. UMF “Gr.T.Popa”, Iasi, Romania USMF “Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Republica Moldova, 2016-2018
  - ”Obținerea și cercetarea farmaceutică a derivaților de propiltiodiazolochinazolinonă cu proprietăți biofarmaceutice optimizate”. Proiect bilateral de cercetare in domeniul Sanatate si biomedicină. USMF “Nicolae Testemitanu”, si Chisinau, Republica Moldova. Universitatea de Stat de Medicină din Belarus 19.80013.80.07.08A/BL, 2018-2020
  - ”Cercetări complexe în domeniul elaborării și implimentării de noi forme farmaceutice ale medicamentelor de origine vegetală și obținute prin sinteză”. ASM/ANCD, USMF “N.Testemitanu”- Proiect instituțional aplicativ 15.817.04.44A, 2015-2019
- Stagieri**
- Audiologie clinică și experimentală. Universitatea de Medicină ”acad.I.P.Pavlov” St.Petersburg, Federația Rusă (2013)
  - Farmacologie/GLP. Institutul Național de Farmacologie și Toxicologie. Kiev (2011);
  - Audiologie. Institutul de Fono-Audiologie si Chirurgie Functionala ORL „D.Hociota”. București, Romania (2002)
  - Audiologie. Institutul Național de Otorinolaringologie ”O.Kolomiicenco”, Kiev, Ucraina (2001)
- Cursuri**
- “Regulile de Bună Practică Medicală GCP. Curs pentru investigatori si monitori, ”Verum.edu.”, București, Romania, 27 iunie – 10 iulie 2011
  - „GCP requirements and their compliance at clinical trials in Ukraine”, Course of International Foundation for Clinical Research, 29 -30 ianuarie 2011
  - “Actualitati in farmacologia clinica”, 01 noiembrie-01 decembrie 2010, USMF “N.Testemițanu”, catedra Farmacologie și farmacologie clinică
  - Training “Tehnici de analiza moleculara”, Centrul de Biologie Moleculara, Universitatea ASM, Chișinău, 17-20 septembrie 2013
  - Writing and management of innovation and technology transfer projects, Tallinn University of Technology, Estonia, 27-28

February, 2014;

- Curs de instruire: Sisteme de management pentru laboratoarele medicale ISO 15189 – auditori sisteme de management. Business Research Company, Mișcarea Română pentru Calitate. Bucuresti, Romania. Chișinău, 15-17 decembrie 2014
- Work-shop, partenering event: “Oportunitis for Horizon 2020”, Estonian Genome Center. Tartu, Estonia, 3-5 decembry 2014
- Cursul: “Patologia echilibrului metode de investigatii si tratament”, UMF “Gr.T.Popa”, Spitalul Clinic de Recuperare, 19-21 septembrie 2014 Seminarul de instruire: “Managementul maladiilor cronice”. Proiect UE: Reteaua Est-Europeana de Excelenta CHRONEX-RD”. 20-23 mai, 30-31 mai 2014

#### Apartenență la societăți

- Societatea științifico-practică a medicilor otorinolaringologi din RM (din 2001)
- Societății Române de Cercetare a Magneziului (2009-2010)
- Societății Române de ORL Pediatrie (din 2010)
- Societatea științifico-practică a farmacologilor și farmacologilor clinicieni din RM (din 2011)
- Societatea Română de Audiologie și Patologie a Comunicării (din 2016)
- Membru al Comisiei de distribuire a protezelor auditive a MS RM (2006-2008)
- Membru al Asociației Copiilor Surzi din Moldova, medic audioprotezist prin voluntariat (2013-2015)
- Membru al colegiului de redactie al revistei „Pharmacology and drug toxicology”, Kiev, Ukraina (din 2013)
- Abilitat cu dreptul de conducător/consultant științific al tezelor de doctorat pe specialitatea 14.00.25 –Farmacologie, farmacologie clinica (din 2013)
- Membru al Comisiei de evaluare a activitatii laboratoarelor stiintifice ale IP USMF „Nicolae Testemitanu” (2014, 2020)
- Membru al grupului de lucru pentru elaborarea si implementarea Manualului Calitatii in unitatile de cercetare ale IP USMF „Nicolae Testemitanu” (2015-2016)
- Membru al Comitetului de Etica a Cercetarii al IP USMF „Nicolae Testemitanu” (2015-2020). *Vice presedinte* (2018-2020).
- Membru al Consiliului Facultatii Farmacie USMF “Nicolae Testemitanu, (2017 – 2019)

#### Conferințe 2001-prezent

Participant la peste **120 manifestari stiintifice** nationale si internationale (40 comunicări)

- Congres Național ORL. Iași, România. 22-25 septembrie 2010
- II Congres Asociației farmacologilor clinicieni și farmaciștilor din CSI. Moscova, F. Rusă, 20-21 octombie 2010
- XII International Magnesium Simposium. Iasi, Romania. 23-25 septembrie 2009
- IV Conferință Națională cu participare internațională. "Clinical trials of medicinal products". Kiev, Ukraina. 4-5 octombrie 2012.
- I Congres a Scoietății Române de ORL Pediatrie. Timișoara, România, 21-24 septembrie 2011.
- Congresul Român de ORL și ChCF. Târgu-Mureș, România, 8-10



ianie, 2012

- A VIII-a Conferință Națională de Bioetică din România. Cluj-Napoca, 13-16 septembrie 2012
- Conferința "Conclusions of the 7-th Farmework Programme". Tartu, Estonia, 03.12.2014
- Forumul National „Știința-Business”, „Dezvoltarea mediului de afaceri prin inovatii”. Chisinau, 10- 11 decembrie 2014.
- Final Conference CHRONEX-RD Project. Chisinau, 18-19 decembrie 2015.
- Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Continuitate sau contradicție” – Ediția a XIV-a. Iași, Romania, 22-25 martie 2016.
- Al II-lea Congres National de ORL Pediatrie. Iasi, Romania, 18-21 mai 2016
- Al XVI-lea Congres National de Farmacie. Bucuresti, Romania, 29 septembrie-01 octombrie 2016.
- al XV-lea Congres European Balkanic “Implantul cohlear – noi solutii in recuperarea auditiva”, Iasi, Romania, 19-21 octombrie 2017
- A 3-a Conferința nationala a Asociației de medicină de Laborator din Romania. 5-7 iunie 2019, Iași
- I Congres National al Societății Române de Audiologie și Patologie a Comunicării, 12-14 septembrie 2019, Iași.
- Conferința Națională de Farmacie Clinică, ediția a III-a, "Farmacia Clinică în sec.XXI". Bucuresti, 19-21 septembrie 2019

## Distincții

- **Diploma** Cu ocazia Zilei Inventatorului și Raționalizatorului pentru rezultate remarcabile în activitatea inovativ-inventivă 28 iunie 2012. USMF „Nicolae Testemițanu”
- **Diploma de onoare** pentru merite deosebite in activitate. Chisinau, 25 iunie 2015. USMF „Nicolae Testemițanu”
- **Diplomă de excelență** în semn de apreciere și recunoaștere a competenței și inițiativei în sprijinirea Conferinței Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare”, ediția a-XVI-a. 12-17 martie 2018, Iași, România.
- **Diplomă de lector invitat.** Conferința Națională Zilele Medicamentului - Medicamentul de la idee la clinica”. Ediția a XXVI-a. Iasi, Romania. 10-12 octombrie 2019.
- **Medalii la saloanele internaționale de inventică:** aur-18, argint-4, bronz-4 (2013-2020);
- Topul inovațiilor, AGEPI/AȘM Locul I sectia Sanatate si Biomedicina (2014).