

ISSN: 1810-1852

Nr. 2 (79) 2021



Arta Medica

Revistă medicală științifico-practică

Revista oficială a Asociației chirurgilor "Nicolae Anestiadi" din Republica Moldova

Colectivul redacției

Director publicație

Conțu Oleg

Redactor responsabil

Ferdohleb Alexandru

Redactor versiune on-line

Guțu Serghei

Redactor versiune tipar

Guțu Angelica

Consultant în biostatistică

Ferdohleb Alina

Redactor șef

Rojnoveanu Gheorghe

Redactor șef adjunct

Guțu Eugen

Hotineanu Adrian

Ungureanu Sergiu

Bour Alin

Membrii de onoare ai colegiului de redacție

Ababii Ion

Ghidirim Gheorghe

Membrii colegiului de redacție

Anghelici Gheorghe (Chișinău, R. Moldova)

Batrînac Aureliu (Chișinău, R. Moldova)

Bendelic Eugen (Chișinău, R. Moldova)

Bernic Jana (Chișinău, R. Moldova)

Beuran Mircea (București, România)

Ceban Emil (Chișinău, R. Moldova)

Ciubotaru Anatol (Chișinău, R. Moldova)

Constatinoiu Silviu (București, România)

Conțu Ghenadie (Chișinău, R. Moldova)

Copăescu Cătălin (București, România)

Copotoiu Constantin (Tg. Mureș, România)

Cotîrleț Adrian (Moinești, România)

Dumbrăveanu Ion (Chișinău, R. Moldova)

Fokin Alexei (Celeabinsk, Russia)

Gauthier Serghey (Moscova, Russia)

Gudumac Eva (Chișinău, R. Moldova)

Yablonskiy Petr (Sankt Petersburg, Russia)

Kopchak Volodymyr (Kiev, Ucraina)

Mischenko Vasyl (Odesa, Ucraina)

Mișin Igor (Chișinău, R. Moldova)

Mitish Valerii (Moscova, Russia)

Pătrașcu Traian (București, România)

Pitel Eleferii (Chișinău, R. Moldova)

Polyansky Igor (Cernăuți, Ucraina)

Popescu Irinel (București, România)

Razumovsky Alexandr (Moscova, Russia)

Rummo Oleg (Minsk, Belorusia)
Sârbu Vasile (Constanța, România)
Scripcariu Viorel (Iași, România)
Tamm Tamara (Harkov, Ucraina)

Tănase Adrian (Chișinău, R. Moldova)
Târcoveanu Eugen (Iași, România)
Tinica Grigore (Iași, România)
Zaporozhchenko Boris (Odesa, Ucraina)

Fondator:

Publicația Periodică „Arta Medica”,
înregistrată la Ministerul Justiției
al Republicii Moldova la 02.12.2002, nr. 123

Adresa redacției:

MD-2025, Chișinău,
str. N. Testemițanu 29,
Spitalul Clinic Republican, et. 12

Versiunea electronică:

<http://www.artamedica.md>
e-mail: info@artamedica.md

Relații la telefon:

Redactor responsabil: 079 401 361
Director publicație: tel/fax 022 729 118; 079 434 240
Tirajul ediției 500 ex.
Revista apare trimestrial



SUMAR

ARTICOLE ORIGINALE

- Antifungal susceptibility patterns and virulence factors of clinical *Candida spp.* isolates
Olga Burduniuc..... 4
- Features of laparoscopic appendectomy with the atypical location of the appendix in patients with a high risk of cardiopulmonary insufficiency
Yahya H., Zaporozhchenko B.S., Borodayev I.E., Kachanov V.M..... 10

REFERATE GENERALE

- Cercetări cu privire la dezvoltarea unei metodologii de studiere a interacțiunii *radon x fumat* ca factor trigger în declanșarea cancerului bronhopulmonar
Studies on the development of a methodology for studying the radon x smoking interaction as a trigger factor in the occurrence of bronchopulmonary cancer
Liuba Corețchi, Ala Overcenco, Aurelia Ababii, Valeriu Bilba..... 13
- Influența maladiilor generale asupra rezultatelor reconstrucției crestei alveolare. Review literar
The influence of general diseases on the results of alveolar crest reconstruction. Literary review
Alexandru Ghețiu..... 20
- Epidural stimulation gives paralyzed patients hopes for a better life
Elda Latollari, Fabion Braimllari..... 26

STUDII ȘTIINȚIFICE

- Оценка риска здоровью при поступлении фталатов с молочными продуктами в полимерной упаковке
Assessment of health risk caused by phthalates penetrating with dairy products in polymer packaging
Владимир Бебых, Раиса Сырку, Дмитрий Лазакович..... 31

ARTICOLE ORIGINALE



DOI: 10.5281/zenodo.5636857

UDC: 615.282.84.015.8+616.992.282

ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY PATTERNS AND VIRULENCE FACTORS OF CLINICAL *CANDIDA SPP.* ISOLATES**Olga Burduniuc**, PhD, Associate professor, Head of Microbiological laboratory

Public Health Laboratory Diagnostic Department, National Agency of Public Health, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republic of Moldova

Abstract

Objective. The global emergence of antifungal resistance among *Candida spp.* is a growing threat to public health. *Candida* infections may resist antifungal drugs actions resulting in their therapeutic deficiency. Considering the increase rate of *Candida* infections and resistance to antifungal agents in the last decades, this study was conducted to evaluate the *in vitro* expression of different virulence factors among clinical isolates of *Candida* species, as well as to assay their susceptibility patterns against antifungal agents.

Material and methods. Chromogenic media was used for *Candida* isolation. A total of 127 *Candida* isolates were identified by conventional methods, Vitek 2 system. The antifungal susceptibility test was carried out by Vitek-2 system. *Candida* species were tested for virulence factors such as extracellular enzymes and biofilm formation by the standard phenotypic methods.

Results. *C. albicans* continues to remain one of the most common opportunistic pathogenic fungi in humans. The authors highlighted the importance of research on understanding the mechanisms of antifungal resistance and its pathogenicity. The study demonstrates that *C. albicans* isolates were the most virulent and produce the highest number of extracellular enzymes: hemolysin, phospholipase, protease, esterase and catalase. The study showed the most effective antifungal agent was fucitozin (98.4%), while 29.4% isolates were resistant to fluconazole and 11.8% to voriconazole.

Conclusion. *C. albicans* were the most virulent and produce the highest number of extracellular enzymes compared to non-*albicans Candida* isolates. The study showed the most effective antifungal agent was fucitozin. In conclusion, more locally relevant studies should be carried out to monitoring of the distribution and susceptibility profile.

Key words: antifungal susceptibility, virulence factors, *Candida spp.*

Introduction

Candida species are part of the normal human microbiota and are commonly found in skin, gastrointestinal tract, and genitourinary system, but can also cause various infections in susceptible patients that includes elderly, hospitalized, or immunosuppressed patients [1].

Therefore the incidence of *Candida* infections is on the rise with the increase in number of immunocompromised patients due to excessive use of immunosuppressive drugs as well as the use of medical and surgical interventions [2].

Although, *Candida albicans* is the most prevalent species, an epidemiological shift in *Candida* pathogens has been recently noted by the increasing number of infections caused by non-*albicans Candida* species (NAC) like *Candida tropicalis* [3, 4].

The evolution of the antifungal resistance may be due to the use of selective therapies with inadequate doses or to the drug's frequent use in the fungal infection prophylaxis, both in human and animals, which may affect the selective clinical resistance [5, 6].

The increased species diversity and incidence of *Candida* infections observed in recent decades have resulted in the need for an accurate, rapid identification of *Candida* isolates and antifungals susceptibility, important aspects for proper patient management and prevention of emergence of drug

resistance [1, 2, 7].

Patients with risk factors (treatment with broad spectrum antibiotics, prolonged use of central venous catheters, persistent neutropenia, the administration of corticosteroids, HIV infection, diabetes and others) are predisposed to develop deep-seated or mucosal *Candida* infections [8].

Expression of virulence factors like germ tube formation, adhesins, phenotypic switching, thigmotropism, and biofilm formation and the production of hydrolytic enzymes contribute to the pathogenesis of candidiasis. Analyzed studies showed that the expression of these factors among *Candida spp.* may vary depending on the infecting species, geographical origin, type of infection, the site and stage of infection, and host reaction [9, 10].

Secretory proteinases, as *Candida* virulence factors, can improve the potential of fungal organisms to colonize and penetrate into the host tissue and disrupt the immune system [11].

Phospholipase production is another major virulence factor of *C. albicans*, which binds the fungus to the target tissue and generates a pathway to enter the tissue following the hydrolysis of phospholipids and degradation of cell membranes [12].

In addition, haemolysin, as another extracellular enzyme, contributes to the invasion of yeasts through absorption of

iron [13].

The esterase is an enzyme responsible for the hydrolysis of an ester group and is also an important virulence factor which degrades the ester bonds and accentuates its tissue invasion [14].

Candida infections may resist antifungal drugs, making them difficult to treat. Most published studies have demonstrated that *C. albicans* is the most common cause of severe infections. At the same time, antifungal resistance is most common in other species, especially, *Candida auris*, *C. glabrata* and *C. parapsilosis* [15].

Biofilm formation, which is another virulence factor of *C. albicans*, plays a pivotal role in the pathogenesis of fungi through the mass production of pseudohyphae [16, 17, 18].

Biofilm contains dense yeast cells and hyphae, which can lead to antifungal resistance, as well as frequent recurrence of *Candida* infections. Furthermore, long-term treatment and excessive exposure to antifungals lead to variable levels of resistance in *Candida* species [19, 20].

The purpose of this study was to assay the antifungal susceptibility patterns of *Candida* species and to evaluate the in vitro expression of different virulence factors among clinical isolates.

Materials and Methods

The study included 127 *Candida spp.* isolated from various human biosubstrates. The collected samples were processed in the Microbiology laboratory, National Agency for Public Health, Republic of Moldova. The virulence factors studied were exoenzymatic activity (phospholipase, lipase, caseinase, gelatinase and proteinase), biofilm formation, and haemolysin production.

Sample Collection and growth on culture media

The collected swab specimens were inoculated on Sabouraud dextrose agar (SDA) with 0.01% chloramphenicol. All plates were incubated at 37°C for 5 days with daily growth assessment. The purified growing colonies and macroscopic characteristics were determined.

Identification and antifungal susceptibility testing. The isolated colonies were identified by germ tube test, colony color on Brilliance *Candida* (Oxoid) media and by Vitek-2 YST cards (bioMérieux).

The antifungal susceptibility was performed automatically by Vitek-2 Compact system. Inoculum suspensions for Vitek-2 cards were obtained from the overnight cultures, with the turbidity being adjusted to a 1.8-2.2 McFarland standard according to the manufacturer's recommendations, using the DensiCheck (bioMérieux). A standardized inoculum suspension was placed into a Vitek-2 cassette, along with a sterile polystyrene test tube and an antifungal susceptibility test card for each organism. Each suspension was diluted by transferring 280µl to a tube containing 3ml of saline solution. After inserting the card with the yeast suspension, it was incubated and read automatically. The incubation time varied from 9.1 to 27.1 h based on the rate of growth in the drug-free control well. *Candida parapsilosis* ATCC 22019 and *C. krusei* ATCC 6258 were used as control isolates. The results were expressed as minimum inhibitory

concentrations (MICs) after incubation for 48 h at 37°C. MIC results were interpreted according to species-specific clinical breakpoints (established by European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [21].

Enzymatic Activity

Phospholipase activity. The phospholipase activity was assayed by egg yolk agar plate method. The medium was slightly modified by enriching SDA with egg yolk as substrate. Egg yolk was added to equal amounts of saline and 5 ml of this was added to the medium. The inoculated plates were incubated at 37°C for 48 h. Hydrolysis of lipid substrates present in the egg-yolk results in the formation of a calcium complex with fatty acids released by the action of the secreted enzymes, resulting in a precipitation zone around the colony. Phospholipase activity was measured according to the method described by Price et al. [22]

Protease activity. Determination of protease production of tested isolates was conducted by using yeast carbon base (YCB) medium (1.17%) supplemented with 0.2% bovine serum albumin (BSA). The YCB-BSA medium was adjusted to pH 5.0, sterilized by filtration and added to previously autoclaved agar (2%). 23 Aliquots (10µl) of 48h-old cultured fungal cells (106 yeasts) were inoculated onto the surface of the YCB-BSA medium and incubated at 37°C for seven days. The proteolytic activity results in a clear zone around the colony, which corresponds to the hydrolysis of the BSA present in the medium. The colony diameter (a) and the diameter of colony plus the precipitation zone (b) were measured by a digital paquimetro [23].

Esterase activity. The esterase activity of *Candida* isolates was evaluated using the Tween 80 opacity test according to the method described by Fatahinia et al. Initially, 10 g of bacteriological peptone, 5 g of sodium chloride, 0.1 g of calcium chloride, and 15 g of agar were dissolved in 1000 ml of distilled water. The medium was autoclaved and gradually cooled to about 50°C. Then, 5 ml of autoclaved Tween 80 was added to the medium and distributed in 8-cm sterile plates. Again, 10 µl of each *Candida* suspension (10⁶ cells/ml) was spot-inoculated on plates and incubated at 30°C and checked on a daily basis for 10 days. All the inoculations were performed in duplicate [24].

Catalase activity. The catalase test was performed as described by Trabulsi and Altherthum. The *Candida* isolates were transferred to a microscope slide and a drop of 3% hydrogen peroxide was added. The immediate onset of bubbles on the surface of the suspension corresponded to a positive reaction, indicating the conversion of H₂O₂ into water and oxygen [25].

Hemolytic activity. Haemolysin assay for *Candida* isolates was conducted according to a previous protocol developed and validated by Luo G et al. In short, Sabouraud dextrose agar supplemented with 6% human blood and 3% glucose (pH = 5,6) was used to determine the hemolysin production. Suspension of yeast (10⁶ cells/ml) was prepared in saline solution and 10 µl was spot inoculated on human blood agar plates, incubated at 37°C in 5% CO₂ for 5 days. Reading and interpretation of hemolysis was performed under a magnifying glass [26].

Biofilm formation. The in vitro biofilm production by *Candida spp.* isolates was quantitatively determined using the microtiter plate method with modification of a crystal violet assay as described by Silva S. et al. *Candida* isolates were first cultured at 37°C for 24 h on Sabouraud Dextrose Agar Plates (SDA). 200 µl of standardized cell suspensions (containing 10⁶ cells/ml) in yeast peptone galactose medium (YPG)) were transferred to each well of 96-well polystyrene microtiter plates and incubated at 37°C on a shaker at 120 rpm/min. As a negative control, there was used a test medium without cells added to three wells of each plates. At 24 h, 50 µl of YPG medium was added. The plates were then incubated for further 48 h. After the adhesion stage, non-adherent cells were removed by washing the wells twice with sterile ultra-pure water. Biofilms were fixed with 250 µl of methanol, which was removed after 15 min of contact. The microtiter plates were dried at room temperature, and 250 µl of 0,1% crystal violet added to each well and incubated for 5 min. The wells were then gently washed with sterile, ultra-pure water and 250 µl of acetic acid added to release and dissolve the stain. The absorbance of the obtained solution was read in triplicate in a microtiter plate reader at 620 nm. Experiments were repeated as part of three independent assays [27].

In order to identify whether biofilm formation of isolates exists or not, the cut-off OD was defined as using the OD (the optical density) of the reference isolate. Therefore, the results were classified as: OD ≤ 2×OD reference – biofilm

negative; 2×OD reference < OD < 3×OD reference – weak biofilm production; OD ≥ 3×OD reference – strong biofilm production.

Ethical issues

This study was conducted with the approval of the ethics committee no. 65/12.04.2017 of the State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemițanu", Republic of Moldova. The isolates used in this study were obtained from routine clinical samples and did not involve direct contact with the patient, thus no consent was required.

Results

Accurate identification of the infecting strain of *Candida* is essential for selection of appropriate antifungal drug. In our country, however, most clinical microbiology laboratories use conventional techniques, which are the mainstay of species identification of *Candida* isolates. Analyzing the diversity of isolates (n=127), it was found that the most frequently recorded were non-*albicans Candida* species (n=68; 53.5%) compared with *C. albicans* (n=59; 46.5%). Of the non-*albicans Candida* species identified in this study, *C. parapsilosis* (n=36; 52.9%) was the most predominant, followed by *C. glabrata* (n=17; 25.0%), *C. krusei* (n=7; 10.3%), *C. fomatata* (n=3; 4.4%), *C. kefyr* (n=2; 2.9%), *C. tropicalis* (n=2; 1.6%) and *C. dublinensis* (n=1; 0.8%) (Figure 1).

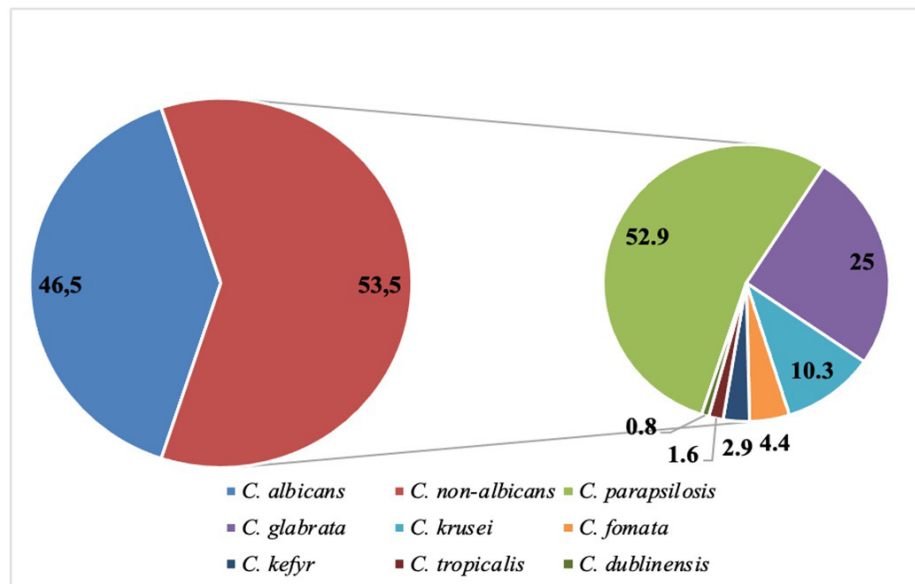


Figure 1. Diversity of *Candida* species involved in human pathology

Antifungal susceptibility patterns

The MIC values obtained for five antifungal agents among the *C. albicans* and Non-*albicans Candida*, isolated from clinical specimens, are presented below. The results demonstrated that the most effective antifungal agent used in this study was fucitozin, (125 isolates, 98.4%), followed by amfotericin B (115 sensitive isolates, 90.5%), micafungin (111 sensitive isolates, 87.4%), voriconazole (109 sensitive isolates, 85.8%) and finally fluconazole (102 sensitive isolates, 80.3%). No resistance was detected to fucitozin for *C. glabrata*, while

5 isolates (29.4%) were resistant to fluconazole, and 2 isolates (11.8%) were resistant to voriconazole.

Enzymatic and hemolytic activity in different *Candida* species

It was demonstrated that *Candida* species have the ability to produce various hydrolytic enzymes as virulence factors to contribute to its pathogenicity (proteases, phospholipases, hemolysins, catalases, etc.). Therefore, the assessment of pathogenic enzymatic factors in *C. albicans* isolates were found to be in a higher percentage compared to non-*albicans*

Table 1

In vitro biofilm formation capacity by various *Candida* species.

Biofilm-forming capacity	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida parapsilosis</i>		<i>Candida glabrata</i>		<i>Candida spp.</i>		Total	
	abs	%	abs	%	abs	%	abs	%	abs	%
Biofilm negative	28	47.5	1	2.8	6	35.3	5	33.3	40	31.5
Biofilm positive	31	52.5	35	97.2	11	64.7	10	66.7	87	68.5
Strong biofilm formers	11	35.5	16	45.7	2	18.2	5	50.0	34	39.1
Moderate biofilm formers	13	41.9	17	48.6	5	45.4	3	30.0	38	43.7
Weak biofilm formers	7	22.6	2	5.7	4	36.4	2	20.0	15	17.2

Candida isolates, except for catalase, that was 72.1% in non-*albicans Candida* and 64.5% in *C. albicans*. Of non-*albicans Candida* species, these factors were the most expressed in *C. glabrata* (82.3%) and *C. parapsilosis* (72.2%) isolates.

The frequency of hydrolytic enzymes, such as phospholipase and proteinase, in *C. albicans* was 91.5% and 81.4%, and in non-*albicans Candida*, 47.1% and 60.3%, respectively.

In this study, we found that 56.7% of the *Candida* species had esterase activity, whereas the highest esterase activity was found in *C. albicans* (67.8%), followed by *C. glabrata* (47.0%) and *C. parapsilosis* (44.4%).

The discrepancy in results could be due to differences in geographic regions, methods of diagnosis, as well as sample size.

It was also found that most of the *Candida spp.* isolates showed hemolytic activity (α -haemolysis) in 91.3% of cases, which demonstrates the virulence of these isolates. Thus, in *C. albicans*, this enzyme was detected in 96.6% and in non-*albicans Candida* – 86.8%.

The results of the determination of the biofilm formation capacity by the clinical *Candida* isolates demonstrated that out of the 127 isolates of *Candida spp.* – 87 (68.5%) produced biofilm (OD > 0.112). Regarding the biofilm status, 34 (39.1%) isolates produced strongly adherent biofilm (OD > 0.220), 38 isolates (43.7%) produced moderately adherent biofilm (OD 0.112 - 0.220) and 15 (17.2%) produced poorly adherent biofilm (Table 1).

Based on obtained results, the *Candida* isolates were categorized as weak, moderate, and strong biofilm formers. Thus, 39.1% of *Candida spp.* isolates were strong biofilm formers, 43.7% – moderate and 17.2% – weak biofilm formers.

Discussion

The analyzed studies indicated the importance of *C. albicans* to be involved in human pathology and to cause infections ranging from superficial to systemic and life-threatening. The authors highlighted the necessity of conducting research on virulence factors of *Candida* species due to their wide range, from dimorphism, biofilm formation, secretion of extracellular enzymes, etc. [28]

Our results are consistent with other research in which *C.*

albicans (n=93, 65%) was the most common and *C. glabrata* (n=27, 19%) as the second reported species [29].

Numerous researches demonstrated that for the best management of fungal infection and to prevent the emergence of drug resistant isolates, it is necessary to evaluate the antifungal susceptibility pattern of clinical isolates. The recent study demonstrated that non-*albicans Candida* species (especially, *C. tropicalis*) is the predominant species, and there is a significant proportion of isolates with reduced susceptibility to azole, but not to echinocandin [30].

Another similar study demonstrated that among different species of *Candida*, isolated *C. albicans* was the predominant species (79.33%). And in this study antifungal resistance of tested species of *Candida* was higher to fluconazole and the least resistance was seen with amphotericin-B [31].

At the same time, most researches highlight that antimicrobial resistance in fungi will continue to increase, creating new challenges in the decades to come and more locally relevant studies should be carried out to monitoring of the distribution and susceptibility profile [32].

The results obtained in the study show that of all the hydrolytic enzymes studied in *C. albicans*, phospholipase was most frequently highlighted, which was also found in the analyzed studies [33].

In line with our results, Pakshir et al. reported that esterase activity of *C. albicans* and *C. parapsilosis* isolated from onychomycosis and oral lichen planus lesions were 87.5% and 43.7%, respectively. In the study conducted by Kumar et al. esterase activities of *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. dublinis*, and *C. lipolytica* isolated from clinical samples were 92.2%, 92.3%, 25.6%, 16.6%, and 100%, respectively [34, 35].

Another study highlighted the complexity of the intracellular mechanisms leading to the formation of *Candida* biofilms, including those controlling adhesion, changes in cell morphology, extracellular polymeric substance (EPS) production and external factors, including the surface where the biofilm forms [36].

Conclusions

1. Our study explored the distribution of the susceptibility profiles and the presence of different virulence factors of

Candida species.

2. The study showed the most effective antifungal agent was fucitozin (98.4%) and 29.4% isolates were resistant to fluconazole and 11.8% to voriconazole.

3. This research has demonstrated that among the *Candida* species, *C. albicans* was the most virulent and produced the

highest number of extracellular enzymes such as hemolysin, phospholipase, protease, esterase and catalase.

4. Better knowledge and experimental evidence of the virulence factor for each species and their correlation with each other will help in understanding the pathogenesis of fungal infection.

Bibliography

- Papon N, Courdavault V, Clastre M, Bennett RJ. Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: beyond the *Candida albicans* paradigm. *PLoS Pathog.* 2013;9(9): e1003550. doi: 10.1371/journal.ppat.1003550
- Sood P, Mishra B, Dogra V, Mandal A. Comparison of Vitek Yeast Biochemical Card with conventional methods for speciation of *Candida*. *Indian J Pathol Microbiol.* 2000;43(2):143-145.
- Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Non-albicans *Candida* Infection: An Emerging Threat. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2014;2014:615958. doi: 10.1155/2014/615958
- Oberoi JK, Watal C, Goel N, Raveendran R, Datta S, Prasad K. Non-albicans *Candida* species in blood stream infections in a tertiary care hospital at New Delhi, India. *Indian J Med Res.* 2012;136(6):997-1003.
- Burduniuc, Olga. Fungii patogeni și rezistența la antimicotice. Chișinău: Tipografia Print-Caro; 2018:274.
- Bhattacharya S, Sae-Tia S, Fries BC. Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(6):312. doi: 10.3390/antibiotics9060312
- Wadlin JK, Hanko G, Stewart R, Pape J, Nachamkin I. Comparison of three commercial systems for identification of yeasts commonly isolated in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol.* 1999;37(6):1967-1970.
- Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(2):142-151. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70218-8.
- Burduniuc O. Factorii de virulență a fungilor patogeni: semnificația clinică și detectarea fenotipică. *Studia Universitatis, Seria Științe Reale și ale Naturii.* 2018;6(116):3-13.
- Sardi J, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Giannini MJS. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology.* 2013;62(Pt 1):10–24. doi: 10.1099/jmm.0.045054-0
- Naglik J, Albrecht A, Bader O, Hube B. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *J Cell Microbiol.* 2004;6(10):915–926. doi: 10.1111/j.1462-5822.2004.00439.x
- Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses.* 2005;48(6):365–377. doi: 10.1111/j.1439-0507.2005.01165.x
- Sacristan B, Blanco M, Galan-Ladero M, Blanco J, Perez-Giraldo C, Gomez-Garcia A. Aspartyl proteinase, phospholipase, hemolytic activities and biofilm production of *Candida albicans* isolated from bronchial aspirates of ICU patients. *J Med mycol.* 2011;49(1):94–97. doi: 10.3109/13693786.2010.482947
- Pandey N, Gupta MK, Tilak R. Extracellular hydrolytic enzyme activities of the different *Candida* spp. isolated from the blood of the Intensive Care Unit-admitted patients. *J Lab Physicians.* 2018;10(4):392-396. doi: 10.4103/JLP.JLP_81_18
- Toda M, Williams SR, Berkow EL, Farley MM, Harrison LH, Bonner L, et al. Population-based active surveillance for culture-confirmed candidemia — four sites, United States, 2012–2016. *MMWR Surveill Summ.* 2019;68(8):1–15. doi: 10.15585/mmwr.ss6808a1
- Sav H, Rafati H, Öz Y, Dalyan-Cilo B, Ener B, Mohammadi F, et al. Biofilm Formation and Resistance to Fungicides in Clinically Relevant Members of the Fungal Genus *Fusarium*. *J Fungi (Basel).* 2018;4(1):16. doi: 10.3390/jof4010016
- Mukherjee PK, Chandra J, Kuhn DM, Ghannoum MA. Mechanism of fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms: phase-specific role of efflux pumps and membrane sterols. *J Infect Immun.* 2003;71(8):4333–4340. doi: 10.1128/IAI.71.8.4333-4340.2003
- Seidler MJ, Salvenmoser S, Müller F-MC. *Aspergillus fumigatus* forms biofilms with reduced antifungal drug susceptibility on bronchial epithelial cells. *J Antimicrob Agents chemother.* 2008;52(11):4130–4136. doi: 10.1128/AAC.00234-08
- Burduniuc O. Biofilmele fungice – provocare actuală la nivel mondial. *Studia Universitatis Moldaviae, Seria “Științe Reale și ale Naturii”.* 2020;1(131):100-110. doi: 10.5281/zenodo.3953988
- Wiederhold NP. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. *Infect Drug Resist.* 2017;10:249-259. doi:10.2147/IDR.S124918
- Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl, Hope W, EUCAST-AFST. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). 2012;18(7):E246-247. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03880.x
- Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for the detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia.* 1982;20(1):7–14. doi: 10.1080/00362178285380031
- Rüchel J, Tegeler R, Trost MA. Comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia.* 1982;20(3):233-244. doi: 10.1080/00362178285380341
- Fatahinia M, Poormohamadi F, Zarei Mahmoudabadi A. Comparative study of esterase and hemolytic activities in clinically important *Candida* species, isolated from oral cavity of diabetic and non diabetic individuals. *Jundishapur J Microbiol* 2015;8:e20893.
- Trabulsi LR, Altherthum F. *Microbiologia.* São Paulo: Atheneu; 2005:495-500.
- Luo G, Samaranyake LP, Yau JY. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *J Clin Microbiol.* 2001;39(8):2971–2974. doi: 10.1128/JCM.39.8.2971-2974.2001

27. Silva S, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. In vitro biofilm activity of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Curr Microbiol.* 2010;61(6):534–540. doi: 10.1007/s00284-010-9649-7.
28. Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, et al. *Candida albicans* -The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J Fungi (Basel).* 2021;7(2):79. doi:10.3390/jof7020079
29. Lindberg E, Hammarström H, Ataollahy N, Kondori N. Species distribution and antifungal drug susceptibilities of yeasts isolated from the blood samples of patients with candidemia. *Sci Rep.* 2019;9(1):3838. doi: 10.1038/s41598-019-40280-8.
30. Sinh CT, Loi CB, Minh NTN, Lam NN, Quang DX, Quyet D, et al. Species Distribution and Antifungal Susceptibility Pattern of *Candida* Recovered from Intensive Care Unit Patients, Vietnam National Hospital of Burn (2017–2019). *Mycopathologia.* 2021;186(4):543–551. doi: 10.1007/s11046-021-00569-7
31. Rudramurthy KG, Ramya KR, Geetha RK. Phenotypic characterization and antifungal susceptibility pattern of *Candida* sp isolated from a tertiary care center. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences.* 2014;3(9):2094-2097. doi: 10.14260/jemds/2014/2108
32. Arastehfar A, Gabaldón T, Garcia-Rubio R, Jenks JD, Hoenigl M, Salzer HJ, et al. Drug-Resistant Fungi: An Emerging Challenge Threatening Our Limited Antifungal Armamentarium. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(12):877. doi: 10.3390/antibiotics9120877
33. Kusmarinah B, Masashi Y, Ryoji T, Hideoki O. Comparison of proteinase, lipase and alpha glucosidase activities from the clinical isolates of *Candida* species. *Jpn J Infect Dis.* 2006;59(2):73–76.
34. Mohammadi R, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Ghahri M, Shidfar MR, Jalalizand N, et al. Molecular identification and distribution profile of *Candida* species isolated from Iranian patients. *Med Mycol.* 2013;51(6):657–663. doi: 10.3109/13693786.2013.770603
35. Malcok HK, Aktas E, Ayyildiz A, Yigit N, Yazgi H. Hemolytic activities of the *Candida* species in liquid medium. *Eurasian J Med.* 2009;41(2):95–98.
36. Cavalheiro M, Teixeira MC. *Candida* Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Front Med (Lausanne).* 2018;5:28. doi: 10.3389/fmed.2018.00028

Received – 23.09.2021, accepted for publication – 21.10.2021

Corresponding author: Olga Burduniuc, e-mail: olgaburduniuc3@gmail.com

Conflict of interest Statement: The author reports no conflicts of interest in this work.

Funding Statement: The author reports no financial support.

Citation: Burduniuc O. Antifungal susceptibility patterns and virulence factors of clinical *Candida spp.* isolates. *Arta Medica.* 2021;79(2):4-9.



DOI: 10.5281/zenodo.5636930

UDC: 616.346.2-072.1-089.87:[616.12+616.24]-008.46

FEATURES OF LAPAROSCOPIC APPENDECTOMY WITH THE ATYPICAL LOCATION OF THE APPENDIX IN PATIENTS WITH A HIGH RISK OF CARDIOPULMONARY INSUFFICIENCY

Yahya H.^{1,2}, Zaporozhchenko B.S.^{1,2}, Borodayev I.E.^{1,2}, Kachanov V.M.^{1,2}

¹ Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine;

² Odessa Regional Clinical Medical Center, Odessa, Ukraine.

Summary

Objectives. The purpose of the work was to expand the capabilities of laparoscopic appendectomy in the atypical location of the destructively altered appendix in patients with a high risk of cardiopulmonary pathology, through the use of new surgical techniques.

Material and methods. In the clinic of Department of Surgery No. 2, Odessa National Medical University, from 2015 to 2020, there were operated on 57 patients for acute appendicitis with an atypical location of the appendix with the presence of concomitant cardiopulmonary pathology. All patients were divided into 2 groups. The first group consisted of 21 (36.8%) patients with an atypical location of the appendix and a high risk of cardiopulmonary failure, who underwent an open appendectomy. The second group consisted of 36 (63.2%) patients with an atypical location of the appendix and a high risk of cardiopulmonary failure, who underwent laparoscopic appendectomy. The procedure was performed according to two methods: with the imposition of pneumoperitoneum in 24 (42.2%) patients and in 12 (21%) patients with the imposition of laparolifting, due to severe cardiopulmonary pathology.

Results. Postoperative complications in group 2 were less than in patients in group 1. Average stay in the hospital of patients of the second group, after laparoscopic appendectomy, was 4.9 ± 2.35 days. In patients of the first group, with open appendectomy – 10.6 ± 5.1 days. After minimally invasive interventions, patients were in the hospital on average 5 days less than patients who underwent "open" appendectomy.

Conclusions. The use of laparoscopic and video-assisted approaches, in an atypical location of appendicitis, can reduce the incidence of postoperative complications and deaths, which generally improves the results of the treatment.

Keywords: acute appendicitis, appendectomy, laparoscopy, cardiopulmonary insufficiency, atypical location of the appendix

Background

The incidence of acute appendicitis (AA) is from 20% to 50% of emergency hospitalizations in surgical hospitals and the only method of treatment is surgery. "Open" methods of surgical treatment, over time, faded into the background. In recent years the most common operation is laparoscopic appendectomy (LAE), which is the main surgical method of surgical treatment of AA [1].

Its advantages over "open" appendectomy are well known. However, with the atypical location of the appendix, which is quite common (2.5% - 25%), it is believed that the level of technical difficulties during LAE will be less than in case of an open appendectomy (AE) [2, 3]. LAE is feasible for almost all atypical variants of the location of the appendix. Conversion to an "open" operation should not be caused by an atypical variant of the appendix position [4]. The use of laparoscopy is known to affect numerous hemodynamic factors, including decreased heart rate and stroke index, and increased systemic and pulmonary vascular resistance.

The choice of the LAE method, especially in patients with a high risk of cardiopulmonary insufficiency, is relevant [5, 6].

Purpose of the study

To expand the possibilities of LAE with an atypical

location of a destructively altered appendix in patients with a high risk of cardiopulmonary pathology, through the use of new surgical techniques.

Materials and methods

In the clinic of Department of Surgery No. 2, Odessa National Medical University (ONMedU), from 2015 to 2020, there were operated on 57 patients, for acute appendicitis with the atypical location of the appendix, with the presence of concomitant cardiopulmonary pathology. Of these, 25 (43.9%) were men and 32 (56.1%) – women. The patients' age ranged from 50 to 80 years. In this study the fundamental ethical principles of research were respected. All patients gave informed consent for enrollment in the study.

The diagnosis of AA was made on the basis of the clinical picture of the disease, data from instrumental research methods (ultrasound, computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), chest X-ray, electrocardiogram (ECG)), confirmed by laboratory tests (blood tests, complete blood count (CBC), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), urine analysis). The diagnosis of AA with an atypical location of the appendix was made before surgery in 51 (91%) patients (Table 1).

Table 1*Location of the appendix in operated patients*

LOCATION	NUMBER OF PATIENTS
Retrocecal	27 (47.3%)
Retroperitoneal	9 (15.7%)
Pelvic	10 (17.5%)
Combination of retroperitoneal and retrocecal	3 (5.2%)
Subhepatic	8 (14.3%)
TOTAL	57 (100%)

All patients were divided into 2 groups. The first group consisted of 21 (36.8%) patients with an atypical location of the appendix and a high risk of cardiopulmonary failure, who underwent open appendectomy. The second group consisted of 36 (63.2%) patients with an atypical location of the appendix and a high risk of cardiopulmonary failure, who underwent laparoscopic appendectomy. LAE was performed according to two methods: with the imposition of pneumoperitoneum in 24 (42.2%) patients and, in 12 (21%) patients, with the imposition of laparolifting, in view of severe cardiopulmonary pathology, where the imposition of pneumoperitoneum was dangerous. Patients of both groups were examined urgently, consulted by specialist (cardiologist, pulmonologist, therapist). The types of concomitant pathology and the number of patients are presented in the table 2.

Table 2*Distribution of patients with comorbidities*

Type of pathology	Number of patients
Postinfarction atherosclerosis with cardiovascular insufficiency	27
Hypertrophic heart with hypertension stage 2-3. Congestive heart failure (CHF)	17
Bronchial asthma with severe respiratory failure, Chronic obstructive pulmonary disease (COPD)	8
Bronchiectasis	5
Total	57

In the preoperative period, antibiotic prophylaxis with antibacterial drugs of a wide spectrum of action was carried out, and correction of water-electrolyte disturbances was performed.

Results and discussions

The nature and volume of surgical intervention in patients of the first group is mainly represented by AE operation from an appendicular incision and drainage of the abdominal cavity with one or two drains, due to the presence of peritonitis or abscess, in 12 (21%) patients. Midline laparotomy was performed in 9 (15.7%) patients according to strict indications, due to the presence of severe concomitant cardiopulmonary pathology, and before arriving in the operating room, ultrasound or X-ray computer diagnostics was performed, for the presence of diffuse or diffuse peritonitis (Table 3).

Table 3*Open surgical interventions in patients of the first group*

Surgical procedure	Number of patients
Appendectomy by McBurney incision	7
Appendectomy by McBurney incision, sanitation (purification), and drainage of the abdominal cavity	5
Midline laparotomy, AE, sanitation and drainage of the abdominal cavity	7
Pararectal laparotomy by Lenander, AE, drainage of the abdominal cavity	2
Total	21

Postoperative complications in patients of the first group of 21 patients (100%) were represented by the development of postoperative ventral hernia in 5 (23.8%), exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 3 (14.3%), suppuration of the postoperative wound in 2 (9.5%) patients and 1 (4.7%) patient died from progressive severe cardiopulmonary insufficiency.

The nature and volume of the surgical intervention, in patients of the second group were represented by the main type of operation which was LAE and sanitation of the abdominal cavity, and LAE with sanitation and drainage of the abdominal cavity in patients with pneumoperitoneum imposition, which was performed in 24 (66.6%) patients. In 12 (33.3%) patients, the LAE operation with the imposition of laparolifting was supplemented with drainage of the abdominal cavity. Taking into account the various types of the atypical location of the appendix, surgical intervention was carried out using a different position of the patient on the operating table (giving a turn of the patient's body to the left or right side). In 5 patients, after the introduction of the laparoscope into the abdominal cavity, the optimal place for the imposition of laparoscopic ports was chosen for the introduction of the instrument, followed by the main stage of the operation (table 4).

Table 4*Surgical interventions performed in patients of the second group*

Surgical procedure	Number of patients with pneumoperitoneum imposition	Number of patients with laparolifting technique
LAE, drainage of the abdominal cavity	17	8
LAE, sanitation, and drainage of the abdominal cavity	7	4
Total	36	

Postoperative complications in patients of the second group, in the form of a hematoma near the umbilical wound, were observed in 4 (11.1%) patients, hernia of the sub-umbilical region – in 2 (5.5%) patients. There were no deaths in this group.

LAE with the use of laparolifting was performed

using a device developed in the clinic for laparolifting according to Zaporozhchenko-Kolodiy (Ukrainian patent for invention No. 101921 dated 05/13/2013 – a device for performing laparolifting in laparoscopic interventions). Contraindications for performing laparoscopic surgery with pneumoperitoneum overlay in patients of the second group were standard severe cardiopulmonary pathology, therefore, the technique with the imposition of laparolifting was performed. In all patients, surgical intervention was carried out through three ports, which were introduced at typical points, after the application of the system for laparolifting: 1) the umbilical region; 2) in the suprapubic region to the middle of the line in the middle of the distance between the navel and the bosom; 3) in the right ileal region in the place of the projection of the dome of the cecum. The average duration of the surgery amounted to 47.8 ± 7.2 minutes. In the postoperative period, patients underwent antibiotic therapy and correction of pathological syndromes of the cardiopulmonary and hepatic-renal systems according to indications. Average stay in the hospital of patients of

the second group, after LAE, was 4.9 ± 2.35 bed-days, in patients of the first group, with open AE – 10.6 ± 5.1 bed-days. After minimally invasive interventions, patients stayed on average 5 days less than patients who underwent "open" appendectomy.

Conclusions

1. The use of laparoscopic and video-assisted approaches in an atypical location of appendicitis can reduce the incidence of postoperative complications and deaths, which generally improves the results of the treatment.

2. Performing laparolifting laparoscopic appendectomy according to indications is the optimal method in patients with a high risk of cardiopulmonary complications with concomitant pathology.

3. Laparoscopic appendectomy with an atypical location of the appendix, in patients with a high risk of cardiopulmonary diseases, can reduce hospitalization time and accelerate rehabilitation in the postoperative period.

Bibliography

1. Сажин А.В., Коджоглян А.А., Лайпанов Б.К., Мосин С.В., Мирзоян А.Т. Дифференцированный подход мини-инвазивной хирургии при осложненных формах острого аппендицита. Кубанский Научный Медицинский Вестник. 2013;7(142):152-157 (In Russ.). [Sazhin AV, Kodzhoghlian AA, Laipanov BK, Mosin SV, Mirzozian AT. Differentsirovanniy podhod mini-invazivnoi khirurgii pri oslozhnennykh formakh octrogo appenditsita. Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik. 2013;7(142):152-157 (In Russ.)]
2. Курыгин А.А., Багненко С.Ф., Курыгин А.А., Синенченко Г.И. Заболевания червеобразного отростка и слепой кишки. СПб.: А.Н. Индиенко, 2005. 259 с. [Kurygin AA, Bagnenko SF, Kurygin AA, Sinenchenko GI. Zabolovaniia cherveobraznogo otrostka i slepoi kishki. SPb: A.N. Indienko; 2005. 259 s. (In Russ.)]
3. Кригер А.Г., Федоров А.В., Воскресенский П.К., Дронов А.Ф. Острый аппендицит. М.: Медпрактика-М, 2002. 244 с. (In Russ.) [Kriger AG, Fedorov AV, Voskresenskii PK, Dronov AF. Ostryi appenditsit. M: Medpraktika-M, 2002. 244 s. (In Russ.)]
4. Ягин М.В. Лапароскопическая аппендэктомия при атипичном расположении червеобразного отростка. Международный научно-исследовательский журнал, 2015;5-4(36):74-75 (In Russ.) [Iagin MV. Laparoskopicheskaia appendektomiia pri atipichnom raspolozhenii cherveobraznogo otrostka. Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skii zhurnal. 2015;5-4(36):74-75. (In Russ.)]
5. Speicher PJ, Ganapathi AM, Englum BR, Vaslef SN. Laparoscopy is safe among patients with congestive heart failure undergoing general surgery procedures. *Surgery*. 2014;156(2):371-378. doi:10.1016/j.surg.2014.03.003
6. Liu YY, Yeh CN, Lee HL, Chu PH, Jan YY, Chen MF. Laparoscopic cholecystectomy for gallbladder disease in patients with severe cardiovascular disease. *World J Surg*. 2009;33(8):1720-1726. doi:10.1007/s00268-009-0072-9

Received – 01.06.2021, accepted for publication – 30.10.2021

Corresponding author: Hasan Yahya, e-mail: mr.yahya85@gmail.com

Conflict of interest Statement: The authors report no conflicts of interest in this work.

Funding Statement: The authors report no financial support.

Citation: Yahya H, Zaporozhchenko BS, Borodayev IE, Kachanov VM. Features of laparoscopic appendectomy with the atypical location of the appendix in patients with a high risk of cardiopulmonary insufficiency. *Arta Medica*. 2021;79(2):10-12.

REFERATE GENERALE



DOI: 10.5281/zenodo.5636950

UDC: [613.648.4:546.296+613.84]:616.233/.24-006.6

CERCETĂRI CU PRIVIRE LA DEZVOLTAREA UNEI METODOLOGII DE STUDIERE A INTERACȚIUNII RADON X FUMAT CA FACTOR TRIGGER ÎN DECLANȘAREA CANCERULUI BRONHOPULMONAR

STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF A METHODOLOGY FOR STUDYING THE RADON X SMOKING INTERACTION AS A TRIGGER FACTOR IN THE OCCURRENCE OF BRONCHOPULMONARY CANCER

Liuba Corețchi¹, dr. hab. șt. biol., conf. cerc., **Ala Overcenco**¹, dr. șt. geon., **Aurelia Ababii**¹, doctorand, **Valeriu Bilba**², dr. șt. med.

¹ Laboratorul Igiena Radiațiilor și Radiobiologie, Agenția Națională pentru Sănătate Publică, Chișinău, Republica Moldova

² IMSP Institutul Oncologic, Chișinău, Republica Moldova

Rezumat

Obiective. Expunerea rezidențială la radon este al doilea factor de risc al declanșării cancerului pulmonar pentru fumători și primul – pentru nefumători. Obținerea rezultatelor veridice în acest sens necesită efectuarea cercetărilor științifice epidemiologice pe scară largă, cu implicarea eșantioanelor adecvate de pacienți, dar aceste studii sunt foarte costisitoare. Problema studierii acțiunii radonului și a tutunului în declanșarea cancerului bronhopulmonar rămâne actuală. Analiza științifică a literaturii de specialitate a servit ca bază pentru inițierea dezvoltării unei metodologii de studiere a interacțiunii *radon x fumat* ca factor trigger în declanșarea cancerului bronhopulmonar la fumători din Republica Moldova.

Material și metode. Experiența mondială privind metodologia studierii interacțiunii *radon x fumat* a fost examinată, utilizând rezultatele științifice a circa 30 de publicații pe site-urile ResearchGate, Pubmed, BioMedCentral, RSCI, CE Webgate, OMS, AIEA, etc. S-a efectuat sinteza abordărilor actuale ale dezvoltării și implementării metodelor de cercetare pentru elucidarea impactului interacțiunii *radon x fumat* asupra declanșării cancerului bronhopulmonar.

Rezultate. Până în prezent, unele cercetări s-au axat pe studiul efectului expunerii sinergice la fumat/radon asupra apariției cancerului bronhopulmonar. O revizuire a literaturii în domeniu a demonstrat că principalele metode pentru studierea acestui fenomen sunt metodele caz-control și metodele sociologice prin sensibilizarea publicului. Combinând abordările studiate și luând ca bază experiența de succes a cercetărilor internaționale, a fost elaborată metodologia de estimare a interacțiunii *radon x fumat* asupra declanșării cancerului bronhopulmonar. Se propun două direcții de cercetare: (1) statistică, cu utilizarea datelor asupra fumătorilor în Republica Moldova, concentrația radonului în locuințe și indicatorii de morbiditate/mortalitate și (2) „caz-control”, cu utilizarea chestionarului în studiu pe termen lung în colaborare cu Institutul Oncologic.

Concluzii. Dezvoltarea unei metodologii de studiu a influenței interacțiunii *radon x fumat* asupra declanșării cancerului bronhopulmonar va permite Sistemului de Sănătate Publică să elaboreze instrumentele de control/prevenire/diminuare a maladiei menționate.

Cuvinte cheie: radon, fumat, interacțiune, sinergism, cancer bronhopulmonar, metodologie

Abstract

Objectives. Residential exposure to radon is the second risk factor for lung cancer triggering for smokers and the first – for non-smokers. The obtaining reliable result in this area requires large-scale epidemiological scientific studies with the appropriate patient samples, but the results of some studies are controversial. The synthetic analysis of the specialized literature served as a basis for the methodology development to study the interaction of *radon x smoking* as a trigger factor in the occurrence of lung cancer at smokers in the Republic of Moldova.

Material and methods. Global experience on the methodology for studying the interaction *radon x smoking* was examined about 30 publications on platforms of ResearchGate, Pubmed, BioMedCentral, RSCI, European Commission Webgate, WHO, AIEA, etc. A descriptive synthesis of current approaches to the development and implementation of research methods for studying the *radon x smoking* interaction on the triggering of bronchopulmonary cancer was performed.

Results. A few researches have focused on the study of the effect of synergic exposure of radon/smoke on the occurrence of lung cancer. A review showed that the main methods for studying this phenomenon are case-control and sociological. Combining the studied approaches and basing on the experience of international research, the methodology for estimating the interaction of *radon x smoking* on triggering the bronchopulmonary cancer was developed. Two directions are proposed in the research methods: (1) statistical with the use of smokers' data in the Republic of Moldova, radon concentration in dwellings and morbidity/mortality indices and (2) "case-control" with the use of the long-term study questionnaire in collaboration with the Institute of Oncology.

Conclusions. The development of a methodological approach to the study of the *radon x smoking* interaction on the occurrence of bronchopulmonary cancer will allow the Public Health System to develop tools to control/prevent/reduce this disease.

Keywords: radon, smoking, interaction, synergism, bronchopulmonary cancer, methodology

Introducere

Expunerea pe termen lung la radon (^{222}Rn) și descendenții săi este cauza principală a declanșării cancerului bronhopulmonar în anumite activități profesionale. Ca intermediar în seria de dezintegrare a uraniului (radiului), ^{222}Rn emite particule *alpha* cu energie mare (5,49 MeV) și generează descendenți radioactivi de scurtă durată (izotopi de poloniu, plumb, talii și bismut), cu nivele mai mici de emisie de particule *beta* cu energie diferită, dar și stabili (^{208}Pb). Riscul apariției cancerului pulmonar crește odată cu creșterea nivelului de radon în încăperea, gazul radon și descendenții săi ajung în plămâni, atașându-se de ei [1-5]. Fumatul și radonul au un efect sinergic și multiplicativ asupra apariției cancerului bronhopulmonar. Expunerea la radon este a doua cauză principală de cancer pulmonar, iar riscul este semnificativ mai mare pentru fumători decât pentru nefumători [4, 6, 7]. În SUA a fost demonstrat că mai mult de 85% din decesele provocate de cancerul bronhopulmonar cauzat de radon, au fost printre fumători [8]. Cele mai fiabile estimări ale riscului expunerii la radon s-au bazat pe datele studiilor, în care au fost incluși minerii, ce muncesc la extragerea cărbunelui în condiții subterane.

Cercetările anterioare realizate prin meta-analize au raportat efectul sinergic dintre radon și fumat, exprimat prin influența mecanismului patologic al cancerului pulmonar [1, 7, 9]. S-a demonstrat că pentru aceeași expunere la radon și la produsele de dezintegrare ale lui, riscul de declanșare a cancerului bronhopulmonar este mai mare la fumători în comparație cu cei nefumători [5]. În opinia cercetătorului Darby și colab. [7], rezultatele obținute în diferite studii au oferit dovezi convingătoare de eterogenitate în relațiile *doză-răspuns*, în special din cauza lipsei aplicării metodelor de prevenire și combatere a fumatului. Este foarte probabil faptul, că expunerea la radon duce la dezvoltarea riscului de cancer bronhopulmonar la fumători și la foștii fumători. Fumătorii și nefumătorii din gospodăriile fumătorilor prezintă un risc mare de cancer pulmonar chiar și atunci, când nivelul de radon este relativ mic [2]. Persoanele care inhalează fumul de tutun sunt expuse la concentrații mari de radiații ionizante naturale. Expunerea la radon rezidențial este considerată a fi un factor de risc pentru cancerul bronhopulmonar, față de consumul de tutun, al cărui potențial cancerigen este ferm stabilit de peste trei decenii cu dovezi convingătoare [10-13].

Un șir de studii au raportat o asociere pozitivă sau slab pozitivă între riscul de declanșare a cancerului pulmonar și concentrația de radon rezidențial, în timp ce altele au raportat rezultate consistente. În majoritatea cazurilor din studiile europene și nord-americane, intervalul de expunere la radon rezidențial este de 25-100 Bq/m³, ce este comparabil cu fondul natural de radiații [14-16]. În acest interval de doze, riscul relativ de cancer bronhopulmonar asociat cu radon rezidențial nu s-a dovedit a fi semnificativ statistic [17]. Pe de altă parte, la niveluri de doză apropiate de cele pentru minerii subterani și, în special, pentru fumători, radonul interior prezintă un risc clar de cancer bronhopulmonar la concentrații peste 200-300 Bq/m³. Cu toate acestea, din cauza prejudecății și confuziei, riscul excesiv de cancer propus pentru creșterea concentrației de radon de la 0,08 la

100 Bq/m³ trebuie considerat ca o estimare provizorie pentru fumători și cu siguranță nu se aplică nici nefumătorilor, nici fumătorilor expuși la concentrații de radon sub acest nivel. Chiar și cele mai bune manipulări statistice nu pot compensa sau acoperi datele inițiale defecte. Combinația clasificării greșite a fumătorilor, inexactităților de dozimetrie a radonului, diferențelor în tipurile histopatologice de cancer pulmonar și co-expunerea radonului cu fumatul și cu alți poluanți ai aerului din interior, toate împreună creează o incertitudine considerabilă în estimările riscului pentru sănătate a radonului rezidențial [18].

În baza celor menționate mai sus și, luând în considerare că în Republica Moldova mortalitatea prin cancer pulmonar este a doua cauză de deces prin tumori maligne [19], mai mult de un sfert din populația adultă este expusă fumatului [20], iar radonul rezidențial prezintă un factor de risc sporit pentru sănătatea populației [21, 22], *scopul acestui articol* este de a studia și revizui experiența internațională în elaborarea și utilizarea metodelor de estimare a interacțiunii radonului și fumatului ca factor trigger în declanșarea cancerului bronhopulmonar, în vederea elaborării unor abordări adecvate pentru studierea acestui fenomen în țara noastră, servind ca bază pentru luarea deciziilor în elaborarea măsurilor preventive de sănătate publică și reducerea incidenței cancerului bronhopulmonar în rândul populației.

Material și metode

Studiul practicii internaționale privind metodologia studierii interacțiunii *radon x fumat* a fost efectuat utilizând rezultatele științifice a circa 40 de publicații din ultimii 10 ani, pe platforme cunoscute de specialitate – ResearchGate, Pubmed, BioMedCentral, RSCI, Comisia Europeană Webgate, OMS, AIEA, etc. În baza materialului studiat a fost realizată o sinteză descriptivă a abordărilor actuale ale dezvoltării și implementării metodelor de cercetare pentru elucidarea impactului interacțiunii *radon x fumat* asupra declanșării (incidenței) cancerului bronhopulmonar în Canada, Statele Unite ale Americii (SUA), țările europene și asiatice. Au fost utilizate metode analitice și analogice pentru a dezvolta două direcții în cercetarea interacțiunii *radon x fumat* asupra declanșării cancerului bronhopulmonar – statistică și „caz-control”.

Rezultate și discuții

Până în prezent, puține cercetări s-au axat pe studiul privind efectul expunerii sinergice a radonului rezidențial și fumatului asupra apariției cancerului bronhopulmonar. O astfel de interacțiune a fost evaluată doar ca magnitudine a unui termen de produs al efectelor individuale într-un model de regresie, în care interacțiunea este definită ca o abatere de la produs a efectelor absolute ale celor două cauze. Această abordare a interacțiunii nu este informativă, ba chiar, în mod clar, înșelătoare. O revizuire a literaturii specifice privind sinergismul efectului radonului rezidențial și fumatului asupra apariției cancerului bronhopulmonar a arătat că principalele metode pentru studierea acestui fenomen sunt metodele de caz-control și metodele sociologice prin sensibilizarea populației, testarea gratuită și interviuarea

ulterioară a grupului de risc. Există un număr mic de cercetări *in vitro*, care studiază efectul sinergic de radon în celulele de sânge și celulele epiteliale ale fumătorilor, dar această metodă este încă în curs de dezvoltare.

Studii *in vitro*

Cercetările *in vitro* ale efectului sinergic dintre fumat și radon, în declanșarea cancerului bronhopulmonar, au fost efectuate de către savanții din India [23]. Probele de sânge de la fumători și nefumători au fost expuse la diferite concentrații de radon, variind de la 0 la 189 MBq/m³, corespunzătoare unor doze cuprinse între 0,2 și 15,2 mGy. Au fost înregistrate aberațiile cromozomiale în preparatele metafazice din prima diviziune celulară. Frecvența dicentricilor în celulele fumătorilor expuse la radon s-a dovedit a fi mai mare decât la nefumători cu un factor de 3,8. Prezentul studiu este primul de acest gen, care a investigat interacțiunea *radon x fumat* fără factori de confuzie, deoarece celulele unui fumător au fost expuse *in vitro* la radon.

Studii caz-control

În anul 2005, în cadrul a nouă țări europene, a fost efectuată o analiză generală a datelor individuale, care includeau 13 studii de caz-control ale interacțiunii radonului rezidențial și cancerului bronhopulmonar [7]. Analizei au fost supuse 7148 cazuri de cancer pulmonar și 14 208 de cazuri control. Pe parcursul studiului au fost înregistrate concentrația radonului în locuințele persoanelor din grupul de control și cazurile de cancer bronhopulmonar. S-a depistat că riscul de cancer bronhopulmonar a crescut cu 8,4% la expunerea la 100 Bq/m³ a nivelului de radon. Relația doză-răspuns era semnificativ liniară fără prag ($P=0,04$), la monitorizarea radonului din case au fost obținute valori <200 Bq/m³. Riscul excesiv proporțional nu a diferentiat semnificativ rezultatele în funcție de vârstă, sex sau regim de fumat. Aceste studii demonstrează pericole semnificative, determinate de expunerea la radon, în special pentru fumători și foștii fumători, și indică faptul că radonul este responsabil pentru aproximativ 2% din totalul deceselor cauzate de cancer în Europa.

Recent (a. 2012), un studiu prospectiv a urmărit mortalitatea cauzată de bolile respiratorii non-maligne și expunerea la radonul din locuințe. Acest studiu amplu, *Cancer Prevention Study II*, a demonstrat că mortalitatea prin boală pulmonară obstructivă cronică crește odată cu expunerea la nivelul ridicat de radon din locuință [24]. A fost subliniat faptul că expunerea la radon din locuință ar putea fi considerată ca un factor principal al apariției cancerului pulmonar la pacienții care, categoric, nu fumează și este foarte importantă identificarea caselor cu nivel sporit de radon [25].

Noile construcții ar trebui să fie „rezistente la radon” ca să nu pătrundă radonul în interiorul clădirii. Etapele comune de remediere a radonului și încetarea expunerii la fumul de tutun ar trebui să fie stipulate în programele naționale ale tuturor statelor, așa cum este accentuat în rezultatele studiului de caz al lui Torres-Durán și colab [26]. Acest studiu de caz-control ne oferă informații noi despre rolul esențial al radonului din locuințe și/sau al expunerii la fumul de tutun, precum și riscul de cancer bronhopulmonar la nefumători.

În China, în anul 2011, a fost efectuat un studiu, bazat pe populație, referitor la incidența cazurilor de cancer bronhopulmonar sub acțiunea fumului de tămâie și a radonului rezidențial la bărbații [27]. Ca metodă de cercetare a fost utilizată o analiză de regresie logistică multivariabilă necondiționată, pentru a estima raportul de probabilități (Odd Ratio, OR) pentru cancerul bronhopulmonar asociat cu expunerea la fum de tămâie, după ajustarea pentru posibilele confuzii. A fost observată o asociere între expunerea la tămâie și dezvoltarea cancerului bronhopulmonar, care s-a limitat în primul rând la fumători. Studiul sugerează că expunerea la fumul de tămâie la domiciliu poate crește riscul de cancer bronhopulmonar în rândul fumătorilor și că expunerea la radon poate crește și mai mult riscul.

Cel mai recent studiu (a. 2020) de caz-control al efectelor sinergice ale radonului și fumatului asupra apariției cancerului bronhopulmonar a fost efectuat în Coreea de Sud [28]. Au fost incluși un total de 1038 de participanți, cuprinzând 519 cazuri de cancer bronhopulmonar cu celule mici și 519 participanți care prezentau grupul martor, standardizați pe vârstă, sex și reședință. Nivelurile de radon rezidențial au fost măsurate pentru toți participanții. Regresia logistică multivariabilă a fost utilizată pentru a calcula OR pentru cancerul bronhopulmonar în funcție de expunerea la radon, starea fumatului și combinațiile celor doi factori după ajustarea în funcție de vârstă, sex, orele de aflare în interior și alte informații despre locuințe. S-a constatat, că atât radonul rezidențial, cât și fumatul de țigară au fost asociate cu șanse crescute de cancer bronhopulmonar, iar diferența în OR, în funcție de expunerea la radon, a fost mult mai mare la fumători decât la nefumători.

Comunicarea riscului și intervievarea ulterioară

În SUA, în anul 1999, a fost efectuat un studiu-pilot în cadrul căruia s-a studiat efectul sinergic al fumatului cu radonul printre rezidenții fumători și nefumători, inclusiv testarea radonului, interviurile, chestionarele pentru grupurile-țintă de intervenție randomizată, și au fost comparate două tipuri de materiale scrise și telefonice [29, 30]. Gospodăriilor fumătorilor li s-au oferit truse gratuite de testare a radonului printr-un program special de facturare a companiilor de utilități electrice. Rezultatele monitorizării timp de trei luni au fost obținute prin poștă și telefon. Posibilitatea testării gratuite a radonului printr-un sistem de facturare al utilităților publice a fost considerată ca un instrument eficient pentru a evidenția riscul interacțiunii radonului și fumatului în locuințe. Consilierea telefonică are mai multe avantaje decât materialele scrise (broșura special elaborată și ghidul EPA) în combaterea fumatului și încurajarea interdicțiilor de fumat în încăperi (încurajarea eforturilor de renunțare la fumat). S-a constatat că activitățile companiei de utilități publice este o modalitate eficientă de a ajunge la locuințele cu proprietari fumători, iar consilierea telefonică este o metodă promițătoare pentru promovarea interdicțiilor de fumat în locuință și prevenirea riscului expunerii la radon și fumat.

În anumite regiuni ale Marii Britanii concentrațiile radonului în încăperi sunt destul de ridicate și expunerea prelungită în interiorul încăperilor crește riscul apariției

cancerului bronhopulmonar în rândul proprietarilor, iar studiile recente au confirmat faptul că riscul de a dezvolta cancerul bronhopulmonar în rândul fumătorilor expuși la radon este mai sporit [31]. Rezidenții care s-au alăturat programului de renunțare la fumat în a. 2006 și cei care au renunțat la fumat de patru săptămâni, au fost ulterior invitați să participe la o anchetă axată pe factorii care afectează decizia lor de a înceta fumatul. Chestionarele au fost analizate prin testele χ^2 , Mann-Whitney și Kruskal-Wallis. Acest studiu a confirmat, că persoanele care renunță la fumat evidențiază că riscurile pentru sănătatea lor personală sunt cei mai importanți factori care influențează decizia lor de a abandona fumatul, iar profesioniștii din domeniul sănătății ar trebui să fie conștienți de acest lucru atunci când promovează inițiative de renunțare la fumat. Deoarece radonul, ca factor de risc, este clasificat foarte jos în ierarhia riscurilor de către cei care renunță la fumat, pare să existe potențial de creștere a gradului de conștientizare a riscului radonului prin intermediul programelor de încetare a fumatului, cu obiectivul de a crește gradul de absorbție și de succes al acestor programe, și de a încuraja participarea la programele de remediere a radonului.

În anul 2018, printr-un studiu controlat randomizat, în SUA, a fost realizată examinarea impactului pe termen scurt a unei intervenții personalizate de raportare a mediului, pentru a reduce expunerea la fumat și radon în încăpere și conștientizarea percepției riscului sinergic de dezvoltare a cancerului pulmonar [13]. A fost evaluată modificarea factorului de risc sinergic, inițial la 3 luni, utilizând un model de estimare generalizată care conține principalele efecte ale grupului și timpului de tratament. Co-variațiile (interacțiunile) dintre grupuri au inclus vârsta, sexul, educația și starea de fumat la domiciliu. La persoanele din grupurile experimentale și martor s-a observat o creștere semnificativă a percepției riscului sinergic timp de 3 luni de la inițierea studiului, dar nu s-a depistat deosebiri esențiale între grupuri. S-a constatat că informația despre riscurile combinate pentru declanșarea cancerului bronhopulmonar, cu sau fără screening dublu la domiciliu pentru fumatul pasiv și radon, și raportul stării mediului, poate spori riscul perceput pentru expuneri combinate de mediu. În a. 2019, savanții americani au continuat să evalueze sinergismul fumatului și radonului conform unui studiu controlat randomizat cu proprietarii locuințelor, având ca scop promovarea acțiunilor de reducere a nivelului de radon și nicotină în aer [32]. Participanții au fost divizați în două grupuri. Participanții din primul grup au primit truse gratuite de testare a radonului și a nicotinei din aer, raportare și asistență telefonică, iar acei participanți ale căror case au avut un nivel ridicat de radon, au primit un voucher de 600 USD pentru remedierea casei. Ambelor grupuri li s-a cerut să testeze casele la radon din nou după 15 luni de la intervenție. Au fost examinate diferențele în stadiul de testare și după remedierea radonului, și adoptarea unei politici fără fum în locuință, cu micșorarea valorilor radonului și ale nicotinei aeriene la grupul de studiu pe o anumită perioadă de timp. Rezultatele au demonstrat, că la ambele grupuri de studiu nu exista nici o diferență în valorile obținute ale concentrației de radon sau ale nicotinei în aer.

Constatarea nulă a modificărilor semnificative ale valorilor de radon sau a nicotinei aeriene din momentul inițial până la 15 luni, poate reflecta aportul redus al sistemelor instalate de remediere a radonului și etapa de adoptare a unei politici fără fum în locuințe.

Elaborarea metodologiei de studiu a interacțiunii radon x fumat ca factor trigger pentru declanșarea cancerului bronhopulmonar

Sinteza de mai sus a analizei abordărilor metodologice în problema complexă a studierii interacțiunii *radon x fumat* asupra declanșării cancerului bronhopulmonar, a servit ca bază pentru dezvoltarea tehnologiilor naționale, care ar permite, cu oportunități limitate în condițiile Republicii Moldova, studierea acestui fenomen. Se presupun două direcții în metodele de cercetare – statistică și „caz-control”. Prima implică utilizarea metodelor statistice pentru evaluarea interacțiunii *radon x fumat* prin extrapolarea regională a datelor despre fumători, nivelurile de radon și morbiditatea/mortalitatea prin cancer bronhopulmonar în Republica Moldova (Figura 1). Utilizarea în analiza statistică a datelor din rapoartele naționale și a rezultatelor măsurătorilor de radon în diferite zone ale țării pentru cea mai lungă perioadă de timp posibilă, și acoperirea regională, vor face posibilă cuantificarea riscului de expunere la fumat și radon asupra sănătății umane pe o scară regională. Aplicarea instrumentelor statistice în astfel de studii este destul de răspândită și a fost utilizată de mult timp, deoarece analiza statistică este esențială pentru cercetare și obținerea rezultatelor fiabile în domeniile medicale și biomedicale [4, 33].

La rândul său, metoda caz-control permite o evaluare calitativă a riscului menționat (Figura 1). Combinând abordările studiate, în baza experienței de succes a cercetătorilor spanioli [26], a fost elaborat un chestionar pentru studiul caz-control al pacienților cu cancer bronhopulmonar în condițiile Republicii Moldova. Chestionarul include 15 întrebări (socio-demografice, tipul locuinței, fumat, măsurarea radonului, diagnostic) și își asumă utilizarea în studiu pe termen lung în colaborare cu IMSP Institutul Oncologic, cu formarea unei baze de date și o prelucrare statistică a datelor obținute. Analiza ulterioară a rezultatelor va permite evaluarea contribuției factorului de risc sinergic *radon x fumat* la apariția cancerului bronhopulmonar.

Obținerea relației statistice fiabile a interacțiunii *radon x fumat* face posibilă cuantificarea și calificarea combinației acestor factori de risc pentru apariția cancerului bronhopulmonar în țară, care, la rândul său, va servi ca bază științifică pentru dezvoltarea metodelor adecvate pentru reducerea și prevenirea cancerului bronhopulmonar în cadrul politicii naționale de sănătate publică.

Cancerul bronhopulmonar poate fi prevenit în mare măsură prin reducerea fumului de tutun și a expunerii la radon. Organizațiile care elaborează programe ale controlului expunerii la radon ar trebui să colaboreze cu agențiile și organizațiile privind controlul tutunului, pentru a eficientiza controlul factorilor de risc comportamentali, în special fumatul. Inițiativa de combatere și prevenire a fumatului,

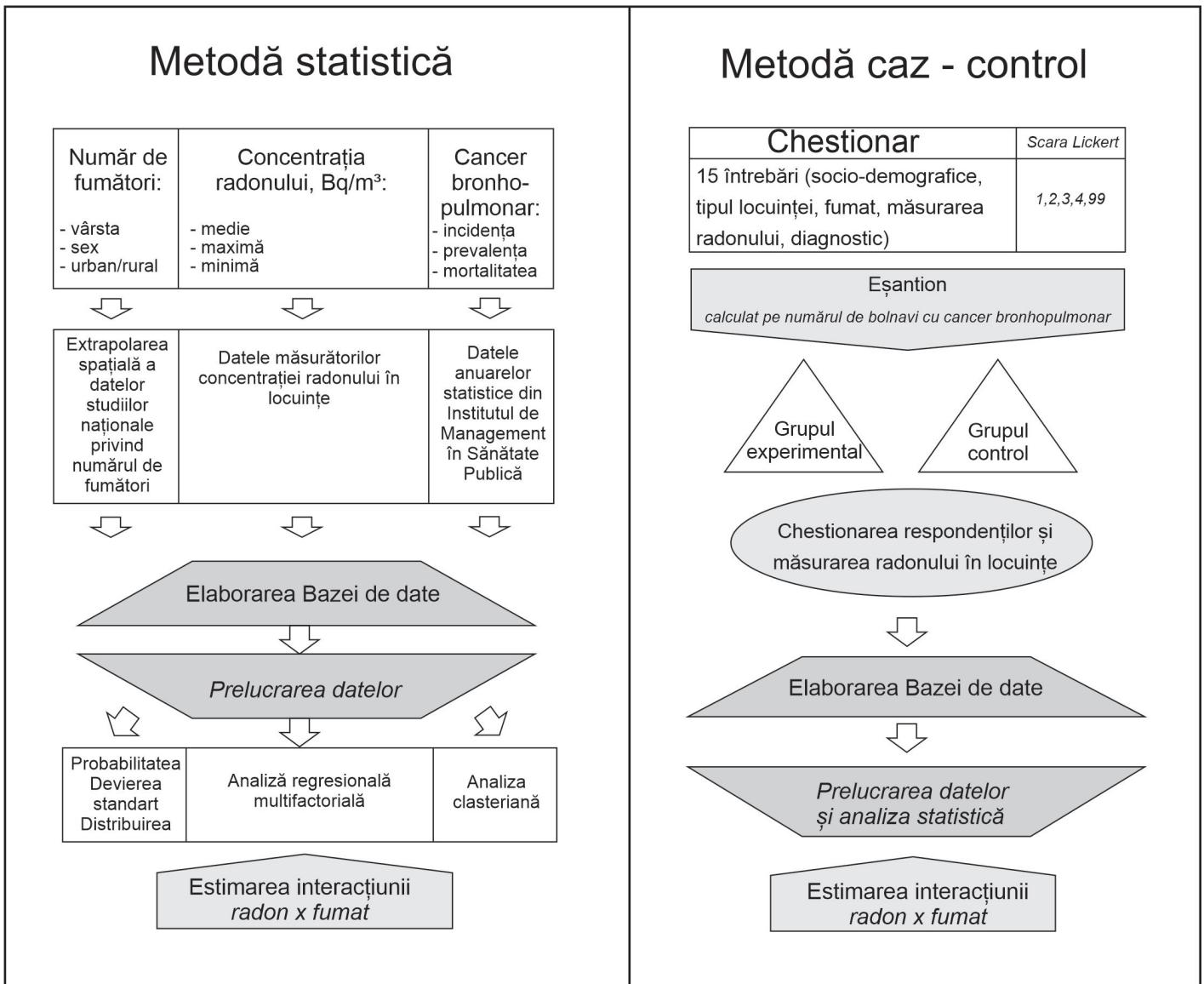


Figura 1. Schema elaborării metodologiei de estimare a interacțiunii radon x fumat în apariția cancerului bronhopulmonar.

și anume scăderea numărului de fumători, va reduce incidența cancerului bronhopulmonar indus de radon, pe lângă șirul altor boli legate de fumat [34]. Programele de combatere (renunțare) a fumatului sunt mai rentabile decât programele de remediere a radonului, oferind o oportunitate suplimentară de reducere a riscului de expunere la radon pentru fumători [35]. Politica de control al tutunului este cea mai promițătoare cale către obiectivele de sănătate publică ale politicii de control al radonului [34]. Așadar, având în vedere tendința descendentă prognozată a prevalenței fumatului în rândul adulților, contribuția radonului la povară sănătății publice prin declanșarea cancerului bronhopulmonar, va scădea.

Concluzii

Literatura de specialitate demonstrează, că problema de sănătate publică, în special a efectului radonului asupra organismul uman, constituie o problemă combinată a radonului și a fumatului, și prezintă o provocare pentru studiile științifice în domeniu. Fumatul rămâne o problemă majoră de sănătate publică în întreaga lume, fiind principalul

factor de risc cancerigen, ce duce la apariția cancerului bronhopulmonar, indus de expunerea la radon, dar majoritatea deceselor în urma expunerii la radon se întâlnesc printre fumători.

Cu toate acestea, estimarea riscului de cancer asociat cu expunerea la radonul din încăperi, obținută prin asamblarea a mai multor studii de caz-control, a condus la inexactități ale estimărilor riscului derivat în intervalul de doze mici, în principal din cauza prejudecății de clasificare greșită a fumatului, a incertitudinilor cu privire la monitoring-ul radonului, caracterizarea histopatologică a cancerului pulmonar, precum și confundarea prin expuneri la fumul de tutun și alți poluanți ai aerului din interior. De comun cu lipsa plauzibilității biologice, aceste deficiențe au un impact negativ asupra fiabilității rapoartelor statistice privind expunerea la radon și declanșarea cancerului pulmonar la concentrații sub 200 Bq/m³.

Pe baza studiului analitic al unui set mare de metode și al rezultatelor obținute în cercetările efectului sinergic al radonului și fumatului asupra apariției cancerului bronhopulmonar, a fost propusă o metodologie națională în

două direcții – analiza statistică și metoda „caz-control” – de a obține o evaluare cantitativă și calitativă a efectului acestor factori de risc pentru sănătatea omului. Disponibilitatea rezultatelor fiabile ale unei astfel de evaluări este o bază necondiționată pentru dezvoltarea și adoptarea unor măsuri preventive adecvate la toate nivelurile sistemului de sănătate publică și al sistemului de sănătate în întregime. Este firesc ca acțiunile de remediere costisitoare pentru a reduce expunerea

la radon în încăperi să se bazeze pe o evaluare științifică a riscului. Așadar, există necesitatea de a oferi îndrumări strategice despre ceea ce presupune abordarea sinergică a controlului radonului și a tutunului. Aceasta ne conduce la o afirmație politică importantă: reducerea fumatului în rândul populației este cea mai rentabilă strategie pentru reducerea poverii de sănătate publică a radonului.

Bibliografie

- Alavanja MC. Biologic damage resulting from exposure to tobacco smoke and from radon: implication for preventive interventions. *Oncogene*. 2002; 21(48):7365-7375. doi:10.1038/sj.onc.1205798
- Codul european împotriva cancerului – 12 modalități. *larc.fr*. Published 2016. Accessed 18 Feb 2021. Available from: <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/ro/12-modalitati/radiatii> (In Romanian)
- National Research Council (US) Committee on Health Risks of Exposure to Radon (1999) Appendix C Tobacco-Smoking and Its Interaction with Radon. In: *Health Effects of Exposure to Radon (BEIR IV)*. National Academies Press, Washington, D.C.
- Pavia M, Bianco A, Pileggi C, Angelillo IF. Meta-analysis of residential exposure to radon gas and lung cancer. *Bull World Health Organ*. 2003;81(10):732-738.
- Tirmarche M, Harrison JD, Laurier D, et al. ICRP Publication 115. Lung cancer risk from radon and progeny and statement on radon. *Ann ICRP*. 2010;40(1):1-64. doi:10.1016/j.icrp.2011.08.011
- Krewski D, Lubin JH, Zielinski JM, et al. Residential radon and risk of lung cancer: a combined analysis of 7 North American case-control studies. *Epidemiology*. 2005;16(2):137-145. doi:10.1097/01.ede.0000152522.80261.e3
- Darby S, Hill D, Auvinen A, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. 2005;330(7485):223. doi:10.1136/bmj.38308.477650.63
- American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2010*. American Cancer Society; Atlanta, GA. 2010.
- Neuberger JS, Gesell TF. Residential radon exposure and lung cancer: risk in nonsmokers. *Health Phys*. 2002;83(1):1-18. doi:10.1097/00004032-200207000-00001
- Takkouche B, Gestal-Otero JJ. The epidemiology of lung cancer: review of risk factors and Spanish data. *Eur J Epidemiol*. 1996;12(4):341-349. doi:10.1007/BF00145296
- Lubin JH, Steindorf K. Cigarette use and the estimation of lung cancer attributable to radon in the United States. *Radiat Res*. 1995;141(1):79-85.
- Takkouche B, Montes-Martinez A, Barreiro-Carracedo A, Barros-Dios J. Effect of additive interaction between tobacco smoking and domestic radon on the occurrence of lung cancer: A Spanish case-control study. In: *Tobacco: The Growing Epidemic*. Springer London, 2000. p. 100-102.
- Butler KM, Huntington-Moskos L, Rayens MK, Wiggins AT, Hahn EJ. Perceived Synergistic Risk for Lung Cancer After Environmental Report-Back Study on Home Exposure to Tobacco Smoke and Radon. *Am J Health Promot*. 2019;33(4):597-600. doi:10.1177/0890117118793886
- United States Environmental Protection Agency. *EPA Assessment of Risks from Radon in Homes*. June 2003.
- International Agency for Research on Cancer. *RADIATION. VOLUME 100 D A REVIEW OF HUMAN CARCINOGENS*. WORLD HEALTH ORGANISATION; LION FRANCE 2012.
- Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR VII Phase 2*. National Academies Press. Washington, D.C. 2006.
- Gaskin J, Coyle D, Whyte J, Krewski D. Global Estimate of Lung Cancer Mortality Attributable to Residential Radon. *Environ Health Perspect*. 2018;126(5):057009. Published 2018 May 31. doi:10.1289/EHP2503
- Nilsson R, Tong J. Opinion on reconsideration of lung cancer risk from domestic radon exposure. *Radiat Med Prot*. 2020;1(1):48-54. <https://doi.org/10.1016/j.radmp.2020.01.001>
- Stratan V, Șutkin V, Brenișter S, et al. *Epidemiologia cancerului pulmonar în Republica Moldova*. *Bul Acad Științe a Mold Științe Medicale*. 2015;3:50-56.
- World Health Organisation Europe. *PREVALENCE OF NONCOMMUNICABLE DISEASE RISK FACTORS IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA STEPS 2013*. World Health Organisation; 2014.
- Bahnarel I, Corețchi L. Contribuții la monitorizarea radioactivității mediului. *Akademios* 2011;1:77-81.
- Corețchi L, Bahnarel I, Gîncu M, Cojocari A, Hoffmann M. Controlul și evaluarea riscului expunerii populației la radon în Republica Moldova. *One Health Risk Manag*. 2020;1:42-49. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3701164>
- Meenakshi C, Mohankumar MN. Synergistic effect of radon in blood cells of smokers - an in vitro study. *Mutat Res*. 2013;757(1):79-82. doi:10.1016/j.mrgentox.2013.06.018
- Turner MC, Krewski D, Chen Y, Pope CA 3rd, Gapstur SM, Thun MJ. Radon and COPD mortality in the American Cancer Society Cohort. *Eur Respir J*. 2012;39(5):1113-1119. doi:10.1183/09031936.00058211
- Melloni BB. Lung cancer in never-smokers: radon exposure and environmental tobacco smoke. *Eur Respir J*. 2014;44(4):850-852. doi:10.1183/09031936.00121314
- Torres-Durán M, Ruano-Ravina A, Parente-Lamelas I, et al. Lung cancer in never-smokers: a case-control study in a radon-prone area (Galicia, Spain). *Eur Respir J*. 2014;44(4):994-1001. doi:10.1183/09031936.00017114

27. Tse LA, Yu IT, Qiu H, Au JS, Wang XR. A case-referent study of lung cancer and incense smoke, smoking, and residential radon in Chinese men. *Environ Health Perspect.* 2011;119(11):1641-1646. doi:10.1289/ehp.1002790
28. Park EJ, Lee H, Kim HC, et al. Residential Radon Exposure and Cigarette Smoking in Association with Lung Cancer: A Matched Case-Control Study in Korea. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(8):2946. Published 2020 Apr 24. doi:10.3390/ijerph17082946
29. Lee ME, Lichtenstein E, Andrews JA, Glasgow RE, Hampson SE. Radon-smoking synergy: A population-based behavioral risk reduction approach. *Prev Med.* 1999;29(3):222-227. doi:10.1006/pmed.1999.0531
30. Lichtenstein E, Andrews JA, Lee ME, Glasgow RE, Hampson SE. Using radon risk to motivate smoking reduction: evaluation of written materials and brief telephone counselling. *Tob Control.* 2000;9(3):320-326. doi:10.1136/tc.9.3.320
31. Groves-Kirkby CJ, Timson K, Shield G, et al. Influences motivating smokers in a radon-affected area to quit smoking. *Perspect Public Health.* 2014;134(1):44-56. doi:10.1177/1757913912453406
32. Hahn EJ, Wiggins AT, Rademacher K, Butler KM, Huntington-Moskos L, Rayens MK. FRESH: Long-Term Outcomes of a Randomized Trial to Reduce Radon and Tobacco Smoke in the Home. *Prev Chronic Dis.* 2019;16:E127. Published 2019 Sep 12. doi:10.5888/pcd16.180634
33. Yan F, Robert M, Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2017;9(5):157-163. Published 2017 Nov 1.
34. Lantz PM, Mendez D, Philbert MA. Radon, smoking, and lung cancer: the need to refocus radon control policy. *Am J Public Health.* 2013;103(3):443-447. doi:10.2105/AJPH.2012.300926
35. Denman AR, Rogers S, Timson K, Phillips PS, Crockett RG, Groves-Kirkby CJ. Future initiatives to reduce lung cancer incidence in the United Kingdom: smoking cessation, radon remediation and the impact of social change. *Perspect Public Health.* 2015;135(2):92-101. doi:10.1177/1757913914522785

Recepționat – 23.09.2021, acceptat pentru publicare – 21.10.2021

Autor corespondent: Ala Overcenco, e-mail: allaovercenco@gmail.com

Declarația de conflict de interese: Autorii declară lipsa conflictului de interese.

Declarația de finanțare: Cheltuielile pentru investigație au fost acoperite din cadrul proiectului de cercetare și inovare „Cuantificarea riscului pentru sănătate, asociat expunerii la radiații ionizante, în contextul directivei EIRATOM nr 2013/59/”, finanțat de către Ministerul Educației și cercetării prin Agenția Națională de Cercetare și Inovare.

Citare: Corețchi L, Overcenco A, Ababii A, Bilba V. Cercetări cu privire la dezvoltarea unei metodologii de studiere a interacțiunii *radon x fumat* ca factor trigger în declanșarea cancerului bronhopulmonar [Studies on the development of a methodology for studying the *radon x smoking* interaction as a trigger factor in the occurrence of bronchopulmonary cancer]. *Arta Medica.* 2021;79(2):13-19.



DOI: 10.5281/zenodo.5637009

UDC: 616.716.1-089.844:616.1/.9

INFLUENȚA MALADIILOR GENERALE ASUPRA REZULTATELOR RECONSTRUCȚIEI CRESTEI ALVEOLARE. REVIEW LITERAR

THE INFLUENCE OF GENERAL DISEASES ON THE RESULTS OF ALVEOLAR CREST RECONSTRUCTION. LITERARY REVIEW

Alexandru Ghețiu, asistent universitar, doctorand

Catedra de Chirurgie Oro-Maxilo-Facială și Implantologie Orală „Arsenie Guțan”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

Rezumat

Obiective. În acest articol am avut ca obiectiv analiza maladiilor generale care pot influența rezultatele reconstrucției crestei alveolare în pregătirea preimplantării.

Material și metode. În studiu au fost incluse 45 de articole: 5 dintre ele au fost de tip review sistematic, 7 de tip meta-analiză, 13 studii clinice, 11 studii clinice randomizate și 9 de tip review. Aceste articole au fost selectate de pe platforma PubMed și IBN.

Rezultate. Conform cuvintelor cheie precăutate, s-au obținut următoarele informații: impactul maladiilor asupra rezultatelor creșterii crestei alveolare a fost întâlnită în 93% din studii, fiecare prezentând o rată între 10-15% a influenței. Dintre acestea, 16 publicații au relatat despre influența patologiilor cardio-vasculare, 8 publicații – despre impactul diabetului zaharat asupra reconstrucției de creastă alveolară, 8 articole – despre influența osteoporozei și a tratamentului cu bisfosfonați, 5 articole au prezentat date despre influența administrării pe termen lung a corticosteroizilor asupra reconstrucției de creastă și 8 articole – despre alte patologii și stări generale.

Concluzii. Analiza studiilor asupra influenței maladiilor generale în cadrul reconstrucțiilor osoase de creastă alveolară a evidențiat multitudinea variabilelor și parametrilor ce pot avea impact asupra vindecării în operațiile de reconstrucție a crestei alveolare. Studiul aprofundat al terenului pacientului, comunicarea interdisciplinară, managementul patologiei asociate, cât și complianța pacientului, pot duce la scăderea riscurilor asociate acestor tipuri de intervenții.

Cuvinte cheie: reconstrucția crestei alveolare, maladii de sistem

Summary

Objectives. In this article we aimed to analyze the general diseases that can influence the results of the reconstruction of the alveolar ridge in preimplantation preparation.

Material and methods. The study included 45 articles: 5 of them were of systematic review type, 7 of meta-analysis type, 13 clinical trials, 11 randomized clinical trials and 9 of review type. These articles were selected from the PubMed and IBN platform.

Results. According to the selected keywords, the following information was obtained: the impact of the diseases on the results of the growth of the alveolar ridge was found in 93% of the studies, each presenting a rate between 10-15% of the influence. Of these, 16 publications reported about the influence of cardiovascular pathologies, 8 publications – about the impact of diabetes on alveolar ridge reconstruction, 8 articles – about the influence of osteoporosis and bisphosphonate treatment, 5 articles presented data about the influence of long-term administration of corticosteroids on ridge reconstruction and 8 articles – about other pathologies and general conditions.

Conclusions. The analysis of studies about the influence of general diseases in alveolar ridge bone reconstructions highlighted the multitude of variables and parameters that can have an impact on healing in alveolar ridge reconstruction operations. The in-depth study of the patient's field, the interdisciplinary communication, the management of the associated pathology, as well as the patient's compliance can lead to the decrease of the risks associated with these types of interventions.

Key words: alveolar bone crest reconstruction, systemic diseases

Introducere

Fiind procedee chirurgicale, în unele cazuri laborioase, cu teren nefavorabil, vindecarea postoperatorie în intervențiile de creștere osoasă este direct influențată de starea generală a organismului. Studiarea maladiilor asociate ale pacientului prezintă o verigă importantă în reabilitarea pacienților edentați cu atrofii severe ale maxilarelor.

În literatura disponibilă întâlnim multe studii despre influența maladiilor generale asupra rezultatului tratamen-

tului de reconstrucție osoasă, fapt menționat de către specialiștii în domeniu. Printre cele mai des întâlnite maladii și stări generale sunt următoarele [1, 2, 3, 4]:

1. Insuficiență cardiacă cronică – orice intervenție chirurgicală în cabinetul stomatologic poate provoca suprasolicitarea cordului, care poate duce la disfuncții (creșterea sarcinii de lucru a inimii și, ulterior, la edem pulmonar acut).

2. Angină pectorală – accese spontane de durere în piept,

ca rezultat a insuficienței circulatorii acute (de oxigen) a mușchiului cardiac.

3. Infarct miocardic – după 6 luni de la infarctul miocardic acut acordarea serviciilor stomatologice se realizează în conformitate cu recomandările în angina pectorală (boala coronariană) [5].

4. Aritmie cardiacă – dereglarea frecvenței, ritmului și a succesiunii de excitație și contracție a inimii.

5. Proteze valvulare cardiace – pacienții necesită utilizarea profilactică a antibioticelor până la intervenția chirurgicală, deoarece endocardita asociată cu valvă artificială este deosebit de sensibilă la infecțiile microbiene.

6. Pacemaker – stimulator cardiac ce se utilizează pentru controlul ritmului în dereglarea conductibilității cardiace. Cele mai multe tipuri moderne de stimulator cardiac sunt capabile să mențină un ritm relativ normal al inimii doar la necesitate.

7. Hipertensiune arterială – hipertensiunea esențială (hipertensiunea arterială) este 90-95% din cazurile de hipertensiune primară. În celelalte cazuri se stabilește diagnosticul de hipertensiune secundară, simptomatic arterială, de origine: renală 3-4%, endocrină 0,1-0,3%, hemodinamică, neurologică, stresul cauzat de aportul de anumite substanțe (iatrogene) și hipertensiunea în timpul sarcinii [6].

8. Medicația anticoagulantă – pentru a preveni apariția hemoragiilor postoperatorii, inclusiv postextractionale dentare, adeseori pacienților li se anulează administrarea acestor preparate. Acest procedeu îi expune la un risc major de complicații tromboembolice cu potențial semnificativ de morbiditate [7, 8].

9. Hemoragiile postextractionale dentare (HPD) se întâlnesc la 0,25-5% din pacienți, iar dintre toate complicațiile extracției dentare ele constituie 15,9%. HPD apar ca urmare a unor factori locali și/sau generali, care, fie se opun formării cheagului, fie favorizează liza prematură a acestuia [9]. La fel, acești factori pot fi cauza hemoragiilor ca urmare a reconstrucției osoase alveolare.

10. Maladiile de ficat. Este indiscutabil aportul ficatului în procesul de hemostază, deoarece anume hepatocitul este locul de sinteză a majorității factorilor de coagulare. Astfel, persoanele cu patologie hepatică avansată sunt expuse riscului major de apariție a complicațiilor hemoragice. Acestea, fiind uneori severe, pun în pericol viața pacientului, chiar și în urma intervențiilor chirurgicale minore [3].

11. Endocardita infecțioasă. La un pacient cu leziuni valvulare cicatriciale dobândite sau cu malformații congenitale există riscul ca bacteriemia să fie cauza unei endocardite infecțioase (EI). EI rămâne o formă severă de afectare valvulară asociată cu un pronostic prost și o mortalitate înaltă [10].

12. Diabetul zaharat. Este bine documentat în literatura de specialitate că prezența diabetului zaharat este asociată cu vindecarea osoasă deficitară și modificări patofiziologice în sistemul osos ca un tot întreg. S-a sugerat că un *turnover* redus poate fi atribuit scăderii densității minerale osoase la pacienții cu diabet tip I, care implică modificări relative a osteoblaștilor, osteoclastelor și a activității celulare [11]. De

asemenea, a fost demonstrat că diabetul are efecte negative în ceea ce privește formarea osoasă și osteointegrarea în ROG (GBR) [12].

13. Osteoporoza. Pacienții cu osteoporoză se prezintă cu un *turnover* osos ridicat, rezultând o densitate osoasă mai mică decât cea normală, o deteriorare a arhitecturii osoase (trabeculi subțiri și microfracturi) și modificări în cantitatea și varietatea de proteine osoase [13, 14, 15]. Osteoporoza primară este asociată cu vârsta înaintată și/sau cu nivelul de hormoni sexuali scăzuți, și este împărțită în osteoporoză primară de tip 1 (osteoporoză de postmenopauză) sau primară de tip 2 (osteoporoză senilă) [16, 17]. Osteoporoza secundară poate apărea la orice vârstă, ca rezultat al altor situații medicale care afectează *turnover*-ul osos, cum ar fi aportul scăzut de calciu sau anumite medicamente (de ex. corticosteroizi) [1]. Sîrbu și colab. sugerează că osteoporoza poate interfera cu procesele biologice a regenerării osoase și a osteointegrării implanturilor dentare, a vindecării fracturilor, a vindecării alveolelor postextractionale, a procedurilor de grefare osoasă și a procedurilor de augmentare [18, 19].

14. Medicația hormonală. O altă stare care poate interfera cu tratamentul chirurgical al defectelor osoase alveolare este starea după administrarea de corticosteroizi. Nivelul crescut al hormonului corticosteroid în ser a fost, la fel, asociat cu osteoporoza la bărbați și la animalele de laborator. A fost sugerat și faptul că administrarea de corticosteroizi poate dezvolta și crește rata osteoporozei la nivelul osului alveolar cu un număr redus de osteoblaste, și scăderea ratei de formare osoasă [20].

15. Radioterapia este un tratament eficient pentru malformațiile maligne în regiunea orală și maxilo-facială, atât ca modalitate primară, cât și ca modalitate adjuvantă după tratamentul chirurgical. Consecințele iradierii includ complicații acute în timpul și până la 3 luni după iradiere, precum și toxicitate întârziată, care au ca rezultat o deteriorare semnificativă a calității vieții pacienților [21]. Complicațiile acute includ xerostomia, mucozita, disfagia, dermatita și durerea, iar printre modificările tardive sau cronice au fost raportate osteoradionecroza maxilarelor, fibroza și xerostomia [22]. Osteoradionecroza (ORN) este definită ca expunerea osului iradiat care nu se vindecă pe o perioadă de 3 luni din cauza necrozei celulare și a afectării funcției celulare.

16. Boala de reflux gastro-esofagian (BRGE) este o altă condiție generală care trebuie luată în considerație în cazul intervențiilor dento-alveolare. Se caracterizează prin prezența leziunilor mucoasei esofagiene sau a simptomelor refluxului cauzate de un reflux anormal al conținutului gastric în esofag [23]. Manifestările extraesofagiene includ condiții laringiene (laringită de reflux, răgușeală, tuse cronică, ulcerarea corzilor vocale și granuloame), faringiene (mucozită), respiratorii (astm, bronșită, tuse cronică și pneumonie de aspirație), sinuzale (sinuzită), ureche medie (otită medie) și afecțiuni orale (eroziunea dinților, gust acru și mucozită) [24].

17. De asemenea, a fost observată o pierdere osoasă severă mai frecventă la pacienții cu **Lupus eritematos**. Boala parodontală și lupusul sistemic afectează răspunsul imun prin distrugerea țesuturilor parodontale în boala parodontală

și distrugerea țesuturilor conjunctive în lupusul sistemic [25]. Lupusul are ca rezultat, de asemenea, o inflamație locală crescută și o microfloră subgingivală disbiotă care este caracterizată prin proporții mai mari de parodontopatogeni, o reducere a diversității microbiene și încărcare bacteriană subgingivală mai mare [26], acestea crescând riscul de eșec al operațiilor de reconstrucție osoasă alveolară.

18. Infecția HIV este un alt factor general care poate influența reabilitarea orală. Campo și colab. au arătat că la pacienții cu infecția HIV rata complicațiilor a fost de 2,2% în ansamblu și 4,8% după procedurile dentare invazive. Prezența leziunilor orale, fumatul sau stadiul clinic B în HIV pot fi factori predictivi pentru complicațiile orale [27].

19. Printre diferiți factori sistemici, condițiile genetice care modifică vindecarea plăgilor și sinteza colagenului ar trebui, de asemenea, evaluate. Aceste condiții există în multiple sindroame, unul dintre care este **Sindromul Ehlers-Danlos**, o condiție caracterizată prin migrarea defectă a fibroblastelor care rezultă în vindecarea patologică a rănilor [28].

20. Un factor sistemic de luat în considerare este **statutul de fumător** al pacientului. Fumatul este considerat un obicei vicios care a fost relatat în legătură cu comunitățile microbiene subgingivale disbiotice care cresc riscul de apariție a bolii parodontale. Utilizatorii de tutun prezintă un risc crescut de două până la opt ori pentru pierderea ligamentului parodontal și pierderi osoase [25]. Pacienții fumători nu sunt candidați buni pentru chirurgia RTG, chiar dacă terapia antimicrobiană sau renunțarea la fumat este inițiată în apropierea momentului intervenției chirurgicale, deoarece efectele fumatului sunt dăunătoare până la 12 luni post-chirurgical, așa cum a fost demonstrat în studiile discutate mai sus.

21. În mod similar, **stresul** și obiceiurile vicioase au fost asociate cu riscul crescut de apariție a bolii parodontale severe. Astfel, o analiză atentă a stării fizice și emoționale generale ale pacientului este importantă ca parte a selecției corespunzătoare a cazului de reconstrucție osoasă.

22. Chirurgii dento-alveolari ar trebui să fie conștienți de efectele modificărilor fiziologice și potențial patologice ale **procesului de îmbătrânire a organismului** (senilitate) asupra implanturilor dentare la pacienți, în special efectele precum resorbția crestei alveolare, xerostomia, în urma unor afecțiuni cum ar fi: osteoporoza, diabetul zaharat și boala cardio-vasculară. Aceste condiții pot determina succesul procedurilor chirurgicale reconstructive menționate anterior. Deși Grag și colab. au raportat că vârsta înaintată nu a fost un factor causal în eșecul tratamentului implantologic [29], apariția altor condiții medicale, inclusiv xerostomia și osteoporoza, la pacienții vârstnici, pot determina întârzierea vindecării.

Scopul acestui studiu a fost de a analiza maladiile generale care pot influența rezultatele reconstrucției crestei alveolare în pregătirea preimplantară.

Material și metode

Studiul analitic s-a desfășurat în perioada 2019-2020. În studiu au fost incluse 45 de articole. 5 dintre ele au fost de tip

review sistematic, 7 de tip meta-analiză, 13 studii clinice, 11 studii clinice randomizate, 9 de tip review. Aceste articole au fost selectate de pe platforma PubMed și IBN (instrument bibliografic național), cu utilizarea cuvintelor-cheie: *disease, general disease, alveolar bone crest reconstruction, maladii generale, patologii asociate, reconstrucție de creastă alveolară*. Perioada de căutare a reprezentat 10 ani, între 2010-2020. Datele obținute după analiza articolelor au fost introduse și prelucrate într-un tabel Microsoft Excel.

Rezultate și discuții

Conform cuvintelor cheie precăutate, am obținut următoarele informații: impactul maladiilor asupra rezultatelor creșterii crestei alveolare a fost întâlnită în 93% din studii, fiecare prezentând o rată între 10-15% a influenței. Dintre acestea, 16 publicații (35%) au relatat despre influența patologiilor cardio-vasculare, 8 publicații (18%) – despre impactul diabetului zaharat asupra reconstrucției de creastă alveolară, 8 articole (18%) despre influența osteoporozei și a tratamentului cu bisfosfonați, 5 articole (11%) au prezentat date despre influența administrării pe termen lung a corticosteroizilor asupra reconstrucției de creastă și 8 articole (18%) despre alte patologii și stări generale.

Melnic și colab. relatează că maladiile cardio-vasculare sunt cele mai întâlnite maladii la pacienții ce necesită intervenții de chirurgie orală, fapt ce ne demonstrează și numărul cel mai mare de articole (16 articole) găsite pe platforma PubMed în urma căutării. Pacienților cu tensiune arterială de circa 140-160/90-95 mmHg li se pot efectua intervenții stomatologice, în timp ce pacienții cu tensiune arterială cuprinsă între 160-190/95-110 mmHg este obligator să primească premedicație cu o jumătate de oră sau o oră înainte de intervenție. Dacă tensiunea arterială rămâne ridicată chiar și după premedicație (ex. mai mult de 180/110 mm Hg) intervenția este amânată și pacientul este îndreptat la medicul de familie pentru continuarea tratamentului. Pacienților cu tensiune arterială mai mare de 190/110 mmHg nu li se permite tratamentul stomatologic, cu atât mai mult intervenții chirurgicale orale [1, 2, 3, 4].

Patologia cardiacă și riscul crescut de endocardită trebuie luate în considerare la pacientul chirurgical oral. Schemele moderne de antibioticoprofilaxie urmăresc administrarea unui singur antibiotic bactericid cu spectru larg, administrat cu 30-60 minute înainte de intervenție [30]. Sub medicația respectivă se pot efectua intervenții de reconstrucție de creastă alveolară, fapt relatat din multitudinea studiilor asupra acestei patologii [4, 30, 31, 32, 33].

Patologia hepatică este o altă stare a organismului care trebuie evaluată înaintea intervențiilor dento-alveolare, în special reconstrucțiile osoase de creastă alveolară. Pacienții cu afecțiuni hepatice cronice sunt expuși riscului major de apariție a hemoragiilor postchirurgicale orale. Intervențiile cu risc înalt hemoragic, la acești pacienți, necesită o analiză riguroasă a sistemului hemostatic al organismului, pentru a preveni accidentele hemoragice și consecințele acestora [32].

Dereglaarea metabolismului glucidic influențează vindecarea țesuturilor. Diabetul zaharat necontrolat a fost legat cu variabilitatea mai mare a rezultatelor și creșterea ratei

complicațiilor infecțioase în cazul reconstrucțiilor osoase de creastă alveolară; controlul metabolic insulinic-mediat poate inversa aceste efecte adverse [34]. Tratamentul defectelor osoase de creastă alveolară cu unele materiale specifice (meșă de titan cu suprafața osteoconducitivă) poate avea ca rezultat o cantitate semnificativă de formare osoasă *de novo* chiar și în condițiile diabetului necontrolat [35].

Mineralizarea, de asemenea, este scăzută în țesutul osos cu un număr mare al turnover-ului, deoarece nu există timp suficient pentru maturizarea completă a matricei osoase, acești factori contribuie la vindecarea osoasă problematică la pacienții cu osteoporoză [1]. Managementul pacienților cu osteoporoză supuși augmentării țesutului osos alveolar ar trebui să includă evaluarea atentă a nutriției și obiceiurilor, cum ar fi consumul de tutun. Dozele fiziologice de vitamina D (400-800 UI/zi) și calciu (1500 mg/zi) sunt recomandate în perioadele postoperatorii [36]. Fumatul este un factor causal în osteoporoză și este, de asemenea, asociat cu o creștere a ratei de eșec al tratamentului implantologic [1]. O combinație de osteoporoză și tutun va contribui la o rată ridicată de complicații, astfel, încetarea fumatului este imperativă pentru rezultatul de succes la pacienții cu osteoporoză.

Bisfosfonații sunt analogul sintetic al pirofosfatului anorganic. Cele mai frecvente forme orale utilizate în tratamentul osteoporozei sunt: alendronat, risedronat și ibandronat. S-a demonstrat că acestea reduc activitatea osteoclastică și, prin urmare, resorbția osoasă [1]. Bisfosfonații au fost recent asociați cu osteonecroza mandibulei și a maxilei. Cele mai multe cazuri de necroză sunt, totuși, asociate cu administrarea intravenoasă de doze mari de pamidronat și zoledronat, care sunt frecvent utilizate în mielomul multiplu și cancerul de sân pentru tratamentul metastazelor osoase. Este posibil ca tratamentul cu administrarea orală a bisfosfonaților să poată fi asociat cu riscul de osteonecroză [37].

Administrarea îndelungată a corticosteroizilor în cadrul unor patologii sistemice are efecte negative asupra organismului, respectiv, asupra parodontiului marginal și a reconstrucției osoase de creastă alveolară. Una dintre influențele terapiei cu corticosteroizi este asupra sistemului osos, aceasta inducând osteoporoza [38].

Starea postradioterapie este o situație a organismului când osteoblastele și osteoclastele scad cantitativ, iar diferențierea terminală a osteoblastelor este accelerată. Datele publicate au arătat că celulele stem mezenchimale din măduva osoasă sunt reduse cantitativ [39]. Scleroza vasculară și fibroza sunt trăsături caracteristice ale leziunilor prin radiații. Vindecarea spontană osoasă este foarte compromisă și redusă în zonele iradiate și fiziologia regenerării osoase este modificată [40]. Unul dintre cele mai importante efecte secundare care amenință viața este osteoradionecroza.

Patologia gastrică are și ea implicații în starea cavității bucale și dento-parodontale, respectiv și în reabilitarea după intervențiile chirurgicale orale. BRGE (boala de reflux gastro-esofagian) este un factor predispozant pentru parodontita cronică marginală, deci, prin urmare, poate influența rezultatul intervențiilor reconstructive dento-alveolare. Cea mai rezonabilă explicație ar fi funcția salivară redusă.

Saliva mixtă acoperă toate suprafețele anatomice interne relevante cu secreții bogate în mucină, care asigură o barieră de protecție difuză împotriva leziunilor mecanice, termice, chimice și microbiene. Saliva acționează ca un agent endogen antacid protejând împotriva refluxului gastro-esofagian simptomatic. Prin urmare, scăderea secreției salivare duce la o neutralizare acidică insuficientă [13, 41]. Hiposalivația, la pacienții cu BRGE, a fost demonstrată în mai multe lucrări și câteva studii au descoperit o asociere între fluxul salivar redus și boala parodontală, în rândul vârstnicilor [42].

Candidații pentru reconstrucția osoasă alveolară pot fi și pacienții HIV-pozitivi. Acești pacienți compromiși imunologic pot fi incapabili de un răspuns imun susținut, controlat și eficient la traumatisme exogene, ceea ce implică un risc ridicat de dezvoltare a complicațiilor postoperatorii. Astfel, pacienții HIV-pozitivi prezintă un procent mai mare de infecții postoperatorii după o intervenție chirurgicală pentru reabilitarea traumelor maxilo-faciale (11,8% față de 4,4% HIV-negativi) [6]. A fost emisă ipoteza unui risc mai mare pentru pacienții infectați cu HIV după intervenția chirurgicală orală [27]. Nu au fost găsite relații între complicații și valorile încărcării virale sau imunologice de laborator.

O categorie aparte de pacienți ce necesită reconstrucție de creastă alveolară sunt pacienții fumători, care, deși pot să nu prezinte patologii generale care ar putea influența rezultatul reconstrucției, prezintă risc asociat consecințelor fumatului asupra țesuturilor și structurilor cavității bucale. Fumatul a fost asociat cu creșterea acumulării de placă bacteriană, incidența crescută a gingivitelor și parodontitelor, rata mai mare de pierdere a dinților și resorbțiilor crescute a osului alveolar [43]. Fumatul a fost, de asemenea, asociat cu vindecarea mucogingivală precară după intervențiile chirurgicale, datorită apariției mult mai frecvente a parodontitei refractare. Mai multe studii au demonstrat că fumatul a fost un factor de risc pentru pierderea osoasă marginală sau eșecul implantologic [44, 45].

Maladiile acute sau de sistem, care pot influența rezultatul reconstrucției crestei alveolare, sunt diverse și necesită o atenție deosebită la etapa de stabilire a diagnosticului și a planului de tratament. Ele pot avea un impact major în reușita reconstrucției osoase ghidate, cât și în alte metode de creștere osoasă, atât pe termen scurt, cât și pe termen lung. Complicațiile intraoperatorii, postoperatorii timpurii și tardive pot fi prevenite cunoscând și controlând terenul general al pacientului. Chestionarea și documentarea pacienților poate oferi date indispensabile despre statutul general și evoluția acestuia.

Concluzii

Analiza studiilor asupra influenței maladiilor generale, în cadrul reconstrucțiilor osoase de creastă alveolară, a evidențiat multitudinea variabilelor și parametrilor ce pot avea impact asupra vindecării în operațiile de reconstrucție a crestei alveolare. Studiul aprofundat al terenului pacientului, comunicarea interdisciplinară, managementul patologiei asociate, cât și complianța pacientului pot duce la scăderea riscurilor asociate acestor tipuri de intervenții.

Bibliografie

1. Erdogan O, Shafer DM, Taxel P, Freilich MA. A review of the association between osteoporosis and alveolar ridge augmentation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104(6):738.e1-13. doi:10.1016/j.tripleo.2007.04.008
2. Melnic I, Melnic S, Dacin N, Cheptanaru O, Cocieru G. Tactica medicului stomatolog, măsuri de profilaxie la pacienții cu maladii ale sistemului cardio-vascular în condiții de ambulator. *Medicina Stomatologică.* 2015;1(34):57-61. (In Romanian)
3. Sîrbu D, Topalo V, Chele N. et al. Regenerarea osoasă în reabilitarea implanto-protetică a pacienților cu defecte ale oaselor maxilare. *Medicina Stomatologică.* 2016;1(38):33-42. (In Romanian)
4. Zănoagă O, Frăsineanu D, Zgîrcea A, Mostovei A, Hachi G. Antibioticoprofilaxia în stomatologie la pacienții cu risc sporit de endocardită infecțioasă. *Medicina Stomatologică.* 2018;1(46):45-49. (In Romanian)
5. Chele N. Implantarea dentară imediată: riscuri și beneficii. Chișinău, 2017.
6. Martínez-Gimeno C, Acero-Sanz J, Martín-Sastre R, Navarro-Vila C. Maxillofacial trauma: influence of HIV infection. *J Craniomaxillofac Surg.* 1992;20(7):297-302. doi:10.1016/s1010-5182(05)80399-3
7. Patel JP, Woolcombe SA, Patel RK, et al. Managing direct oral anticoagulants in patients undergoing dentoalveolar surgery. *Br Dent J.* 2017;222(4):245-249. doi:10.1038/sj.bdj.2017.165
8. Sîrbu D, Topalo V, Voloc A, Corcimari E, Voloc C. Studiul radiologic al osteoporozei la pacienții de sex feminin cu reabilitare implanto-protetică la mandibulă. *Moldovan Journal of Health Sciences,* 2018;1(15):44-55. (In Romanian)
9. Sîrbu D, Topalo V, Voloc A, Voloc C, Corcimari E, Sobetchi A. Influența presupusei osteopenii/ osteoporoze asupra resorbției periimplantare la bărbați și femei, în baza evaluării radiologice a microarhitecturii osoase. *Med Stomatologică.* 2018;2(47):68-79. (In Romanian)
10. Sîrbu D, Topalo V, Mostovei A. et al. Crearea ofertei osoase la pacienții cu atrofii severe ale mandibulei pentru reabilitarea implanto-protetică. *Medicina Stomatologică.* 2013;3(28):47-53. (In Romanian)
11. Lusk KA, Snoga JL, Benitez RM, Sarbacker GB. Management of Direct-Acting Oral Anticoagulants Surrounding Dental Procedures With Low-to-Moderate Risk of Bleeding. *J Pharm Pract.* 2018;31(2):202-207. doi:10.1177/0897190017707126
12. Pototski M, Amenábar JM. Dental management of patients receiving anticoagulation or antiplatelet treatment. *J Oral Sci.* 2007;49(4):253-258. doi:10.2334/josnusd.49.253
13. Song JY, Kim HH, Cho EJ, Kim TY. The relationship between gastroesophageal reflux disease and chronic periodontitis. *Gut Liver.* 2014;8(1):35-40. doi:10.5009/gnl.2014.8.1.35
14. Retzepi M, Lewis MP, Donos N. Effect of diabetes and metabolic control on de novo bone formation following guided bone regeneration. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(1):71-79. doi:10.1111/j.1600-0501.2009.01805.x
15. White SC, Rudolph DJ. Alterations of the trabecular pattern of the jaws in patients with osteoporosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;88(5):628-635. doi:10.1016/s1079-2104(99)70097-1
16. Stepan JJ, Alenfeld F, Boivin G, Feyen JH, Lakatos P. Mechanisms of action of antiresorptive therapies of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Regul.* 2003;37(4):225-238.
17. Wade JP. Rheumatology: 15. Osteoporosis. *CMAJ.* 2001;165(1):45-50.
18. Radzichevici M. Osteomielite toxică a maxilarelor, particularitățile clinice și paraclinice, metode de tratament. *Medicina Stomatologică.* 2019;4(53):110-114. (In Romanian)
19. Radzichevici M, Șcerbatiuc D, Rusu N. Osteomielite toxică a oaselor maxilare și particularitățile tratamentului chirurgical și medical. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale.* 2007;1(10):169-173. (In Romanian)
20. Radzichevici M. Osteomielite toxică a maxilarelor și metodele de tratament conservativ. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale.* 2008;1(15):115-119. (In Romanian)
21. Würzler KK, DeWeese TL, Sebald W, Reddi AH. Radiation-induced impairment of bone healing can be overcome by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Craniofac Surg.* 1998;9(2):131-137. doi:10.1097/00001665-199803000-00009
22. Dietrich JW, Canalis EM, Maina DM, Raisz LG. Effects of glucocorticoids on fetal rat bone collagen synthesis in vitro. *Endocrinology.* 1979;104(3):715-721. doi:10.1210/endo-104-3-715
23. Adachi K, Mishiro T, Tanaka S, Yoshikawa H, Kinoshita Y. A Study on the Relationship between Reflux Esophagitis and Periodontitis. *Intern Med.* 2016;55(18):2523-2528. doi:10.2169/internalmedicine.55.6898
24. Jegoux F, Malard O, Goyenville E, Aguado E, Daculsi G. Radiation effects on bone healing and reconstruction: interpretation of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(2):173-184. doi:10.1016/j.tripleo.2009.10.001
25. Chatzopoulos GS, Cisneros A, Sanchez M, Wolff LF. Systemic medical conditions and periodontal status in older individuals. *Spec Care Dentist.* 2018;38(6):373-381. doi:10.1111/scd.12319
26. Corrêa JD, Calderaro DC, Ferreira GA, et al. Subgingival microbiota dysbiosis in systemic lupus erythematosus: association with periodontal status. *Microbiome.* 2017;5(1):34. Published 2017 Mar 20. doi:10.1186/s40168-017-0252-z
27. Campo J, Cano J, del Romero J, Hernando V, Rodríguez C, Bascones A. Oral complication risks after invasive and non-invasive dental procedures in HIV-positive patients. *Oral Dis.* 2007;13(1):110-116. doi:10.1111/j.1601-0825.2006.01262.x
28. Bashutski J, Oh TJ, Chan HL, Wang HL. Guided tissue regeneration: a decision-making model. *J Int Acad Periodontol.* 2011;13(2):48-57.
29. Güngör T, Hedlund T, Hulth A, Johnell O. The effect of irradiation on osteoclasts with or without transplantation of hematopoietic cells. *Acta Orthop Scand.* 1982;53(3):333-337. doi:10.3109/17453678208992225
30. Zănoagă O, Topalo V, Sîrbu D, Mostovei A. Managementul extracțiilor dentare la pacienții aflați sub medicație anticoagulantă orală. *Buletinul Academiei de*

- Științe a Moldovei. Științe Medicale. 2012;1(33):478-482. (In Romanian)
31. Zănoagă O. Anticoagulantele orale noi în practica medicului stomatolog. *Medicina Stomatologică*. 2019;4(53):46-52. (In Romanian)
 32. Zănoagă O. Particularitățile extracției dentare la pacienții cu afecțiuni hepatice cronice. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2009;2(21):128-131. (In Romanian)
 33. Zănoagă O, Topalo V, Sirbu D, Mostovei A. Factorii locali versus generali implicați în apariția hemoragiilor postextracționale dentare. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2012;2(34):89-93. (In Romanian)
 34. Donos N, Dereka X, Mardas N. Experimental models for guided bone regeneration in healthy and medically compromised conditions. *Periodontol* 2000. 2015;68(1):99-121. doi:10.1111/prd.12077
 35. Lee SB, Retzepe M, Petrie A, Hakimi AR, Schwarz F, Donos N. The effect of diabetes on bone formation following application of the GBR principle with the use of titanium domes. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(1):28-35. doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02448.x
 36. Cooper LF, Masuda T, Yliheikkilä PK, Felton DA. Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. Part II. In vitro studies. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998;13(2):163-174.
 37. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate – induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63(11):1567-1575. doi:10.1016/j.joms.2005.07.010
 38. McCabe LR. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. *J Cell Biochem*. 2007;102(6):1343-1357. doi:10.1002/jcb.21573
 39. Jereczek-Fossa BA, Orecchia R. Radiotherapy – induced mandibular bone complications. *Cancer Treat Rev*. 2002;28(1):65-74. doi:10.1053/ctrv.2002.0254
 40. Lerouxel E, Moreau A, Bouler JM, et al. Effects of high doses of ionising radiation on bone in rats: a new model for evaluation of bone engineering. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2009;47(8):602-607.
 41. Zellin G, Håkanson R, Linde A. Gastrectomy has no effect on bone regeneration in rats despite a decrease in bone mass. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37(10):1149-1155. doi:10.1080/003655202760373353
 42. Hiroto T, Yoshihara A, Ogawa H, Ito K, Igarashi A, Miyazaki H. Salivary spinability and periodontal disease progression in an elderly population. *Arch Oral Biol*. 2008;53(11):1071-1076. doi:10.1016/j.archoralbio.2008.05.009
 43. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in infrabony defects. A preliminary retrospective study. *J Clin Periodontol*. 1995;22(3):229-234. doi:10.1111/j.1600-051x.1995.tb00139.x
 44. Noda K, Arakawa H, Kimura-Ono A, et al. A longitudinal retrospective study of the analysis of the risk factors of implant failure by the application of generalized estimating equations. *J Prosthodont Res*. 2015;59(3):178-184. doi:10.1016/j.jpor.2015.04.003
 45. Nosaci A, Sirbu D, Chele N, Ghețiu A, Jurjiu V. Reconstrucția verticală a crestei alveolare cu grefă de interpoziție. *Caz clinic. Medicina Stomatologică*. 2019;4(53):25-31. (In Romanian)

Recepționat – 28.09.2021, acceptat pentru publicare – 30.10.2021

Autor corespondent: Alexandru Ghețiu, e-mail: alexandrughetiu@gmail.com

Declarația de conflict de interese: Autorul declară lipsa conflictului de interese.

Declarația de finanțare: Autorul declară lipsa de finanțare.

Citare: Ghețiu A. Influența maladiilor generale asupra rezultatelor reconstrucției crestei alveolare. Review literar [The influence of general diseases on the results of alveolar crest reconstruction. Literary review]. *Arta Medica*. 2021;79(2):20-25.



DOI: 10.5281/zenodo.5637039

UDC: 616.832-009.11-036.82:615.84

EPIDURAL STIMULATION GIVES PARALYZED PATIENTS HOPES FOR A BETTER LIFE

Elda Latollari¹ PT, MSc, Fabion Braimllari²

¹ Physical Therapist, Lecturer, Fan Noli University, Korce, Albania;

² Bachelor of Education and Sports, Fan Noli University, Korce, Albania.

Summary

Introduction. Spinal cord injury is a damage to spinal cord caused by trauma or diseases. Nerve damages cause loss of function, such as mobility and/or feeling. Rehabilitation consists of exercises, therapeutic methods, and modalities, but none of them returns lost functions.

Method. This study is a meta-analysis, literature review of 10 randomized control trails of the last 20 years. All studies have a major focus on the use of electrical stimulation in patients with spinal cord injury. The methodology of studies varies in randomized trails, including 174 patients. Data are extracted from 4 medical data bases. The evaluation is realized with the PED-ro scale. On the other hand we took in consideration 17 case reports diagnosed with spinal cord injury (level C5-C6-C7 and T5-T6 and T7) who received implantation of epidural stimulation device. Device Mapping and therapy were carried out after surgery for 35 days, then patients were discharged.

Results. The literature used in this study claimed that electrical stimulation is effective in improving of muscular function, spasticity, and independence in daily living activities. According to PED-ro 3 studies (30%) have 3 points 2 studies, respectively 20%, have medium level 4-6 points and 5 studies (50%) have high level with 7-10 points. On the other hand, 17 people in clinical trial, treated with epidural stimulation, achieved big improvements in balance, coordination, and muscle mass, while bladder and bowel control are not improved.

Conclusion. We conclude that epidural stimulation is the best solution for spinal cord injuries.

Keywords: rehabilitation, spinal cord, epidural stimulation, balance, coordination

What is spinal cord injury?

The spinal cord is a bundle of nerves and other tissue that the vertebrae of the spine contain and protects. A spinal cord injury is damage to the spinal cord. After spinal cord injury (SCI), there is a rapid and dramatic loss of muscle mass in the lower limbs, which may predispose individuals with SCI to impaired glucose control, pressure sores and an increased risk of fracture. Loss of sensorimotor function after SCI induces musculoskeletal and metabolic adaptations, which are associated with a higher risk of cardiovascular disease compared with the general population.

The prediction of neurological recovery after spinal cord injury (SCI) has been based on physical examination of the acute patient, the degree of spared volitional control, such as walking ability. Rehabilitation programs after SCI have, traditionally, focused on achieving optimal independence expected for a specific injury level, given the identified activity limitations and participation restrictions, and may rely on compensatory strategies. While this approach may result in improvements in independent function, it does not promote recovery of motor control in the paralyzed limbs.

Regular physical activity can improve fitness and psychosocial well-being in the SCI population. The concept of activity-based therapies arose from research in animals and humans, showing that recovery of function could be enhanced through activity-dependent plasticity driven by neuromuscular activation below the level of injury.

These therapies include locomotor training and functional electrical stimulation (FES)-assisted exercise.

A device, a surgery and a world of unimaginable possibilities for people with Spinal Cord Injuries. That is Epidural Stimulation, the most advanced treatment for empowering patients who have lost voluntary control of their limbs and must endure many other demoralizing spine-injury symptoms. It is a new beginning, approved by the FDA (Food and Drug Administration) for trials. After surgery comes 35 days of extensive rehabilitation with our spine specialists, and that's when your quality of life will really start to improve. Standing and stepping, enhanced motor skills, more muscle mass and stamina, less fatigue and pain, and better control over bladder and bowel.

Material and methods

This study is a meta-analysis, literature review of 10 randomized control trails of the last 7 years. All studies have a major focus on the use of electrical stimulation in patients with spinal cord injury. The methodology of studies varies in randomized trails, including 174 patients. Data are extracted from 4 medical databases. The evaluation is realized with the PED-ro scale. On the other hand, we took in consideration 17 case reports diagnosed with spinal cord injury (level C5-C6-C7 and T5-T6 and T7) who received implantation epidural stimulation device to compare with electrical stimulation.

Intervention therapy

All people included in this review were diagnosed with spinal cord injury. 174 patients underwent a program training, such as locomotor training, functional electrical stimulation-assisted leg cycling, and trunk and lower extremity exercises. Patients were divided in two groups.

After a Spinal Magnetic Resonance Imaging (MRI) scan, electromyography (EMG), and comprehensive blood work, patients underwent Laminectomy and implantation of the Epidural stimulation device. The surgeries were completed without issue and no serious complications were reported during the postoperative hospital stay. Surgical wounds healed normally, and no spinal cord or superficial wound infection was reported. Device Mapping and therapy were carried out after surgery for 35 days, then patients were discharged.

Searching strategy

Data are extracted from 4 medical databases, like TRIP, MEDLINE, Pubmed, Cochrane library. The evaluation is realized with the PED-ro scale which shows the validity of each study.

Table 3

Quality of studies according to PED-ro Scale (Physiotherapy Evidence Database)

PED-ro Scale													
Nr	Study	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	All
1	Baldi JC, et al. Muscle atrophy is prevented in patients with acute spinal cord injury using functional electrical stimulation.	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	3
2	Ping Ho, et al. Immediate effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on spasticity in patients with spinal cord injury.	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	4
3	Harvey LA, et al. Electrical stimulation plus progressive resistance training for leg strength in spinal cord injury: a randomized controlled trial.	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	5
4	Giangregorio L, et al. A randomized trial of functional electrical stimulation for walking in incomplete spinal cord injury: effects on body composition.	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	6
5	Gorgey AS, et al. Neuromuscular electrical stimulation attenuates thigh skeletal muscles atrophy but not trunk muscles after spinal cord injury.	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	7
6	Herrity AN, et al. Lumbosacral spinal cord epidural stimulation improves voiding function after human spinal cord injury.	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	3
7	Sivaramakrishnan et al. Comparison of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) and functional electrical stimulation (FES) for spasticity in spinal cord injury - A pilot randomized cross-over trial.	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	5
8	Galea MP, et al. SCIPA Full-On: A Randomized Controlled Trial Comparing Intensive Whole-Body Exercise and Upper Body Exercise After Spinal Cord Injury.	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	5
9	North RB, et al. Redefining Spinal Cord Stimulation "Trials": A Randomized Controlled Trial Using Single-Stage Wireless Permanent Implantable Devices.	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	6
10	Bergmann M, et al. The Effect of Functional Electrical Stimulation and Therapeutic Exercises on Trunk Muscle Tone and Dynamic Sitting Balance in Persons with Chronic Spinal Cord Injury: A Crossover Trial.	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	4

Table 1

The specified criteria used for the review

Included criteria	Excluded criteria
RCT (Randomized Controlled Trails) studies	Non free studies
Studies of the last 7 years	Review studies
English studies	Studies that are made before 2005
Free studies	Studies with no good results

In these table we showed 10 studies that we are analyzing in this review. Eight studies valued effects of electrostimulation combined with exercises and two studies valued effects of exercises.

Table 2

The frequency of therapy used in studies of the review

Therapy	Nr of studies	Frequency
Electrostimulation	8	80%
Exercises	2	20%

Table 4*Results after implantation of Epidural Stimulation Device in the human body*

Level of Injury	No of patients	Therapy	Improvements	Not improvements
C5-C6	8	Laminectomy, Syringostomy and implantation of the Epidural Stimulation. Device Mapping and therapy were carried out after surgery for 35 days, then patient was discharged.	Standing with support Stepping with support Gross motor skill Balance Coordination Muscle mass Stamina Bowel control	Spasm Spasticity Bladder function Sweating ability
T6-T7	9		Standing with support Stepping with support Gross motor skill Balance Coordination Muscle mass Stamina Bowel control	Spasm Spasticity Bladder function Sweating ability

Results

According to literature review 10 studies showed that electro stimulation combined with exercise is an effective way to treat muscular atrophy. The muscles also gained the right tone. The patients can stand independently in sitting balance because trunk muscles are stronger.

In lower limbs we saw improvements in full-range passive ankle dorsiflexion and ankle clonus, but we do not see any other improvement in standing and balance.

While on the other hand, after implantation of Epidural stimulation device, we saw very big improvements. Patients can stand with support at a parallel bar when the Epidural Stimulation device is switched on.

Patients can lock his hips, which allows him to stand. While standing, patient has good upper trunk control, but limited lower trunk control. They apply more weight to his right leg than left leg. Patients can take steps with a walking frame, no hoist required, and is able to lift both feet when taking steps. They have very good coordination between left and right foot when taking steps. Patients do not require assistance with foot placement when taking short steps, but do when taking longer steps.

Patient's Gross Motor Skills have improved significantly, particularly ankle, hip, and knee flexion, and knee extension (kicking out) when Epidural Stimulation device is switched on. Patients have good static sitting balance, and no support is needed. However, during dynamic sitting, balance is poor due to weak lower trunk muscles. Static standing balance is good at the parallel bar.

Spasms and spasticity are reduced when Epidural Stimulation device is switched on. Muscle mass and endurance were improved upon discharge. There was no noticeable improvement to his neurogenic bladder and bowel.

Discussion

Patients with spinal cord injury usually encounter

spasticity in their lower limbs. Although some patients utilize this spasticity to maintain muscle tone and some use it to assist them in transfer and ambulatory activities, it can also cause pain and dysfunction. Therefore, clinical decisions for spasticity treatment in patients with spinal cord injury should be made with caution. Spasticity should only be treated if the patient may have a significant improvement in function and/or quality of life after the treatment. The subjects recruited in the current study had developed different degrees of spasticity in their plantar flexors. This could make stretching of the calf muscles difficult and result in muscle tightness which in turn dampens the progress of functional training such as gait re-education.

Theoretically, the action of electrostimulation in reducing spasticity over the lower limbs post spinal cord injury could be mediated by two mechanisms: modulation of spinal inhibitory circuits and stimulation of the plasticity of the central nervous system. Pain and spasticity are interrelated in patients with spinal cord injury. It is possible that spasticity of patients with spinal cord injury could be reduced after pain treatments. However, it could be difficult to quantify pain in patients with spinal cord injury, as some of the patients may have complete loss of sensation below their waist.

Electrostimulation device is doing a very big revolution in treating patients with spinal cord injury. After implantation, patients follow a program with exercises which gives positive results in standing and coordination, which give independency to patients. This way, they feel useful for themselves. It is important to note that these multiple autonomic changes developed even though the stimulation parameters were aimed at influencing the motor system and the execution of specific motor tasks. The most important thing for a patient with spinal cord injury is controlling the bowel, but with this device and exercise we see improvements in controlling the bowel. We have previously shown that locomotor training alone was sufficient to induce significant improvements in multiple bladder parameters, such as

increased capacity, voiding efficiency, detrusor contraction duration, as well as decreased detrusor leak point pressure.

Animal models have shown that localization of epidural electrodes relative to the level of the dorsal roots plays a critical role in determining the intensity of stimulation required to activate select spinal circuit, and this dependency can vary at a submillimeter resolution. Monitoring intraoperative electrophysiological responses in real time allowed for precise placement of the epidural electrode array. By applying stimuli at multiple different regions of the spinal cord using specific electrode configurations, selective activation of spinal sensorimotor networks was achieved and interpreted from EES-evoked motor response recordings.

Darrow et al, 2019: Recovery of any volitional movement allows patients with complete SCI to participate in active rehabilitation exercises such as aided treadmill stepping, which have been shown to have positive long-term effects on walking capabilities. Insurance coverage for rehabilitation may be a result of prognostic factors for recovery. Injury severity is the greatest predictor of recovery, with motor complete injury having the least chance of recovery. The precise contribution of eSCS (Embryonic Stem Cells) to the restoration of volitional movement had been unknown because previous reports applied both pre-habilitation and eSCS in all participants. Although rehabilitation may play a significant role in recovery, especially in chronic SCI, these data raise questions about the relative importance and timing of intensive rehabilitation and eSCS. While physical therapy is clearly an important component of rehabilitation after SCI, the monetary costs and time investments required could preclude optimal efficacy. Our preliminary results indicate that eSCS, even in participants with long-standing injury, can immediately expand the capacity for volitional movement in participants with SCI. As such, eSCS may facilitate more significant rehabilitative therapy.

A recent similar study, utilizing stand and step training in individuals with SCI, documented one adverse event of a hip fracture in one of four participants, which was known to the investigators of this study before implementing that portion

of the planned protocol. Multiple previous studies show an association between SCI and accelerated osteoporosis, which added to the context of the decision to forgo standing assessments. In a fashion similar to our remote data collection app, we hope a home rehabilitation program focused on improving bone density and atrophy during eSCS may result in candidacy for more advanced forms of therapy such as locomotor training in a safe and cost-effective manner.

Conclusion

This approach may eventually permit the complex sensorimotor integration in order to generate the most successful and functionally efficient locomotor output. However, as time-dependent changes occur in the circuitry with progression of stimulation and motor therapy, the initial segmental specificity and configurations might alter as well. Continuous improvements in electrophysiological techniques, further development of high-density electrodes, and understanding the mechanisms of spinal cord plasticity in preclinical studies will lead to the most effective therapies for regaining meaningful sensorimotor function after an SCI in humans. Along the same lines, inquiries stemming from clinical trials will need to be addressed experimentally using more clinically relevant injury models, such as incomplete SCIs that are more specific to the human.

Epidural stimulation device gives a simultaneous progress in basic research on spinal reflex circuits, organization of inputs to spinal intraneuronal populations, flexibility of operation of intraneuronal circuits and final common intraneuronal pathways, and on central pattern generators for locomotion. The possibility of activating spinal networks involved in generating functional synergistic movements, opens a new avenue with great potential for human neurophysiological studies of intrinsic spinal cord functional properties, and may contribute to the development of new methodologies, technologies, and clinical practice for restoration of movements in SCI people. Epidural stimulation gives hope for a normal life for patients with spinal cord injury.

Bibliography

1. Baldi JC, Jackson RD, Moraille R, Mysiw WJ. Muscle atrophy is prevented in patients with acute spinal cord injury using functional electrical stimulation. *Spinal Cord*. 1998;36(7):463-469. doi:10.1038/sj.sc.3100679
2. Ping Ho, Chung B, Kam Kwan Cheng B. Immediate effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on spasticity in patients with spinal cord injury. *Clin Rehabil*. 2010;24(3):202-210. doi:10.1177/0269215509343235
3. Harvey LA, Fornusek C, Bowden JL, et al. Electrical stimulation plus progressive resistance training for leg strength in spinal cord injury: a randomized controlled trial. *Spinal Cord*. 2010;48(7):570-575. doi:10.1038/sc.2009.191
4. Giangregorio L, Craven C, Richards K, et al. A randomized trial of functional electrical stimulation for walking in incomplete spinal cord injury: effects on body composition. *J Spinal Cord Med*. 2012;35(5):351-360. doi:10.1179/2045772312Y.0000000041
5. Gorgey AS, Dolbow DR, Cifu DX, Gater DR. Neuromuscular electrical stimulation attenuates thigh skeletal muscles atrophy but not trunk muscles after spinal cord injury. *J Electromyogr Kinesiol*. 2013;23(4):977-984. doi:10.1016/j.jelekin.2013.04.007
6. Herrity AN, Williams CS, Angeli CA, Harkema SJ, Hubscher CH. Lumbosacral spinal cord epidural stimulation improves voiding function after human spinal cord injury. *Sci Rep*. 2018;8(1):8688. Published 2018 Jun 6. doi:10.1038/s41598-018-26602-2
7. Sivaramakrishnan A, Solomon JM, Manikandan N. Comparison of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) and functional electrical stimulation (FES) for spasticity in spinal cord injury - A pilot randomized cross-over trial. *J Spinal Cord Med*. 2018;41(4):397-406. doi:10.1080/10790268.2017.1390930
8. Galea MP, Dunlop SA, Geraghty T, et al. SCIPA Full-On: A Randomized Controlled Trial Comparing Intensive Whole-Body Exercise and Upper Body Exercise After

- Spinal Cord Injury. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2018;32(6-7):557-567.
9. North RB, Calodney A, Bolash R, et al. Redefining Spinal Cord Stimulation "Trials": A Randomized Controlled Trial Using Single-Stage Wireless Permanent Implantable Devices. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*. 2019;23(1):96-101. DOI: 10.1111/ner.12970
 10. Bergmann M, Zahharova A, Reinvee M, Asser T, Gapeyeva H, Vahtrik D. The Effect of Functional Electrical Stimulation and Therapeutic Exercises on Trunk Muscle Tone and Dynamic Sitting Balance in Persons with Chronic Spinal Cord Injury: A Crossover Trial. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(10):619. Published 2019 Sep 21. doi:10.3390/medicina55100619
 11. Shealy CN, Mortimer JT, Reswick JB. Electrical inhibition of pain by stimulation of the dorsal columns: preliminary clinical report. *Anesth Analg*. 1967;46(4):489-491.
 12. Shealy CN, Mortimer JT, Hagfors NR. Dorsal column electroanalgesia. *J Neurosurg*. 1970;32(5):560-564. doi:10.3171/jns.1970.32.5.0560
 13. Waltz JM, Andreesen WH, Hunt DP. Spinal cord stimulation and motor disorders. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1987;10(1 Pt 2):180-204. doi:10.1111/j.1540-8159.1987.tb05947.x
 14. Herman R, He J, D'Luzansky S, Willis W, Dilli S. Spinal cord stimulation facilitates functional walking in a chronic, incomplete spinal cord injured. *Spinal Cord*. 2002;40(2):65-68. doi:10.1038/sj.sc.3101263
 15. Bochkezanian V, Raymond J, de Oliveira CQ, Davis GM. Can combined aerobic and muscle strength training improve aerobic fitness, muscle strength, function and quality of life in people with spinal cord injury? A systematic review. *Spinal Cord*. 2015;53(6):418-431. doi:10.1038/sc.2015.48
 16. Sandrow-Feinberg HR, Houlé JD. Exercise after spinal cord injury as an agent for neuroprotection, regeneration and rehabilitation. *Brain Res*. 2015;1619:12-21. doi:10.1016/j.brainres.2015.03.052
 17. Harkema SJ. Neural plasticity after human spinal cord injury: application of locomotor training to the rehabilitation of walking. *Neuroscientist*. 2001;7(5):455-468. doi:10.1177/107385840100700514
 18. Hicks AL, Adams MM, Martin Ginis K, et al. Long-term body-weight-supported treadmill training and subsequent follow-up in persons with chronic SCI: effects on functional walking ability and measures of subjective well-being. *Spinal Cord*. 2005;43(5):291-298. doi:10.1038/sj.sc.3101710
 19. Johnson MI, Bjordal JM. Transcutaneous electrical nerve stimulation for the management of painful conditions: focus on neuropathic pain. *Expert Rev Neurother*. 2011;11(5):735-753. doi:10.1586/ern.11.48
 20. Ngamkham S, Vincent C, Finnegan L, Holden JE, Wang ZJ, Wilkie DJ. The McGill Pain Questionnaire as a multidimensional measure in people with cancer: an integrative review. *Pain Manag Nurs*. 2012;13(1):27-51. doi:10.1016/j.pmn.2010.12.003

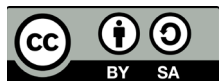
Received – 17.07.2021, accepted for publication – 28.10.2021

Corresponding author: Elda Latollari, e-mail: elatollari@yahoo.com

Conflict of interest Statement: The authors report no conflicts of interest in this work.

Funding Statement: The authors report no financial support.

Citation: Latollari E, Braimllari F. Epidural stimulation gives paralyzed patients hopes for a better life. *Arta Medica*. 2021;79(2):26-30.



DOI: 10.5281/zenodo.5637063

UDC: 613.2:637.1:621.798.15-036.7

ОЦЕНКА РИСКА ЗДОРОВЬЮ ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ ФТАЛАТОВ С МОЛОЧНЫМИ ПРОДУКТАМИ В ПОЛИМЕРНОЙ УПАКОВКЕ ASSESSMENT OF HEALTH RISK CAUSED BY PHTHALATES PENETRATING WITH DAIRY PRODUCTS IN POLYMER PACKAGING

Владимир Бебых¹, к. м. н., доцент, Раиса Сырку¹, к. м. н., доцент, Дмитрий Лазакович², д. х. н.

¹ Научная лаборатория Химические опасности и токсикология, Отделение Гигиены труда, токсикологии и химической безопасности, Дирекция охраны здоровья, Национальное Агентство Общественного Здоровья, Кишинёв, Республика Молдова

² Центральная Испытательная Лаборатория Алкогольных/Безалкогольных Напитков и Консервированных Продуктов, Кишинёв, Республика Молдова

Резюме

Задачи. Одним из наиболее распространенных видов молочной упаковки являются так называемые мягкие полиэтиленовые пакеты. Для производства такого полимерного упаковочного материала широко используются в качестве пластификаторов фталаты. Имеются многочисленные данные о миграции фталатов из такой тары в окружающую среду, в том числе в пищевые продукты и сырье. При поступлении фталатов в организм они влияют на гормональную, репродуктивную и респираторную системы. Фталаты также могут участвовать в процессах канцерогенеза. Фталаты относятся к веществам, наносящим вред эндокринной системе («эндокринные разрушители», *Endocrine Disruptors*). Молочные продукты, упакованные в мягкие полиэтиленовые пакеты и тетра-паки, широко представлены на потребительском рынке Молдовы. В связи с этим цель исследования состояла в определении концентрации фталатов в молочной продукции, упакованной в полимерную тару, и в проведении оценки риска для здоровья потребителей.

Материалы и методы. Методом хромато-масс-спектрометрии был исследован ряд образцов молочных продуктов (молоко и кефир), представленных в торговой сети Кишинева, на предмет содержания в них фталатов. Извлечение фталатов из исследуемого образца проводили методом экстракции жидкостью жидкостью (фракционированием), с последующим количественным определением.

Результаты. Среднее значение обнаруженных концентрации фталатов варьирует от 0,02 мг/л (дибутилфталат в пробах кефира и молока) до 1,04 мг/л (бис(2-этилгексилфталат в пробах молока).

Выводы. Оценка риска здоровью человека при употреблении исследованной молочной продукции, упакованной в полиэтиленовые пакеты, показала, что концентрации обнаруженных фталатов не превышают величины суточного их потребления и референтной дозы фталатов при хроническом пероральном поступлении.

Ключевые слова: фталаты, молочная продукция, полимерная упаковка, оценка риска здоровью

Abstract

Objectives. One of the most common types of milk packaging is the so-called soft plastic bags. Phthalates are widely used as plasticizers in the production of this type of polymeric packaging material. There is data on the migration of phthalates from food containers into the environment, including food and raw materials. When phthalates enter the body, they affect the hormonal, reproductive and respiratory systems, they also can participate in the processes of carcinogenesis. Phthalates are classified as endocrine disruptors. Dairy products packed in soft plastic bags and tetrapacks are widely represented in the consumer market of Moldova. In this regard, the purpose of the study was to determine the concentration of phthalates in dairy products packaged in polymer containers and to assess the health risk for consumers.

Materials and methods. The gas chromatography-mass spectrometry method was used to study the presence of phthalates in samples of dairy products (milk and kefir) carried in the Chișinău markets and grocery stores. The extraction of phthalates from the test sample was carried out by liquid-liquid extraction (fractionation), followed by quantitative determination.

Results. The average concentration of phthalates varies from 0.02 mg/L (dibutyl phthalate in kefir and milk samples) to 1.04 mg/L (bis (2-ethylhexyl phthalate in milk samples).

Conclusions. The assessment of the risk to human health when consuming the studied dairy products packed in plastic bags showed that the concentrations of the detected phthalates do not exceed their daily consumption and the reference dose of phthalates for chronic oral intake.

Keywords: phthalates, milk products, polymer package, risk assessment

Введение

Соли и эфиры 1,2-бензолдикарбоновой кислоты, известные как фталаты, являются группой химических веществ с широким спектром промышленного приме-

нения [1-8]. Фталаты с высоким молекулярным весом, например, бис(2-этилгексилфталат) (БЭГФ), диизононилфталат (ДИНФ), ди-н-октилфталат (ДнОФ), в основном применяют в качестве пластификаторов в производстве

винила. Данная группа полимеров используется во многих потребительских товарах: мебель, автомобильная обивка, напольная плитка, обои, игрушки, обувь, одежда, пластиковые трубки и пакеты для внутривенного переливания крови и др. [3, 9-16].

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения мировое производство фталатов к 1992 году исчислялось объемами в 1×10^6 тонн в год [16]. Из них производство БЭГФ составляло примерно 50% от выше указанного объема. В 2011 году мировое производство фталатов оценивалось в 11 миллиардов фунтов [3]. Фталаты чаще всего используются в производстве поливинилхлорида (ПВХ) для придания ему эластичности и долговечности. Для производства поливинилхлоридных и других сополимерных смол в США в 1960 г. было израсходовано 190 тыс. т различных пластификаторов, или около 70% общего потребления пластификаторов [17]. В 2003 г. в Европе было использовано 2,3 млн. т добавок к полимерам, пластификаторов – 1,3 млн. т [18]. Фталатные пластификаторы (данные 2015 года) занимали более 80% мирового рынка, при этом свыше 90% фталатов использовалось для производства ПВХ [19]. В 2015 году в мире было использовано 8,4 млн. т пластификаторов [20]. Чаще всего использовался бис(2-этилгексил)фталат, занимая 37% мирового рынка пластификаторов. По данным за 2018 год, ежегодно во всем мире потреблялось 7,5 млн. т пластификаторов, из которых в Европе более 1,35 млн. т [21].

Такой широкий спектр их применения в промышленности порождает проблему обширного загрязнения фталатами окружающей среды. Это связано с тем, что фталатные пластификаторы химически не связаны с молекулами ПВХ и могут относительно легко выщелачиваться, мигрировать во внешнюю среду (воду, воздух, почву, пищу и др.). Большое число научных исследований посвящено обнаружению фталатных пластификаторов в воздушной среде, реках, морской воде, обитающих в воде организмах [18]. Люди, а также животные могут подвергаться воздействию этих химических соединений в результате проглатывания, вдыхания или воздействия на кожу в течение всей своей жизни, включая внутриутробное развитие [6, 16, 22, 23]. Возможно также попадание фталатов в организм человека из продуктов крови, упакованных в пакеты для переливания крови, шприцов для инъекций, внутривенных канюль и катетеров, а также пластиковых частей диализаторов [11, 24-26]. Воздействие фталатов может происходить при использовании лекарств, содержащих дибутилфталат (ДБФ) в своем покрытии [27].

При поступлении фталатов в организм они влияют на гормональную, репродуктивную и респираторную системы, фталаты могут участвовать в процессах канцерогенеза и в расстройствах аутистического спектра [28-30]. Воздействие диэтилфталата может быть связано с повышенным риском развития рака груди у женщин [31]. Некоторые из неблагоприятных последствий для здоровья могут быть результатом вызванного фталатом увеличения окислительного стресса или воспаления,

что было продемонстрировано в исследованиях на животных [32].

Исследование взаимосвязи между концентрацией моно-(2-этил-5-гидроксигексил)фталата (МЭГФ) и моно-(2-этил-5-оксогексил)фталат (МЭОГФ), двух окислительных метаболитов бис(2-этилгексил)фталата (БЭГФ) в моче мужчин и повреждением дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) сперматозоидов показало, что воздействие некоторых фталатов может привести к фрагментации ДНК сперматозоидов [33]. Эпидемиологические данные представляют доказательства того, что воздействие фталатных пластификаторов, таких как БЭГФ, может быть связано с повышенным риском развития атопических аллергических заболеваний и астмы в Европе и США [34, 35].

Для большинства фталатов основным путем воздействия на человека является прием пищи [36-41]. Было установлено, что количество фталатов, обнаруживаемых в пище, зависит от первоначального загрязнения ингредиентов, используемых в производстве пищевых продуктов, технологий их производства, срока хранения (времени контакта с упаковочными материалами), температуры хранения, способов приготовления блюд, жирности пищевых продуктов и типа используемого упаковочного материала.

Некоторые фталаты, например бис(2-этилгексилфталат) (БЭГФ), были обнаружены в жирной пище (молочные продукты, рыба или морепродукты, масла), упакованной в пластик [11]. Фактором, который может значительно увеличить концентрацию фталатов в тканях животных и, следовательно, в пищевых продуктах, является наличие жировой ткани [24]. Такие фталаты как бис(2-этилгексилфталат) (БЭГФ) и бензилбутилфталат (ББФ), по данным исследований, распределялись в основном в тканях с высоким содержанием жира (подкожный жир и мышечная ткань свиней, брыжеечный жир и кожа кур), где они и накапливаются [24]. Липофильный характер фталатов был также продемонстрирован измерениями концентрации фталата в воде, молоке и молочных продуктах [42, 43].

При наличии жирной пищи или под воздействием высоких температур сложные эфиры фталевой кислоты обладают способностью переходить из материала упаковок непосредственно в воду, соки, молоко и другие пищевые продукты, а также непосредственно в организм детей при жевании ими изделий пустышек, игрушек и др. [30].

Пластиковые компоненты и добавки, такие как эфир фталевой кислоты, алкилфенолы, 2,2-Бис(4-гидрокси-фенил)пропан (бисфенол А) и бис(2-этилгексил)адипат (ДЭГА) могут мигрировать из упаковочных материалов в пищу при хранении продуктов питания в пластиковых упаковочных материалах [30, 41, 44]. Оценка содержания некоторых из пластификаторов в обычной упаковке пищевых продуктов (консервы из масла и натурального тунца, упаковка для йогурта, полистироловая тарелка, мешок для хлеба), а также в детской бутылочке и соске, асептическом пластике, ламинате, картоне и др. показана

ли наличие миграции загрязняющих веществ [30, 44, 45].

В исследованиях австралийских ученых [46] была измерена концентрация фталатов в материалах, используемых в качестве упаковки для пищевых продуктов. Авторы обнаружили концентрации фталатов в упаковочных материалах от 5 до 8160 мкг/г. Наиболее часто встречающимся в упаковочных материалах фталатами были бис(2-этилгексилфталат) (БЭГФ), а также дибутилфталат (ДБФ) и бензил-бутилфталат (ББФ). Самые высокие концентрации фталатов были обнаружены в материалах для упаковки пищевых продуктов, изготовленных из печатного полиэтилена, и авторы предположили, что основным источником загрязнения пищевых продуктов были фталаты из используемых печатных красок. Во многих научных публикациях сообщается о результатах анализа содержания фталатов в молоке и других образцах пищевых продуктов [47, 48], в вине [49, 50], в бутилированной воде [51], в безалкогольных напитках [52], в хлебе, продаваемого на бельгийском рынке [53], в детском питании и детских смесях, продаваемых в Дании [54], в некоторых упакованных обедах в розничной торговле Японии [55, 56], в продукции винодельческой отрасли Молдовы [50, 57] и др.

Молоко считается одним из наиболее питательно полноценных натуральных продуктов, потому что в нем много витаминов, минералов, углеводов, липидов и белков, которые необходимы для здоровья человека [58]. Многие специализированные молочные продукты, такие как сыр, йогурт, масло и сливки популярны в диетах по всему миру. Однако большинство молочных продуктов упакованы в пластик или другие полимерные материалы. Пластиковые упаковочные материалы – это возможный источник загрязнения фталатами цельномолочных продуктов и значительная часть фталатов из упаковки могут адсорбироваться на белки и другие твердые компоненты молока [59]. Поэтому крайне важно для защиты здоровья человека оценивать и контролировать содержание фталатов в молочных продуктах. Часть мигрировавших фталатов могут существовать в молочных продуктах в свободной и связанной форме и эти фталаты могут быть измерены.

Многие из пластификаторов внесены в список эндокринных разрушителей или мутагенов, которые могут иметь неблагоприятные последствия для здоровья человека даже в низких концентрациях. Миграция пластиковых компонентов из упаковки в продукты питания может создать риск для здоровья человека. Определение содержания фталатов в потребительских товарах и пищевой продукции важно для оценки риска здоровью человека. И это направление является одним из видов деятельности Национального Агентства Общественного Здоровья Республики Молдова.

Настоящее исследование было проведено с целью определения концентрации фталатов в молочной продукции, упакованной в полимерную тару, и в проведении оценки риска для здоровья потребителей.

Изучались образцы молока и кисломолочного продукта (кефир) в разных упаковках – мягкий полиэти-

леновый пакет (ПЭ-пакет) и многослойный тетра-пак с внутренним полиэтиленовым слоем. Данная полимерная тара изготавливается из полиэтилена низкой плотности, который в той или иной мере содержит пластификаторы, в том числе и фталаты [30, 41, 44, 45]. Для проанализированных образцов молочной продукции дана количественная характеристика содержания фталатов, в частности двух, имеющих наиболее широкое применение, дибутилфталат (ДБФ) и бис(2-этилгексил) фталат (БЭГФ).

Материал и методы

В местном супермаркете были куплены семь образцов молочной продукции (молоко и кефир) от четырех производителей, в разных упаковках ПЭ-пакет и многослойный тетра-пак с внутренним полиэтиленовым слоем. Отобранные образцы молочной продукции хранились при 4°C до использования их для анализа содержания в них фталатов.

Количественное содержание эфиров о-фталевой кислоты в цельномолочных продуктах определяли в соответствии с предложенным аналитическим подходом [59], методом хромато-масс-спектрометрии с помощью Shimadzu GCMS-QP2010SE оснащенного автосамплером/автоинжектором Combi PAL CTC Analytics AOC-5000. Принцип анализа состоит в разделении смеси жидкого экстракта в капиллярной газохроматографической колонке RESTEK - Rtx-5MS (30м/0.25мм/0.25μм, фаза -5% дифенил/95% диметилполисилоксан), с последующими масс-спектрометрическим детектированием и количественной интерпретацией полученных результатов. Применение в качестве внутреннего стандарта дейтерированных ДБФ и БЭГФ (DBP -3,4,5,6-d₄ Sigma-Aldrich и DEHP -3,4,5,6-d₄ Sigma-Aldrich) гарантирует стабильность и точность применяемого метода анализа.

Экстракцию фталатов из анализируемых пищевых продуктов проводили в соответствии с методом, разработанным авторами [64]. Аликвоту исследуемой пробы в 10 мл с внесенным внутренним стандартом, подкисляли 2 мл раствора уксусной кислоты (10%). Тщательно перемешивали и термостатировали в течение 10 минут при 70°C. В полученный после центрифугирования (5 мин / 5000 об/мин) раствор вносили 1 мл хлороформа (Chloroform HPLC grade, Chem-Lab). Смесь встряхивали в течении 15 минут с помощью лабораторного шейкера. Затем центрифугировали (5 мин / 5000 об/мин). Отделенный органический слой сушили безводным сульфатом натрия (Sodium sulfate anhydrous a.r., Chem-Lab). Высушенный экстракт анализировали методом ГХМС.

Условия хромато-масс-спектрометрического анализа: газ носитель - гелий; температура испарителя 300°C; объем пробы - 1 мкл; температурная программа термостата колонок - 180°C, удерживание 0,5 мин., нагрев 20°C/мин до 280°C, удерживание 7 мин, нагрев 20°C/мин до 300°C, удерживание 3 мин; температура интерфейса - 310°C; температура ионного источника - 250°C. Продолжительность хромато-масс-спектрометрического анализа составляла 16,5 минут.

Идентификацию компонентов анализируемой смеси проводили по соответствующим временам удержания. Количественно содержания фталатов рассчитывали по спектрам характеристических отношений массы ионов к заряду - m/z (Таблица 1).

Таблица 1

Характеристические значения m/z для анализированных фталатов и компонентов внутреннего стандарта

Наименование	Аббревиатура	m/z
Диметилфталат	ДМФ	163, 164, 194
Диэтилфталат	ДЭФ	149, 177
Дибутилфталат	ДБФ	149
Бензилбутилфталат	ББФ	91, 149, 206
Бис(2-этилгексил)фталат	БЭГФ	149, 167, 279
Диоктилфталат	ДОФ	149, 279
Дидецилфталат	ДДФ	149, 307
Дибутилфталат -3,4,5,6- d_4	(BC1)*	153
Бис(2-этилгексил)фталат -3,4,5,6- d_4	(BC2)*	153

* - внутренний стандарт

Калибровочные растворы были приготовлены из сертифицированного эталонного материала Phthalate Mixture от Ultra Scientific. Все органические растворители, примененные в данной работе, были предварительно протестированы на возможность загрязнения фталатами.

Оценка химического риска (нагрузки) проводилась по средней суточной дозе химических веществ, поступивших в организм человека с пищевыми продуктами. Расчет средней суточной дозы проводили по стандартной формуле расчета при возможном поступлении фталатов с молочными продуктами (при использовании бюджетных методов потребления) [60]:

$$I = \sum[(A_1 \times m_1) + (A_2 \times m_2) + (A_n \times m_n)] \times F/BW, \text{ где:}$$

I – поступление вещества с рационом питания, мг/кг массы тела в сутки;

$A_1 \dots A_n$ – концентрация вещества в конкретных пищевых продуктах, мг/кг продукта;

$m_1 \dots m_n$ – масса потребленного продукта в день, кг;

F – доля местных, потенциально загрязненных продуктов в суточном рационе, отн. ед. Определяется местными условиями. Крайняя оценка: $F = 1,0$;

BW – масса тела, кг;

Таблица 2

Концентрация фталатов, обнаруженных в пробах молочной продукции, мг/л

Наименование продукции	Производитель	Упаковка	Фталаты и их концентрация, мг/л			
			ДБФ		БЭГФ	
			С	С(х)	С	С(х)
Молоко 2,5%	А	Мягкий ПЭ-пакет	0,594	0,54	0,954	0,96
			0,514		0,975	
			0,512		0,955	
Кефир 2,5%	А	Мягкий ПЭ-пакет	0,091	0,09	0,121	0,12
			0,093		0,114	
			0,084		0,128	
Молоко 2,5%	Б	Тетра-пак	0,031	0,02	0,040	0,03
			0,011		0,020	
			0,019		0,040	
Молоко 3,2%	В	Мягкий ПЭ-пакет	0,000	0,00	0,947	1,04
			0,000		1,170	
			0,000		0,995	
Кефир 2,5%	Г	Мягкий ПЭ-пакет	0,079	0,08	0,540	0,56
			0,099		0,599	
			0,064		0,545	
Кефир 1,0%	В	Мягкий ПЭ-пакет	0,000	0,00	0,179	0,18
			0,000		0,164	
			0,000		0,194	
Кефир 1,0%	А	Мягкий ПЭ-пакет	0,012	0,02	0,038	0,04
			0,028		0,029	
			0,019		0,051	

При расчете нагрузки принималось, что продолжительность воздействия составляет 365 дней, масса тела для взрослого населения – 70 кг [60].

По данным за 2019 год уровень потребления молока и молочных продуктов в Молдове составляла в среднем за год 242,0 литров или 249,26 кг на человека, в том числе городского населения 268,7 л (276,76 кг), в сельской местности – 22,4 л (23,07 кг) на человека [61].

Результаты и их обсуждение

В рамках изучения возможных источников поступления фталатов в организм, 21 проба молочной продукции (молоко 2,5% и 3,2% жирности, кефир 1,0% и 2,5% жирности, всего от четырех производителей) были исследованы на предмет содержания ряда веществ, представленных в таблице 1. Из семи отслеживаемых фталатов в рассмотренных образцах молочной продукции обнаружены два: дибутилфталат (ДБФ) и бис(2-этилгексил)фталат (БЭГФ). Эти вещества относятся к производным фталевых кислот, широко используются в качестве пластификаторов и относятся к веществам, наносящим вред эндокринной системе («эндокринные разрушители», Endocrine Disruptors, эндокринные де-

структуры) [62, 63].

В таблице 2 представлены результаты инструментального анализа содержания фталатов в молочной продукции, упакованной в полиэтиленовые пакеты.

Как видно из представленных данных, все пробы молочных продуктов содержат хотя бы один из двух определяемых фталатов. Средняя концентрация дибутилфталата (ДБФ) колеблется от 0,00 мг/л в пробах молока 3,2% жирности и кефире 1,0% жирности от производителя «В» до 0,54 мг/л в пробах молока 2,5% жирности от производителя «А». В остальных пробах молочной продукции средняя концентрация ДБФ колеблется от 0,02 мг/л до 0,09 мг/л.

Бис(2-этилгексил)фталат (БЭГФ) был выявлен в минимальной концентрации от 0,03 мг/л и 0,04 мг/л, соответственно в пробах молока 2,5% жирности и в пробах кефира 1,0% жирности от производителя «А». Максимальная концентрация БЭГФ составляла 0,96 мг/л и 1,04 мг/л соответственно в молоке 2,5% и 3,2% жирности от производителей «А» и «В».

Значения найденных в пробах молочных продуктов концентраций фталатов были использованы для расчета средней суточной дозы (Таблица 3).

Таблица 3

Средняя суточная доза фталатов, обнаруженных в пробах молочной продукции, мг/кг массы тела в сутки

Наименование продукции	Упаковка	Фталаты и их средняя концентрация, мг/л		Средняя суточная доза, мг/кг массы тела в сутки		
		ДБФ	БЭГФ	ДБФ	БЭГФ	I [60]
Молоко 2,5%	ПЭ-пакет	0,54	0,96	0,005	0,009	0,014
Кефир 2,5%	ПЭ-пакет	0,09	0,12	0,0008	0,001	0,002
Молоко 2,5%	Тетра-пак	0,02	0,03	0,0002	0,0003	0,0005
Молоко 3,2%	ПЭ-пакет	0,00	1,04	0,00	0,0099	0,0099
Кефир 2,5%	ПЭ-пакет	0,08	0,56	0,0008	0,005	0,0061
Кефир 1,0%	ПЭ-пакет	0,00	0,18	0,00	0,0017	0,0017
Кефир 1,0%	ПЭ-пакет	0,02	0,04	0,0002	0,0004	0,0006

Расчеты выявили наибольшее значение средней суточной дозы фталатов ДБФ и БЭГФ при поступлении их с молоком 2,5% жирности, упакованного в ПЭ-пакет – 0,014 мг/кг массы тела в сутки. В остальных пробах молочной продукции значение средней суточной дозы обоих фталатов колебался от 0,0005 до 0,0061 мг/кг массы тела в сутки.

Гигиенические требования к продуктам питания по фталатам имеются во многих странах и торговых зонах. Однако для каждого отдельного гомолога нормативы (если вообще существуют) редко совпадают в различных системах сертификаций:

- европейская директива 2007/19/ЕС [64] не упоминает (не ограничивает) допустимое содержание диметилфталата (ДМФ) и диэтилфталата (ДЭФ). Ряд других гомологов ограничен лишь в контексте жиросодержащей пищевой продукции;

- в соответствии с Постановлением Европейской комиссии №10/2011 от 14.01.2011 (Приложение к Регла-

менту N 10/2011 Европейской Комиссии о пластиковых материалах и изделиях, предназначенных для контакта с продуктами питания, Таблица 1) предел миграции дибутилфталата (ДБФ) в пищевые продукты составляет 0,3 мг/кг пищевого продукта (уникальный идентификационный номер вещества - 157), бис(2-этилгексил)фталата (БЭГФ) - 1,5 мг/кг пищевого продукта (уникальный идентификационный номер вещества - 283) [65];

- документ, действующий на территории США [66], также не имеет указаний по ограничению допустимого содержания диметилфталата (ДМФ) и диэтилфталата (ДЭФ) в пищевой продукции.

Упаковочные материалы для пищевых продуктов, могут производиться только с применением мономеров и других исходных веществ, включенных в список разрешенных химических веществ, для которых устанавливается предельно допустимая миграция или предельно допустимое остаточное количество, остающееся в материале или изделии после его изготовления [63].

В странах-членах Евразийского экономического союза предельно допустимые количества миграции фталатов на уровне 2 мг/л установлены для диоктилфталата (ДОФ), выделяющегося из резины и резинопластиковых материалов, контактирующих с пищевой продукцией (п.1.19, табл.1, Приложение 1 к Техническому регламенту Таможенного союза «О безопасности упаковки».) [67]. Допустимое количество миграции диоктилфталата (ДОФ) из поливинилхлоридных пластиков составляет 2,000 мг/л, а его среднесуточная предельно допустимая концентрация (ПДК) в атмосферном воздухе – 0,020 мг/м³, миграция дибутилфталата (ДБФ) – не допускается (там же, п.1.3).

11 июля 2018 года Европейская Комиссия (European Commission) приняла меры по ограничению размещения на рынке товаров, содержащих фталаты БЭГФ, ДБФ, ББФ, Диизобутилфталат (ДИБФ) [68]. Согласно предложенному ограничению, представленному в Комитет REACH, эти четыре фталата не могут присутствовать в изделиях, используемых потребителями, в концентрации равной или выше 0,1% по отдельности или в любой комбинации в любом пластифицированном материале.

В Республике Молдова Санитарный регламент о материалах и изделиях из пластмасс, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами [69], устанавливает общие требования к веществам, используемых при производстве пластиковых слоев из материалов и изделий из пластмассы (аналогично Постановлению Европейской комиссии №10/2011 от 14.01.2011 [65]). В соответствии с п.15 Регламента «Материалы и изделия из пластмассы не передают свои компоненты в продуктах питания в количествах, превышающих специфические пределы миграции, установленные в приложении № 1 к настоящему Регламенту». Предел специфической миграции применимый к дибутиловому эфиру фталевой кислоты (дибутилфталат) составляет 0,3 мг/кг, к бис(2-этилгексил) эфиру фталевой кислоты – 1,5 мг/кг. Использовать их разрешается только как пласти-

фикаторы в материалах и повторно используемых объектах, контактирующих с нежирными продуктами или как технические агенты поддержки в определенных концентрациях.

Следовательно, известные Постановления, Директивы и другие документы не устанавливают предельно допустимые количества фталатов в пищевой продукции, а только ограничивают допустимую миграцию этих самых фталатов из тары в пищевую продукцию.

Результаты многочисленных научных исследований вызывают беспокойство по поводу воздействия фталатов на организм человека и ставят вопрос о выборе методов оценки риска для здоровья.

Так, в Германии с начала 1980-х годов Немецкий банк экологических образцов (ESB) непрерывно собирает суточные пробы мочи. Авторы [70], по данным ESB, провели биомониторинг человека в динамике воздействия фталатов за длительный период времени, в частности, уровня метаболитов фталата в 24-часовых образцах мочи за 27 лет.

Оценка риска здоровью человека при загрязнении окружающей среды фталатами возможно проводить по величинам суточного поступления (TDI) и референтной дозы (RfD), в мг/кг массы тела в сутки. По результатам исследований European Food Safety Authority (EFSA), проведенным в 2019 году [71], были обновлены оценки риска здоровью по показателю TDI (данные за 2005 год) пяти фталатов (Таблица 4).

Эта оценка охватывает европейских потребителей любого возраста, включая наиболее чувствительные группы. Исходя из ограниченного объема мандата и выявленных неопределенностей, EFSA сочла, что текущая оценка пяти фталатов, по отдельности и в совокупности, должна проводиться на временной основе [71]. На основании неблагоприятного воздействия на репродуктивную функцию, на развитие и фертильность эти пять фталатов классифицируются как репродуктивные токсиканты класса 1B [71].

Таблица 4

Результаты оценки риска фталатов, контактирующих с пищевыми продуктами, для европейских потребителей всех возрастов

Фталат	Величина суточного поступления фталата (TDI), мг/кг массы тела в сутки	Критическое токсическое воздействие на органы и системы организма
Дибутилфталат (ДБФ)	0,01	Репродуктивная система и развитие
Бис(2-этилгексил) фталат (БЭГФ)	0,05	Репродуктивная система
Бутил-бензил-фталат (ББФ)	0,5	Репродуктивная система и развитие
Диизонилфталат (ДИНФ)	0,15	Печень
Диизодецилфталат (ДИДФ)	0,15	Печень

Обоснование показателей, использующихся для оценки риска здоровью при пероральном поступлении в организм фталатов, также может осуществляться на основе данных о влиянии этих химических веществ на здоровье человека. Рекомендуемые значения параметров

для характеристики риска приведены в Приложении 2 Руководства по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду [60] (Таблица 5).

Таблица 5*Референтные дозы (RfD) фталатов, определяемых в пробах молочной продукции при хроническом пероральном поступлении [60], мг/кг*

CAS	Вещество	RfD, мг/кг	Поражаемые органы и системы
84-74-2	Дибутилфталат (ДБФ)	0,1	Системное поражение (смертность), гормональная система
117-81-7	Бис(2-этилгексил)фталат (БЭГФ)	0,02	Печень, гормональная система

Попытка оценки риска здоровью человека при употреблении отобранной нами в торговой сети молочной продукции, упакованной в тетра-пак и мягкие ПЭ-пакеты, показала, что обнаруженные в результате инструментального анализа концентрации фталатов не превышают величины суточного их потребления (TDI) и референтной дозы (RfD) и не представляют риска здоровью. Необходимо отметить тот факт, что фталаты были выявлены нами в готовой молочной продукции, упакованной на заводе в тетра-пак и ПЭ-пакеты и реализуемой в торговой сети. Не были исследованы как исходное сырье (молоко), так и чистая тара (упаковка). Мы не можем утверждать, на каком из этапов технологического процесса, в том числе корма, вода, ветеринарные препараты и др., фталаты попали в молочную продукцию. В данном исследовании цель состояла в определении концентрации фталатов в готовой молочной продукции, упакованной в полимерную тару, и в оценке возможного риска здоровью потребителей.

Выводы

Фталаты широко используются в промышленности для производства продукции различного назначения, в том числе контейнеров для пищевых продуктов и напитков, а также пищевой полимерной обертки. Исследования многих авторов по проблеме миграции фталатов из пищевой тары в окружающую среду объясняются неблагоприятным влиянием фталатов на здоровье потребителей продуктов питания. Как известно, фталаты действуют как эндокринные разрушители, нарушая нор-

мальное функционирование половых гормонов и особенно опасны в уязвимые периоды развития организма. Экспериментальные, доклинические, клинические и эпидемиологические исследования показали, что более десятка фталатов и их метаболитов, пассивно попадающих в организм человека из окружающей среды, продуктов питания, напитков, воздуха для дыхания и обычных бытовых товаров, вызывают различные дисфункции (метаболические заболевания, нарушения репродуктивной и нейрокогнитивной функций, возможны аллергические заболевания). Токсичность фталатов во многом определяется хроническим воздействием на различные системы организма. Одни и те же дозы фталатов в различные периоды развития (и у детей и во взрослом периоде) могут вызывать определенные последствия.

Длительное потребление продуктов питания, упакованных в полимерную упаковку, в том числе и молочных продуктов, может формировать недопустимый риск здоровью человека, обусловленный миграцией фталатов в продукты питания. Наибольший вклад в возможное формирование такого риска может вносить Диэтилгексилфталат, выделяющийся из полиэтиленовых пакетов. Также при этом необходимо учитывать кумулятивное воздействие на организм человека в повседневной жизни и других химических веществ. Воздействие нескольких факторов может суммироваться или накапливаться. Фталаты не единственные участники в возникновении или прогрессировании этих патологий, но они могут быть дополнительными факторами риска вместе с другими загрязнителями окружающей среды.

Список литературы

1. Hauser R, Duty S, Godfrey-Bailey L, Calafat AM. Medications as a source of human exposure to phthalates. *Environ Health Perspect.* 2004;112(6):751-753. doi:10.1289/ehp.6804
2. Hauser R, Calafat AM. Phthalates and human health. *Occup Environ Med.* 2005;62(11):806-818. doi:10.1136/oem.2004.017590
3. Phthalates and Their Alternatives: Health and Environmental Concerns. Lowell Center for Sustainable Production. Technical briefing. 2011:4. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://ec.europa.eu/environment/aarhus/pdf/35/Annex_11_report_from_Lowell_Center.pdf
4. Final Scope of the Risk Evaluation for Butyl benzyl phthalate (1,2-Benzenedicarboxylic acid, 1-butyl 2-(phenylmethyl) ester). U. S. Environmental Protection Agency. 2020. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://www.epa.gov/sites/production/files/2020-09/documents/casrn_85-68-7_butyl_benzyl_phthalate_finalscope.pdf
5. Proposal for a restriction substance. Name: Bis (2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP), Benzyl Butyl Phthalate (BBP), Dibutyl Phthalate (DBP), Diisobutyl Phthalate (DIBP). Annex XV: Restriction report. 2011. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/restriction_report_phthalates_en.pdf
6. Mikula P, Svobodová Z, Smutná M. Phthalates: toxicology and food safety - a review. *Czech J. Food Sci.* 2005;23(6):217-223.
7. EPA. Phthalates. America's Children and the Environment. Biomonitoring. Third Edition, Updated. August 2017. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-08/documents/phthalates_updates_live_file_508_0.pdf
8. Testai E; Ms Scientific Committee SCENIHR. Electronic address: SANTE-C2-SCENIHR@ec.europa.eu, Hartemann P, et al. The safety of medical devices containing

- DEHP plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk (2015 update). *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;76:209-210. doi:10.1016/j.yrtph.2016.01.013
9. Phthalates in Plastics and Possible Human Health Effects. Congressional Research Service Report RL34572. 2008. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://www.everycrsreport.com/files/20081105_RL34572_e2eb94d4b4dc121943a8e57b9c149833feb8b6f0.pdf
10. ATSDR. Di (2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP). Division of Toxicology ToxFaqs. 2002:1-2. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts9.pdf>
11. ATSDR. Toxicological profile for di-n-octyl phthalate (DNOP). Toxicology Information Branch. 1997. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp95.pdf>
12. ATSDR. Toxicological profile for di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). Draft for Public Comment. 2019. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp9.pdf>
13. David RM, McKee RH, Butala JH, Barter RA., Kayser M. Esters of aromatic mono-, di-, and tricarboxylic acids, aromatic diacids, and di-, tri-, or polyalcohols. In: *Patty's Toxicology* Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2001. <https://doi.org/10.1002/0471435139.tox080>
14. ATSDR. Toxicological profile for diethyl phthalate. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1995. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp73.pdf>
15. Halden RU. Plastics and health risks. *Annual Review of Public Health.* 2010; Vol.31:179-194. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103714>
16. WHO: International programme on chemical safety. *Environmental Health Criteria*; 131. Diethylhexyl phthalate. Geneva. 1992. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37894/9241571314-eng.pdf?sequence=1>
17. Пластификаторы фталатные. Справочник химика 21 века. Химия и химическая технология. С.135 (In Russ.). [Plastifikatory ftalatnye. Spravochnik khimika 21 veka. Khimii i khimicheskaya tekhnologiya. S.135. (In Russ.)] [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://chem21.info/info/486994>; <https://chem21.info/page/129121218225008168182209011086043166244085202077/>
18. Пластификаторы ПВХ: технологии и рынок. Новые химические технологии. Аналитический портал химической промышленности. 2018 (In Russ.). [Plastifikatory PVKh: tekhnologii i rynek. Novye khimicheskie tekhnologii. Analiticheskiy portal khimicheskoy promyshlennosti. 2018 (In Russ.)]. [Accessed August 03, 2021.]. Available from: http://newchemistry.ru/letter.php?n_id=1265
19. Мазитова А.К., Аминова Г.К., Маскова А.Р., Буйлова Е.А. Новые фталатные пластификаторы для поливинилхлоридного линолеума. Журнал «Нефтегазовое дело». 2015;13(3):83-86. (In Russ.). [Mazitova A.K., Aminova G.K., Maskova A.R., Builova E.A. Novye ftalatnye plastifikatory dlia polivinilkhlordnogo linoleuma. Zhurnal «Neftegazovoe delo». 2015;13(3):83-86. (In Russ.)]
20. SCP/RAC. Токсичные добавки в пластике и многооборотная экономика. 2020 (In Russ.). [SCP/RAC. Toksichnyye dobavki v plastike i mnogooborotnaya ekonomika. 2020. (In Russ.)] [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://ipen.org/sites/default/files/documents/plastics_and_additives_-_v1-o-ru.pdf
21. Plasticisers. Information center. 2018. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://www.plasticisers.org/plasticisers/>
22. Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health.* 2007;210(5):623-634. doi:10.1016/j.ijheh.2007.07.011
23. Балан Г.М., Харченко Т.Ф., Левицкая В.Н., Исаева С.С., Харченко О.А., Бубало Н.Н., Повякель Л.И. Потенциальный риск для здоровья фталатных пластификаторов поливинилхлорида (современные аспекты). Современные проблемы токсикологии. 2013;1-2(60-61):38-47 (In Russ.) [Balan G.M., Kharchenko T.F., Levitskaia V.N., Isaeva S.S., Kharchenko O.A., Bubalo N.N., Poviakel' L.I. Potentsial'nyy risk dlya zdorov'ya ftalatnykh plastifikatorov polivinilkhlorida (sovremennyye aspekty). Sovremennyye problemy toksikologii 2013;1-2(60-61):38-47. (In Russ.)]
24. Jarošová A. Phthalic acid esters (PAEs) in the food chain. *Czech J. Food Sci.* 2006;24(5):223-231. doi: 10.17221/3318-CJFS
25. Jaeger RJ, Rubin RJ. Migration of a phthalate ester plasticizer from polyvinyl chloride blood bags into stored human blood and its localization in human tissues. *N Engl J Med.* 1972;287(22):1114-1118. doi:10.1056/NEJM197211302872203
26. Jaeger RJ, Rubin RJ. Extraction, localization, and metabolism of di-2-ethylhexyl phthalate from PVC plastic medical devices. *Environ Health Perspect.* 1973;3:95-102. doi:10.1289/ehp.730395
27. Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health.* 2007;210(5):623-634. doi:10.1016/j.ijheh.2007.07.011
28. Ventrice P, Ventrice D, Russo E, De Sarro G. Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013;36(1):88-96. doi:10.1016/j.etap.2013.03.014
29. Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Карнажицкая Т.Д., Заверненкова Е.О. Изучение зависимости показателя роста детей от концентрации монофталатов в моче. Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017;17(1):62-66. (In Russ.) [Zaitseva NV, Ulanova TS, Karnazhitskaia TD, Zavernenkova EO. Izuchenie zavisimosti pokazatelya rosta detei ot kontsentratsii monoftalatov v moche. Izv. Sarat. un-ta. Nov. ser. Ser. Khimii. Biologiya. Ekologiya. 2017;17(1):62-66. (In Russ.)]
30. Коренева Е.М., Карпенко Н.А., Казак В.А. Экзогенные факторы гипофертильности. Компоненты пластмасс – фталаты. Репродуктивная эндокринология. 2011;2:62-67. (In Russ.) [Koreneva E.M., Karpenko N.A., Kazak V.A. Ekzogennyye faktory gipofertil'nosti. Komponenty plastmass – ftalaty. Reproaktivnaya endokrinologiya. 2011;2:62-67. (In Russ.)]
31. López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, et al. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. *Environ Health Perspect.* 2010;118(4):539-544. doi:10.1289/ehp.0901091
32. Ferguson KK, Loch-Carusio R, Meeker JD. Urinary phthalate metabolites in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress: NHANES 1999–2006. *Environ. Res.* 2011; 111(5):718–726. DOI:10.1016/j.envres.2011.02.002
33. Hauser R, Meeker JD, Singh NP, et al. DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Hum Reprod.*

- 2007;22(3):688-695. doi:10.1093/humrep/del428
34. Kamrin MA. Phthalate risks, phthalate regulation, and public health: a review. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009;12(2):157-174. doi:10.1080/10937400902729226
35. Kimber I, Dearman RJ. An assessment of the ability of phthalates to influence immune and allergic responses. *Toxicology.* 2010;271(3):73-82. doi:10.1016/j.tox.2010.03.020
36. National Research Council (US) Committee on the Health Risks of Phthalates. *Phthalates and Cumulative Risk Assessment: The Tasks Ahead.* Washington (DC): National Academies Press (US); 2008. DOI: 10.17226/12528
37. Calafat AM, McKee RH. Integrating biomonitoring exposure data into the risk assessment process: phthalates [diethyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate] as a case study. *Environ Health Perspect.* 2006;114(11):1783-1789. doi:10.1289/ehp.9059
38. Clark KE, David RM, Guinn R, Kramarz KW, Lampi MA, Staples CA. Modeling Human Exposure to Phthalate Esters: A Comparison of Indirect and Biomonitoring Estimation Methods. *Hum Ecol Risk Assess.* 2011;17(4):923-965. doi:10.1080/10807039.2011.588157
39. Colacino JA, Harris TR, Schecter A. Dietary intake is associated with phthalate body burden in a nationally representative sample. *Environ Health Perspect.* 2010;118(7):998-1003. doi:10.1289/ehp.0901712
40. Wine RN, Li LH, Barnes LH, Gulati DK, Chapin RE. Reproductive toxicity of di-n-butylphthalate in a continuous breeding protocol in Sprague-Dawley rats. *Environ Health Perspect.* 1997;105(1):102-107. doi:10.1289/ehp.97105102
41. González-Castro MI, Olea-Serrano MF, Rivas-Velasco AM, Medina-Rivero E, Ordoñez-Acevedo LG, De León-Rodríguez A. Phthalates and bisphenols migration in Mexican food cans and plastic food containers. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2011;86(6):627-631. doi:10.1007/s00128-011-0266-3
42. Sharman M, Read WA, Castle L, Gilbert J. Levels of di-(2-ethylhexyl)phthalate and total phthalate esters in milk, cream, butter and cheese. *Food Addit Contam.* 1994;11(3):375-385. doi:10.1080/02652039409374236
43. Prokupková G, Holadová K, Poustka J, Hajšlová J. Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water. *Analytica Chimica Acta.* 2002;457:211-223.
44. Fasano E, Bono-Blay F, Cirillo T, Montuori P, Lacorte S. Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl)adipate from food packaging. *Food Contr.* 2012;27:132-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.03.005>
45. Cao XL. Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety.* 2010;9(1):21-43. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x>
46. Balafas D, Shaw KJ, Whitfield FB. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. *Food Chemistry.* 1999;65(3):279-287. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00240-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00240-4)
47. Casajuana N, Lacorte S. New methodology for the determination of phthalate esters, bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether, and nonylphenol in commercial whole milk samples. *J Agric Food Chem.* 2004;52(12):3702-3707. DOI:10.1021/jf040027s
48. Soyeyrt H, Misztal I, Gengler N. Genetic variability of milk components based on mid-infrared spectral data. *J Dairy Sci.* 2010;93(4):1722-1728. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2614>
49. Carrillo JD, Salazar C, Moreta C, Tena M. Determination of phthalates in wine by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry: Fibre comparison and selection. *J. Chromatogr. A.* 2007;1164(1-2):248-261. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.06.059>
50. Duca Gh., Sturza R., Gaina B., Lazacovici D. Analysis of the phthalate content levels in wine products. *Chemistry Journal of Moldova.* 2011;6(2):65-69.
51. Cao XL. Determination of phthalates and adipate in bottled water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2008;1178(1-2):231-238. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.11.095
52. Hsieh SY, Wang CC, Wu SM. Microemulsion electrokinetic chromatography for analysis of phthalates in soft drinks. *Food Chem.* 2013;141(4):3486-3491. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.023
53. Van Holderbeke M, Geerts L, Vanermen G, et al. Determination of contamination pathways of phthalates in food products sold on the Belgian market. *Environ Res.* 2014;134:345-352. doi:10.1016/j.envres.2014.08.012
54. Petersen JH, Breindahl T. Plasticizers in total diet samples, baby food and infant formulae. *Food Addit Contam.* 2000;17(2):133-141. doi:10.1080/026520300283487
55. Tsumura Y, Ishimitsu S, Kaihara A, Yoshii K, Nakamura Y, Tonogai Y. Di(2-ethylhexyl) phthalate contamination of retail packed lunches caused by PVC gloves used in the preparation of foods. *Food Addit Contam.* 2001;18(6):569-579. doi:10.1080/02652030120071
56. Tsumura Y, Ishimitsu S, Saito I, Sakai H, Kobayashi Y, Tonogai Y. Eleven phthalate esters and di(2-ethylhexyl) adipate in one-week duplicate diet samples obtained from hospitals and their estimated daily intake. *Food Additives and Contaminants* 2001;18:449-460. doi: 10.1080/02652030117484
57. Lazacovici D. Monitoring of the phthalate contamination in the wine industry production. Abstract of the dissertation for the degree of Doctor of Chemical Sciences. Chisinau, 2015, 30 p.
58. Jenkins TC., McGuire MA. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *J. Dairy Sci.* 2006;89(4):1302-1310. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1
59. Lin J, Chen W, Zhu H, Wang C. Determination of free and total phthalates in commercial whole milk products in different packaging materials by gas chromatography-mass spectrometry. *J Dairy Sci.* 2015;98(12):8278-8284. doi:10.3168/jds.2015-10066
60. P2.110.1920-04 Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М.: Федеральный центр гоосанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 143 с. (In Russ.) [R2.110.1920-04 Rukovodstvo po otsenke riska dlia zdorov'ia naseleniia pri vozdeistvii khimicheskikh veshchestv, zagriazniaiushchikh okruzhaiushchuiu srediu. M.: Federal'nyi tsentr goosanepidnadzora Minzdrava Rossii. 2004. 143 s. (In Russ.)].
61. Statistical Yearbook of the Republic of Moldova. Main food consumption, annual average per capita, kg. 2019. [Accessed August 03, 2021]. Available from:

- <https://statistica.gov.md/pageview.php?l=ru&id=2193&idc=263>
62. MOT. База данных ICSC. Международные карты химической безопасности (ICSC). 2021. (In Russ.) [MOT. Baza dannykh ICSC. Mezhdunarodnye karty khimicheskoi bezopasnosti (ICSC). 2021. (In Russ.)]. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.listCards3?p_lang=ru
63. ВОЗ. Питание и здоровье в Европе: новая основа для действий. 2005. (NLM Classification: WA 695) (In Russ.) [VOZ. Pitaniie i zdorov'e v Evrope: novaia osnova dlia deistvii. 2005. (In Russ.)]. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0018/74421/E82161R.pdf
64. Directives. Commission directive 2007/19/EC of 30 March 2007. Official Journal of the European Union. L 91/17, 31.3.2007. 20 p. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:091:0017:0036:EN:PDF>
65. Regulations. Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food., L 12/1. 15.1.2011, 89 p. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:012:0001:0089:EN:PDF>
66. Consumer product safety improvement act of 2008. 110th Congress. Public Law 110-314-AUG, 14, 2008, Section 108, 63 p. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://www.congress.gov/110/plaws/publ314/PLAW-110publ314.pdf>
67. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности упаковки». ТР ТС 005/2011 (с изменениями на 18 октября 2016 года). (In Russ.) [Tekhnicheskii reglament Tamozhennogo soiuzа «O bezopasnosti upakovki». TR TS 005/2011 (s izmeneniiami na 18 oktiabria 2016 goda. (In Russ.)]. [Accessed August 03, 2021]. Available from: <https://docs.cntd.ru/document/902299529>
68. European Commission. Commission takes further action to improve consumer protection against toxic substances. Internal Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs. Published on: 11/07/2018. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://ec.europa.eu/growth/content/commission-takes-further-action-improve-consumer-protection-against-toxic-substances_en
69. Постановление Правительства РМ № 278 от 24-04-2013. об утверждении Санитарного регламента о материалах и изделиях из пластмассы, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами. Опубликован: 05.03.2013 в Monitorul Oficial № 97-103 статья № 340 (In Russ.) [Postanovlenie Pravitel'stva RM № 278 ot 24-04-2013. ob utverzhdenii Sanitarnogo reglamenta o materialakh i izdeliakh iz plastmassy, prednaznachennykh dlia kontakta s pishchevymi produktami. Opublikovan: 05.03.2013 v Monitorul Oficial № 97-103 stat'ia № 340. (In Russ.)]. [Accessed August 03, 2021]. Available from: https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=103122&lang=ru
70. Koch HM, Rütther M, Schütze A, et al. Phthalate metabolites in 24-h urine samples of the German Environmental Specimen Bank (ESB) from 1988 to 2015 and a comparison with US NHANES data from 1999 to 2012. Int J Hyg Environ Health. 2017;220(2 Pt A):130-141. doi:10.1016/j.ijheh.2016.11.003
71. EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (CEP), Siliano V, Barat Baviera JM, et al. Update of the risk assessment of di-butylphthalate (DBP), butyl-benzyl-phthalate (BBP), bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), di-isononylphthalate (DINP) and di-isodecylphthalate (DIDP) for use in food contact materials. EFSA J. 2019;17(12):e05838. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5838>

Получено – 22.09.2021, принято к публикации – 22.10.2021

Автор, ответственный за переписку: Бебых Владимир, e-mail: vladbebih1952@gmail.com

Заявление о конфликте интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Отчет о финансировании: Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Цитирование: Бебых В, Сырку Р, Лазакович Д. Оценка риска здоровью при поступлении фталатов с молочными продуктами в полимерной упаковке [Assessment of health risk caused by phthalates penetrating with dairy products in polymer packaging]. Arta Medica. 2021;79(2):31-40.

RECOMANDĂRI PENTRU AUTORI

1. În prezent, **Arta Medica** publică articole originale, articole de meta-analiză, articole de reviu, tehnică chirurgicală, caz clinic, scrisoare către editori, precum și, numai prin invitație – protocoale, rapoarte, dezbateri, editoriale și comentarii editoriale, în domeniile medicinei și sănătății, în limbile Engleză, Română și Rusă.

2. **Manuscrisul** trebuie trimis electronic, prin înregistrare pe pagina web oficială a revistei Arta Medica (<https://artamedica.md/>) de către autorul corespondent, completând Formularul pentru Declarația de autor (Authorship Statement Form) și Acordul de licență (License Agreement). Autorii sunt rugați să viziteze site-ul nostru web <https://artamedica.md/> și să respecte cu strictețe instrucțiunile Etica de publicație și declarația de malpraxis (Publication Ethics and Malpractice Statement).

Toate lucrările trebuie executate după cum urmează:

3. **Manuscrisele** ar trebui să fie tipate în format A4, cu 1,5 distanță între rânduri, cu marginile paginii de 2,0 cm, formatul caracterelor 12 Times New Roman, în format OpenOffice, Microsoft Word sau fișier în format RTF.

4. **Manuscrisele** ar trebui să fie organizate după cum urmează:

- a) Pagina de titlu;
- b) Rezumat și cuvinte cheie (fiecare tip de articol trebuie să includă 3-6 cuvinte cheie);
- c) Text cu următoarele secțiuni: Introducere; Materiale și Metode (sau Pacienți și Metode); Rezultate; Discuții; Figuri (dacă sunt prezente figuri, acestea trebuie completate cu legende); Tabele (dacă sunt prezente tabele, acestea trebuie completate cu legende); Concluzii;
- d) Referințe;
- e) Recunoștințe (opțional);
- f) Declarația de contribuție a autorului;
- g) Declarația de finanțare;
- h) Declarația de conflict de interese.

5. **Articolul original** (prezintă descoperiri științifice noi și originale, explică metodologia de cercetare și furnizează date) trebuie să aibă până la 20 pagini (7500 cuvinte), urmat, ulterior, de cel mult 40 de referințe.

6. **Articolul de meta-analiză** (studiu cantitativ, formal, epidemiologic, utilizat pentru a evalua sistematic studiile anterioare de cercetare, pentru a trage concluzii despre acel grup de cercetare) trebuie să aibă până la 16 pagini (6500 cuvinte), urmat, ulterior, de cel mult 80 de referințe.

7. **Articolul privind tehnica chirurgicală** (articole care raportează noi abordări chirurgicale sau modificări substanțiale ale tehnicilor raportate anterior) trebuie să aibă până la 10 pagini (3750 cuvinte), urmat, ulterior, de cel mult 20 de referințe.

8. **Articolul de reviu literar** (oferă o imagine de ansamblu a unui domeniu sau subiect, sintetizează cercetările anterioare) trebuie să aibă până la 20 pagini (7500 cuvinte), urmat, ulterior, de cel mult 100 de referințe.

9. **Cazurile clinice sau Raportul de caz** (descrie, în scopuri medicale, științifice sau educaționale, o problemă medicală cu unul sau mai mulți pacienți) trebuie să aibă până la 5 pagini (1500 cuvinte), urmat, ulterior, de cel mult 20 de referințe. **Notă:** Tipul de articol Raport de caz și reviu literar se include în această secțiune.

10. **Pagina de titlu** ar trebui să includă:

Titlul (scurt și descriptiv, maximum 100 de caractere, fără abrevieri, chiar dacă sunt cunoscute). Titlul trebuie să fie scris în aceeași limbă ca și articolul (română, rusă sau engleză, respectiv) și tradus în engleză (nu se aplică pentru articole scrise în limba engleză);

Autori (se enumeră toți autorii conform prenumelui complet, inițiala sau numele intermediar complet și numele de familie. Calificările și titlurile academice sunt opționale).

Instituția(-țiile) (se includeți numele tuturor instituțiilor cu locația (departamentul, instituția, orașul, țara) căreia ar trebui să fie atribuită lucrarea. Se utilizează numerele superscript pentru a conecta autorii și departamentul sau instituția lor)

Autorul corespondent (se include numele complet, numărul de telefon și adresa de e-mail).

11. **Rezumatul** – trebuie să fie un rezumat concis al manuscrisului, cu evitarea referințelor (în afara cazului când sunt strict necesare) și fără prescurtări, cu excepția unităților de măsură SI. Rezumatul trebuie să fie scris în aceeași limbă ca și articolul (română, rusă sau engleză, respectiv) și tradus în engleză (nu se aplică pentru articole scrise în limba engleză). Rezumatul structurat include următoarele secțiuni: Obiective (descrie problema abordată

și scopul acesteia), Material și metode (explică modul în care a fost realizat studiul), Rezultate (descrie principalele rezultate cu date specifice și semnificația lor statistică, dacă este posibil), Concluzii (conține principalele concluzii ale studiului), Cuvinte cheie (3-6 cuvinte cheie pentru indexarea subiectelor studiului).

12. Textul principal:

Introducere (face o scurtă trecere în revistă a literaturii pertinente și menționează scopul investigației);

Materiale și metode (sau pacienți și metode) (descrie în detaliu, cu informații adecvate despre pacienți sau animale experimentale; Pentru toate articolele care raportează subiecte umane și animale, primul paragraf trebuie să conțină o declarație scurtă care să confirme aprobarea studiului de către Comitetul de revizuire instituțională (IRB) sau Comitetul de etică (CE) al instituției(-țiilor) unde s-au desfășurat lucrările; Numele generice de medicamente și echipamente ar trebui utilizate în întregul manuscris, cu numele de marcă (numele proprietar) și numele și locația (orașul, statul, țara) al producătorului între paranteze, atunci când sunt menționate pentru prima dată în text);

Rezultate (raportate în mod concis, pot fi prezentate în tabele și figuri, și comentate, pe scurt, în text);

Discuții (o interpretare a rezultatelor și a semnificației lor, cu referire la lucrările pertinente ale altor autori. Ar trebui să fie clare și concise. Importanța studiului și limitările acestuia ar trebui discutate);

Concluzii (conține principalele concluzii ale studiului).

13. Tabelele și figurile trebuie să fie tapate, numerotate consecutiv și urmate de un text explicativ (legendă). De asemenea, acestea necesită a fi menționate în text. Figurile care trebuie să evidențieze o comparație sau detalii sunt publicate în culori. Rezoluțiile figurilor trebuie să fie minim 300dpi pentru imagini color, și minim 1000 dpi pentru desene liniare sau cu predominarea unei singure nuanțe.

14. Referințele trebuie să fie listate în ordinea apariției lor în text (cu numere arabe între paranteze) și trebuie să fie listate numeric în bibliografie. Vă rugăm să utilizați stilul de citări AMA pentru articolele dumneavoastră. Lista de referințe trebuie să conțină mai mult de 50% articole în Scopus sau WoS, mai mult de 80% - cu DOI și nu mai mult de 10% din monografii sau rezumate ale conferințelor. Referințele trebuie să respecte formatul general prezentat în Cerințele uniforme pentru manuscrisele depuse la *Jurnalele Biomedicale*, elaborate de Comitetul Internațional al Editorilor de Reviste Medicale (www.icmje.org), capitolul IV.A.3.g. Referințele în grafie chirilică trebuie traduse în limba latină folosind *American Library Association* și *Tabelele de Romanizare ale Bibliotecii Congresului*, după cum urmează: A = A, Б = B, В = V, Г = G, Д = D, Е = E, Ё = E, Ж = ZH, З = Z, И = I, Й = I, К = K, Л = L, М = M, Н = N, О = O, П = P, Р = R, С = S, Т = T, У = U, Ф = F, Х = KH, Ц = TS, Ч = CH, Ш = SH, Щ = SHCH, Ъ = „, Ы = Y, Ь = ' , Э = E, Ю = IU, Я = IA. Imediat după transliterare, ar trebui să urmeze traducerea titlului în engleză în paranteze pătrate. De exemplu: Давыдов М.И., Акчурин Р.С., Герасимов С.С. și dr. Хирургическое лечение больных раком легкого с тяжелыми сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Хирургия. 2012; 7: 18-26. [Davydov MI, Akchurin RS, Gerasimov SS și Dr. Khirurgicheskoe Lechenie bol'nykh rakom legkogo s tyazhelymi soputstvuyushchimi serdechno-sosudistyimi zabolevaniyami. Khirurgiya. 2012; 7: 18-26. (În Russ.)]

15. Recunoștințe (această secțiune poate fi folosită pentru a recunoaște contribuțiile altor persoane care nu îndeplinesc criteriile ICMJE pentru dreptul de autor (de exemplu, cei care au oferit sprijin administrativ, asistență de scriere, editare a limbii)).

16. Declarația contribuțiilor autorului, Declarația de finanțare, Declarația de conflict de interese trebuie incluse la sfârșitul articolului, formulate corespunzător, conform cerințelor Ghidului pentru autori.

17. Pentru mai multe detalii cu privire la oformarea articolului, încurajăm autorul să acceseze varianta desfășurată a Ghidului pentru autori, pe pagina web a revistei: https://artamedica.md/index.php/artamedica/Ghid_pentru_autori

18. Articolele ce nu corespund cerințelor menționate mai sus vor fi returnate autorilor pentru modificările necesare.

19. Pentru informații suplimentare accesați site-ul revistei <https://artamedica.md/> sau contactați redacția revistei la telefoanele (+373 22) 72-91-18, (+373) 79434240 și prin e-mail: info@artamedica.md