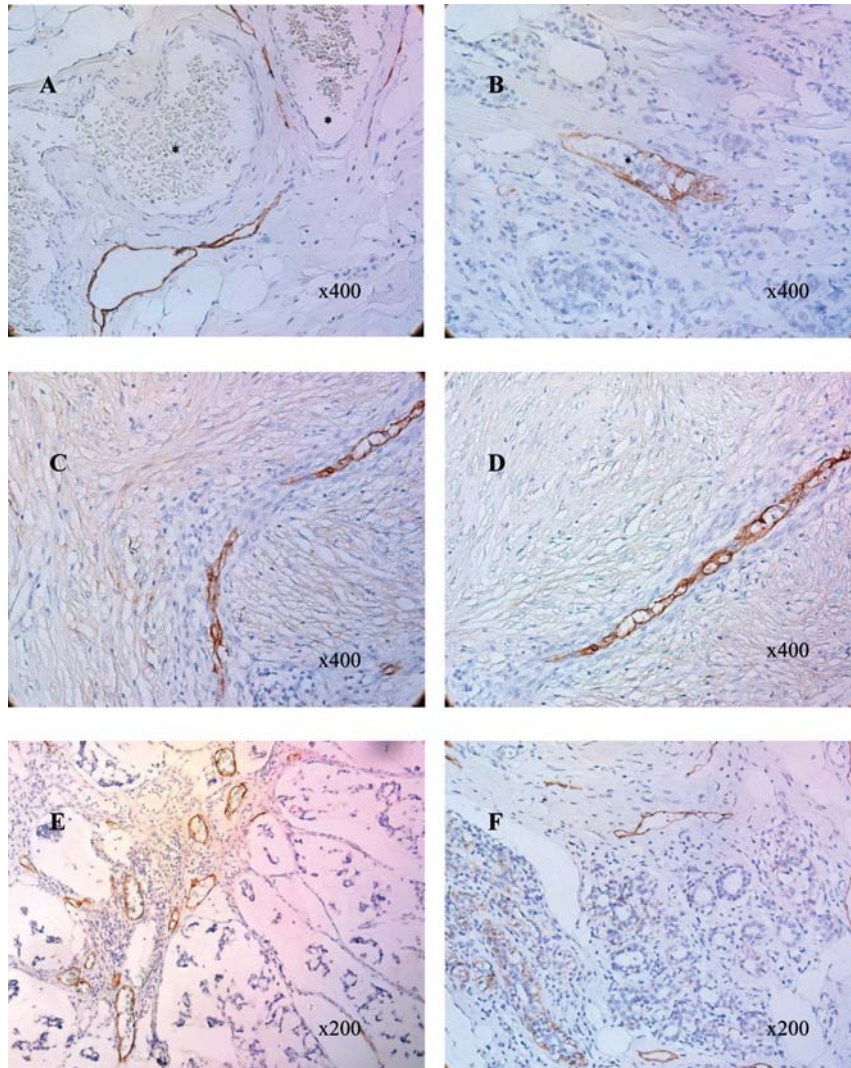
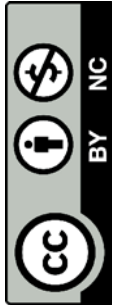


Ecaterina Carpenco *et al.*
Peculiarities of lymphangiogenesis in molecular
subtypes of breast carcinomas: experimental study



SUMAR

CONTENT

ARTICOLE DE CERCETARE		RESEARCH ARTICLES	
Mariana Avricenco, Irina Rusu, Tiberiu Holban Eficacitatea Sofosbuvir / Daclatasvir cu sau fără Ribavirin în ciroza hepatică cu virus hepatitic C: studiu prospectiv, randomizat	4	Mariana Avricenco, Irina Rusu, Tiberiu Holban Sofosbuvir / Daclatasvir efficacy with or without Ribavirin in liver cirrhosis with virus C hepatitis: prospective, randomized study	
Adela Țurcanu, Veronica Cumpătă, Eugen Tcaciuc, Pascal Pineau Profilul hepatitei virale Delta în Republica Moldova – de la transmisia intrafamilială la evoluția clinică	16	Adela Turcanu, Veronica Cumpata, Eugen Tcaciuc, Pascal Pineau Delta viral hepatitis profile in Republic of Moldova: between intra familial transmission and clinical evolution	
Ecaterina Carpenco, Veaceslav Fulga, Lilian Șaptefrați Particularitățile limfangiogenezei în subtipurile moleculare de carcinoame mamare: studiu experimental	26	Ecaterina Carpenco, Veaceslav Fulga, Lilian Saptefrati Peculiarities of lymphangiogenesis in molecular subtypes of breast carcinomas: experimental study	
Alexandru Ghețiu, Dumitru Sîrbu, Vadim Jurjiu Evaluarea defectelor osoase ale crestei alveolare la maxilarul superior	35	Alexandru Ghetiu, Dumitru Sirbu, Vadim Jurjiu Assessment of alveolar ridge bone defects in the upper jaw area	
Iuliana Feghiu, Galina Frunză, Natalia Cernei, Sergiu Șandru Midazolam versus tiopental pentru inducția anesteziei generale. Analiza comparativă a modificărilor hemodinamice și relația acestora cu tonusul cardiac vegetativ preanestezic: studiu clinic prospectiv randomizat	51	Iuliana Feghiu, Galina Frunza, Natalia Cernei, Sergiu Sandru Midazolam versus thiopental for induction of general anesthesia. A comparative analysis of hemodynamic changes and their relation with preanesthetic heart vegetative tonus: prospective, randomized clinical study	
Galina Gorbunov Aprecierea calității vieții copiilor marcați de migrația parentală de muncă conform chestionarului PedsQL™ 4.0: studiu transversal	67	Galina Gorbunov Assessment of the quality of life of children affected by parental labor migration according to the PedsQL™ 4.0 survey: cross-sectional study	
Veronica Chișca, Angela Corduneanu, Natalia Ciobanu, Stanislav Groppa Tratamentul cu sulodexide al retinopatiei diabetice: studiu prospectiv, randomizat	80	Veronica Chisca, Angela Corduneanu, Natalia Ciobanu, Stanislav Groppa Sulodexide treatment of diabetic retinopathy: a prospective, randomized study	
Maria Cojocar-Toma, Cristina Ciobanu, Anna Benea, Nicolae Ciobanu Valorificarea speciilor din colecția Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”	89	Maria Cojocar-Toma, Cristina Ciobanu, Anna Benea, Nicolae Ciobanu Valorization of species from the collection of the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants of the <i>Nicolae Testemitanu</i> State University of Medicine and Pharmacy	
Svetlana Plămădeală, Natalia Belii Top 10 cele mai citate articole relaționate cu infecția SARS-CoV-2 ale anului 2020	101	Svetlana Plamadeala, Natalia Belii Top 10 most cited articles related to SARS-CoV-2 infection of the 2020 year	

Diana Buga, Viorel Prisacari Infecțiile septico-purulente cu <i>Staphylococcus</i> meticilin- rezistent: articol de sinteză	114	Buga Diana, Viorel Prisacari Septic-purulent infections with methicillin-resistant <i>Staphylococcus</i> : review article
RECENZIE DE CARTE Stanislav Groppa Aurelia Glavan. Reabilitarea psihosocială a persoanelor post accident vascular cerebral (monografie)	123	BOOK REVIEW Stanislav Groppa Aurelia Glavan. Psychosocial rehabilitation of people after stroke (monograph)
RECENZIE DE CARTE Eugen Tcaciuc Angela Peltec. Boala ficatului gras nonalcoolic: de la modificarea stilului de viață până la transplant hepatic (monografie)	126	BOOK REVIEW Eugen Tcaciuc Angela Peltec. Nonalcoholic fatty liver disease: from the modification of lifestyle to the liver transplantation (monograph)

Revista de Științe ale Sănătății din Moldova

Moldovan Journal of Health Sciences

Ediție bilingvă: română, engleză

Fondator:

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

Redactor-șef:

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

Colectivul redacției:

Liviu Belii, redactor stilist de limbă română

Viorica Cazac, redactor stilist de limbă engleză

Iana Burmistr, redactor stilist de limbă engleză, netitular

Adresa redacției:

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

Bilingual edition: Romanian, English

Founder:

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

Redactor-in-chief:

Adrian Belii, PhD, university professor

Editorial staff:

Viorica Cazac, English redactor
Liviu Belii, Romanian redactor
Iana Burmistr, English redactor, freelancer

Address of Editorial Office:

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

Editat: Tipografia „Sirius”

Tiraj: 200 ex.

Înregistrat la Ministerul Justiției cu nr. 250 din 01 august 2014
Categoría B (hotărârea comună a CSSDT/CNAA nr. 169 din 21.12.2017)
Înregistrat IBN/IDSI la 16.11.2015



Editorial board

HONORARY MEMBERS

Ababii Ion, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)
Ghidirim Gheorghe, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)
Gudumac Eva, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

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

Bendelic Eugen, PhD, university professor
Bețiu Mircea, PhD, associate professor
Botnaru Victor, PhD, university professor
Brașiște Tudor, PhD, associate professor
Ceban Emil, PhD, university professor
Cernețchi Olga, PhD, university professor
Chesov Dumitru, PhD, associate professor
Chihai Jana, PhD, associate professor
Ciobanu Gheorghe, PhD, university professor
Ciolac Dumitru, MD
Ciubotaru Anatol, PhD, university professor
Codreanu Igor, PhD
Corlăteanu Alexandru, PhD, associate professor
Curocichin Ghenadie, PhD, university professor
Dumbrăveanu Ion, PhD, associate professor
Fulga Veaceslav, PhD, associate professor
Gavriliuc Mihai, PhD, university professor
Gramma Rodica, PhD, MPH, associate professor
Groppa Liliana, PhD, university professor
Groppa Stanislav, PhD, university professor, academician of ASM
Gudumac Valentin, PhD, university professor
Guțu Evghenii, PhD, university professor
Holban Tiberiu, PhD, university professor
Lozan Oleg, PhD, MPH, university professor
Melnic Eugen, PhD, university professor
Mișin Igor, PhD, university professor
Munteanu Oxana, PhD, associate professor
Nacu Viorel, PhD, university professor
Popovici Mihai, PhD, university professor, academician of ASM
Prisacari Viorel, PhD, university professor, academician of ASM
Rojnoveanu Gheorghe, PhD, university professor
Rotaru Natalia, PhD, university professor
Safta Vladimir, PhD, university professor
Șaptefrați Lilian, PhD, university professor

Suharschi Ilie, PhD, associate professor
Tagadiuc Olga, PhD, university professor
Todiraș Mihail, PhD, university professor
Topalo Valentin, PhD, university professor
Țurcan Svetlana, PhD, university professor
Vovc Victor, PhD, university professor

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Acalovschi Iurie, PhD, university professor (Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania)
Beuran Mircea, PhD, university professor (Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania)
Romanenco Iryna, PhD, associate professor (Ukrainian Scientific and Practical Center for Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kiev, Ukraine)
Brull Sorin, PhD, university professor (Mayo Clinic, Jacksonville, Florida, USA)
Cebotari Serghei, PhD, researcher (Hanover Medical School, Hanover, Germany)
Dmytriiev Dmytro, PhD, university professor (N. I. Pirogov, National Medical University, Vinnitsa, Ukraine)
Kostin Sawa, PhD, university professor (Max Planck Institute for Heart and Lung Research, Giessen, Germany)
Grigoraș Ioana, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)
Gurman Gabriel, PhD, professor emeritus (Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel)
Lebedinsky Konstantin, PhD, university professor (Medical Academy of Postgraduate Studies, Sankt Petersburg, Russia)
Popa Florian, PhD, university professor (Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania)
Raica Marius, PhD, university professor (Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania)
Sândesc Dorel, PhD, university professor (Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania)
Târcoveanu Eugen, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)
Tinică Grigore, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)
Toma Vasilovski Ian, PhD, university professor (George Washington University Medical Center, Washington, USA)
Varrassi Justino, PhD, university professor (Paolo Procacci Foundation Rome, Italy)
Zaporozhan Valery, PhD, university professor, academician (Odessa National University of Medicine, Odessa, Ukraine)



ARTICOL DE CERCETARE

Eficacitatea Sofosbuvir / Daclatasvir cu sau fără Ribavirin în ciroza hepatică cu virus hepatitic C: studiu prospectiv, randomizat

Mariana Avricenco^{1†}, Irina Rusu^{2†}, Tiberiu Holban^{2†}

¹Spitalul Clinic de Boli Infecțioase „Toma Ciorbă”, Chișinău, Republica Moldova;

²Catedra de boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 25.02.2020

Data acceptării spre publicare: 20.08.2020

Autor corespondent:

Mariana Avricenco, studentă-doctorandă

Catedra de boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase „Toma Ciorbă”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 163, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: avricencomariana@gmail.com

RESEARCH ARTICLE

Sofosbuvir / Daclatasvir efficacy with or without Ribavirin in liver cirrhosis with virus C hepatitis: prospective, randomized study

Mariana Avricenco^{1†}, Irina Rusu^{2†}, Tiberiu Holban^{2†}

¹Hospital for Infectious Diseases “Toma Ciorba”, Chisinau, Republic of Moldova;

²Chair of infectious diseases, tropical and medical parasitology, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 25.02.2020

Accepted for publication on: 20.08.2020

Corresponding author:

Avricenco Mariana, PhD student

Chair of infectious diseases, tropical and medical parasitology

Hospital for Infectious Diseases “Toma Ciorba”

163, Ștefan cel Mare Blv., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: avricencomariana@gmail.com

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Deși, s-a demonstrat că terapia interferon-free previne evoluția progresivă a maladiei la pacienții cu infecție cronică cu virus hepatitic C, totuși, un risc semnificativ pentru dezvoltarea carcinomului hepatocelular, colangiocarcinomului și decompensării hepatice la pacienții cirofici este încă prezent. De aceea, studierea eficienței terapiei antivirale cu acțiune directă la pacienții cu diferite stadii de ciroză este necesară, pentru elaborarea ulterioară a diferitelor scheme de tratament antiviral și obținerea unui răspuns virusologic susținut la astfel de pacienți.

Ipoteza de cercetare

Terapia cu preparate antivirale cu acțiune directă a simplificat conduita terapeutică și a redus exponențial efectele adverse la pacienții cu ciroză hepatică. Totodată, o abordare terapeutică corectă și o monitorizare permanentă a acestor pacienți poate îmbunătăți calitatea vieții, prelungind semnificativ anii de viață.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Antiviralele cu acțiune directă sunt cea mai bună și rezonabilă opțiune în infecția cronică cu virus hepatitic C, inclusiv pentru pacienții cu ciroză hepatică. Pentru prima dată în Republica Moldova, astfel de pacienți au posibilitatea de a urma acest tratament, fiind posibilă aprecierea eficacității terapiei antivirale prin monitorizarea parametrilor clinici, paraclinici și virusologici.

What is not known, yet about the topic

Although it has been demonstrated that interferon-free therapy prevents the progressive development of disease in patients with chronic hepatitis C virus infection, however, a significant risk to the development of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma and liver compensation in cirrhotic patients is still present. Therefore, the study of the effectiveness of direct anti-viral therapy in patients with different stages of cirrhosis is necessary, for the further development of various anti-viral treatment schemes and the acquisition of a sustained virological response in such patients.

Research hypothesis

Therapy with direct-acting antiviral remedies has simplified therapeutic behavior and exponentially reduced adverse effects on patients with liver cirrhosis. At the same time, a proper therapeutic approach and continuous monitoring of these patients can improve the quality of life, significantly prolonging life years.

Article's added novelty on this scientific topic

Direct action antivirals are the best and reasonable option in chronic hepatitis C virus infection, inclusively for patients with liver cirrhosis. For the first time in the Republic of Moldova, such patients have the possibility to follow this treatment, within the possibility to assess the effectiveness of antiviral therapy through the surveillance of clinical, paraclinical and virological parameters.

Rezumat

Introducere. Infecția cu virusul hepatitic C reprezintă o problemă majoră de sănătate publică. Preparatele antivirale cu acțiune directă au revoluționat tratamentul infecției cu VHC, în special pentru pacienții cu ciroză hepatică. Asocierea acestor preparate cu Ribavirin au demonstrat rate înalte de răspuns virusologic susținut inclusiv la pacienții cu ciroză hepatică. Scopul acestui studiu a fost evaluarea eficacității terapeutice a combinației Sofosbuvir și Daclatasvir cu / fără Ribavirin în ciroza hepatică cu virusul hepatitic C.

Material și metode. Au fost examinați 78 de pacienți cu ciroză hepatică cu virus hepatitic C stadiul Child-Pugh A, B și C. În funcție de schema de tratament administrată, pacienții au fost repartizați în două loturi: I lot – Sofosbuvir și Daclatasvir în asociere cu Ribavirin timp de 12 săptămâni și al II-lea lot – Sofosbuvir și Daclatasvir fără Ribavirin timp de 24 săptămâni. Pacienții au fost monitorizați clinic, paraclinic și virusologic la inițierea terapiei, pe toată perioada tratamentului și 6 luni după finalizarea terapiei antivirale.

Rezultate. Repartiția pacienților în funcție de schema de tratament: Sofosbuvir/Daclatasvir cu Ribavirin – 40 (51,2%) pacienți, Sofosbuvir/Daclatasvir fără Ribavirin – 38 (48,7%). Vârsta medie a pacienților în I lot a constituit $59,4 \pm 8,8$, iar în lotul II – $58,0 \pm 9,3$ ani. Repartiția în funcție de genotip: 1b – 70 (89,7%) pacienți, genotipul 2 – 1 (1,28%) pacient, genotipul 3 – 4 (5,1%) pacienți, cu genotip neidentificat – 3 (3,8%) pacienți. După stadializarea Child-Pugh repartizarea a fost următoarea: Child-Pugh A – 39 (50 %) pacienți, B – 33 (42,3%), C – 6 (7,6%). Experiență de tratament antiviral în antecedente au avut 9 (11,5%) pacienți, 69 (88,4%) – naivi. Repartizarea pacienților după stadiul de fibroză apreciat prin Fibroscan a fost: stadiul F3 (înregistrat la 6 (7,6%) pacienți, stadiul F4 – 72 (92,3%). La 6 luni de la finalizarea terapiei s-a constatat o ameliorare a fibrozei hepatice în ambele loturi. După o lună de tratament doza de Ribavirin a fost redusă cu 200 mg (1 tabletă) la 8 (20%) pacienți și la 6 (15%) a fost întrerupt tratamentul cu Ribavirin. La două luni de tratament, doza de Ribavirin a fost redusă la 5 (12,5%) pacienți. Doza completă de Ribavirin au urmat 32 (80%) pacienți. Răspunsul biochimic s-a obținut în ambele loturi, profilul transaminazelor îmbunătățindu-se la sfârșitul tratamentului. Răspuns virusologic susținut a fost la 73 (93,5%) de pacienți, eșec la tratament – la 5 (6,4%) pacienți.

Concluzii. Schemele care conțin Sofosbuvir și Daclatasvir cu / fără Ribavirin, au prezentat rezultate promițătoare și sunt o opțiune bună de tratament în ciroza hepatică cu virus hepatitic C. Tratamentul, în ansamblu, a fost bine tolerat și nu s-au înregistrat întreruperi ale terapiei antivirale.

Cuvinte cheie: Sofosbuvir, Daclatasvir, Ribavirin, ciroza hepatică, virus hepatitic C.

Introducere

Infecția cu virusul hepatitic C (VHC) este o maladie cu un impact semnificativ la nivel mondial. Aproximativ 1% (71 milioane persoane) din populația lumii este afectată de această in-

Abstract

Introduction. Infection with hepatitis C virus is a major public health problem. Direct-acting antiviral remedies have revolutionized the treatment of HCV infection, especially for patients with liver cirrhosis. The association of these preparations with Ribavirin demonstrated high rates of virological response sustained also in patients with hepatic cirrhosis. The purpose of this study was to assess the therapeutic efficacy of the combination of Sofosbuvir and Daclatasvir with/without Ribavirin in cirrhosis with hepatitis C virus.

Material and methods. There were examined 78 patients with cirrhosis with hepatitis C virus the Child-Pugh score A, B and C. Depending on the treatment scheme administered, patients were divided into two lots: Ist lot – Sofosbuvir and Daclatasvir in association with Ribavirin for 12 weeks and IInd lot – Sofosbuvir and Daclatasvir without Ribavirin for 24 weeks. Patients were clinically, paraclinically and virologically monitored at the initiation of therapy, throughout the treatment period and 6 months after finishing the antiviral therapy.

Results. Patient distribution by treatment scheme: Sofosbuvir / Daclatasvir with Ribavirin – 40 (51,2%) patients, Sofosbuvir / Daclatasvir without Ribavirin – 38 (48,7%). The mean age of patients in the Ist lot was $59,4 \pm 8,8$ years and in lot II – $58,0 \pm 9,3$ years. Genotype distribution: 1b – 70 (89,7%) patients, genotype 2 – 1 (1,28%) patients, genotype 3 – 4 (5,1%) patients, unidentified genotype – 3 (3,8%) patients. After the Child-Pugh Scoring the distribution was as follows: Child-Pugh A – 39 (50%) patients, B – 33 (42,3%), C – 6 (7,6%). The experience of antiviral treatment priorly had 9 (11,5%) patients, 69 (88,4%) naïve. The distribution of patients according to fibrosis stage, Fibroscan-assessed was: F3 stage (recorded in 6 (7,6%) patients, F4 stage – 72 (92,3%). At 6 months after finishing the therapy, there was noted an improvement in liver fibrosis in both lots. After one month of treatment the dose of Ribavirin was reduced by 200 mg (1 tablet) to 8 (20%) patients and in 6 (15%) the treatment with Ribavirin was interrupted. At two months of treatment the dose of Ribavirin has been reduced to 5 (12,5%) patients. The full dose of Ribavirin was followed by 32 (80%) patients. The biochemical response was obtained in both lots, the transaminase profile improved at the end of the treatment. Sustained virological response was in – 73 (93,5%) patients, treatment failure in – 5 (6,4%) patients.

Conclusions. The schemes containing Sofosbuvir and Daclatasvir with/without Ribavirin have shown promising results and are a good option for treatment in liver cirrhosis with hepatitis C virus. The treatment as a whole has been well tolerated and no disruption of antiviral therapy has occurred.

Key words: Sofosbuvir, Daclatasvir, Ribavirin, liver cirrhosis, hepatitis C virus.

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) infection is a disease with a significant impact worldwide. About 1% (71 million people) of the world's population is affected by this infection [1]. For people

fecție [1]. Pentru persoanele cu infecție cronică, riscul de ciroză hepatică (CH) este situat între 15 și 30% pentru o perioadă de 20 ani. Pacienții cu CH cu VHC prezintă un risc anual de decompensare de 3-5%, un risc de dezvoltare a carcinomului hepatocelular (CHC) cuprins între 1-5% [2].

Tratamentul antiviral influențează semnificativ evoluția naturală a infecției cu VHC. Scopul principal al terapiei antivirale este eradicarea virusului prin obținerea răspunsului virologic susținut (RVS). Schemele de tratament cu preparate antivirale cu acțiune directă (PAAD) au revoluționat terapia infecției cronice cu VHC la pacienții cu CH, crescând astfel prognosticul pe termen lung după vindecare [3, 4]. Datorită eficacității mai ridicate, a siguranței și a efectelor secundare mai reduse decât în regimul bazat pe alfa-interferon pegylat (α -PEG-INT) în combinație cu Ribavirin (RBV), PAAD au devenit acum standardul pentru tratarea infecției cronice cu VHC.

Recomandările actuale ale ghidurilor acceptă utilizarea regimuri AAD pe bază de Sofosbuvir (SOF) în combinație cu Ledipasvir (LDV), Velpatasvir sau Daclatasvir (DCV), cu sau fără RBV, pentru tratamentul infecției cu VHC la pacienții cu ciroză. Asocierea PAAD și RBV, au demonstrat rate înalte de RVS, inclusiv la pacienții cu ciroză [5-7]. După obținerea RVS, pacienții cu ciroză hepatică prezintă, totuși, un risc semnificativ pentru dezvoltarea decompensării hepatice sau CHC, de aceea supravegherea pe termen lung este obligatorie.

Scopul acestui studiu a fost evaluarea eficacității terapeutice a combinației Sofosbuvir și Daclatasvir cu / fără Ribavirin în ciroza hepatică cu VHC.

Material și metode

Cercetarea științifică a fost realizată în Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Toma Ciorbă” pe parcursul anilor 2018-2019. În cadrul acestui studiu au fost respectate principiile etice fundamentale de cercetare. Toti pacienții au dat acordul informat pentru înrolare în studiu. Protocolul studiului a fost avizat pozitiv de către Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (procesul verbal nr. 30, din 26.12.2018).

Studiul prospectiv, randomizat, a cuprins 78 pacienți cu ciroză hepatică VHC, care au urmat tratament cu preparate antivirale cu acțiune directă.

Criteriile de includere în studiu au fost: (1) prezența cirozei hepatice cu VHC (stadializarea Child-Pugh A, B, C); (2) ARN VHC pozitiv; (3) elastografia ficatului evaluată prin Fibroscan (fibroză F3 >12,5 kPa, fibroză F4); (4) pacienți naivi sau cu istoric de tratament antiviral cu eșec terapeutic.

Criterii de excludere au fost: (1) sarcina și perioada de alăptare; (2) coinfectia cu HIV, HVA, HVB sau HVD; (3) suprainfecție cu hepatită acută de altă genезă; (4) infecții bacteriene acute sau în acutizare; (5) antecedente de boală autoimună; (6) utilizarea drogurilor de agrement (cocaina, metamfetamina, fenilciclina etc); (6) tratament cu amiodaron; (6) afecțiuni maligne în ultimii 5 ani (inclusiv carcinom hepatocelular).

Pacienții au fost repartizați în 2 loturi în funcție de schema de tratament administrată: I lot – SOF + DCV + RBV; lotul II – SOF + DCV. Repartiția în loturi a fost următoarea: I lot – 40 pacienți, al II-lea lot – 38 pacienți. Monitorizarea s-a efectuat pe

with chronic infection, the risk of liver cirrhosis (LC) is between 15 and 30% for a period of 20 years. Patients with LC with HCV present an annual compensation risk of 3 to 5%, a risk for the development of hepatocellular carcinoma (HCC) between 1 and 5% [2].

The antiviral treatment has a significant influence on the natural development of HCV infection. The primary purpose of antiviral therapy is to eradicate the virus by obtaining sustained virological response (SVR). Treatment schemes with direct acting antivirals (DAA) revolutionized the chronic HCV infection therapy in patients with HC, thus increasing the long-term prognosis after cure [3, 4]. Due to the higher efficacy, safety and more reduced secondary side effects than in the pegylated interferon- α (PEG-IFN- α) regime in combination with Ribavirin (RBV), DAA has now become the standard for treatment of chronic HCV infection.

The current guidelines recommendations support the use of DAA regime on Sofosbuvir (SOF) basis in combination with Ledipasvir (LDV), Velpatasvir or Daclatasvir (DSV) regimes, with or without RBV, for the treatment of HCV infection in patients with cirrhosis. The association of DAA and RBV demonstrated high SVR rates, inclusively in patients with cirrhosis [5-7]. After obtaining SVR, patients with liver cirrhosis present, nevertheless, a significant risk to the development of hepatic or CHC compensation, therefore long-term supervision is compulsory.

The purpose of this study was to assess the therapeutic efficacy of the combination of Sofosbuvir and Daclatasvir with/without Ribavirin in liver cirrhosis with HCV.

Material and methods

Scientific research was carried out in the Hospital for Infectious Diseases *Toma Ciorba* during the years 2018-2019. In this study, fundamental ethical principles of research have been respected. All patients gave informed consent for study entry. The study protocol was endorsed positively by *Nicolae Testemitanu* SUMP Research Ethics Committee (Minutes No. 30, 26.12.2018).

The prospective, randomized study included 78 patients with cirrhosis with HCV who were treated with direct-acting antiviral preparations.

The criteria included in the study was: (1) the presence of cirrhosis with HCV (Child-Pugh Scoring A, B, C); (2) HCV RNA positive; (3) liver elastography assessed by Fibroscan (F3 fibrosis >12.5 kPa, F4 fibrosis); (4) naïve patients or with a history of antiviral treatment with therapeutic failure.

The exclusion criteria were: (1) pregnancy and lactation; (2) HIV, HAV, HBV or HDV co-infection; (3) over-infection with acute hepatitis of other genesis; (4) acute bacterial infections or fallout process; (4) a history of autoimmune disease; (5) the use of recreational drugs (cocaine, methamphetamine, phenylcyclyne, etc.); (6) amiodarone treatment; (6) malignancies over the last 5 years (including hepatocellular carcinoma).

Patients were divided into 2 lots according to the administered treatment schedule: Ist lot – SOF + DCV + RBV; IInd lot – SOF + DCV. The division into lots was as follows: Ist lot – 40 patients, IInd lot – 38 patients. Monitoring was performed

toată perioada tratamentului și încă 6 luni de la finisarea acestuia, fiind evaluați parametrii clinici, paraclinici și virusologici.

Gradul de fibroză hepatică a fost examinat prin Fibroscan. Au fost selectați pacienții cu fibroză F3 (12,5-13,9 kPa) și F4 (>14 kPa).

Prezența infecției cu VHC a fost stabilită, inițial, prin depistarea anticorpilor Anti VHC prin reacția imunoenzimatică și confirmată prin depistarea ARN VHC. Nivelurile serice ale ARN VHC au fost determinate prin reacția de polimerizare în lanț (PCR) în regim de timp real, cu limita inferioară de detecție <25 IU/ml. Determinarea genotipului VHC s-a efectuat, obligatoriu, înainte de inițierea tratamentului.

Diagnosticul a fost stabilit în baza datelor anamnestice, epidemiologice, clinice și examinărilor paraclinice (imagistice, biochimice, serologice și testelor de biologie moleculară).

Lotul I de pacienți a urmat tratament antiviral cu Sofosbuvir (400 mg, *Eva Pharma*, Egipt; *Getz Pharma*, Pakistan) și Daclatasvir (60 mg, *Eva Pharma* Egipt; *Getz Pharma*, Pakistan), administrare orală o dată pe zi, în asociere cu Ribavirin (200 mg, *Hoffmann-La Roche*, Elveția) administrare orală, în funcție de masa corporală, timp de 12 săptămâni. Al II-lea lot – Sofosbuvir și Daclatasvir, administrate orală, o dată pe zi, timp de 24 săptămâni. Ribavirin a fost administrat în funcție de greutatea corporală: >75 kg – 1200 mg (6 tab/zi), <75 kg – 800 mg/zi (4 tab/zi).

Datele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative, medie ± deviere standard. Pentru prelucrare statistică a fost utilizat programul Excel. Test statistic aplicat: t-Student. Diferența a fost considerată statistic semnificativă atunci când $p < 0,05$.

Rezultate

Repartiția pacienților în loturi în funcție de caracteristicile demografice sunt prezentate în Tabelul 1. Astfel, vârsta medie a pacienților în I lot a constituit $59,4 \pm 8,8$ ani, variind în limitele dintre 42 ani și 74 ani; în lotul II, vârsta medie a fost de $58,0 \pm 9,3$, variind între 35-77 de ani. În ambele loturi a predominat sexul feminin: I lot – 29 (72,5%), al II-lea lot – 22 (57,8%) pacienți. Durata infecției în momentul depistării a fost între 1 și 33 de ani, în medie fiind $12,2 \pm 7,4$ ani în I lot și $7,5 \pm 6,7$ ani în lotul II. În ambele loturi, cele mai afectate au fost persoanele cu vârsta mai mare de 56 de ani, aceștia constituind 28 (70%) pacienți în I lot și 26 (68,4%) în lotul II.

Repartiția în funcție de genotip: genotipul 1b – 70 (89,7%) pacienți: I lot – 36 (90%), lotul II – 34 (89,4%); genotipul 2 – 1 (1,28%) pacient în I lot; genotipul 3 – 4 (5,1%) pacienți: 2 (5%) în I lot și 2 (5,2%) în al II-lea lot; cu genotip neidentificat – 3 (3,8%) pacienți: 1 (2,5%) în I lot, 2 (5,2%) în lotul II.

După stadializarea Child-Pugh repartizarea a fost următoarea: Child-Pugh A: I lot 16 (40%) pacienți, lotul II – 23 (60,5%); stadiul B: I lot – 20 (50%), lotul II – 13 (34,2%); stadiul C: I lot – 4 (10%), lotul II – 2 (5,2%). Pacienții cu stadiul Child-Pugh A au constituit 50% din totalul subiecților incluși în studiu (Tabelul 2).

Experiență de tratament antiviral în antecedente au avut 9 (11,5%) pacienți, 69 (88,4%) naivi: 37 (92,5%) pacienți I lot

throughout the treatment period and for 6 more months after its completion, therefore clinical, paraclinical and virological parameters being evaluated.

The degree of liver fibrosis has been examined by Fibroscan. Patients with F3 (12.5-13.9 kPa) and F4 (>14 kPa) fibrosis were selected.

The presence of HCV infection was established initially by detection of HCV anti-HCV antibodies by immunoenzyme reaction and confirmed by detection of HCV RNA. RNA HCV serum levels were determined by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) with a low limit of detection <25 IU/ml. HCV genotype determination was mandatory prior to treatment initiation.

Diagnosis has been established based on anamnestic epidemiological, clinical data, and paraclinical examinations (imaging, biochemical, serological, and molecular biology tests).

Ist lot of patients received antiviral therapy with Sofosbuvir (400 mg, *Eva Pharma*, Egypt; *Getz Pharma*, Pakistan) and Daclatasvir (60 mg, *Eva Pharma* Egypt; *Getz Pharma*, Pakistan), oral use once per day, in combination with Ribavirin (200 mg, *Hoffmann-La Roche*, Switzerland), oral administration, based on body weight, for 12 weeks. The second lot – Sofosbuvir and Daclatasvir, oral administration, once per day, for 24 weeks. Ribavirin has been given according to body weight: >75 kg – 1200 mg (6 tab/day), <75 kg – 800 mg/day (4 tab/day).

Data shall be presented under absolute and relative values, mean ± standard deviation. The Excel program was used for statistical processing. Statistical test applied: t-Student. The difference was considered statistically significant when $p < 0.05$.

Results

The distribution of patients in lots according to demographic characteristics is shown in Table 1. Thus, the mean age of patients in Ist lot was $59,4 \pm 8,8$ years, varying within the range of 42 years to 74 years; in IInd lot, the average age was $58,0 \pm 9,3$, varying between 35 and 77 years. In both lots the female sex prevailed: Ist lot – 29 (72.5%), IInd lot – 22 (57.8%) patients. The duration of infection at the time of detection was between 1 and 33 years, on the average 12.2 ± 7.4 years in lot I and 7.5 ± 6.7 years in lot II. In both lots, the most affected were people aged over 56 years, accounting for 28 (70%) patients in lot I and 26 (68.4%) in lot II.

Distribution by genotype: genotype 1b – 70 (89.7%) patients: Ist lot – 36 (90%), IInd lot – 34 (89.4%); genotype 2 – 1 (1.28%) patient in lot I; genotype 3 – 4 (5.1%) patients: 2 (5%) in Ist lot and 2 (5,2%) in IInd lot; with unidentified genotype – 3 (3.8%) patients: 1 (2,5%) in Ist lot, 2 (5,2%) in IInd lot.

After the Child-Pugh scoring the breakdown was as follows: Child-Pugh A: Ist lot 16 (40%) patients, lot II – 23 (60.5%); stage B: Ist lot – 20 (50%), lot II – 13 (34.2%); stage C: Ist lot – 4 (10%), lot II – 2 (5.2%). Child-Pugh A score patients constituted 50% of the total subjects included in the study (Table 2).

A history of antiviral treatment had 9 (11.5%) patients, 69 (88.4%) naïve: 37 (92.5%) patients lot I and 32 (84.2%) – lot II. Standard antiviral therapy combination PEG-IFN- α and RBV had previously followed 5 (6.4%) patients (Ist lot – 2 and lot II – 3), 4 (5.12%) patients followed the treatment with DAA (SOF

Tabelul 1. Caracteristicile demografice ale pacienților din eșantioanele de studiu.**Table 1.** Demographic characteristics of patients from study samples.

Caracteristica <i>Characteristic</i>	Lot I // <i>Ist lot</i> SOF + DCV + RBV (n=40)	Lot II // <i>IInd lot</i> SOF + DCV (n=38)
Vârsta medie (ani) <i>Mean age (years)</i>	59,4 ± 8,8	58,0 ± 9,3
Extremele de vârstă (ani) <i>Age extremes (years)</i>	42-74	35-77
35-45 ani, n (%) <i>35-45 years, n (%)</i>	4 (10%)	4 (10,5%)
46-55 ani, n (%) <i>46-55 years, n (%)</i>	8 (20%)	8 (21%)
56-65 ani, n (%) <i>56-65 years, n (%)</i>	18 (45%)	18 (47,3%)
>66 ani, n (%) <i>>66 years, n (%)</i>	10 (25%)	8 (21%)
Bărbați, n (%) <i>Males, n (%)</i>	11 (27,5%)	16 (42,10%)
Femei, n (%) <i>Females, n (%)</i>	29 (72,5%)	22 (57,8%)

Notă: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

Note: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin

Tabelul 2. Repartiția pacienților în funcție de stadializarea Child-Pugh și schema de tratament administrat.**Table 2.** Distribution of patients according to Child-Pugh scoring and administered treatment plan.

Stadiul Child-Pugh <i>Child-Pugh score</i>	Lot I // <i>Ist lot</i> SOF + DCV + RBV (n=40)	Lot II // <i>IInd lot</i> SOF + DCV (n=38)	Total <i>Total</i> n (%)
A	16	23	39 (50,0%)
B	20	13	33 (42,3%)
C	4	2	6 (7,6%)

Notă: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

Note: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

și 32 (84,2%) – lotul II. Terapia antivirală standard de asociere α -PEG-IFN și RBV au urmat anterior 5 (6,4%) pacienți (I lot – 2 și lotul II – 3), 4 (5,12%) pacienți au urmat tratament cu PAAD (SOF și LDV) 12 săptămâni: I lot – 1 pacient și 3 pacienți din lotul II. Pacienții ce au urmat tratament cu PAAD în antecedente, sunt în stadiul Child-Pugh A și până la terapia cu SOF și LDV au fost naivi.

Gradul de decompensare a fost evaluat în baza datelor clinice, de laborator și a examenului ultrasonor. Astfel ascita moderată a fost prezentă la 6 (7,6%) pacienți: I lot – 3 pacienți și lotul II – 3 pacienți; varice esofagiene 14 (17,9%) pacienți: lotul I – 6 (15%) pacienți cu varice esofagiene de gr I-II, lotul II – 6 (15,7%) pacienți cu varice esofagiene de gr I-II și 2 (5,2%) pacienți cu varice de gr III-IV; hipersplenism – 12 (15,3%) pacienți: I lot – 9 (22,5%), lotul II – 3 (7,8%) pacienți; splenomegalia – 41 (52,5%) pacienți: lotul I – 20 (50%) și lotul II – 21 (55,2%), iar splenectomie până la tratament a fost efectuată la 1 (1,28%) pacient din I lot.

and LDV) for 12 weeks: lot I – 1 patient and 3 patients in lot II. Patients who have received a history of DAA therapy, are in Child-Pugh A score and up to SOF and LDV therapy were naïve.

The degree of decompensation was assessed on the basis of clinical, laboratory and ultrasonic data. Thus moderate ascites were present in 6 (7.6%) patients: lot I – 3 patients and lot II – 3 patients; Esophageal varices 14 (17.9%) patients: lot I – 6 (15%) patients with I–II gr esophageal varices, lot II – 6 (15.7%) patients with I–II esophageal varices and 2 (5.2%) patients with III–IV varices; hypersplenism – 12 (15.3%) patients: lot I – 9 (22.5%), lot II – 3 (7.8%) patients; splenomegaly – 41 (52.5%) patients: lot I – 20 (50%) and lot II – 21 (55.2%), and splenectomy until the treatment was performed in 1 (1.28%) patient in lot I.

Hepatic fibrosis is a prognostic marker for the development of HCV infection. Therefore, the patients' degree of fibrosis was assessed prior to initiation of antiviral therapy. Thus, F3 stage (12.5-13.9 kPa) according to Metavir-based stage was recorded

Tabelul 3. Repartiția pacienților după stadiul de fibroză apreciat prin Fibroscan la inițierea terapiei antivirale.
Table 3. Distribution of patients following the fibrosis status assessed by Fibroscan on antiviral therapy initiation.

Grad de fibroză (valoarea) Fibrosis level (amount)	Lot I // Ist lot SOF + DCV + RBV (n=40)	Lot II // IInd lot SOF + DCV (n=38)	Total Total n (%)
F3 (12,5 – 13,9 kPa)	3 (7,8%)	3 (7,8%)	6 (7,6%)
F4 (14 – 20 kPa)	8 (20%)	10 (26,3%)	18 (23,0%)
F4 (>20 kPa)	29 (72,5%)	25 (65,7%)	54 (69,2%)

Notă: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

Note: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

Fibroza hepatică este un marker de prognostic privind evoluția infecției cu VHC. De aceea a fost evaluat gradul de fibroză al pacienților prin efectuarea Fibroscanului înainte de inițierea tratamentului antiviral. Astfel, stadiul F3 (12,5-13,9 kPa) după scara Metavir a fost înregistrat la 6 (7,6%) pacienți, stadiul F4 – 72 (92,3%) de pacienți, din care 54 (69,2%) aveau un grad avansat de fibroză hepatică (>20 kPa) (Tabelul 3).

La 6 luni de la finisarea terapiei antivirale 24 (30,7%) pacienți au efectuat Fibroscan de control: 13 (32,5%) pacienți din I lot și 11 (28,9%) pacienți din lotul II. Astfel, din ei la inițierea tratamentului fibroză F3 au prezentat 2 (8,3%) pacienți: 1 (2,5%) pacient din I lot și 1 (2,6%) pacient din lotul II; F4 (14-20 kPa) la 5 (20,8%) pacienți: 2 (5%) pacienți din I lot și 3 (7,8%) din lotul II; F4 (>20 kPa) la 17 (70,8%) pacienți: 10 (25%) pacienți din I lot și 7 (18,4%) din lotul II. La 6 luni după stoparea terapiei antivirale s-a remarcat o reducere a gradului de fibroză în ambele loturi, astfel încât 6 (25%) pacienți au prezentat stadiul F3 (3 (23%) pacienți din I lot și 3 (27,2%) pacienți din lotul II), iar stadiul F4 – 18 pacienți (75%). Fibroză F4 cu valorile cuprinse între 14 și 20 kPa s-a înregistrat la 6 (25%) pacienți (3 (23%) pacienți din I lot și 3 (27,2%) pacienți din lotul II), iar F4 cu valorile >20 kPa – la 12 (50%) pacienți (7 (53,8%) pacienți din I lot și 5 (45,4%) din lotul II). Din cele expuse, putem concluziona că, la inițierea terapiei stadiul F3 de fibroză a fost prezent la 8,3% (2/24), iar stadiul F4 – la 91% (22/24) de pacienți. La 6 luni după tratament cu PAAD: 25% (6/24) de pacienți au prezentat stadiul F3, iar 75% (18/24) – stadiul F4. Regresia fibrozei s-a înregistrat la 91,6% (22/24) de pacienți, la 2 (8,3%) pacienți (F4 >20 kPa din lotul I), fibroza a rămas neschimbată, iar la 1 (4,1%) pacient a progresat cu 2,5 kPa (lotul II).

Tratamentul administrat a influențat benefic evoluția parametrilor hematologici în ambele loturi. S-a remarcat o tendință de creștere a numărului de leucocite și trombocite în ambele loturi. La inițierea tratamentului, leucopenia ($2,0 \times 10^9 / l - 3,9 \times 10^9 / l$) a fost prezentă la 19 (24,3%) pacienți: lotul I – 9 (22,5%), lotul II – 10 (26,3%). După tratament, leucopenia ($2,7 - 3,9 \times 10^9 / l$) s-a păstrat la 8 (10,2%) pacienți: lotul I – 4 (10%), lotul II – 4 (10,5%) pacienți.

Trombocitopenia moderată la inițierea tratamentului a fost prezentă la 45 (57,6%) pacienți: 27 (67,5%) în I lot și 18 (47,3%) în lotul II. Trombocitopenia severă ($46 - 65 \times 10^9 / l$) prezentă la 10 (12,8%) pacienți: 6 (15%) în I lot și 4 (10,5%)

in 6 (7.6%) patients, F4 stage – 72 (92.3%) patients, of which 54 (69.2%) had an advanced liver fibrosis (>20 kPa) (Table 3).

At 6 months after finishing antiviral therapy 24 (30.7%) patients performed Fibroscan control: 13 (32.5%) patients in lot I and 11 (28.9%) patients in lot II. Thus, of them at initiation of F3 fibrosis therapy, 2 (8.3%) patients had: 1 (2.5%) patient in Ist lot and 1 (2.6%) patient in lot II; F4 (14-20 kPa) in 5 (20.8%) patients: 2 (5%) patients in lot I and 3 (7.8%) in lot II; F4 (>20 kPa) in 17 (70.8%) patients: 10 (25%) patients in lot I and 7 (18.4%) in lot II. At 6 months after stopping antiviral therapy, there was a reduction in the level of fibrosis in both groups, so as 6 (25%) patients have presented stage F3 – (3 (23%) patients in Ist lot and 3 (27.2%) patients in lot II) and stage F4-18 patients (75%). F4 fibrosis with values between 14 and 20 kPa was recorded in 6 (25%) patients (3 (23%) patients in the Ist lot and 3 (27.2%) patients in lot II), and F4 with values >20 kPa – in 12 (50%) patients (7 (53.8%) patients in the Ist lot and 5 (45.4%) in lot II). From those exposed, we can conclude that at the point of therapy initiation F3 fibrosis stage was present in 8.3% (2/24), and the F4 stage in 91% (22/24) patients. At 6 months after treatment with DAA: 25% (6/24) patients presented stage F3 and 75% (18/24) – stage F4. Regression of fibrosis occurred in 91.6% (22/24) patients in 2 (8.3%) patients (F4 >20 kPa in Lot I), fibrosis remained unchanged and in 1 (4.1%) patient progressed with 2.5 kPa (lot II).

The treatment administered had a beneficial influence on the progression of hematological parameters in both groups. There was marked an increased tendency in the number of white blood cells and platelets in both groups. At the onset of the treatment, leukopenia ($2.0 \times 10^9 / l - 3.9 \times 10^9 / l$) occurred in 19 (24.3%) patients: lot I – 9 (22.5%), lot II – 10 (26.3%). After treatment, leukopenia ($2.7 - 3.9 \times 10^9 / l$) was maintained in 8 (10.2%) patients: lot I – 4 (10%), lot II – 4 (10.5%) patients.

Moderate thrombocytopenia at the treatment onset was present in 45 (57.6%) patients: 27 (67.5%) in lot I and 18 (47.3%) in lot II. Severe thrombocytopenia ($46 - 65 \times 10^9 / l$) present in 10 (12.8%) patients: 6 (15%) in the Ist lot and 4 (10.5%) in lot II. When finishing antiviral therapy 4 (5.12%) patients maintained severe thrombocytopenia ($48 - 65 \times 10^9 / l$): 3 (7.5%) of lot I and 1 (2.6%) patient in lot II. After treatment, moderate thrombocytopenia was maintained in 30 (38.4%) patients: 20 (50%) in the Ist lot and 10 (26.3%) in lot II. Normal platelets values ($>125 \times 10^9 / l$) at initiation of antiviral therapy showed

în lotul II. La finisarea terapiei antivirale 4 (5,12%) pacienți au menținut trombocitopenia severă ($48-65 \times 10^9 / l$): 3 (7,5%) din I lot și 1 (2,6%) pacient din lotul II. După tratament, trombocitopenia moderată s-a păstrat la 30 (38,4%) pacienți: 20 (50%) în I lot și 10 (26,3%) în lotul II. Valorile normale ale trombocitelor ($>125 \times 10^9 / l$) la inițierea terapiei antivirale au prezentat 23 (29,4%) pacienți: 7 (17,5%) – I lot, 16 (42,1%) – lotul II. La sfârșit de tratament valori normale ale trombocitelor au înregistrat 44 (56,4%) pacienți ($p < 0,001$): 17 (42,5%) din I lot și 27 (71%) din lotul II. Totuși în lotul II numărul pacienților cu valori normale ale trombocitelor după tratament a fost mai mare (71%) comparativ cu I lot (42,5%).

Gradul de activitate a procesului patologic în ficat a fost evaluat după intensitatea sindromului de citoliză (Tabelul 4).

Astfel, la inițierea terapiei antivirale, activitate minimă (alanin aminotransferaza (ALT) și / sau aspartat aminotransferaza (AST) ≤ 2 Norme) au prezentat în I lot: valoarea AlAT ≤ 2 Norme la 8 (20%) pacienți, AsAT la 13 (32,5%) pacienți; lotul II: AlAT – 18 (47,3%) pacienți, AsAT – 12 (31,5%). Activitate moderată (ALT și / sau AST > 2 Norme și < 5 Norme) au înregistrat în I lot: AlAT – 24 (60%) pacienți, AsAT – 23 (57,5%); lotul

23 (29,4%) pacienți: 7 (17,5%) – Ist lot, 16 (42,1%) – lot II. At the end of treatment, normal platelets values had registered 44 (56,4%) patients ($p < 0,001$): 17 (42,5%) of lot I and 27 (71%) of lot II. However, in the IInd lot the number of patients with normal platelet levels after treatment was higher (71%) than in lot I (42,5%).

The degree of activity of the pathological process in the liver has been evaluated according to the cytolysis syndrome intensity (Table 4).

Thus, at the initiation of antiviral therapy, minimal activity (alanine aminotransferase (ALT) and/or aspartate aminotransferase (AST) ≤ 2 Norms) had shown in lot I: ALT value ≤ 2 Norms in 8 (20%) patients, AST in 13 (32,5%) patients; lot II: ALT – 18 (47,3%) patients, AST – 12 (31,5%). Moderate activity (ALT and/or AST > 2 Norms and < 5 Norms) recorded in lot I: ALT – 24 (60%) patients, AST – 23 (57,5%); lot II: ALT – 10 (26,3%) patients, AST – 20 (52,6%). Maximum activity (ALT and/or AST ≥ 5 Norms) was present in lot I: ALT – 1 (2,5%) patient; lot II: ALT – 2 (5,2%) patients, AST – 2 (5,2%). Normal ALT values had 7 (17,5%) patients in lot I and 8 (21%) patients in lot II. In 4 (10%) patients in lot I and 4 (10,5%) in lot II, normal AST

Tabelul 4. Evaluarea parametrilor biochimici înainte și după tratament.

Table 4. Evaluation of biochemical parameters before and after treatment.

Parametri Parameters	Lot I // Ist lot SOF + DCV + RBV (n=40)		Lot II // II nd lot SOF + DCV (n=38)		p
	Inițierea tratamentului Treatment initiation	După tratament Post treatment	Inițierea tratamentului Treatment initiation	După tratament Post treatment	
AlAT, U/l	105 ± 58,2	27,7 ± 14,8	93,4 ± 58,3	33,9 ± 14,9	ns
▪ N (0-49 U/l), n (%)	7 (17,5%)	39 (97,5%)	8 (21%)	36 (94,7%)	<0,001
▪ <2N, n (%)	8 (20%)	1 (2,5%)	18 (47,3%)	2 (5,2%)	<0,05
▪ 2N<5N, n (%)	24 (60%)	0	10 (26,3%)	0	NA
▪ $\geq 5N$, n (%)	1 (2,5%)	0	2 (5,2%)	0	NA
AsAT, U/l	102,7 ± 50,8	34,1 ± 24,4	93,9 ± 54,2	37,2 ± 17,1	ns
▪ N (0-46 U/l), n (%)	4 (10%)	36 (90%)	4 (10,5%)	34 (89,4%)	<0,001
▪ <2N, n (%)	13 (32,5%)	4 (10%)	12 (31,5%)	4 (10,5%)	<0,05
▪ 2N<5N, n (%)	23 (57,5%)	0	20 (52,6%)	0	NA
▪ $\geq 5N$, n (%)	0	0	2 (5,2%)	0	NA
GGTP, U/l	103,6 ± 122,8	38,7 ± 19,2	82,6 ± 83,3	44,6 ± 26,8	ns
Bilirubina totală, $\mu\text{mol/l}$ Total bilirubine, $\mu\text{mol/l}$	26,4 ± 10,7	22,3 ± 7,4	17,7 ± 10,2	14,1 ± 6,2	ns
▪ N (5-21 $\mu\text{mol/l}$), n (%)	26 (65%)	16 (40%)	26 (68,4%)	35 (92,1%)	<0,05
▪ 22-30 $\mu\text{mol/l}$, n (%)	10 (25%)	13 (32,5%)	5 (13,1%)	2 (5,2%)	ns
▪ ≥ 31 $\mu\text{mol/l}$, n (%)	4 (10%)	11 (27,5%)	7 (18,4%)	1 (2,6%)	<0,05

Notă: Test statistic aplicat: t-Student. SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin; AlAT – alanin aminotransferaza; AsAT – aspartat aminotransferaza; GGTP – gama-glutamyl-transpeptidaza; N – valoarea normală. NA – neaplicabil; ns – statistic nesemnificativ ($p \geq 0,05$).

Note: Statistical test applied: t-Student. SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; GGT – gamma-glutamyl-transpeptidase; NV – normal value; NA – not applicable; ns – statistically insignificant ($p \geq 0,05$).

II: ALAT – 10 (26,3%) pacienți, AsAT – 20 (52,6%). Activitate maximă (ALT și / sau AST ≥ 5 Norme) a fost prezentă în I lot: ALAT – 1 (2,5%) pacient; lotul II: ALAT – 2 (5,2%) pacienți, AsAT – 2 (5,2%). Valori normale ale ALAT au avut 7 (17,5%) pacienți în I lot și 8 (21%) pacienți în al II-lea lot. La 4 (10%) pacienți în I lot și 4 (10,5%) în lotul II s-au înregistrat valori normale ale AsAT la inițierea terapiei antivirale. Dinamica normalizării a fost similară pentru ambii parametri biochimici. Micșorarea valorilor, atât ALAT, cât și AsAT, s-a remarcat chiar în a doua săptămână de tratament în ambele loturi. Astfel la sfârșit de tratament în I lot valori normale ale ALAT au prezentat 39 (97,5%) pacienți și 36 (90%) pacienți au avut valori normale ale AsAT. În lotul II 36 (94,7%) pacienți au înregistrat valori normale ale ALAT și 34 (89,4%) ale AsAT.

Gama-glutamyl-transpeptidaza (GGT) și bilirubina totală sunt indicatori ai colestazei, ce au prezentat, de asemenea, oscilații sub tratament antiviral (Tabelul 4). Valorile GGTP nu s-au mărit în urma tratamentului, ceea ce demonstrează absența efectului toxic; dimpotrivă acest indice este în scădere după tratament în ambele loturi, însă fără diferențe statistic veridice ($p > 0,05$). Dinamica bilirubinei totale de asemenea a fost influențată de tratamentul antiviral în ambele loturi (Tabelul 4). La inițierea terapiei antivirale valori ale bilirubinei totale între 22-30 $\mu\text{mol/l}$: în I lot – 10 (25%) pacienți și 5 (13,1%) pacienți în lotul II. Valori ale bilirubinei totale mai mari de 31 $\mu\text{mol/l}$ la inițierea terapiei antivirale au prezentat 4 (10%) pacienți în I lot și 7 (18,4%) în lotul II. La sfârșitul terapiei antivirale în I lot 24 (60%) pacienți au înregistrat valori ale bilirubinei mai mari de 22 $\mu\text{mol/l}$, iar în lotul II numai 3 (7,8%) pacienți au prezentat hiperbilirubinemie. Prin urmare, pacienții din lotul II au prezentat o scădere a valorilor bilirubinei sub tratament antiviral, pe când cei din I lot, au înregistrat creșteri ale bilirubinei în urma terapiei antivirale ($p < 0,05$).

Ribavirina s-a administrat în funcție de masa corporală. Masa corporală mai mică de 75 kg au avut 12 (30%) pacienți. După prima lună de tratament doza de RBV a fost redusă cu 200 mg (1 tabletă) la 8 (20%) pacienți: 6 pacienți au dezvoltat anemie moderată (hemoglobina (Hb) 8,2-10 g/dl) (Child-Pugh B, C), iar 2 pacienți acuzau astenie, cefalee, periodic accese de hipertensiune arterială (Child-Pugh A). A fost întrerupt tratamentul cu RBV la 6 (15%) pacienți: 2 (5%) pacienți au dezvoltat anemie severă (Hb < 7 g/dl), 4 (10%) pacienți din cauza icterului (bilirubina totală > 60 $\mu\text{mol/l}$). După două luni de tratament doza de RBV a fost redusă la 5 (12,5%) pacienți, din cauza anemiei moderate (Hb 8,5-10 g/dl) (Tabelul 5). Doza completă de RBV au urmat 32 (80%) pacienți: Child-Pugh A – 13 pacienți, Child-pugh B – 19. După finisarea tratamentului cu DCV + SOF + RBV valorile Hb s-au restabilit la toți pacienții cu anemie.

Răspuns virusologic susținut la tratamentul cu PAAD cu sau fără RBV, ARN VHC nedetectabil după 6 luni de la finisarea terapiei, 73 (93,5%) pacienți. În I lot – 37 (92,5%) pacienți și 36 (94,1%) pacienți în al II-lea lot. Eșec la tratament au avut 5 (6,4%) pacienți. Caracteristicile pacienților cu eșec la tratament sunt elucidate în Tabelul 6. Din ei, 2 pacienți au

values were observed at the initiation of antiviral therapy. The dynamics of normalization were similar for both biochemical parameters. Low ALT as well as AST levels, were observed even within the second week of treatment in both groups. Thus at the end of treatment in the 1st lot, normal ALT values had presented 39 (97.5%) patients and 36 (90%) patients had normal AST values. In lot II 36 (94.7%) patients had recorded normal ALT and 34 (89.4%) AST values.

Gamma-glutamyl-transpeptidase (GGT) and total bilirubin are cholestasis indices, which also showed anti-viral-treatment oscillations (Table 4). GGT values were not increased as a result of the treatment, which demonstrates no toxic effect; on the contrary, this index is declining after treatment in both lots, but without genuine statistical differences ($p > 0.05$). Total bilirubin dynamics were also influenced by antiviral treatment in both groups (Table 4). On antiviral therapy initiation total bilirubin values between 22-30 $\mu\text{mol/l}$: in lot I – 10 (25%) patients and 5 (13.1%) patients in lot II. Total bilirubin values greater than 31 $\mu\text{mol/l}$ at the initiation of antiviral therapy showed 4 (10%) patients in lot I and 7 (18.4%) in lot II. At the end of antiviral therapy in lot I – 24 (60%) patients had recorded bilirubin values greater than 22 $\mu\text{mol/l}$ and in lot II only 3 (7.8%) patients had hyperbilirubinaemia. Therefore, patients in lot II had a decrease in bilirubin levels on antiviral therapy, whereas those from lot I had registered increases in bilirubin following antiviral therapy ($p < 0.05$).

Ribavirin was administered taking into account the body weight. A body mass less than 75 kg had 12 (30%) patients. After the first month of treatment, the dose of RBV was reduced by 200 mg (1 tablet) in 8 (20%) patients: 6 patients developed moderate anemia (hemoglobin (Hb) 8.2 – 10 g/dl) (Child-Pugh B, C) and 2 patients were complaining of asthenia, headache, periodic outbreaks of arterial hypertension (Child-Pugh A). The treatment with RBV was discontinued in 6 (15%) patients: 2 (5%) patients developed severe anemia (Hb < 7 g/dl), 4 (10%) patients due to jaundice (total bilirubin > 60 $\mu\text{mol/l}$). After two months of treatment, the dose of RBV was reduced in 5 (12.5%) patients, due to moderate anemia (Hb 8.5-10 g/dl) (Table 5). The complete dose of RBV followed 32 (80%) patients: Child-Pugh A – 13 patients, Child-Pugh B – 19. After the end of the treatment with DCV + SOF + RBV, Hb values have been restored in all patients with anemia.

Sustained virological response with DAA treatment, or without RBV HCV RNA undetectable after 6 months from therapy cessation, 73 (93.5%) patients. In the 1st lot – 37 (92.5%) patients and 36 (94.1%) patients in II lot. Treatment failure had 5 (6.4%) patients. Treatment failure characteristics of patients are elucidated in Table 6. Of these, 2 patients died after finishing therapy, both of which were on SOF+DCV+RBV therapy: 1 patient after completion of therapy, diagnosed with hepatocarcinoma, 1 patient two months after finishing treatment, diagnosed with pancreas head cancer. Thus, of the 33 (42.3%) patients with Child-Pugh B stage cirrhosis, 2 (6%) failed the treatment. Of 6 (7.6%) Child-Pugh C stage patients, 2 (33.3%) withstood failure for antiviral therapy. Therefore, it was ascertained that SVR rates were found to be decreased in patients with Child-

decedat după finalizarea terapiei, ambii fiind în tratament cu SOF+DCV+RBV: 1 pacient după finalizarea terapiei, fiind diagnosticat cu hepatocarcinom, 1 pacient la două luni de la finalizarea tratamentului, diagnosticat cu cancer de cap de pancreas. Astfel, din cei 33 (42,3%) pacienți cu ciroză stadiul Child-Pugh B, 2 (6%) au avut eșec la tratament. Din 6 (7,6%) pacienți cu stadiul Child-Pugh C, 2 (33,3%) au suportat eșec la terapia antivirală. Prin urmare, s-a constatat, că ratele RVS sunt diminuate la pacienții cu ciroză Child-Pugh B și C, mai cu seamă la cei cu fibroză avansată (>20 kPa, scara Metavir). De asemenea, s-a remarcat, că din cei 5 pacienți ce au urmat în antecedente tratament antiviral standard de asociere alfa-PEG-INT și RBV, 2 (40%) pacienți au înregistrat eșec și la această terapie.

Reacții adverse majore, care ar impune întreruperea tratamentului cu PAAD nu au fost înregistrate. Mai frecvent efecte adverse (EA) au prezentat pacienții din I lot, ele fiind legate de administrarea de RBV. Cele mai frecvente EA raportate au fost: astenie – 17 (21,7%) pacienți (10 – I lot, 7 – lotul II), cefalee – 15 (19,2%) pacienți (10 – I lot, 5 – lotul II), grețuri – 5 (6,4%) pacienți (3 – I lot, 2 – lotul II), diaree – 7 (8,9%) pacienți (5 – I lot, 2 – lotul II), insomnie – 2 (2,5%) (I lot), erupții – 2 (2,5%) pacienți (I lot). Totuși, EA prezente nu au influențat răspunsul la terapia antivirală.

Pugh B and C cirrhosis, particularly in those with advanced fibrosis (>20 kPa, Metavir scale). It was also noted that of the 5 patients who followed priorly the associative common antiviral therapy for PEG-IFN- α and RBV, 2 (40%) patients recorded failure in this therapy as well.

Significant side effects, which would require discontinuation of DAA therapy, have not been recorded. More common adverse effects (AE) have experienced patients in lot I, which are related to RBV administration. The most common reported AE are: asthenia – 17 (21.7%) patients (10 – Ist lot, 7 – lot II), headache – 15 (19.2%) patients (10 – Ist lot, 5 – lot II), nausea – 5 (6.4%) patients (3 – Ist lot, 2 – lot II), diarrhea – 7 (8.9%) patients (5 – Ist lot, 2 – lot II), insomnia – 2 (2.5%) (Ist lot), rash – 2 (2.5%) patients (lot I). However, the present AE did not influence the response to antiviral therapy.

Discussion

The primary purpose of DAA antiviral therapy in patients with liver cirrhosis is to eradicate HCV infection, to prevent liver and extrahepatic complications, to improve quality of life, and to prevent transmission of infection.

Before taking a decision in favor of a specific treatment regimen with DAA, you should consider several factors that might

Tabelul 5. Ajustarea dozelor de Ribavirin în I lot pe pracsursul terapiei.

Table 5. Ribavirin dose adjustment in the Ist lot during therapy.

Perioada tratamentului <i>Treatment period</i>	Stadializarea Child-Pugh <i>Child-Pugh scoring</i>		
	A	B	C
I lună de tratament // <i>Ist month after therapy</i>			
Redusă cu 200 mg <i>Reduced by 200 mg</i>	2 (5%)	3 (7,5%)	3 (7,5%)
Întrerupt tratamentul <i>Discontinued treatment</i>	1 (2,5%)	2 (5%)	3 (7,5%)
II-a lună de tratament // <i>IInd month after therapy</i>			
Redusă cu 200 mg <i>Reduced by 200 mg</i>	2 (5%)	2 (5%)	1 (2,5%)

Notă: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

Note: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin.

Tabelul 6. Caracteristicile pacienților cu eșec la tratament.

Table 6. Characteristics of patients with treatment failure.

Nr <i>No</i>	Sex <i>Sex</i>	Vârstă <i>Age</i>	Stadiul Child-Pugh <i>Child-Pugh score</i>	Experiență de tratament antiviral <i>Antiviral treatment experience</i>	Schema de tratament urmată <i>Treatment schedule followed</i>	Valorile fibrosan <i>Fibroscan values</i>
1.	F	44	A	Naiv	SOF + DCV + RBV*	14,0
2.	M	53	C	Naiv	SOF + DCV	43,5
3.	M	65	B	Naiv	SOF + DCV	20,0
4.	M	69	C	pegINT + RBV	SOF + DCV + RBV	70,6
5.	M	60	B	pegINT + RBV	SOF + DCV + RBV	38,0

Notă: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin; pegINT – interferon pegilat.

Note: SOF – Sofosbuvir; DCV – Daclatasvir; RBV – Ribavirin; (PEG-IFN) – pegylated interferon.

Discuții

Scopul principal al terapiei antivirale cu PAAD la pacienții cu ciroză hepatică este eradicarea infecției cu VHC, prevenirea complicațiilor hepatice și extrahepatice, îmbunătățirea calității vieții și prevenirea transmiterii infecției.

Înainte de a lua decizia în favoarea unui anumit regim de tratament cu PAAD, trebuie să luați în considerație mai mulți factori ce ar putea influența această terapie. În primul rând, trebuie determinat genotipul VHC. În al doilea rând, trebuie luate în considerare terapiile antivirale anterioare. Pacienții cu recidivă sau fără răspuns după tratamentul cu α -PEG-INT și RBV au încă șanse mari de eradicare virală. Totuși, tratamente anterioare urmate cu PAAD pot fi asociate cu rezistență, ceea ce ar influența rezultatul terapiei cu alte regimuri PAAD [8]. În aceste cazuri se recomandă analiza rezistenței pentru a selecta o combinație de PAAD eficientă.

Înainte de inițierea terapiei antivirale, pacienții cu ciroză hepatică trebuie examinați pentru a constata prezența / absența varicelor sofagiene, CHC și semnelor de decompensare hepatică (encefalopatia hepatică, ascita etc.). În general, șansa de a realiza RVS cu PAAD la pacienții cu ciroză compensată (Child-Pugh A) este comparabilă cu pacienții non-cirolici. Totuși, există un risc pentru decompensare și insuficiență hepatică acută în timpul și după tratament [8]. De aceea, pacienții cu ciroză avansată și decompensată trebuie tratați și monitorizați în centre cu experiență, iar la necesitate să fie evaluată posibilitatea unui transplant de ficat. Pacienții cu ciroză hepatică decompensată și fibroză hepatică avansată pot avea un beneficiu mai mare de pe urma terapiei antivirale după un transplant hepatic [6].

Fibroza hepatică, consecutiv infecției cronice este factorul cel mai important legat de morbiditate și mortalitate prin VHC. Rezultatele studiului nostru au relevat o ameliorare a fibrozei hepatice la 6 luni după terapia cu PAAD cu / fără RBV. Astfel, la inițierea terapiei stadiul F3 de fibroză a fost prezent la 8,3% (2/24) pacienți și F4 la 91% (22/24) pacienți, iar la 6 luni de la finisarea terapiei, F3 s-a înregistrat la 25% (6/24) de pacienți și F4 la 75% (18/24). Nu au existat asocieri semnificative între regresia fibrozei și sexul, vârsta pacientului sau schema de tratament urmată.

Tratamentul cu SOF / DCV cu sau fără RBV a influențat benefic evoluția parametrilor hematologici în ambele loturi. Astfel, s-a remarcat o tendință de creștere a numărului de leucocite și trombocite în ambele loturi. Cu toate acestea, s-a remarcat că, în lotul II numărul pacienților cu valori normale ale trombocitelor după tratament a fost mai mare (71%) comparativ cu I lot (42,5%).

Combinația dintre SOF / DCV cu / fără RBV influențează evident sindromul de hepatocitoliză la pacienții cu ciroză hepatică, profilul transaminazelor îmbunătățindu-se semnificativ la sfârșitul tratamentului (peste 90% din pacienți au avut valori normale în ambele loturi), înregistrându-se răspunsul biochimic. Totuși, valorile AsAT (90% – I lot și 89,4% – lotul II) au înregistrat o descendență mai lentă în urma terapiei antivirale comparativ cu valorile AlAT (97,5% – I lot și 94,7% – lotul II) în ambele loturi.

influence this therapy. First, the HCV genotype must be determined. Secondly, previous antiviral therapies must be regarded. Patients with relapse or non-responsive after treatment with PEG-IFN- α and RBV are still likely to have high possibilities of viral eradication. However, previous treatments followed with DAA may be associated with resistance, which would influence therapy outcome with other DAA regimes [8]. In these cases, resistance analysis is recommended in order to select an effective combination of DAA.

Prior to antiviral therapy initiation, patients with cirrhosis of the liver should be examined to ascertain the presence/absence of esophageal varices, HCC and signs of hepatic decompensation (hepatic encephalopathy, ascites, etc.). Generally, the chance to achieve SVR with DAA in patients with compensated cirrhosis (Child-Pugh A) is comparable to non-cirrhotic patients. However, there is a risk for decompensation and acute hepatic failure during and after treatment [8]. Therefore, patients with advanced and decompensated cirrhosis should be treated and monitored in experienced centers, and the possibility of liver transplantation assessed when necessary. Patients with decompensated liver cirrhosis and advanced liver fibrosis may have a greater benefit from antiviral therapy after a liver transplant [6].

Liver fibrosis, resulting from chronic infection, is the most important factor related to HCV morbidity and mortality. The results of our study showed an improvement in liver fibrosis at 6 months after DAA therapy with/without RBV. Thus, on therapy onset in F3 stage fibrosis was present in 8.3% (2/24) patients and F4 in 91% (22/24) patients and at 6 months after finishing therapy, F3 was recorded in 25% (6/24) patients and F4 in 75% (18/24). There were no significant association between fibrosis regression and gender, patient age or treatment regimen followed.

Treatment with SOF/DCV with or without RBV had a beneficial influence on the progression of hematological parameters in both lots. Thus, there was noted a tendency in the increase of white blood cells and platelets in both groups. However, it was noted that in lot II the number of patients with normal value platelets after treatment was higher (71%) comparable to lot I (42.5%).

The combination between SOF / DCV with / without RBV clearly influences hepatic cytolysis syndrome in patients with liver cirrhosis, with a significant improvement of transaminase profile by the end of the treatment (more than 90% of patients had normal values in both lots), with biochemical response. However, AST levels (90% – Ist lot and 89.4% – lot II) registered a slow decrease as a result of antiviral therapy compared to ALT levels (97.5% – Ist lot and 94.7% – lot II) in both lots.

Cholestasis syndrome also exhibited oscillations under the influence of antiviral therapy. GGT values were in decline in both lots after treatment. Total bilirubin levels increased as a result of antiviral therapy in the Ist lot of patients (total bilirubin levels >22 μ mol/l at the initiation of antiviral therapy were 35% (14/40) patients compared to 60% (24/40) post-treatment).

The combination of SOF / DCV with or without RBV has been

Sindromul de coleastă, de asemenea, a prezentat oscilații sub influența terapiei antivirale. Valorile GGTP au fost în scădere în ambele loturi după tratament. Valorile bilirubinei totale au înregistrat creșteri în urma terapiei antivirale la pacienții din I lot (valorile bilirubinei totale >22 μmol/l la inițierea terapiei antivirale au avut 35% (14/40) pacienți comparativ cu 60% (24/40) după tratament).

Asocierea SOF / DCV cu sau fără RBV s-a dovedit a fi eficientă în tratarea infecției VHC genotipul 1, 2 și 3 cu o rată RVS de peste 89% chiar și la pacienții cu ciroză hepatică [1, 6]. Acest fapt a fost confirmat și în studiul nostru, RVS în ambele scheme de tratament a constituit peste 92%. Datele mai multor studii, inclusiv și cercetarea noastră, au arătat că eficacitatea terapiei cu PAAD scade odată cu gradul de decompensare al cirozei [5, 7, 8]. Pacienții cu stadiul Child-Pugh B și C mai frecvent manifestă efecte adverse la tratamentul cu RBV. De asemenea, ratele RVS sunt diminuate la pacienții cu ciroză Child-Pugh B și C mai cu seamă la cei cu fibroză avansată (>20 kPa, scara Metavir).

Sunt puține studii ce descriu efectele adverse asociate terapiei cu PAAD la pacienții cu ciroză hepatică. Cele mai frecvente EA raportate, în studiul nostru, au fost: astenie (21,7%), cefalee (19,2%), grețuri (6,4%), diaree (8,9%), insomnie (2,5%), erupții (2,5%). Mai frecvent EA au manifestat pacienții din I lot (SOF + DCV + RBV).

Majoritatea efectelor adverse au fost legate de administrarea de RBV, de aceea este nevoie de ajustarea dozelor. Anemia indusă de RBV poate fi moderată / severă, fapt ce necesită ajustarea dozei sau anularea terapiei cu acest preparat. La pacienții cu ciroză decompensată, se sugerează administrarea RBV cu o doză inițială de 600 mg/zi și crescută în funcție de tolerabilitatea pacienților. S-a remarcat că cel mai frecvent, reacții adverse la RBV manifestă pacienții cu un grad mai avansat de ciroză. Studiile efectuate la astfel de pacienți, inclusiv și studiul nostru au demonstrat că anularea RBV sau scăderea dozei în timpul tratamentului nu influențează semnificativ răspunsul virusologic la tratament [10, 11]. Tratamentul în ansamblu a fost bine tolerat în ambele loturi și nu s-au înregistrat întreruperi ale terapiei cu PAAD.

Deși, s-a dovedit că un RVS la tratament antiviral cu PAAD induce regresia cirozei hepatice și reduce riscul de mortalitate la pacienții cirofici, totuși, un risc semnificativ pentru dezvoltarea CHC, colangiocarcinomului și decompensării hepatice este încă prezent, iar supravegherea pe termen lung este obligatorie [8]. Rezultatele studiilor au arătat că, la acești pacienți se reduce semnificativ riscul comparativ cu cei ce au avut eșec la tratament.

Concluzii

1) Tratamentul antiviral cu SOF / DCV cu sau fără RBV cu durata de 12-24 săptămâni a permis obținerea unui RVS la peste 92% din pacienți cu ciroză hepatică virală C.

2) Răspuns biochimic la tratamentul antiviral în ciroza hepatică virală C a fost obținut la peste 94% pacienți, la o bună parte normalizarea s-a remarcat deja din a doua săptămână de tratament.

shown to be effective in treating HCV infection of genotype 1, 2 and 3 with a SVR rate of over 89% even in patients with cirrhosis of the liver [1, 6]. This fact was confirmed in our study as well, SVR in both treatment plans constituted more than 92%. Data from several studies, including our research, have shown that the efficacy of DAA therapy decreases with the degree of cirrhosis decompensation [5, 7, 8]. Child Pugh B and C stage patients more frequently exhibit side effects on RBV treatment. SVR rates are also decreased in patients with Child-Pugh B and C cirrhosis, particularly in patients with advanced fibrosis (>20 kPa, Metavir scale).

There are few studies describing the side effects associated with DAA therapy in patients with liver cirrhosis. The most commonly reported AEs in our study were: asthenia (21.7%), headache (19.2%), nausea (6.4%), diarrhea (8.9%), insomnia (2.5%), rashes (2.5%). More frequently AEs experienced patients in lot I (SOF + DCV + RBV).

The majority of adverse effects were related to RBV administration, therefore dose adjustment is required. RBV-induced anemia may be moderate / severe, requiring dose adjustment or discontinuation of therapy with this remedy. In patients with decompensated cirrhosis, RBV with a starting dose of 600 mg/day, increased, depending on patient tolerability is suggested. Adverse reactions to RBV have been observed to occur most frequently in patients with a level of more advanced cirrhosis. Studies carried out in such patients, including our study, have shown that RBV cancelation or dose reduction during treatment does not significantly influence the virological response to treatment [10, 11]. Overall treatment was well tolerated in both lots and there were not registered discontinuations with DAA therapy.

Although it turned out that a SVR to antiviral therapy with DAA induces regression of liver cirrhosis and reduces the risk of mortality in cirrhotic patients, however, a significant risk for HCC development, colangiocarcinoma and hepatic decompensation is still present and a long-term monitoring is mandatory [8]. The results of the studies showed that the risk is significantly reduced in these patients compared with those who failed the treatment.

Conclusions

1) Antiviral treatment with SOF / DCV with or without RBV lasting 12-24 weeks allowed the achievement of a SVR in more than 92% of patients with cirrhosis with HCV.

2) Biochemical response to antiviral treatment in cirrhosis with HCV has been achieved in more than 94% patients, to a large extent normalization has already been observed within the second week of treatment.

3) There was noted a regression of fibrosis in approximately 91.6% of the investigated patients after following the treatment of cirrhosis with HCV with DAA at 6 months after treatment discontinuation.

3) În urma tratamentului cirozei hepatice virale C cu PAAD la 6 luni de la stoparea tratamentului s-a înregistrat o regresie a fibrozei la circa 91,6% din pacienții investigați.

4) Tratamentul a fost în ansamblu bine tolerat în ambele loturi, iar reacții adverse majore, care ar justifica întreruperea tratamentului cu PAAD nu au fost înregistrate.

5) Majoritatea efectelor adverse a tratamentului antiviral la bolnavii cu ciroză hepatică virală C au fost legate de administrarea de RBV, de aceea a fost necesară ajustarea dozei sau anularea terapiei cu acest preparat.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interese.

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal la elaborarea manuscrisului, designului și la redactarea lucrării. Versiunea finală a manuscrisului a fost aprobată de toți autorii.

Referințe / references

1. World Health Organization (WHO). Global Hepatitis Report, 2017. Disponibil la adresa: [<https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>]. Accesat pe: 08.11.2019.
2. Freeman A., Dore G., Law M. *et al.* Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2001; 34: 809-816.
3. Federico A., Dallio M., Caprio G., Sio I. *et al.* A real-life study of new antiviral therapies in a high prevalence geographical area for hepatitis C virus infection. *Hepat Mon*, 2018; 18 (10): 2-9.
4. Tolmane I., Rozentale B., Arutjunana S., Jeruma A. *et al.* Original versus generic direct acting antivirals in treatment of chronic hepatitis C patients: real life data from Latvia. *The Open Infectious Diseases Journal*, 2018; 10: 63-70.
5. Bourliere M., Bronowicki J., Ledinghen V. *et al.* Ledipasvir-sofosbuvir with or without ribavirin to treat patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis non-responsive to previous protease-inhibitor therapy. *The Lancet Infectious Diseases*, 2015; 15: 397-404.
6. Poordad F., Schiff E., Vierling J., Landis C. Daclatasvir with sofosbuvir and ribavirin for hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence. *Hepatology*, 2016; 63 (5): 1493-505.
7. Zeng Q., Li C., Zhang D., Li W., Xu G. *et al.* Letter: safety and efficacy of sofosbuvir plus daclatasvir with ribavirin for 12 weeks in Chinese treatment-experienced cirrhotic genotype 1b patients with HCV. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2016; 43: 842-843.
8. Schneider D., Sarrazin C. Management of HCV-associated liver cirrhosis. *Visc Med*, 2016; 32: 96-104.
9. Nelson D., Cooper J., Lalezari J. *et al.* ALLY-3 Study Team. All oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: 3 phase III study. *Hepatology*, 2015; 61: 1127-1135.
10. Manns M., Samuel D., Gane E. *et al.* Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin in patients with genotype 1 or 4 hepatitis C virus infection and advanced liver disease: a randomized, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 2016; 16: 685-697.
11. Wei B., Yeo Y., Ogawa E. *et al.* Real-world effectiveness of sofosbuvir plus ribavirin for chronic hepatitis C genotype 2 in Asia: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open Gastroenterology*, 2018; 2: 1136-1345.

ARTICOL DE CERCETARE

Profilul hepatitei virale Delta în Republica Moldova – de la transmisia intrafamilială la evoluția clinică

Adela Țurcanu^{1,2†*}, Veronica Cumpătă^{2†},
Eugen Tcaciuc^{1†}, Pascal Pineau^{3†}

¹Disciplina de gastroenterologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Clinica de gastroenterologie și hepatologie Helpa, Chișinău, Republica Moldova;

³Unité „Organisation nucléaire et Oncogène”, Institut Pasteur, Paris, France.

Data primirii manuscrisului: 20.06.2019

Data acceptării spre publicare: 20.09.2019

Autor corespondent:

Adela Țurcanu, dr. șt. med., conf. univ.

Disciplina de gastroenterologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: adela.turcanu@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Delta viral hepatitis profile in Republic of Moldova – between intra-familial transmission and clinical evolution

Adela Turcanu^{1,2†*}, Veronica Cumpata^{2†},
Eugen Tcaciuc^{1†} and Pascal Pineau^{3†}

¹Discipline of gastroenterology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Gastroenterology and hepatology clinic Helpa, Chisinau, Republic of Moldova;

³Unit „Organisation nucléaire et Oncogène”, Institut Pasteur, Paris, France.

Manuscript received on: 20.06.2019

Accepted for publication on: 20.09.2019

Corresponding author:

Adela Turcanu, PhD, assoc. prof.

Discipline of gastroenterology

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

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

e-mail: adela.turcanu@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

În unele țări din Europa de Vest, hepatita Delta este considerată o patologie rară, în timp ce în estul continentului, în special, în Republica Moldova, se întâlnește destul de frecvent. Absența unor date sau studii țintite pe această patologie, face dificilă aprecierea evoluției naturale a bolii și definitivarea unor caracteristici ce ar putea fi aplicate practic în tratamentul acestor pacienți.

Ipoteza de cercetare

Acest studiu a avut ca scop evaluarea prevalenței infecției cu virusul hepatic D în Republica Moldova și a trăsăturilor distinctive determinate de vârstă, originea regională a pacienților, modelului de transmiterea a bolii, asocierea cu factorii de risc, simptomele clinice diagnosticate la bolnavi.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Hepatita Delta este o patologie asociată cu o evoluție destul de agresivă, în special dacă a existat un contact de lungă durată în copilărie. Transmiterea intrafamilială a virusului hepatic D reprezintă un factor de risc destul de important, observat în sudul țării, în acest caz hepatita Delta fiind diagnosticată mai precoce și de obicei în stadii avansate.

What is not known yet, about the topic

In some Western European countries, Delta hepatitis is considered a rare disease, while in the eastern part of the continent, especially the Republic of Moldova, it is quite common. The absence of data or studies targeted on this pathology, makes it difficult to appreciate the natural evolution of the disease and to define some features that could be applied practically in the treatment of these patients.

Research hypothesis

The purpose of this study was to evaluate the prevalence of hepatic D infection in the Republic of Moldova and of the distinctive features determined by age, the regional origin of the patients, the model of the transmission of the disease, the association with the risk factors, the clinical symptoms diagnosed in the patients.

Article's added novelty on the scientific topic

Hepatitis Delta is a pathology associated with a rather aggressive evolution, especially if there has been long-term contact in childhood. Intra-family transmission of hepatic D virus is a very important risk factor, observed in the south of the country, in this case Delta hepatitis is diagnosed earlier and usually in advanced stages.

Rezumat

Introducere. Hepatita Delta, uneori, este considerată o boală dispărută în Europa de Vest, dar încă răspândită în anumite țări situate în estul continentului. Republica Moldova este o țară în care hepatita Delta este suspectată a fi responsabilă de o maladie cu o evoluție destul de agresivă. Cu toate acestea, până în prezent, în țară, nu a fost publicat niciun studiu care să descrie pacienții infectați cu virusul hepatitei delta.

Material și metode. În acest studiu transversal, am descris caracteristicile demografice, clinice și biologice ale 340 de pacienți infectați cu virusul hepatic D, care sunt supravegheați și îngrijiți în 4 instituții medicale din Moldova.

Rezultate. Vârsta medie a pacienților a fost de $48,3 \pm 7,6$ de ani, predominant fiind femeii (156 vs 184). Toți pacienții au avut forma anti-HBe negativă, dar ADN-ul virusului hepatitei B a fost detectat în 31,6% din cazuri. Încărcătura virală a ARN HDV a fost de $5,9 \pm 1,7 \log_{10}$ UI/ml. Principalul factor de risc al hepatitei a fost transmiterea intrafamilială (41,7%). O parte mare de pacienți au fost deja afectați de ciroză hepatică (58,4%) și dintre aceștia, 53,3% prezentau semne de decompensare. Durata de timp de la diagnosticul cirozei hepatice, a fost corelată cu durata infecției cu virusul hepatic D (Pearson $r = 0,470$, $p < 0,0001$), dar nu cu cea a infecției cu virusul hepatic B. În cazul transmiterii familiale, vârsta pacienților a fost semnificativ mai tânără ($46,0 \pm 9,1$ ani vs $50,6 \pm 9,2$ ani), la fel a fost și vârsta de diagnosticare a cirozei hepatice ($40,8 \pm 11,2$ ani vs $46,9 \pm 9,7$ ani, $p = 0,005$).

Concluzii. Hepatita Delta reprezintă o problemă importantă de sănătate în Moldova. Transmiterea intrafamilială a hepatitei, în special în sudul țării, este responsabilă de anticiparea complicațiilor. Aplicarea măsurilor de screening activ precum și disponibilitatea terapiei antivirale sunt măsurile urgente care necesită a fi aplicate în Republica Moldova.

Cuvinte cheie: hepatita, Delta, transmitere, intrafamilială, Moldova.

Introducere

Conform estimărilor recente (2019, CDC), la nivel mondial, aproximativ 62-74 de milioane de persoane sunt infectate cu VHD. În general, se consideră că VHD a fost descoperit în apogeul epidemiei sale, în deceniul anilor '70. De atunci, în majoritatea țărilor, care efectuează programe de supraveghere epidemiologică, a fost observat un reflux constant al prevalenței sale la purtătorii de antigen de suprafață a VHB (Ag HBs). Acest declin a fost atât de important, încât unii autori au considerat că VHD dispăre lent, cel puțin în Europa. Alți cercetători consideră, însă, că istoria VHD nu se termină, deoarece virusul revine în Europa prin intermediul migrației umane (Africa sub-Sahariană, Pakistan, estul Turciei), unde este extrem de endemic și, de fapt, prevalența sa s-a stabilizat în Europa de Vest în ultimul deceniu.

VHD este considerat a fi responsabil pentru cea mai severă formă de hepatită virală și reprezintă o problemă medicală gravă în domeniul bolilor hepatice. Se observă că mai des decât

Abstract

Introduction. Hepatitis delta is sometimes considered as a vanishing disease in Western Europe but is still widespread in selected countries located east of the continent. The Republic of Moldova is a country where Hepatitis Delta is suspected to be responsible for an important burden of diseases. However, so far, no first-hand study describing hepatitis delta virus (HDV)-infected patients has been published in the Republic of Moldova.

Material and methods. In the present cross-sectional study, we described demographic, clinical and biological features of 340 HDV-infected patients attending care in four Moldovan medical institutions.

Results. The mean age of the patients was 48.3 ± 7.6 years, men 184 vs 156 women. All were anti-HBe negative but hepatitis B virus (HBV) DNA was detectable in 31.6% of cases. The mean HDV RNA load was $5.9 \pm 1.7 \log_{10}$ IU/ml. The principal risk factor of hepatitis was intra-familial transmission (41.7%). A large subset of the patients was already affected by liver cirrhosis (58.4%) and among these 53.3% were presenting signs of decompensation. The time distance from the diagnosis of cirrhotic disease was correlated with the length of HDV infection (Pearson $r = 0.470$, $p < 0.0001$) but not with that of HBV infection. In case of familial transmission, the age of patients was significantly younger (46.0 ± 9.1 y.o. vs 50.6 ± 9.2 y.o., $p = 2.1E-04$) and likewise was the age at diagnostic of liver cirrhosis (40.8 ± 11.2 y.o. vs 46.9 ± 9.7 y.o., $p = 0.005$).

Conclusion. Hepatitis delta is a significant health problem in Moldova. Intrafamilial transmission of hepatitis, especially prevalent South of the country, is responsible of an anticipation of the complications. The application of active screening measures as well as the availability of antiviral therapy are the urgent measures that need to be applied in the Republic of Moldova.

Key words: hepatitis, Delta, VHD, transmission, intrafamilial, Moldova.

Introduction

According to new data (CDC, 2019) it is estimated around 62-74 million persons are co-infected with HDV worldwide. It is generally considered that HDV was discovered at the acme of its epidemics in the 1970's decade. Since then, a constant reflux of its prevalence in HBV surface antigen (HBsAg) carriers has been observed in most countries conducting epidemiological surveillance programs. This decline was so important that the threat represented by HDV is considered by some authors to be slowly vanishing at least in Europe. Other investigators consider, though, that HDV story is not finished as the virus is proven to re-enter in Europe through human migrations from regions (sub Saharan Africa, Pakistan, eastern Turkey) where it is highly endemic and as a matter of fact its prevalence stabilized in Western Europe during the in the last decade.

HDV is considered to be responsible for the most severe form of viral hepatitis and represents therefore a serious medical problem in the field of liver diseases. More often than

În cazul altor hepatite, pacienții infectați cronic cu VHD tind să progreseze spre ciroză hepatică cu decompensare rapidă, precum și spre carcinomul hepatocelular (HCC). În cele din urmă, tratamentele antivirale sunt recunoscute ineficiente împotriva acestui virus.

Bolile cronice hepatice, inclusiv hepatita B și C, sunt răspândite în Moldova, ceea ce duce la cele mai mari incidențe de ciroză hepatică și carcinom hepatocelular în regiunea europeană (OMS). În această privință și având în vedere dimensiunea relativ mică a populației, este remarcabil faptul că cetățenii moldoveni, apar frecvent în lucrările de cercetare despre VHD publicate de investigatorii vest-europeni sau nord-americani. În mod semnificativ, în Republica Moldova a fost efectuat recent un studiu clinic important în faza a II-a, care testează un nou tratament anti-VHD (REP 2139, un polimer cu acid nucleic). În cele din urmă, grupul nostru a raportat recent, că aproape jumătate dintre pacienții moldoveni diagnosticați cu carcinom hepatocelular sunt purtători de VHD. Cu toate acestea, până în prezent, nu există date locale despre caracteristicile clinice și biologice ale pacienților infectați cu VHD, în etapele precanceroase. În acest studiu transversal, am expus statutul a 244 de pacienți moldoveni infectați cu VHD și am descris modul în care transmiterea familială a hepatitei influențează foarte mult cursul bolii.

Material și metode

Recrutarea pacienților

Cei 244 de pacienți cu infecție cronică Delta au fost recrutați în perioada 2013-2019 în cadrul Disciplinei de gastroenterologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău (secția hepatologie, SCR Timofei Moșneaga, în Clinica Municipală a Medicilor de Familie (cabinetul infecționistului), din Bălți și din Cahul. Acest studiu a fost aprobat de comisia de revizuire instituțională a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (Comisia de Bioetică, proces verbal nr. 35 din 12.02.2018).

Toți pacienții au fost informați despre scopul studiului și au semnat consimțământul informat. Acest studiu este parte a proiectului științific Hepatopatia cronică virală Delta – de la hepatită cronică la carcinom hepatocelular.

Diagnostic

Diagnosticul de ciroză hepatică a fost bazat pe simptomele clinice ale hipertensiunii portale, caracteristicile biochimice ale insuficienței hepatice și pe gradul de fibroză (F4). Rigiditatea hepatică a fost măsurată prin elastografie tranzitorie unidimensională cu echipament Fibroscan 502TOUCH (*EchoSens*, Paris, France). Dimensiunile ficatului și a splinei au fost determinate în timpul ecografiei transabdominale prin metoda Doppler (Siemens).

Metodele moleculare și serologice

Toți pacienții au fost evaluați pentru determinarea genomului viral circulant în sânge prin testul PCR TaqMan în real-time (*Cobas AmpliHep*, and *CobasTaqMan 48*, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

in other hepatitis, chronic HDV-infected patients tend to progress towards liver cirrhosis with rapid decompensation as well as towards hepatocellular carcinoma (HCC). Finally, antiviral treatments are notoriously inefficient against this virus.

Besides, chronic liver diseases, including hepatitis B and C, are widespread in Moldova leading to the highest incidences of liver cirrhosis and HCC in the European World Health Organization (WHO) region. To this regard, and considering the relatively small size of the population, it is remarkable that the Moldovan citizenship appears frequently in research papers about HDV published by Western European or North American investigators. Significantly, an important clinical phase II trial testing a novel anti-HDV therapeutics (REP 2139, a nucleic acid polymer) has been conducted recently in the Republic of Moldova. Finally, our group reported recently that almost half of Moldovan HBV-infected patients with HCC are also carriers of HDV. However, so far, there is a complete lack of locally produced data about the clinical and biological features of HDV-infected patients before the ultimate neoplastic steps. In the present cross-sectional work, we exposed the status of 244 HDV-infected Moldovan patients and describe how familial transmission of hepatitis greatly influences disease course.

Material and methods

Recruitment of patients

A series of 244 patients with a chronic Delta infection was recruited during 2013-2019 in the Department of gastroenterology, *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy in Chisinau, in the Gastroenterology and Hepatology Private Clinic (Helpa), Chisinau, and in the Municipal Infectious Clinic (Balti city) and in the Medical Family Center of Cahul city. This study was approved by the institutional review board of the *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova (Bioethics Commission, report no. 35 of 12.02.2018).

All patients were informed about the purpose of the study and signed the informed consent. This study is a part of project Hepatitis International Delta Network and National scientifically Project: Chronic viral hepatitis Delta – from hepatitis to hepatocellular carcinoma.

Diagnosis

The diagnosis of Liver cirrhosis was based on clinical symptoms of portal hypertension, biochemical features of hepatic insufficiency and the grade of fibrosis (F4). Liver stiffness was measured by uni-dimensional transient elastography with a Fibroscan 502TOUCH equipment (*EchoSens*, Paris, France). Liver and spleen dimension were measured through Doppler abdominal ultrasonography (Siemens).

Serological and molecular methods

All patients were screened for the presence of circulating viral genomes by real-time qPCR TaqMan assays (*Cobas AmpliHep*, and *CobasTaqMan 48*, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using a Prism 6.0d

Analiza statistică

Analiza datelor statistice a fost efectuată utilizând softul Prism 6.0d (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA). Variabilele numerice au fost rezumate după mediană, medie și intervalul lor în funcție de tipurile de distribuție (normale sau nu). Ele au fost comparate, fie printr-un test t-Student, fie cu un test Mann-Whitney, după caz. Variabilele categorice au fost rezumate ca frecvențe care au fost comparate fie prin teste Fisher exact, fie prin testul Chi². Nivelul de semnificație a fost stabilit la $p < 0,05$.

Rezultate

În acest studiu transversal, am colectat date despre 244 de pacienți infectați cu VHD, colectați din cadrul a trei centre comunitare de sănătate și la o instituție de îngrijire terțiară din Republica Moldova, între 2013 și 2019. Principalele caracteristici clinice și biologice ale pacienților sunt raportate în Tabelul 1.

Pacienții au fost de vârstă mijlocie (vârsta medie – 48,3 ± 7,6 ani, intervalul interquartil – 41,1-56,0 ani), femeile vs bărbații (raport F : B = 1,17). Conform fișelor medicale, pacienții au fost diagnosticați pentru infecția cu hepatită Delta la 10 ani după diagnosticul hepatitei B (38,6 ± 12,6 ani versus 28,8 ± 13,8 ani). Infecțiile cu virusul B și Delta au fost descoperite simultan în 31,7% din cazuri. Toți pacienții au fost pozitivi pentru anti-HBe. ADN-ul VHB a fost detectat în 28,1% din cazuri (încărcătura medie al ADN-ului VHB = 3,2 ± 1,4 log₁₀ UI/mL), în timp ce ARN VHD a fost detectat la 92,8% dintre pacienți. Încărcătura medie al ARN-ului HDV a fost de 5,9 ± 1,7 log₁₀ UI/mL (n = 257).

Măsurarea elastometrică a rigidității ficatului a indicat o valoare medie de 16,9 ± 10,1 kPa (n = 296). Ciroza hepatică a fost prezentă la 58,4% dintre pacienți și un subset de 28,8% dintre pacienți au prezentat deja semne de decompensare (ascită, encefalopatie, varice esofagiene). Distanța medie de timp pentru diagnosticul de ciroză hepatică a fost de 6,4 ± 4,3 ani.

Factorii de risc pentru infecția delta au fost identificați pentru aproape jumătate din cazuri. Transmiterea intrafamilială a fost principalul factor de risc suspectat la 41,7% dintre pacienți. În ceea ce privește tratamentul antiviral, un subset de 32,1% a primit, un tratament antiviral *bona fide* (interferon – în 29% și / sau nucleozide – în 9%). Pacienții cu ciroză hepatică au fost semnificativ mai puțini cu ARN HDV pozitiv decât cei non-cirofici (88,6% vs 99,0%, OR = 12,3; IC 95% = 1,5 – 95,6; $p = 0,002$) și la pacienții cirofici cu ARN HDV pozitiv, încărcătura virală a fost mai mică decât la cei non-cirofici (5,2 ± 0,18 vs 5,9 ± 0,18 log₁₀ UI / mL, $p = 0,004$).

De asemenea, am observat că distanța de timp care separă diagnosticul hepatitei Delta de hepatita B a fost mai mică la pacienții cu ADN VHB (+) decât la cei cu ADN VHB (-) (8,8 ± 6,9 ani versus 11,1 ± 7,5 ani, $p = 0,036$). În cele din urmă, am observat că distanța de timp de la diagnosticul de ciroză hepatică a fost corelată cu durata hepatitei Delta ($p < 0,0001$), dar nu cu durata hepatitei B ($p = 0,21$), subliniind rolul nociv jucat de VHD în evoluția cronică a bolilor hepatice ale pacienților.

Am observat, în primul rând, o suspjecție de transmitere

statistical package (GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA, USA). Numerical variables were summarized by their median, mean and range according to their types of distribution (normal or not). They were compared either by a t-Student's test or by a Mann-Whitney test as appropriate. Categorical variables were summarized as frequencies that were compared either by Fisher exact or Chi² tests. All tests were univariate and two-sided. Level of significance was set at $p < 0.05$.

Results

In this cross-sectional study we collected data about 244 HDV-infected patients attending tree community health centers and a tertiary care institution in Moldova between 2013 and 2019. Main clinical and biological features of the patients are reported in Table 1.

Patients were middle-aged (mean age 48.3 ± 7.6 years, interquartile range: 41-56 years, and men more numerous than women (M : F ratio = 1.17). According to medical records, patients were diagnosed for hepatitis Delta infection 10 years after the diagnosis of hepatitis B (38.6 ± 12.6 years vs 28.8 ± 13.8 years). HBV DNA was detectable in 31.6% of cases (mean HBD DNA loads 3.2 ± 1.4 log₁₀ IU/mL) whereas HDV RNA was detected in 92.8% of patients. The mean HDV RNA load was 5.9 ± 1.7 log₁₀ IU/mL (n=257).

Elastometric measurement of liver stiffness indicated an average value of 16.9 ± 10.1 kPa (n = 296). Liver cirrhosis was present in 58.4% of patients and a subset of 28.8% of patients already showed signs of decompensation (ascites, encephalopathy, esophageal varices). The mean time to diagnosis of liver cirrhosis was 6.4 ± 4.3 years.

Risk factors for infection were retrieved for almost half cases. Intra-familial transmission was the principal risk factor suspected in 41.7% of patients. Concerning therapeutics, a subset of 32.1% received at some point a *bona fide* antiviral treatment (interferon in 29% and/or nucleosides in 9%). Patients with liver cirrhosis were significantly less often positive for HDV RNA than non-cirrhotic ones (88.6 vs 99.0%, OR = 12.3; 95% CI = 1.5 to 95.6; $p = 0.002$) and in cirrhotic patients positive for HDV RNA, viral loads were lower than in non-cirrhotic (5.2 ± 0.18 vs 5.9 ± 0.18 log₁₀ IU/mL, $p = 0.004$).

We observed as well that the time distance separating from hepatitis Delta diagnosis was smaller in HBV DNA(+) patients than in those HBV DNA(-) (8.8 ± 6.9 years vs 11.1 ± 7.5 years, $p = 0.036$). Finally, we observed that the time distance from liver cirrhosis diagnostic was correlated with the duration of hepatitis Delta ($p < 0.0001$) but not with the duration of hepatitis B ($p = 0.21$), emphasizing the deleterious role played by HDV in the chronic liver disease progression of patients.

We observed firstly than in the younger median for age (<48 years), a suspicion of intrafamilial transmission due to the presence of a contaminated household member was much more important than in the older median for age (59.3% vs 26.7%, OR = 3.1; 95% CI = 1.6 to 5.9; $p = 1.5E-04$). And the age at diagnosis for cirrhosis which was much younger in patients presently hepatitis virus-infected family members (40.8 ± 11.2 years vs 46.9 ± 9.7 years, $p = 0.005$).

Table 1. Characteristic of patients with hepatitis Delta.
Table 1. Caracteristica pacienților cu hepatita Delta.

Parameters <i>Parametri</i>	Values <i>Valori</i>
Age, years <i>Vârsta, ani</i>	48.3 ± 7.6
Sex ratio, M : F <i>Raportul pe sexe, B : F</i>	1.17 (184 : 156)
Age at HBV diagnosis, years <i>Vârsta stabilirii HBV, ani</i>	28.8 ± 13.8
Age at hepatitis Delta diagnosis, years <i>Vârsta stabilirii HDV, ani</i>	38.6 ± 12.6
Liver cirrhosis, % <i>Ciroza hepatică, %</i>	58.4
Decompensated cirrhosis, % <i>Ciroza hepatică decompensată, %</i>	28.8
Liver stiffness, kPa <i>Rigiditatea hepatică, kPa</i>	16.9 ± 10.1
Hepatitis B duration, monts <i>Durata hepatitei B, luni</i>	23.4 ± 12.7
Hepatitis Delta duration, monts <i>Durata hepatitei delta, luni</i>	10.5 ± 7.3
anti-HBe, % <i>AgHBe, %</i>	100.0
HBV DNA (+), % <i>ADN VHB (+), %</i>	31.6
HBV DNA loads (IU/mL, mean±SD) <i>Viremia ADN VHB (IU/ml, media ± SD)</i>	4.1E+06±29.8E+06
HDV RNA (+), % <i>ARN HDV (+), %</i>	92.8
HDV RNA loads (IU/mL, mean±SD) <i>Viremia ARN HBD (IU/ml, media ± SD)</i>	33.9E+06±110.1E+06
Ascites, % <i>Ascită, %</i>	12.2
Encephalopathy, % <i>Encefalopatie, %</i>	8.6
Esophageal varices, % <i>Varice esofagiene, %</i>	26.8
Transfusion mode of transmission, % <i>Transmiterea parenterală (transfuzională), %</i>	13.4
Tattoo-piercing mode of transmission, % <i>Transmitere prin tatuaj sau piercing, %</i>	5.2
Sexual transmission, % <i>Transmitere sexuală, %</i>	4.8
Intrafamilial infection, % <i>Infecție intrafamilială, %</i>	41.7
Lack of identified risk factor, % <i>Lipsa unui factor de risc, %</i>	44.6

intrafamilială cauzată de prezența unui membru de familie contaminat, a fost mult mai importantă pentru vârsta tânără (<48 ani) decât pentru cea mai înaintată (59,3% vs 26,7%, OR = 3,1; CI 95% = 1,6 – 5,9; p=1,5E-04). De asemenea, vârsta la care a fost diagnosticată ciroza, a fost mult mai tânără la pacienții ce au membri ai familiei infectați cu virusul hepatitei (40,8 ± 11,2 ani vs 46,9 ± 9,7 ani, p=0,005).

Aceste observații implică faptul că pacienții expuși la

These observations imply that patients exposed to intra-familial transmission are more at risk to develop complication of hepatitis delta due to an intrinsically longer exposure to the disease. Interestingly, familial transmission was a frequent hallmark of patients born in Southern Moldova (58.8% vs 36.1%, OR = 2.8; 95% CI = 1.4 to 5.7; p=0.002). Patients from this region were also more susceptible to be positive for HBV DNA in the blood (42.1% vs 22.2%, OR = 2.5; 95% CI: 1.3

transmiterea intrafamilială sunt mai pasibili de a dezvolta complicații ale hepatitei Delta din cauza unei expuneri intrinseci mai îndelungate la boală. Interesant este faptul că, transmiterea familială a fost un semn distinctiv frecvent al pacienților născuți în sudul Moldovei (58,8% vs 36,1%, OR = 2,8; IC 95% = 1,4 – 5,7; p=0,002). Pacienții din această regiune au fost, de asemenea, mai susceptibili de a fi pozitivi pentru ADN VHB în sânge (42,1% vs 22,2%, OR = 2,5; CI 95%: 1,3 – 5,0; p=0,004).

Atunci când stratificăm subșetul de pacienți contaminați în condiții casnice, pentru a identifica membrul familiei presupus la originea contaminării (părinți sau frați), au apărut diferite caracteristici care definesc modelul de transmitere. Când un frate era presupusul transmitător al virusului, pacienții erau mai des bărbați (64,0% vs 44,1%, OR = 2,3; CI 95% = 1,05 – 5,3; p=0,028). Acest model de transmitere virală între frați, a fost mai răspândit în sudul Moldovei (64,2% vs 20,0%, OR = 4,6; IC 95%: 2,0 – 10,7; p=6.2E-05). În cele din urmă, în cazul transmiterii hepatitei între frați, durata de timp din momentul diagnosticului hepatitei Delta tinde să fie mai lungă ($12,8 \pm 8,4$ ani vs $9,9 \pm 6,8$ ani; p=0,027), în timp ce, încărcătura virală de ARN HDV au fost scăzute ($4,9 \pm 1,5$ log₁₀IU / mL vs $5,7 \pm 1,6$ log₁₀IU / mL; p=0,026).

De asemenea, am fost interesați de interrelațiile dintre parametrii clinici și markerii biologici aplicabili contextului bolii. Am comparat sistematic pacienții infectați cu HDV și ciroză hepatică cu acei subiecți care nu au progresat către ciroză. Rigiditatea ficatului ($23,3 \pm 10,2$ kPa vs $10,2 \pm 3,8$ kPa, p=7,3E-16) și dimensiunea splinei (117 ± 42 cm² vs 69 ± 21 cm², p=4,7E-19) au fost cele mai semnificative diferențe observate între cirofici și non-cirofici.

Am testat, de asemenea, performanța diferiților predictori non-invazivi ai fibrozei hepatice (API, APRI, Scorul de discriminare a cirozei, raportul de Ritis, FIB-4, Fibro Q, indicele de fibroză, GPRI, GUCI, scorul King). În contextul prezentei cohorte, indicele de fibroză a fost sistemul de punctare cu cel mai bun nivel de discriminare între pacienții cirofici și necirofici ($3,6 \pm 0,1$ vs $2,6 \pm 0,1$; p=1,5E-13). Am continuat investigațiile noastre pentru a ne da seama dacă unii dintre acești factori ar putea indica decompensarea bolii hepatice. Astfel, am comparat cei 52 de pacienți cu semne de decompensări (ascita, encefalopatie, varice esofagiene) cu cei 42 de pacienți cu ciroză hepatică, dar niciunul dintre aceste semne de severitate. În aceste comparații, dimensiunea splinei, numărul de trombocite, INR, bilirubina totală și albumina au fost factorii capabili cu un nivel rezonabil de semnificație (p<0,01) să discrimineze între ciroza compensată și necompensată.

Dintre sistemele neinvazive de notare a fibrozei hepatice, indicele de fibroză rămâne cel mai performant ($4,1 \pm 1,0$ vs $3,1 \pm 0,9$; p=9,8E-08). Caracteristicile scorului GDNT și Indexului de Fibroză sunt prezentate în Figura 1.

Am încercat să ne construim propriul sistem de predicție a decompensării cirozei, folosind variabilele capabile să discrimineze între pacienții progresați sau neprogresați. Predictorul GDNT-ciroză include variabile de laborator precum albumina, trombocitele, bilirubina totală sau INR și o caracteristică

to 5.0; p=0.004).

When we stratify the subset of infected patients at home, in order to identify the family member presumed at the origin of the contamination (parents or siblings), different characteristics have emerged that define the transmission model. When a brother was the alleged transmitter of the virus, patients were more often male (64.0% vs 44.1%, OR = 2.3; 95% CI = 1.05 to 5.3; p=0.028). This pattern of viral transmission between siblings was more widespread in southern Moldova (64.2% vs 20.0%, OR = 4.6; 95% CI: 2.0 to 10.7; p=6.2E-05). Finally, in the case of hepatitis transmission between siblings, the time from the time of diagnosis of hepatitis Delta tends to be longer (12.8 ± 8.4 years vs 9.9 ± 6.8 years; p=0.027), in while, the viral load of HDV RNA was low (4.9 ± 1.5 log₁₀IU / mL vs 5.7 ± 1.6 log₁₀IU / mL; p=0.026).

Also, we get interested in the search for correlations between clinical settings and biological markers applicable to the Moldovan context of the disease. We systematically compared HDV-infected patients with liver cirrhosis with those subjects who did not progress yet. At the anatomical level, liver stiffness (23.3 ± 10.2 kPa vs 10.2 ± 3.8 kPa, p=7.3E-16) and spleen dimension (117 ± 42 cm² vs 69 ± 21 cm², p=4.7E-19) were the most significant difference observed between cirrhotics and non-cirrhotics.

We tested as well the performance of different non-invasive predictors of liver fibrosis (API, APRI, Cirrhosis Discriminating Score, de Ritis ratio, FIB-4, Fibro Q, Fibrosis index, GPRI, GUCI, King score). In the context of the present cohort, Fibrosis index was the scoring system with the best level of discrimination between cirrhotic and non-cirrhotic patients (3.6 ± 0.1 vs 2.6 ± 0.1 , p=1.5E-13). We carried on our investigations to figure out whether some of these factors could be indicative of the decompensation of the liver disease. We, thus, compared the 52 patients with signs of decompensations (ascites, encephalopathy, esophageal varices) with the 42 patients with liver cirrhosis but none of these signs of severity. In these comparisons, spleen dimension, platelets count, INR, total bilirubin and albumin were the factors capable with a reasonable level of significance (p<0.01) to discriminate between compensated and non-compensated cirrhosis.

Among the non-invasive liver fibrosis scoring systems, Fibrosis index remains the most performant (4.1 ± 1.0 vs 3.1 ± 0.9 , p=9.8E-08). The characteristics of the GDNT score and the Fibrosis Index are presented in Figure 1.

We tried to build our own system of cirrhosis decompensation prediction using the variables capable to discriminate between progressed or non-progressed patients. The GDNT-cirrhosis predictor includes laboratory variables such as albumin, platelets, total bilirubin or INR and a feature provided by ultrasound examination (spleen dimensions, see methods). Our scoring system was capable to differentiate correctly decompensated, compensated and non-cirrhosis patients. The Receiving Operator Curve (ROC) of GDNT score was more performant than all tested scoring systems (Figure 2).

Finally, we observed that the patients who benefited at a moment or another of a treatment by interferon of any kind

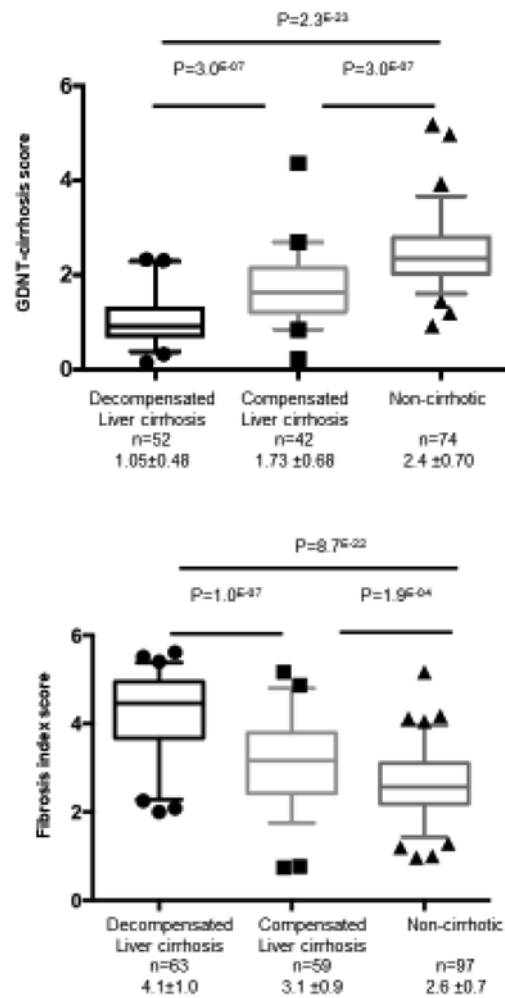


Fig. 1 Caracteristicile scorului GDNT și Indexului de Fibroză (conform Pascal Pineau, 2019).
Fig. 1 Characteristic of GDNT score and Fibrosis index score (according to Pascal Pineau, 2019).

$$\text{GDNT score} = \frac{\text{Albumin g/L} + (\text{Platelets} \times 0.1)}{(\text{INR} \times 10) + (\text{Total Bili} \times 0.25) + (\text{Spleen surface} \times 0.1)}$$

Fig. 2 GDNT score (according to Pascal Pineau, 2019).
Fig. 2 Scorul GDNT (conform Pascal Pineau, 2019).

oferită de examinarea cu ultrasunete (dimensiunile splinei). Sistemul nostru de notare a fost capabil să diferențieze corect pacienții decompensați, compensați și fără ciroză. Curba ROC a scorului GDNT a fost mai performantă decât toate sistemele de notare testate (Figura 2).

În cele din urmă, am observat că pacienții care au beneficiat la un moment sau altul de un tratament cu interferon de orice fel, au fost mult îmbunătățiți în comparație cu cei tratați doar cu compuși hepato-protectori. Ciroza hepatică (40,2% vs 61,7%, OR = 0,41; 95% CI = 0,22 – 0,77; p=0,003) și complicațiile acesteia (33% vs 57,4%, OR = 0,37; 95% CI: 0,15 – 0,87; p=0,034) au fost mai puțin prevalente la pacienții

were greatly improved by comparison with those treated only with hepato-protective compounds. Liver cirrhosis (40.2% vs 61.7%, OR = 0.41; 95% CI = 0.22 to 0.77, p=0.003) and its complications (33% vs 57.4%, OR=0.37; 95% CI: 0.15 to 0.87, p=0.034) were less prevalent in interferon-treated patients.

Discussion

The official evidence of chronic hepatitis in Moldova Republic dates back from 1966 (Lupasco I, 2017), when was initiated the registration of viral B hepatitis. The HBsAg seroprevalence in our country has been reported more frequently since the 1990s. Thus, in 1994 Kostrita S. and co-authors found

tratați cu interferon.

Discuții

Dovada oficială a hepatitei cronice din Republica Moldova datează din 1966 (Lupasco I., 2017), când a fost inițiată înregistrarea hepatitei virale B. Seroprevalența Ag HBs în țara noastră a fost raportată mai frecvent încă din anii 90. Astfel, în 1994, Kostrita S. și coautori au găsit Ag HBs în 12,5% (la donatori) în sudul Republicii Moldova, comparativ cu 4,5% în nordul țării. În 1998, J. A. Drobeniuc și coautorii au detectat Ag HBs în 13,2%, anti-HBsAg în 19,5% și anti-HBcor (asociate sau nu cu Ag HBs sau anti-HBsAg) în 71,5% din 1183 probe serice donatoare de sânge, precum și pe 145 de probe de sânge a copiilor de la 1 lună la 15 ani. S-a remarcat că zona de sud a țării este relevantă pentru o prevalență mai mare de Ag HBs, vârsta medie a persoanelor cercetate (în 24,6%) a fost de 18-29 ani. Aceste cercetări se numără printre primele publicații din anii 90, care descriu frecvența crescută a hepatitei cronice virale în Republica Moldova.

Este evidentă relația dintre prevalența ridicată a Ag HBs în anii 90, în special, la vârsta fragedă și evoluția bolilor hepatice B și D avansate astăzi la categoria de vârstă înaintată. În același timp, sugerăm că persoanele cu Ag HBs pozitiv, în anii 1980-1990 au servit atât ca surse de infecție intrafamilială, cât și comunitară, nu numai pentru transmiterea VHB, ci și pentru transmiterea VHD. Datele statistice privind seroprevalența VHD în perioada 1980-2000, sunt, practic, indisponibile în literatura de specialitate, ceea ce îngreunează viziunea noastră despre particularitățile epidemiologice ale acestei infecții în țara noastră.

Oficial, hepatita virală Delta este înregistrată în perioada 1990-1991 în Republica Moldova. Andriuța C. a remarcat în 1988 (*J. Zdravohranenie*, 1988) că prevalența infecției cu VHD în țara noastră este ridicată. Într-un studiu amplu, au remarcat donatori de sânge cu Ag HBs pozitiv: 17,6% din ei aveau anticorpi anti-HDV IgM pozitivi și 35,1% aveau anticorpi anti-VHD IgG pozitivi; diabetici cu Ag HBs pozitiv (38,8%) – 19% aveau anticorpi anti-HDV IgG, iar 12,5% – anticorpi anti-VHD IgM; pacienți cu hepatită cronică Ag HBs pozitivă (44,1%): anticorpi anti-HDV IgG – 46,7%, anticorpi anti-VHD IgM – 17,9%. Rezultatele acestui studiu a demonstrat prevalența ridicată a infecției virale cu VHB și VHD în țara noastră.

În același timp, se poate observa că distribuția acestor infecții este variată, fiind identificată în diferite grupuri. În 1989, Viazov S. și coautorii au publicat (*J. de Microbiologie, Epidemiologie și Immunobiologie, nr. 10*) date despre răspândirea infecției cu virusul Delta în țările Uniunii Sovietice. Rezultatele obținute au fost evidente și au relevat o serie de particularități epidemiologice ale infecției cu virusul Delta în țara noastră, când a fost înregistrată cea mai mare rată de VHD în rândul țărilor europene analizate – 17,6%.

După 2000, problema hepatitei cronice virale rămâne în atenția cercetătorilor din țara noastră. Datele statistice oficiale relevă o scădere continuă a incidenței hepatitei virale acute B, C și D. În pofida acestui fenomen pozitiv, este încă

HBs antigen of 12.5% (in donors) in the south of the Republic of Moldova compared to 4.5% in the north of the country. In 1998, Drobeniuc J.A. and co-authors detected HBsAg in 13.2%, anti-HBsAg in 19.5% and anti-HBcor (associated or not with HBsAg or antiHBsAg) in 71.5% from 1183 serum samples blood donors as well as on 145 blood samples of children from 1 month to 15 years. It was noted that the southern area of the country is relevant for a higher prevalence of HBsAg, the mean age of the investigated persons (in 24.6%) were 18-29 years. This research is among the first public in the 90s, which describes the increased frequency of chronic viral hepatitis in the Republic of Moldova.

It is evident the relationship between the high prevalence of HBsAg in the 90s, especially at the younger age and the evolution of advanced liver disease B and D today at the older age category. At the same time, we suggest that HBsAg positive individuals from the 1980-1990 served as both intrafamilial and community-based sources of infection not only for HBV transmission but also for transmission of HDV. Statistical data on the seroprevalence of HDV during the period 1980-2000 are practically not available in the literature, which makes difficult our vision about the epidemiological particularities of this infection in our country.

Official viral Delta hepatitis is registered from the 1990-1991 in the Republic of Moldova. Andriuța C. remarked in 1988 (*J. Zdravohranenie*, 1988) that the prevalence of viral delta infection in our country is high. In a large study, they remarked form HBsAg positive donors, 17.6% had anti-HDV IgM positive and 35.1% anti-VHD IgG positive; HBsAg positive diabetics (38.8%) – 19% anti-VHD IgG, 12.5% – anti-VHD IgM; HBsAg-positive chronic hepatitis patients (44.1%): anti-VHD IgG 46.7%, anti-VHD IgM 17.9%. The results of this study demonstrated the high prevalence of viral infection with HBV and HDV in our country.

At the same time, it can be noticed that the distribution of these infections is varied, being identified in different groups. In 1989 Viazov S. and coauthors published (*J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, no. 10) data about the spread of delta infection in the countries of the Soviet Union. The results obtained were obvious and revealed a number of epidemiological peculiarities of the delta virus infection in our country, when had the highest rate of HDV recorded among the European countries analyzed – 17.6%.

After 2000, the problem of chronic viral hepatitis remains in the attention of researchers in our country. The official statistical data reveal a continuous decrease in incidence of acute viral hepatitis B, C, and D. In spite of this positive phenomenon, it is still threatening that morbidity through severe forms of chronic viral hepatopathy increases, in other words, the high levels of cirrhosis caused by viral B and D infection, as well as hepatocellular carcinoma induced by these viruses. The prevalence of chronic viral hepatitis D during 2000-2011, which appears to be about 4.47% on a 58.19% background of chronic viral hepatitis B. At the same time, the dynamics of multi-year morbidity through chronic viral hepatitis Delta increased between 2000 and 2011 from 12.6% to 38.57%.

amenințător că morbiditatea prin forme severe de hepatopatie virală cronică crește; cu alte cuvinte, nivelurile ridicate de ciroză cauzată de infecția virală B și D, precum și de carcinomul hepatocelular indus de aceste virusuri. Prevalența hepatitei cronice virale D în perioada 2000-2011, care pare să fie de aproximativ 4,47% pe un fond de hepatită virală cronică de 58,19%, în același timp, dinamica morbidității multianuale prin hepatita virală cronică Delta a crescut între 2000 și 2011 de la 12,6% la 38,57%.

Prevalența cirozei hepatice cauzate de virusul Delta a fost dublată, astfel că în anul 2000 au existat 4,86 cazuri, iar în 2011 a ajuns la 10,22 cazuri la 100 mii de locuitori. Ciroza hepatică cauzată de VHB are, de asemenea, o prevalență crescută de la 16,41 în 2000 la 57,88 la 100.000 populație în anul 2011. În structura de vârstă a hepatitei virale cronice și a cirozei hepatice B cu sau fără antigen Delta, cei mai afectați sunt adulții, aceasta ar putea fi determinat de vaccinarea împotriva VHB a copiilor care a început în 1989, precum și de vaccinarea conform programului de imunizare, efectuată în toamna anului 1994. În același timp, a fost realizată vaccinarea copiilor născuți în 1988-1993, anterior nevaccinați.

Și chiar cu aceste măsuri profilactice, cum ar putea fi explicată creșterea morbidității prin hepatită virală cronică și ciroză hepatică cu VHB și VHD, în rândul adulților? Situația care se creează în țara noastră sugerează clar, că dobândirea de VHB are loc, în special, în copilărie, iar măsurile profilactice nu sunt aplicate în mod corespunzător sau sunt ineficiente. Aceste statistici oferă doar parțial peisajul hepatitei cronice Delta în Republica Moldova, bazându-se doar pe datele prezentate de instituțiile medicale, unde sunt înregistrați doar pacienți simptomatici, iar screening-ul VHD pentru purtătorii de Ag HBs este foarte scăzut. Adesea, pacienții diagnosticați cu ciroză hepatică virală B rămân la discreția medicului lor pentru a fi evaluați pentru VHD, un număr mare dintre ei nefiind testați pentru VHD, considerând că singurul tratament existent cu Interferon este contraindicat în acest stadiu de dezvoltare al bolii, deci o mare parte din acești oameni s-au pierdut din vedere. Majoritatea studiilor publicate sunt doar câteva cazuri cu diferite trăsături medicale. Prin urmare, informațiile sunt dispersate, știind că rata prevalenței este adesea inegală la nivel regional, unele zone fiind hiperendemice în infecția cu virusul Delta (în partea de sud a țării), în timp ce altele sunt mai mici, de exemplu, în nordul țării. Datele privind prevalența ar fi mai consistente, atunci când analizele vor fi efectuate pe anumite categorii medicale; sau se vor efectua studii clinice asupra infecției hepatice virale Delta la pacienții cu hepatită cronică Ag HBs pozitivă sau cu ciroză hepatică pozitivă cu Ag HBs. Lipsa studiilor multicentrice asupra infecției cronice virale Delta în țara noastră este un impediment pentru viziunea clară asupra acestei patologii. Cunoașterea prevalenței reale a infecției cronice cu VHD este esențială pentru înțelegerea gravității acestei probleme de sănătate, importantă pentru anticiparea impactului său viitor asupra sistemului de sănătate, precum și pentru asigurarea unei finanțări adecvate pentru această boală din partea sistemului de sănătate.

The prevalence of liver cirrhosis caused by delta virus was doubled, so in 2000 there were 4.86 cases and in 2011 it reached 10.22 cases per 100 thousand residents. Liver cirrhosis caused by VHB also has an increased prevalence from 16.41 in 2000 to 57.88 per 100,000 population in 2011. In the age structure of chronic viral hepatitis and liver cirrhosis B with or without Delta antigen the most affected are adults, which could be determined by the HBV vaccination of children that began in 1989 and vaccination according to the immunization program was carried out in the autumn of 1994. At the same time, vaccination of children born in 1988-1993 previously unvaccinated was realized.

And even by these prophylactic measures, how would be explained the increase of morbidity by chronic viral hepatitis and liver cirrhosis with HBV and HDV among adults? The situation that is created in our country clearly suggests that the acquisition of HBV occurs mostly in childhood, and the prophylactic measures are not properly applied or effective. These statistics provide only partially the landscape of chronic viral delta hepatitis in the Republic of Moldova, being based only on the data presented by the medical institutions, where only symptomatic patients are registered, and the HDV screening for HBsAg carriers is very low. Most published studies are only a few cases with different medical features. Therefore, the information is scattered, knowing that prevalence rates are often uneven at regional level, some areas being hyper endemic in delta virus infection (in the southern part of the country), while others are at a lower rate, for example the north of the country. Data on prevalence would be more consistent when analyzes will be performed on specific medical categories; or clinical trials will be performed on Delta viral hepatic infection in patients with HBsAg-positive chronic hepatitis or HBsAg-positive liver cirrhosis. The lack of multicenter studies on Delta's viral chronic infection in our country is an impediment to the clear view on this pathology. And knowing the real prevalence of chronic infection with HDV infection is essential to understanding the severity of this health problem, important for anticipating its future impact on the health system, and also for ensuring an adequate funding for this disease from the health system.

Conclusions

Hepatitis delta is a significant health problem in Moldova. Intra-familial transmission of hepatitis, especially prevalent the application of active screening measures as well as the availability of antiviral therapy are the urgent measures that need to be applied in the Republic of Moldova.

Authors' contribution

All authors contributed equally to the study and elaboration of the manuscript.

Declaration of conflicting interests

All authors declare no conflict of interest or any financial or non-financial support for the submitted work.

Concluzii

Hepatita Delta reprezintă o problemă importantă de sănătate în Moldova. Transmiterea intrafamilială a hepatitei, în special, în sudul țării, este responsabilă de anticiparea complicațiilor. Aplicarea măsurilor de screening activ precum și disponibilitatea terapiei antivirale sunt măsurile urgente care necesită a fi aplicate în Republica Moldova.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la realizarea studiului și la elaborarea manuscrisului.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa oricărui conflict de interese, financiar sau nonfinanciar, asociat cu această lucrare.

Referințe / references

1. Abbas Z., Memon M., Umer M., Abbas M., Shazi L. Co-treatment with pegylated interferon alfa-2a and entecavir for hepatitis D: a randomized trial. *World J Hepatol*, 2016; 8 (14): 625-31.
2. El-Serag H. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 2012; 142: 1264-1273.
3. Buti M., Esteban R., Roggendorf M., Fernandez J. *et al.* Hepatitis D virus RNA in acute delta infection: serological profile and correlation with other markers of hepatitis D virus infection. *Hepatology*, 1988; 8: 1125-2.
4. Negro F. Hepatitis D virus coinfection and superinfection. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014: ba021550.
5. Nicolau S., Cajal N. Explanation of the plurality of forms of inframicrobial epidemic hepatitis in the light of the spontaneous variability of the viruses. *Stud Cercet Inframicrobiol*, 1955; 6 (3-4): 325-40.
6. Rizzetto M., Canese M., Arico S. *et al.* Immunofluorescence detection of a new antigen/antibody system (Delta/anti-Delta) associated with hepatitis B virus in liver and serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977; 18: 997-1003.
7. Rizzetto M., Ciancio A. Epidemiology of hepatitis D. *Semin Liver Dis.*, 2012, 32: 211-219.
8. Romeo R., Foglieni B. *et.al.* High serum levels of HDV RNA are predictors of cirrhosis and liver cancer in patients with chronic hepatitis Delta. *Plos One*, 2014; 6 (3-4): 325-40.
9. Wranke A., Heidrich B., Ernst S., Calle Serrano B., Caruntu F., Curescu M. *et al.* Anti-HDV IgM as a marker of disease activity in hepatitis delta. *PLoS One*, 2014; 9 (7): e101002.

ARTICOL DE CERCETARE

Particularitățile limfangio- genezei în subtipurile moleculare de carcinoame mamare: studiu experimental

Ecaterina Carpenco^{1,2*†}, Veaceslav Fulga^{1,2†},
Lilian Șaptefratî^{1,2†}

¹Catedra de histologie, citologie și embriologie, Universitatea de Stat de
Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Laboratorul de morfologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
„Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 02.03.2020

Data acceptării spre publicare: 05.08.2020

Autor corespondent:

Ecaterina Carpenco, asist. univ., studentă-doctorandă
Catedra de histologie, citologie și embriologie, Laboratorul de morfologie
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 192, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004
e-mail: ecaterina.carpenco@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

La momentul actual, modificările stromei înconjurătoare sunt recunoscute drept un element crucial al dezvoltării, progresiei, invaziei, angiogenezei, și metastazării cancerului mamar, precum și drept potențiale ținte terapeutice. În tumorile glandei mamare, vasele limfatice reprezintă componentul major al microambianței tumorale. Controlul hormonal al dezvoltării vaselor limfatice este un subiect controversat timp de decenii, dar rămâne, în mare parte, neexplorat.

Ipoieza de cercetare

Identificarea vaselor limfatice D2-40 pozitive, precum și a interrelațiilor acestora cu receptorii hormonali și statusul HER2, poate avea o semnificație clinică pentru pacienții cu cancer mamar.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Estrogenii și progesteronul au un rol esențial în limfangio-
geneză, fapt confirmat prin corelația inversă dintre cantitatea
de celule ER+ sau PR+ și expresia D2-40, marker al endoteliu-
lui limfatic.

Rezumat

Introducere. În patologia oncologică feminină, cancerul mamar este cel mai frecvent tip de cancer diagnosticat și principala cauză de deces. Unul dintre cei mai importanți factori de prognostic este prezența metastazelor limfonodale, evalua-

RESEARCH ARTICLE

Peculiarities of lymphangio- genesis in molecular subtypes of breast carcinomas: experimental study

Ecaterina Carpenco^{1,2*†}, Veaceslav Fulga^{1,2†},
Lilian Saptefrati^{1,2†}

¹Chair of histology, cytology and embryology, Nicolae Testemitanu State
University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Laboratory of morphology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine
and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 02.03.2020

Accepted for publication on: 05.08.2020

Corresponding author:

Ecaterina Carpenco, asist. prof., PhD fellow
Chair of histology, cytology and embryology, Laboratory of morphology
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Ștefan cel Mare și Sfânt Bd., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: ecaterina.carpenco@usmf.md

What is not known yet, about the topic

Alterations of surrounding stroma are now recognized as a critical element for breast cancer development, progression, invasion, angiogenesis, metastasis as well as potential therapeutic targets. In breast tumor tissues, lymphatic vessels are major components of the tumor microenvironment. The hormonal control of lymphatic vessels is an important issue for decades but remains largely unexplored.

Research hypothesis

Identification of D2-40 positive lymphatic vessels and their relationships with hormone receptors, HER2 status could have a strong clinical impact for breast cancer patients.

Article's added novelty on this scientific topic

Estrogens and progesterone seem to have a crucial role in lymphangiogenesis, the amount of ER+ or PR+ carcinoma cells being inversely related with the expression of D2-40, a marker of lymphatic endothelium.

Abstract

Introduction. In female oncological pathology, breast cancer is the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer death. Lymph node metastasis is one of the most important survival predictor, this being crucial for tumor

rea acestora fiind esențială pentru stadializarea tumorii și stabilirea planului de tratament. Studiile în domeniu sugerează că metastazarea este direct corelată cu densitatea vaselor limfatice în tumoarea propriu-zisă și în regiunea peritumorală. Scopul cercetării date a constat în analiza distribuției vaselor limfatice (regiunea intratumorală vs peritumorală), precum și a relațiilor dintre limfangiogeneza tumorală și diverși parametri (precum expresia receptorilor hormonal și statusul HER2, vârsta pacientelor, gradul tumorii).

Material și metode. 84 cazuri de carcinoame mamare au fost analizate în ceea ce privește profilul molecular (expresia ER, PR, HER2) și densitatea vaselor limfatice în stroma intratumorală (D2-40it) și peritumorală (D2-40pt) cu ajutorul marker-ului endoteliului limfatic D2-40. De asemenea, au fost analizate relațiile statistice dintre subtipurile moleculare de cancer mamar și parametrii clinici principali.

Rezultate. Valori numerice maxime, atât a D2-40it cât și a D2-40pt, au fost atinse în cazul carcinoamelor mamare triplu-negative (19 și 17, respectiv). În cazul subtipului luminal A s-a stabilit o corelație pozitivă dintre D2-40it și ER ($r = 0,611$, $p=0,012$) și o corelație negativă dintre D2-40pt și vârstă ($r = -0,533$, $p=0,033$). D2-40pt a corelat pozitiv cu D2-40it ($r = 0,676$, $p=0,011$) în subtipurile HER2+ și triplu-negativ ($r = 0,631$, $p=0,028$). În ultimul menționat, D2-40pt a înregistrat o corelație inversă cu vârsta ($r = -0,584$, $p=0,046$). Analizând subtipurile moleculare per total, am determinat corelații pozitive dintre D2-40it și gradul tumorii ($r = 0,289$, $p=0,008$). Numărul vaselor limfatice intratumorale a prezentat o relație inversă cu vârsta ($r = -0,242$, $p=0,026$), expresia receptorilor hormonal ER ($r = -0,339$, $p=0,002$) și PR ($r = -0,245$, $p=0,024$). În tumorile G2 și G3, D2-40pt a corelat cu D2-40it ($r = 0,542$, $p=0,000069$ și $r = 0,558$, $p=0,000206$, respectiv). În cazul tumorilor G3, s-au stabilit corelații inverse dintre D2-40it și a celulelor tumorale ER+ ($r = -0,406$, $p=0,016$), precum și vârsta pacientelor ($r = -0,432$, $p=0,009$).

Concluzii. Densitatea vaselor limfatice intratumorale corelează cu expresia receptorilor hormonal. Intensitatea limfangiogenezei este mai înaltă la pacienții mai tineri. Densitatea vaselor limfatice intratumorale este direct proporțională cu numărul vaselor peritumorale.

Cuvinte cheie: cancer mamar, D2-40, DVL, microambianța tumorală, subtipuri moleculare, ER, PR.

Introducere

În patologia oncologică feminină, cancerul mamar este cel mai frecvent tip de cancer diagnosticat și principala cauză de deces. Ratele de incidență crescute sunt atribuite factorilor de risc cunoscuți legați de menstruație (vârsta timpurie la menarhă, vârsta tardivă la menopauză), reproducere (nuliparitatea, vârsta înaintată la prima naștere și puțini copii), administrarea de hormoni exogeni (utilizarea contraceptivelor orale și terapia de substituție hormonală), aport de alcool și antropometrie (greutate excesivă și distribuție de grăsime corporală); pe când alăptarea și activitatea fizică sunt recunoscute drept factori de protecție [1].

Prezența metastazelor limfonodale este unul dintre cei mai

staging and therapy planning. Studies suggest that metastasizing is directly correlated with the density of lymphatic vessels in the tumor itself and in the peritumoral area. The goal of present study was to study lymphatic vessels' distribution (intratumoral vs peritumoral areas) as well as the relationships between tumor lymphangiogenesis and various parameters (such as hormone receptors and HER2 status, patients' age, tumor grade).

Material and methods. 84 cases of breast carcinomas were analyzed in terms of their molecular profile (ER, PR, HER2 expression) and lymphatic vessels' density determined in the intratumoral stroma (D2-40it) and peritumoral area (D2-40pt), using the lymphatic endothelium marker D2-40. The relationships with different molecular subtypes of breast cancer and main clinical parameters were also analyzed.

Results. Maximal values of both D2-40it and D2-40pt were achieved in case of triple-negative breast carcinomas (19 and 17, respectively). For luminal A, a positive correlation was detected between D2-40it and ER ($r = 0,611$, $p=0,012$) and a negative correlation between D2-40pt and age ($r = -0,533$, $p=0,033$). D2-40pt positively correlated with D2-40it ($r = 0,676$, $p=0,011$) in HER2+ subtype and in triple-negative breast carcinomas ($r = 0,631$, $p=0,028$). D2-40pt negatively correlated with age in triple-negative subtype ($r = -0,584$, $p=0,046$). Analyzing overall molecular subtypes, we have found a positive correlation between D2-40it and tumor's grade ($r = 0,289$, $p=0,008$). Intratumoral lymphatic vessels' amount negatively correlated with age ($r = -0,242$, $p=0,026$), hormone receptors ER ($r = -0,339$, $p=0,002$) and PR ($r = -0,245$, $p=0,024$). In G2 and G3 tumors, D2-40pt correlated with D2-40it ($r = 0,542$, $p=0,000069$ and $r = 0,558$, $p=0,000206$ respectively). In case of G3 tumors intratumoral lymphatic vessels negatively correlated with ER+ carcinoma cells ($r = -0,406$, $p=0,016$) and patients' age ($r = -0,432$, $p=0,009$).

Conclusions. Intratumoral lymphatic vessel density correlates with the expression of hormone receptors. The lymphangiogenesis rate is higher in younger patients. The development of intratumoral and peritumoral lymphatic vessels is directly related.

Key words: breast carcinoma, D2-40, LVD, tumor microenvironment, molecular subtypes, ER, PR.

Introduction

In female oncological pathology, breast cancer is the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer death. Elevated incidence rates are attributed to known risk factors related to menstruation (early age at menarche, later age at menopause), reproduction (nulliparity, late age at first birth, and few children), exogenous hormone intake (oral contraceptive use and hormone replacement therapy), nutrition (alcohol intake), and anthropometry (excessive weight and body fat distribution); whereas breastfeeding and physical activity are recognized as protective factors [1].

Lymph node metastasis is one of the most important survival predictor for patients with cancers, this being crucial for

importanți predictorii ai supraviețuirii pentru pacienții cu cancer, aceasta fiind crucială pentru stadializarea tumorii și planificarea tratamentului [2]. Metastazele implică nu în ultimul rând și vasele limfatice [3]. De-a lungul timpului, vasele limfatice au fost considerate drept o conductă pasivă pentru metastaze, oferind canale pentru tranzitul celulelor tumorale către nodurile limfatice santinelă. La rândul său, limfangiogeneza, adică formarea de noi vase limfatice, a fost în mod tradițional umbrită prin evidențierea priorității a sistemului vascular sanguin (angiogeneza). Studiile recente au evidențiat totuși un rol activ, mult mai complex a vaselor limfatice în răspândirea metastatică a tumorii, reglementată de o serie complexă de factori limfangiogeni, chemokine și subtipuri de celule imune [4, 5].

Limfangiogeneza indusă de tumoră este mediata de factorii de creștere limfangiogeni care sunt produși și secretați de celulele canceroase propriu-zise și / sau de componentele microambianței tumorale, cum ar fi mastocitele, macrofagele sau trombocitele activate [5]. În prezent, limfangiogeneza este frecvent caracterizată prin densitatea vaselor limfatice (DVL), care este determinată prin numărarea directă a vaselor limfatice [6]. Diverse studii au determinat că limfangiogeneza este direct corelată cu gradul de metastazare a tumorilor solide în nodurile limfatice din carcinomul oral cu celule scuamoase, adenocarcinom de prostată, cancer colorectal [6-9]. În ultimii ani, cercetătorii și-au concentrat atenția asupra factorilor de creștere a endoteliului vascular C și D (VEGF-C și VEGF-D) în evoluția cancerului. Supraexprimarea fie a VEGF-C, fie a VEGF-D în tumori a activat semnificativ dezvoltarea vaselor limfatice asociate tumorii (în principal la marginile tumorii) și a crescut incidența metastazelor limfonodale. Pe lângă sporirea densității vaselor limfatice, acțiunea factorilor de creștere limfangiogeni se manifestă și prin creșterea în dimensiune a vaselor limfatice [5].

Limfangiogeneza poate avea loc atât la periferia tumorii, cât și în interiorul masei celulare maligne, deși exista o părere populară precum că vasele limfatice nu pot fi recrutate în cuibul tumoral. Această idee a fost susținută și de absența de markeri adecvați (până la epoca D2-40), capabili de a distinge endoteliul vaselor sangvine și limfatice. Deși rolul vaselor limfatice peritumorale a fost descris în metastazarea tumorii, nu este clar dacă același lucru este valabil și pentru vasele intratumorale, deoarece acestea sunt adesea colabate sau ocluzionate de celulele tumorale și, posibil, nefuncționale [4, 5, 10-12].

D2-40, un anticorp monoclonal IgG2a generat împotriva antigenului oncofetal membranar M2A, a fost inițial identificat în liniile celulare dezvoltate din carcinomul ovarian, precum și neoplazii a celulelor germinative. Acesta ulterior a fost raportat drept un marker specific pentru endoteliul limfatic în țesuturile neafectate și neoplazice [10].

Qian *et al.* a demonstrat că limfangiogeneza din nodul limfatic santinelă precede metastazarea, vasele neoformate fiind dilatate, iar endoteliul venulelor, tradițional înalt, devine aplăzizat. Aceste evenimente induc creșterea fluxului limfatic, promovează diseminarea metastatică și sculptează un răspuns imun permisiv [2, 5].

Studiile în domeniu indică faptul că vasele limfatice peritumorale au fost asociate cu metastaze limfonodale a cancerului

tumor staging and therapy planning [2]. Metastasis involves also lymphatic vessels [3]. Historically, lymphatic vessels were considered as a somewhat passive conduit for metastasis by simply providing channels for tumor cells to transit to sentinel lymph nodes. In turn, lymphangiogenesis, the formation of new lymphatic vessels, has traditionally been overshadowed by a greater emphasis being placed on the blood vascular system (angiogenesis). Recent studies have however highlighted a much more complex, active role for the lymphatic vasculature in metastatic tumor spread, regulated by a complex array of lymphangiogenic factors, chemokines, and immune cell subsets [4, 5].

Tumor-induced lymphangiogenesis is mediated by lymphangiogenic growth factors that are produced and secreted by the cancerous cells themselves and / or by the components of tumor microenvironment, such as mast cells, macrophages, or activated platelets [5]. Nowadays it's common to characterize lymphangiogenesis by lymphatic vessel density (LVD), which is determined by directly counting lymphatic vessels [6]. Various studies have shown that lymphangiogenesis is directly correlated with the extent of metastasis of solid tumors in lymph nodes in oral squamous cell carcinoma, prostate adenocarcinoma, colorectal cancer [6-9]. In recent years, researchers have focused on the role of vascular endothelial growth factors C and D (VEGF-C and VEGF-D) in cancer progression. The overexpression of either VEGF-C or VEGF-D in tumors significantly increased tumor-associated lymphatic vessel growth (primarily at the tumor margin) and increased incidence of lymph node metastasis. In addition to increasing lymphatic vessel density, lymphangiogenic growth factors also act to enlarge and dilate lymphatic vessel size [5].

Lymphangiogenesis can occur both at the tumor periphery and within the malignant cell mass, although there were a popular belief that lymphatic vessels were not recruited within tumor nest. This idea was supported by the lack of suitable markers (before the D2-40 era) that could distinguish blood and lymphatic vascular endothelium. Although the role of peritumoral lymphatic vessels has been described in tumor metastasis, it is not clear if the same is true for intratumoral vessels, because they are often collapsed or occluded by tumor cells and thereby possibly nonfunctional [4, 5, 10-12].

D2-40, an IgG2a monoclonal antibody generated against an oncofetal membrane antigen M2A, has been identified in ovarian carcinoma cell lines and germ cell neoplasia and has been reported to be a specific marker for lymphatic endothelium in normal and neoplastic tissue [10].

Qian *et al.* proved that lymphangiogenesis in the sentinel lymph node precedes metastasis, the newly formed vessels being dilated, and the venous endothelium, traditionally high, becomes flattened. These events induce increased lymphatic flow, promote metastatic dissemination and sculpt a permissive immune response [2, 5].

Studies in the field indicate that peritumoral lymphatic vessels have been associated with lymph node metastases of breast cancer. To date, the impact of the presence and density of intratumoral vs peritumoral lymphatic vessels on the survi-

mamar. Până în prezent nu se cunoaște impactul prezenței și densității limfaticelor intratumorale vs peritumorale asupra supraviețuirii pacienților cu cancer de sân [10, 13]. De asemenea, există puține date cu privire la relațiile dintre DVL și receptorii hormonal sau statusul HER2.

Scopul cercetării date a constat în analiza distribuției vaselor limfatice (regiunea intratumorală vs peritumorală), precum și a relațiilor dintre limfangiogeneza tumorală și diverși parametri, precum expresia receptorilor hormonal și statusul HER2, vârsta pacienților, gradul tumorii.

Material și metode

84 de cazuri de carcinoame ductale invazive au fost preluate la Spitalul Clinic Municipal Arad, România, în perioada anilor 2013-2016. Vârsta pacienților a fost cuprinsă între 37 și 85 de ani, media fiind de $67,9 \pm 8,6$ (Tabelul 1). Toate pacienții nu a fost supuse radio- sau chimioterapiei până la operație. Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova (nr. 33/37 din 12.02.2018).

Metoda histologică

Specimenele au fost fixate în formalină tamponată 10% și, tradițional, incluse în parafină. Blocurile de parafină au fost folosite pentru crearea de blocuri tisulare microarray cu ajutorul TMA Grand Master (3DHISTECH Ltd., Budapest, Hungary). Microarray-urile sunt produse prin extragerea de mostre tisulare de formă cilindrică din diferite blocuri cu reinsertia ulterioară a acestora într-un singur bloc recipient. Din fiecare microarray au fost tăiate o serie de secțiuni de 4 μ m. O parte din secțiuni au fost utilizate pentru colorația cu hematoxilin și eozină (HE), iar restul – pentru imunohistochimie. Secțiunile pentru HE au fost colorate de Leica Autostainer XL (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK) și montate automat (Leica CV5030, Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK). În vederea determinării tipului histologic a tumorii și evaluarea gradului (scorul Nottingham) cazurile au fost examinate de 3 morfopatologi independenți. Secțiunile potrivite au fost alese pentru colorarea imunohistochimică.

Imunohistochimie

Eseurile imunohistochimice a fost efectuată automat de

val of breast cancer patients is unknown [10, 13]. There is also little data on the relationship between DVL and hormone receptors or HER2 status.

The goal of present research was to study lymphatic vessels' distribution (intratumoral vs peritumoral areas) as well as the relationships between tumor lymphangiogenesis and various parameters (hormone receptors and HER2 status, patients' age, tumor grade).

Material and methods

84 cases of ductal invasive breast carcinomas were collected at the Arad Clinical Hospital, Romania, between 2013-2016. Patients ranged between 37 and 85 years old, mean of age being $67,9 \pm 8,6$ (Table 1). All patients did not undergo radio- or chemotherapy before surgery. The study was approved by the Ethics Committee of Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Moldova (no. 33/37 from 12.02.2018).

Histological method

The specimens were fixed in 10% buffered formalin and paraffin embedded as traditionally. Paraffin blocks were used for creation of tissue microarrays by means of TMA Grand Master (3DHISTECH Ltd., Budapest, Hungary). Tissue microarrays are paraffin blocks produced by extracting cylindrical tissue cores from different paraffin donor blocks and reembedding these into a single recipient (microarray) block. A series of 4 μ m sections were cut from these microarrays. Some were used for hematoxylin and eosin (H&E) staining, while others for immunohistochemistry. Sections for H&E were stained automatically by Leica Autostainer XL (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK) and mounted automatically (Leica CV5030, Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK). Cases were evaluated by 3 independent pathologists for histological tumor type and grade estimation (Nottingham score). Appropriate sections were selected for immunohistochemical stains.

Immunohistochemistry

Immunohistochemical staining was performed automatically by Leica Bond-Max (Leica Biosystems, Newcastle Upon-

Tabelul 1. Vârsta pacienților, gradul tumorii și subtipurile moleculare determinate.

Table 1. Patients' age, tumor's grade and the established molecular subtypes.

n (%)	Subtip molecular // Molecular subtype				
	luminal A <i>luminal A</i>	luminal B <i>luminal B</i>	HER2+ <i>HER2+</i>	triplu-negativ <i>triple-negative</i>	
	16 (19%)	43 (51,2%)	13 (15,5%)	12 (14,3%)	
Vârsta, ani <i>Age, years</i>	Media \pm m <i>Average \pm m</i>	70,4 \pm 7,3	69,5 \pm 6,8	60,6 \pm 4,2	66,8 \pm 6,2
	Mediana <i>Median</i>	72,5	67,0	60,0	64,5
Gradul tumorii <i>Tumor's grade</i>	G1	1	0	0	0
	G2	9	30	5	4
	G3	6	13	8	8

Notă: m – eroarea standard a mediei.

Note: m – standard average error.

Tabelul 2. Date despre anticorpi utilizați în studiu.
Table 2. Data regarding antibodies used in the study.

Anticorpi <i>Antibodies</i>	Sursa <i>Source</i>	Clona <i>Clone</i>	Diluția <i>Dilution</i>	Sistem de detecție <i>Detection system</i>	Sistem de demascare <i>Systems of retrieval</i>	Timp de incubare <i>Time of incubation</i>
PR		16				
ER	Leica Bond (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK)	6F11	Ready-to-use	Bond Polymer Refine Detection System	20 min, ER2	30 min
Ki-67		MM1				
HER2	Novocastra (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK)	CB11				
D2-40 (anti-podoplanină)	Abcam (Cambridge, UK)	gp36	1:40		10 min, ER1	60 min

Notă: PR – receptor pentru progesteron; ER – receptor pentru estrogen; HER2 – human epidermal growth receptor 2; ER1 – Bond Epitope Retrieval Solution 1, pH6; ER2 – Bond Epitope Retrieval Solution 2, pH9, Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK.

Note: PR – progesterone receptor; ER – estrogen receptor; HER2 – human epidermal growth receptor 2; ER1 – Bond Epitope Retrieval Solution 1, pH6; ER2 – Bond Epitope Retrieval Solution 2, pH9, Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK.

Leica Bond-Max (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK). Demascarea antigenului a fost obținută prin utilizarea de Bond Epitope Retrieval Solution 1 sau 2 (pH 6 și pH 9, respectiv) (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK). Datele referitoare la anticorpii utilizați pentru stabilirea subtipului molecular și pentru identificarea vaselor limfatice pot fi regăsite în Tabelul 2. DAB (3,3'-diaminobenzidină) a fost aplicat drept substrat cromogen, iar hematoxilina Mayer a fost colorantul adițional utilizat pentru contracolorarea nucleilor.

Metode de cuantificare

Pentru clasificarea specimenelor de cancer mamar în funcție de profilul molecular, receptorii hormonal (ER – receptorul pentru estrogen și PR – receptorul pentru progesteron) au fost evaluați în funcție de scorul Allred [14]. Acesta a fost determinat luând în calcul proporția de celule colorate și de intensitatea colorației. Pragul pozitivității (cut-off-ul) pentru ER și PR a fost de 10%, iar pentru Ki-67 – de 20%. Proteina HER2 (receptorul pentru factorul uman de creștere epidermală 2) a fost apreciată conform recomandărilor Societății Americane de Oncologie Clinică [15]. În baza Consensului Internațional de Experți 2015 de la St Gallen, profilul imunohistochimic al subtipurilor moleculare a fost următorul: ER+ și/ sau PR+, HER2-, Ki-67 <20% pentru subtipul luminal A; ER+ și / sau PR+, HER2+ și/ sau Ki-67 >20% pentru luminal B; ER-, PR-, HER2+ pentru subtipul HER2+ [16]. Specimenele în care a lipsit colorația pentru ER, PR și HER2 au fost calificate ca subtip triplu-negativ. În studiul dat nu am folosit CK 5/6 și EGFR pentru a stabili subtipul bazal.

Pentru a determina zonele carcinomului cu cel mai mare număr de vase limfatice distinct evidențiate, secțiunile imunocolorate au fost inițial studiate la obiectivul $\times 100$. Cuantificarea a fost făcută la microscopul Axio Imager A2 (Carl Zeiss, Germany). Distribuția limfaticelor față de celulele tumorale și alte componente ale stromei a fost analizată în zonele cu cel

Tyne, UK). Antigen retrieval was achieved by using of Bond Epitope Retrieval Solution 1 or 2 (pH 6 and pH 9, respectively) (Leica Biosystems, Newcastle UponTyne, UK). Information about antibodies used to establish the molecular subtype and to identify lymphatic vessels can be found in Table 2. DAB (3,3'-diaminobenzidine) was applied as a chromogen substrate and Mayer's hematoxylin was the additional dye used for the counterstaining of nuclei.

Methods of quantification

To classify specimens of breast cancer according to the molecular profile, hormone receptors (ER – estrogen receptor and PR – progesterone receptor) were evaluated according to Allred score [14]. It was determined depending on the proportion of cells which are stained and the intensity of staining. The cut-off value for ER and PR was 10%. HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) protein was appreciated according to the recommendations of the American Society of Clinical Oncology [15]. According to St Gallen International Expert Consensus 2015, the immunohistochemical profile of molecular subtypes was as follows: ER+ and/ or PR+, HER2-, Ki-67 <20% for luminal A; ER+ and/ or PR+, HER2+ and/ or Ki-67 >20% for luminal B/HER2+; ER-, PR-, HER2+ for HER2+ subtype [16]. The specimens which stained negatively for ER, PR, and HER2 protein were qualified as triple-negative subtype. We did not use CK 5/6 and EGFR to establish basal-like subtype.

For evaluation of LVD, the immunostained sections were scanned at low magnification ($\times 100$) to determine the areas of carcinoma with the greatest number of distinctly highlighted vessels. Counting was done by means of Axio Imager A2 microscope (Carl Zeiss, Germany). Zones with greatest number of D2-40 positive lymphatic vessels were analyzed in terms of distribution of lymphatic vessels related to tumor cells and other components of the stroma. Then we counted the num-

mai mare număr de vase D2-40 pozitive. Numărul vaselor limfatice din stroma intratumorală (D2-40it) și peritumorală (D2-40pt) a fost evaluat separat, în 3 câmpuri microscopice pentru fiecare, la mărirea $\times 200$. Am considerat vasele limfatice ca fiind intratumorale dacă acestea erau localizate complet în cuibul tumoral. Valoarea finală a DVL pentru fiecare caz a fost exprimată prin media aritmetică a celor trei câmpuri.

Analiza datelor

Datele au fost stocate într-o bază de date MS Excel 2010 și analizate cu ajutorul programului SPSS (*SPSS Statistics 23.0*; IBM, Chicago, IL, USA). În acest studiu am utilizat coeficientul de corelație a lui Pearson și am considerat $p < 0,05$ drept semnificativ statistic.

Rezultate

Majoritatea tumorilor (48 de cazuri din 84/ 57,1%) au fost moderat diferențiate (G2), urmate în 35 de cazuri (41,7%) de cele slab diferențiate (G3) și doar 1 caz (1,2%) a avut un grad înalt de diferențiere (G1).

Studiul imunohistochimic a pus în evidență 44 de cazuri de subtip luminal B (51,2%), 16 cazuri luminale A (19%), 13 cazuri HER2+ (15,5%) și 12 cazuri (14,3%) carcinoame mamare triplu-negative.

D2-40 a colorat exclusiv endoteliul vaselor limfatice în conformitate cu ghidul producătorului (Figura 1A). Vasele limfatice D2-40 pozitive au fost distribuite neuniform, aveau o formă neregulată și lumen cu perete subțire. Vasele limfatice intratumorale au fost depistate rar (media și deviația std. fiind de $1,07 \pm 2,76$ vs $1,87 \pm 3,03$ pentru D2-40pt), ocazional conținând grupuri de celule tumorale invadante (Figura 1B) și având un lumen deschis (Figura 1C, D). Vasele limfatice peritumorale au fost mult mai dilatate (Figura 1E și F). De remarcat că valorile numerice maxime atât ale D2-40it, cât și ale D2-40pt au fost obținute în cazul carcinoamelor mamare triplu-negative (respectiv 19 și 17).

În cazul subtipului luminal A, a fost detectată o corelație pozitivă între D2-40it și ER ($r = 0,611$, $p = 0,012$) precum și o corelație negativă între D2-40pt și vârstă ($r = -0,533$, $p = 0,033$).

D2-40pt a corelat pozitiv cu D2-40it ($r = 0,676$, $p = 0,011$) în subtipul HER2+. Aceeași corelație pozitivă a fost regăsită și în carcinoamele mamare triplu-negative ($r = 0,631$, $p = 0,028$). În plus, în cadrul subtipului HER2+, D2-40pt a corelat negativ cu vârsta pacientelor ($r = -0,584$, $p = 0,046$).

Analizând subtipurile moleculare per total, am determinat corelații pozitive dintre D2-40it și gradul tumorii ($r = 0,289$, $p = 0,008$). Totodată, numărul vaselor limfatice intratumorale a fost într-o relație inversă cu vârsta ($r = -0,242$, $p = 0,026$), receptorii hormoni ER ($r = -0,339$, $p = 0,002$) și PR ($r = -0,245$, $p = 0,024$).

În tumorile G2 și G3, D2-40pt a corelat cu D2-40it ($r = 0,542$, $p = 0,000069$ și $r = 0,558$, $p = 0,000206$, respectiv). În cazul tumorilor G3, s-au stabilit corelații inverse dintre numărul vaselor limfatice intratumorale și celulele tumorale ER+ ($r = -0,406$, $p = 0,016$) precum și vârsta pacientelor ($r = -0,432$, $p = 0,009$).

ber of lymphatic vessels from intratumoral (D2-40it) and peritumoral (D2-40pt) stroma separately, 3 microscopic fields for each, at $\times 200$ magnification. We considered lymphatic vessels as being intratumoral if they were completely located within the tumor nest. The final value of LVD for each case was expressed by the arithmetic average of the three fields.

Data analysis

A MS Excel 2010 database was used to store the data that were statistically analyzed with SPSS statistical software package (*SPSS Statistics 23.0*; IBM, Chicago, IL, USA). We used Pearson's correlation coefficient and considered a $p < 0,05$ as statistically significant.

Results

Most of tumors (48 cases out of 84/ 57,1%) were moderately differentiated (G2); 35 cases (41,7%) were poorly differentiated (G3) and only 1 case (1,2%) had a high grade of differentiation (G1).

Immunohistochemical staining revealed 44 cases of luminal B subtype (51,2%), 16 cases of luminal A (19%), 13 cases of HER2+ (15,5%) and 12 cases (14,3%) of triple-negative breast carcinomas.

D2-40 stained the endothelium of lymph vessels according to the manufacturer's guide (Figure 1A). The D2-40-positive lymphatic vessels were unevenly distributed, had irregular morphology and thin-walled lumens. Intratumoral lymphatic vessels were very rare (mean and std. deviation being $1,07 \pm 2,76$ vs $1,87 \pm 3,03$ for D2-40pt), with opened lumens (Figure 1B) and occasionally contained invading tumor-cell clusters (Figure 1C). The peritumoral lymphatic vessels were enlarged and dilated (Figure 1D). Notably, maximal values of both D2-40it and D2-40pt were achieved in case of triple-negative breast carcinomas (19 and 17, respectively).

For luminal A, a positive correlation was detected between D2-40it and ER ($r = 0,611$, $p = 0,012$) and a negative correlation between D2-40pt and age ($r = -0,533$, $p = 0,033$).

D2-40pt positively correlated with D2-40it ($r = 0,676$, $p = 0,011$) in HER2+ subtype. Same positive correlation was found in triple-negative breast carcinomas ($r = 0,631$, $p = 0,028$). D2-40pt negatively correlated with age in this molecular subtype ($r = -0,584$, $p = 0,046$).

Analyzing overall molecular subtypes, we have found a positive correlation between D2-40it and tumor's grade ($r = 0,289$, $p = 0,008$). The amount of intratumoral lymphatic vessels negatively correlated with age ($r = -0,242$, $p = 0,026$), and hormone receptors ER ($r = -0,339$, $p = 0,002$) and PR ($r = -0,245$, $p = 0,024$).

In G2 and G3 tumors, D2-40pt correlated with D2-40it ($r = 0,542$, $p = 0,000069$ and $r = 0,558$, $p = 0,000206$, respectively). In case of G3 tumors intratumoral lymphatic vessels negatively correlated with the number of ER+ carcinoma cells ($r = -0,406$, $p = 0,016$) and patients' age ($r = -0,432$, $p = 0,009$).

Discussion

Multiple studies in the field indicate that tumor-associated lymphangiogenesis does occur in various human cancers.

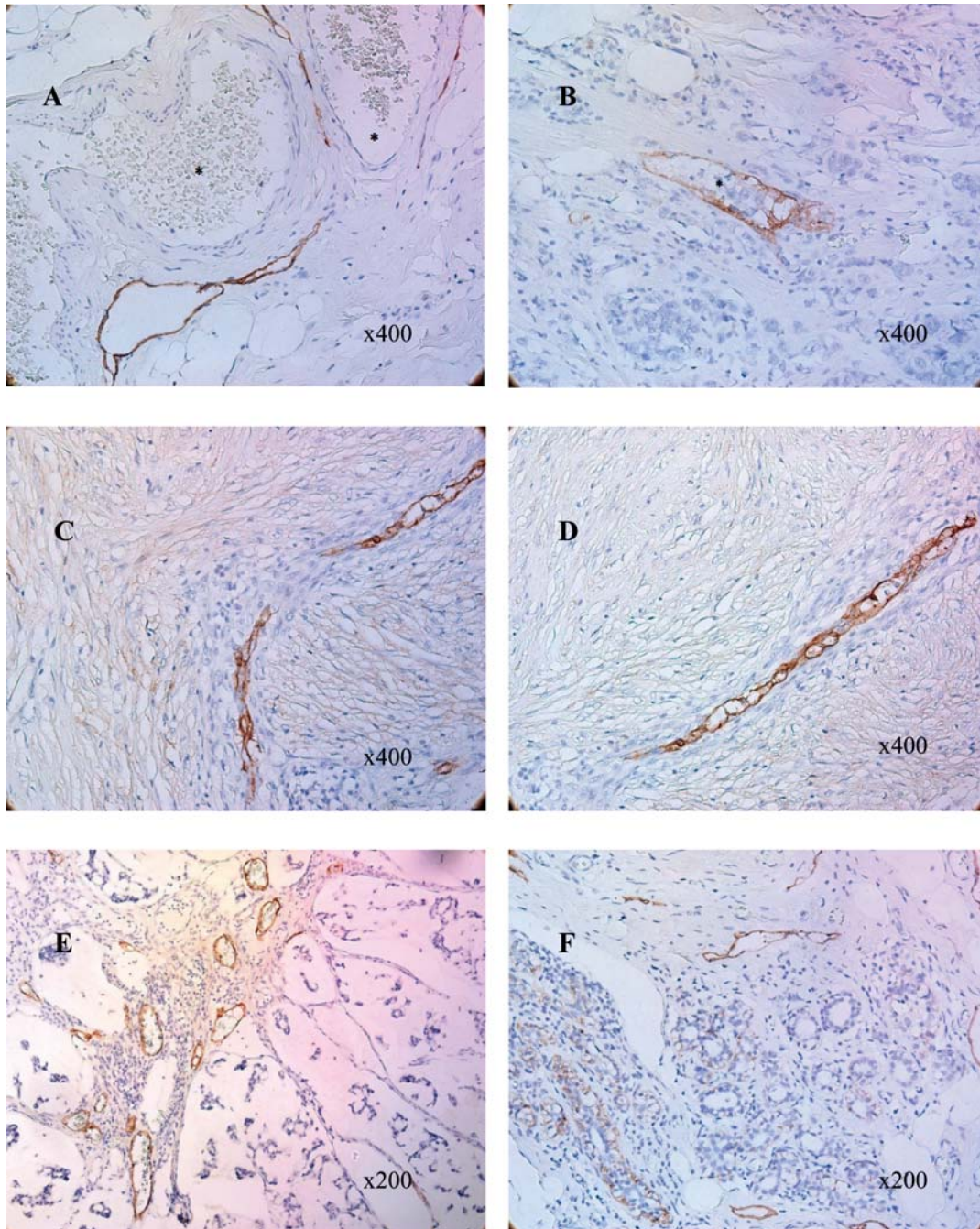


Fig. 1 Diverse localizări ale vaselor limfatice în carcinoame mamare.

(A) Vase limfatice D2-40+ într-o zonă neafectată. De remarcat vasele sangvine colorate negativ (asterisc); (B) Carcinom mamar invaziv. Invazie limfovaculară (asterisc); (C, D) Carcinom mamar invaziv, vase intratumorale D2-40+; (E, F) Carcinom mamar invaziv. Vase limfatice în aria peritumorală (colorație imunohistochimică anti-D2-40, contracolorare cu hematoxină Mayer).

Fig. 1 Different localization of lymphatic vessels in breast carcinomas.

(A) Lymphatic vessels D2-40+ in an unaffected region. Note the negatively colored blood vessels (asterisk); (B) Invasive breast carcinoma. Lymphovascular invasion (asterisk); (C, D) Invasive breast carcinoma, intratumoral D2-40+ vessels; (E, F) Invasive breast carcinoma. Lymphatics in the peritumoral area (anti-D2-40 immunohistochemical staining, Mayer's hematoxylin counterstaining).

Discuții

Multiple studii de specialitate indică faptul că limfangogeneza asociată tumorii are loc în diferite tipuri de cancer. Aceasta promovează metastazarea și are o valoare prognostică pentru pacienți. Mai exact, prezența vaselor limfatice peri-

It promotes metastasis and has prognostic value for patients. Specifically, the presence of peritumoral lymphatic vessels significantly correlated with lymph node metastasis, being more prevalent in node-positive vs node-negative patients. Peritumoral lymphatic vessels were also identified as a key prognos-

tumorale susține metastazarea limfonodală, ultima fiind mai intensă la pacienții cu limfonoduli pozitivi vs negativi. Vasele limfatice peritumorale au fost, de asemenea, recunoscute drept un indicator cheie a prognosticului influențând rata de supraviețuire a pacienților cu cancer mamar [5]. Din păcate, actualul studiu nu dispune de date cu privire la metastazarea în nodurile limfatice santinelă și / sau organele la distanță.

Unele studii au demonstrat absența limfangiogenezei în cancerul de sân, în timp ce altele au raportat prezența vaselor limfatice în cancerul mamar. Padera *et al.*, precum și Leu *et al.* consideră că practic nu există vase limfatice în cadrul masei tumorale [11, 12]. Însă, în lucrarea dată am demonstrat că limfangiogeneza are loc și în interiorul cuibului tumoral, fapt confirmat prin identificarea directă a vaselor limfatice intratumorale D2-40+.

În literatura de specialitate sunt disponibile puține date referitor la specificul limfangiogenezei în diferite subtipuri moleculare ale carcinoamelor mamare, deși este recunoscut că metastazarea decurge în mod diferit [17]. Similar rezultatelor noastre, Arnaout-alkarain *et al.* au demonstrat că prezența vaselor limfatice D2-40+ corelează cu vârsta mai tânără a pacienților; gradul înalt al tumorii, gradul nuclear înalt și numărul de celule ER pozitive [18]. Aceste observații susțin ideea că, cu cât vârsta este mai tânără cu atât este mai mare rata limfangiogenezei, respectiv, cu atât mai rău este prognosticul.

Corelațiile negative dintre D2-40it și expresia receptorilor hormonal (ER și PR) sugerează că estrogenii și progesteronul ar putea avea roluri protectoare. Această ipoteză este susținută și de valorile maxime atât a D2-40it, cât și a D2-40pt în cazurile de carcinoame mamare triplu-negative, ce nu exprimă ER și PR. Raica *et al.* a demonstrat, de asemenea, că în subtipul triplu-negativ de cancer mamar se atestă o densitate mai mare a vaselor limfatice și supraexprimarea VEGF-C și D [19]. În unul din studiile noastre, am demonstrat că în tumorile triplu-negative, mastocitele intratumorale corelează puternic cu cele peritumorale [20]. Aceste celule sunt capabile de a stimula limfangiogeneza; respectiv, aceeași dinamică a fost observată în studiul actual și în cazul vaselor limfatice.

Contrar celor menționate mai sus, Morfoisse *et al.* recent au demonstrat că estradiolul stimulează activarea transcripțională a genelor legate de limfangiogeneza: VEGFR-3, VEGF-D, Lyve-1 și genele HAS, astfel stimulând dezvoltarea capilarelor limfatice. Pierderea ER α s-a soldat cu reducerea expresiei genelor limfangiogene VEGFR-3 și Lyve-1, atât *in vivo* cât și *in vitro* [21]. Mai mult, Brown *et al.* au demonstrat că dezvoltarea postnatală a vaselor limfatice ovariene este asociată cu creșterea foliculilor ovarieni. Potrivit acestui grup de cercetători, vasele limfatice ovariene se dezvoltă conform unui model temporal corespunzător apariției foliculilor secundari, producători de estrogeni. Astfel, factorii de creștere limfangiogeni sunt reglați impresionant de agenți foliculogeni, FSH și estradiol [22].

Interrelațiile dintre vasele limfatice intratumorale și peritumorale în carcinomul mamar sunt puțin reflectate în literatura de specialitate. Rezultatele studiului de față sugerează o corelație pozitivă, puternică dintre limfangiogeneza tumorală și micromediul înconjurător, intensitatea fiind în funcție de subtipul molecular a carcinomului mamar.

tic indicator for the survival rate of patients with breast cancer [5]. Unfortunately, information regarding metastasis to sentinel lymph nodes and / or distant organs was not available in our study.

Several studies have demonstrated the absence of lymphangiogenesis in breast cancer whereas others have reported the presence of lymphatic vessels in breast cancer. Padera *et al.*, as well as Leu *et al.* consider that there are virtually no lymphatic vessels within the tumor mass [11, 12]. However, we have proved that lymphangiogenesis does take place inside of tumor nest by directly identifying D2-40 positive intratumoral lymphatic vessels.

Few data are available concerning the specific profile of lymphangiogenesis in different molecular subtypes of breast carcinomas, despite being shown that their metastatic portrait is different [17]. Similar to our findings, Arnaout-alkarain *et al.* indicated that the presence of D2-40 positive lymph vessels correlated with younger age, high tumor grade, high nuclear grade, and amount of estrogen receptors [18]. These support the idea that the younger the age – the higher the lymphangiogenesis' rate – the worse the prognosis.

Negative correlations between D2-40it and the expression of hormone receptors (ER and PR) suggest that estrogens and progesterone could have a protective role. This idea is supported by maximal values of both D2-40it and D2-40pt in case of triple-negative breast carcinomas. Raica *et al.* has also demonstrated that triple-negative subtype of breast cancer correlates with higher LVD and overexpression of VEGF-C and D [19]. In one of our studies, we demonstrated that in triple-negative tumors, intratumoral mast cells strongly correlate with peritumoral ones [20]. These cells are able to stimulate lymphangiogenesis; the same dynamics being observed in the current study and in the case of lymphatic vessels.

Conversely, Morfoisse *et al.* have recently showed that estradiol targets VEGFR-3, VEGF-D, Lyve-1, and HAS gene expression, thus stimulating development of lymphatic capillaries. Loss of ER α reduces lymphangiogenic gene expression VEGFR-3 and Lyve-1 *in vivo* and *in vitro* [21]. Moreover, Brown *et al.* have shown that ovarian lymphatic vasculature develops postnatally and is associated with ovarian follicle growth. According to this group of scientists, the ovarian lymphatic vasculature develops in conformity to a temporal pattern corresponding to the establishment of estrogenic secondary follicles; thus lymphangiogenic growth factors are strikingly regulated by folliculogenic stimuli, FSH, and estradiol [22].

The interrelationships between intratumoral and peritumoral lymphatic vessels in breast carcinoma are poorly reflected in the literature. The results of the present study suggest a positive, strong correlation between tumor lymphangiogenesis and the surrounding microenvironment, the intensity being depending on the molecular subtype of breast carcinoma.

Conclusions

Intratumoral lymphatic vessel density correlates with the expression of hormone receptors. The lymphangiogenesis rate is higher in younger patients. The development of intratumoral and peritumoral lymphatic vessels is directly related.

Concluzii

Densitatea vaselor limfatice intratumorale corelează cu expresia receptorilor hormonal. Intensitatea limfangiogenezei este mai înaltă la pacienții mai tineri. Densitatea vaselor limfatice intratumorale este direct proporțională cu numărul vaselor peritumorale.

Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la această lucrare.

Mulțumiri

Această cercetare a fost susținută de grantul CNFIS-FDI-2018-0459 oferit de către Ministerul Educației și Cercetării din România. Aducem sincere mulțumiri echipei Disciplinei de Histologie și Centrului de Cercetare în Angiogeneză, Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara, România.

Referințe / references

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I. Global Cancer Statistics 2018 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J Clin*. 2018; 68:394-424.
- Qian C., Berghuis B., Tsarfaty G., Bruch M., Kort E., Ditlev J. et al. Preparing the “soil”: the primary tumor induces vasculature reorganization in the sentinel lymph node before the arrival of metastatic cancer cells. *Cancer Res*. 2006; 66 (21):10365-10376.
- Alitalo K, Tammela T, Petrova T. Lymphangiogenesis in development and human disease. *Nature*. 2005, 438: 946-953.
- Schoppmann S. Lymphangiogenesis, inflammation and metastasis. *Anticancer Res*. 2005; 25 (6 C): 4503-4511.
- Christiansen A., Detmar M. Lymphangiogenesis and Cancer. *Genes and Cancer*, 2011; 2 (12): 1146-1158.
- Pak K, Jo A, Choi H, Choi Y, Kim H, Cheong J. The different role of intratumoral and peritumoral lymphangiogenesis in gastric cancer progression and prognosis. *BMC Cancer*, 2015; 15 (1):1-8.
- Ren W, Gao L, Xu Y, Zhao L, Zhi K.Q, Qi H, Li P. Study on relationship between expression of podoplanin and lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Shanghai Journal of Stomatology*, 2012; 21 (4): 437-441.
- Roma A, Magi-Galluzzi C, Kral M, Jin T, Klein E, Zhou M. Peritumoral lymphatic invasion is associated with regional lymph node metastases in prostate adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2006; 19 (3): 392-398.
- Kaneko I, Tanaka S, Oka S, Kawamura T, Hiyama T, Ito M, Yoshihara M, Shimamoto F, Chayama K. Lymphatic vessel density at the site of deepest penetration as a predictor of lymph node metastasis in submucosal colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*, 2007; 50 (1):13-21.
- El-Gohary Y, Metwally G, Saad R, Robinson M, Mesko T, Poppiti R. Prognostic significance of intratumoral and peritumoral lymphatic density and blood vessel density in invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*, 2008; 129 (4): 578-586.
- Padera T, Kadambi A, Di Tomaso E, Carreira C, Brown E, Boucher Y, Choi N, Mathisen D, Wain J, Mark E, Munn L, Jain R. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics. *Science*, 2002; 296 (5574): 1883-1886.
- Leu A, Berk D, Lybousaki A, Alitalo K, Jain R. Absence of functional lymphatics within a murine sarcoma: a molecular and functional evaluation. *Cancer Res*, 2000; 60: 4324-4327.
- Zhang S, Zhang D, Yi S, Gong M, Lu C, Cai Y, Tang X, Zou L. The relationship of lymphatic vessel density, lymphovascular invasion, and lymph node metastasis in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, 2017; 8 (2): 2863-2873.
- Allred C, Harvey J, MD B, Clark G. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*, 1998; 11: 155-168.
- Wolff A, Hammond M, Allison K, Harvey B, Mangu P, Barlett J, Bilous M, Ellis I, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins R, Press M, Spears P, Vance G, Viale G, Mcshane L, Dowsett M. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 testing in breast cancer : American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol*, 2019; 36 (20): 2105-2122.
- Coates A, Winer E, Goldhirsch A, Gelber R, Gnani M, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn H.-J., Panel Members. Tailoring therapies – improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol*, 2015; 26 (8): 1533-1546.
- Raica M, Cimpean A, Ceausu R, Ribatti D, Gaje P. Interplay between mast cells and lymphatic vessels in different molecular types of breast cancer. *Anticancer Res*, 2013; 33 (3): 957-964.
- Arnaout-Alkarain A, Kahn H, Narod S, Sun P, Marks A. Significance of lymph vessel invasion identified by the endothelial lymphatic marker D2-40 in node negative breast cancer. *Mod Pathol*. 2007; 20 (2): 183-191.
- Raica M, Cimpean A, Ceausu R, Ribatti D. Lymphatic microvessel density , VEGF-C , and VEGFR-3 expression in different molecular types of breast cancer. *Anticancer Res*, 2011; 31 (5): 1757-1764.
- Carpenco E, Ceaușu R, Cimpean A, Gaje P, Șaptefrăți L, Fulga V, David V, Raica M. Mast cells as an indicator and prognostic marker in molecular subtypes of breast cancer. *In Vivo*, 2019; 33 (3):743-748.
- Morfoisse F, Tatin F, Chaput B, Therville N, Vaysse C, Metivier R. et al. Lymphatic vasculature requires estrogen receptor α signaling to protect from lymphedema. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018; 38: 1346-1357.
- Brown H, Robker R, Russell D. Development and hormonal regulation of the ovarian lymphatic vasculature. *Endocrinology*, 2010; 151 (11): 5446-5455.



ARTICOL DE CERCETARE

Evaluarea defectelor osoase ale crestei alveolare la maxilarul superior

Alexandru Ghețiu^{1*}, Dumitru Sîrbu^{1†}, Vadim Jurjiu^{1‡}

¹*Catedra de chirurgie oro-maxilo-facială și implantologie orală „Arsenie Guțan”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Data primirii manuscrisului: 25.08.2020

Data acceptării spre publicare: 26.11.2020

Autor corespondent:

Alexandru Ghețiu, doctorand, asist. univ.

Catedra de chirurgie oro-maxilo-facială și implantologie orală „Arsenie Guțan” Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

str. Toma Ciorbă, 1, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: alexandrughetiu@gmail.com

RESEARCH ARTICLE

Assessment of alveolar ridge bone defects in the upper jaw area

Alexandru Ghețiu^{1*}, Dumitru Sirbu^{1†}, Vadim Jurjiu^{1‡}

¹*Chair of oro-maxillo-facial surgery and oral implantology „Arsenie Guțan”, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Date of the manuscript receipt: 25.08.2020

Date accepted for publication: 26.11.2020

Corresponding author:

Alexandru Ghețiu, assist. prof., PhD student

Chair of oro-maxillo-facial surgery and oral implantology „Arsenie Guțan” Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

1, Toma Ciorba street, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: alexandrughetiu@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Rămâne neelucidată problema măsurării cât mai exacte a dimensiunilor defectelor osoase de creastă alveolară și a volumului acestora. Aceste date ne ajută în alegerea tehnicii de reconstrucție osoasă, a materialului și a zonei donor în recoltarea grefelor autogene.

Ipoteza de cercetare

Analiza defectelor osoase de creastă alveolară pe tomografia computerizată cu fascicol conic și fotograme furnizează date precise și complexe.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Articolul aduce cu sine informații suplimentare în evaluarea defectelor osoase de creastă alveolară, informații despre efectuarea și analiza examenului fotografic, tehnici de măsurare a defectelor pe tomografia computerizată.

What is not known, yet about the topic

The precise measuring of the dimensions of alveolar ridge bone defects and their volume remains an issue. The data presented in the article are of great help while choosing the suitable bone reconstruction techniques as well as material and donor area in the autogenic grafts harvesting.

Research hypothesis

Cone beam computed tomography and photograms provide accurate and complex data for assessment of alveolar ridge bone defects.

Article's added novelty on this scientific topic

The article provides additional information on the following aspects: assessment of alveolar ridge bone defects, conduct and analysis of photographic examination, as well as techniques for measuring defects on computed tomography.

Rezumat

Introducere. Pentru evaluarea defectelor osoase de creastă alveolară există mai multe metode clinice și paraclinice cum ar fi: examenul fotografic, analiza modelelor de studiu, fișa clinică parodontală, metodele radiologice și scanarea intraorală. Articolul a avut drept scop prezentarea tehnicilor de măsurare și analiză a defectelor osoase care au fost utilizate la pacienții ce au necesitat reabilitare orală implanto-protetică.

Material și metode. În articol au fost analizate defectele osoase de creastă alveolară la maxilarul superior la 70

Abstract

Introduction. To assess the alveolar ridge bone defects several clinical and paraclinical methods have been applied. These were: photographic examination, analysis of study patterns, periodontal clinical recording, radiological methods and intraoral scanning. The purpose of the article was to analyze and present the techniques for measuring and assessment of bone defects used in patients that require implant-prosthetic rehabilitation.

Material and methods. The research study analyzed al-

pacienți, 27 de bărbați și 43 femei, cu vârsta cuprinsă între 18-67 ani, media fiind $42,1 \pm 1,4$ ani. În total, au fost analizate 79 de defecte osoase, dintre care, 26 de defecte orizontale, 1 defect vertical și 52 de defecte combinate. Evaluarea defectelor osoase a fost realizată prin analiza CBCT-urilor și pozelor pre- și intra-operatorii. Analiza statistică a datelor s-a realizat utilizând programele Microsoft Excel și IBM SPSS Statistics 22.

Rezultate. Cele mai multe defecte de creastă alveolară au fost întâlnite la nivelul dinților 1.4 și 2.4, 21 defecte osoase (10,6%) și respectiv 22 defecte osoase (11,1%). Lățimea crestei în zona defectului a variat între 1,1 mm (la defectele orizontale) și 12,3 mm (la defectele verticale) constituind o medie de $3,9 \pm 0,1$ mm, mediana fiind 3,5 mm. După evaluarea defectelor în cele trei planuri au fost obținute: lungimea defectelor între 4,6-52,3 mm, cu media $18,4 \pm 1,2$ mm; lățimea defectelor a fost cuprinsă între 0,4-5,9 mm, cu o medie de $3,4 \pm 0,1$ mm; înălțimea defectelor osoase a variat între 0,5-9,6 mm, formând, în medie, $3,9 \pm 0,1$ mm.

Concluzii. Metodele de evaluare prezentate în articol au furnizat multiple date suplimentare despre defectul osos de creastă alveolară, ceea ce a oferit o evaluare complexă a defectului. Totalitatea metodelor enumerate reprezintă modalități de evaluare a defectelor osoase și pot fi utilizate atât solitar, cât și combinate între ele pentru obținerea unei imagini cât mai complexe a cazului clinic.

Cuvinte cheie: defect osos de creastă alveolară, CBCT, examen fotografic, reconstrucție osoasă.

Introducere

Defectele de creastă alveolară sunt un impediment în calea reabilitării orale implanto-protetice. Deseori, din cauza lipsei de țesut osos alveolar, tratamentul implantologic este complicat sau chiar imposibil. Osul alveolar, care menține dinții și este situat pe maxilarul superior și mandibulă, este considerat a fi o entitate separată. Inițiatorul și centrul de creștere al osului alveolar este organul dentar. De fapt, însăși dezvoltarea organului dentar permite crearea, dezvoltarea și creșterea osului alveolar. Aceasta este o situație unică: când un organ, dintele, joacă rolul unui centru de creștere regional pentru țesutul osos vecin [1], conform studiilor din domeniu, de aici survine și noțiunea de complex dento-alveolar. Khoury F. și colab. menționează că ligamentul parodontal este și el parte a acestui complex, influențând direct troficitatea procesului alveolar, astfel, formându-se o entitate care ar trebui identificată ca atare și denumită „entitatea funcțională odontologică” (*engl.* OFE) [2]. Autorii consideră că OFE poate fi definită ca o structură formată din 3 elemente anatomice: dinți, os și ligament parodontal, care sunt independente, dar conectate embriologic și fiziologic.

Procesul alveolar este o structură dependentă de dinți, iar dezvoltarea sa este strict legată de erupția dentară. Se cunoaște foarte bine că apar modificări volumetrice marcante în locul edentației ca urmare a pierderii dentare; nu numai corticala

veolar ridge bone defects of the upper jaw area, in 70 patients, 27 men and 43 women, aged between 18 and 67 years, the mean age constituted $42.1 \text{ years} \pm 1.4$. Overall, 79 bone defects have been analyzed: 26 horizontal defects; 1 vertical defect; and 52 combined defects. The assessment of bone defects was carried by the analysis of pre/intraoperative CBCT imaging. Statistical analysis of the data was done using the Microsoft Excel and IBM SPSS Statistics 22 programs.

Results. Most alveolar ridge defects have been found at the level of the teeth 1.4 and 2.4, respectively 21 cases (10.6%) and 22 cases of bone defects (11.1%). The width of the ridge in the defect area ranged from 1.1 mm (in horizontal bone defects) to 12.3 mm (in vertical bone defects), thus, constituting an average length 3.9 ± 0.1 mm, and the median one – 3.5 mm. After assessing the defects in the three planes the following data have been obtained: the length of the defects was between 4.6-52.3 mm, with an average of 18.4 ± 1.2 mm; the width of the defects was between 0.4-5.9 mm, with an average of 3.4 ± 0.1 mm; the height of the defects ranged from 0.5 to 9.6 mm, with an average of 3.9 ± 0.1 mm.

Conclusions. The assessment methods presented in the research paper provided multiple data on the alveolar ridge bone defects, in this way ensuring a complex analysis of such kind of abnormalities. The listed methods reveal ways of assessing bone defects and can be used both alone or combined to obtain a more complex picture of the clinical case.

Key words: alveolar ridge bone defect, CBCT, photographic examination, bone reconstruction.

Introduction

Alveolar ridge bone defects constitute an impediment to implant-prosthetic rehabilitation. Often, due to the lack of alveolar bone tissue, the implant treatment can be difficult or even impossible. The alveolar bone, which maintains the teeth and is located on the upper and lower jaws, is considered to be a separate entity. The growth center of the alveolar bone is the dental organ. In fact, the development of the dental organ allows the creation, development and growth of the alveolar bone. This is a unique situation when an organ, tooth, plays the role of a regional growth center to surrounding bone tissue [1], hence the notion of dento-alveolar complex comes. Khoury F. et al. mention that the periodontal ligament is also part of this complex, it being capable to influence directly the alveolar process trophicity, thus forming an entity that can be identified as the „odontological functional entity” (*engl.* OFE) [2]. The authors consider that OFE can be defined as a structure consisting of three anatomical elements: teeth, bone, and periodontal ligament, which are considered to be independents, but, at the same time, are connected embryologically and physiologically.

The alveolar process is a tooth-dependent structure, and its development is strictly dependent on dental eruption. It is well known that marked volumetric changes occur in the place of dental loss. As a result of dental loss, not only the alveo-

vestibulară alveolară se resoarbe, dar, în consecință, întreaga lățime a crestei este redusă [3]. Excluderea dintelui și, în consecință, a ligamentului parodontal din complexul dento-alveolar sau din OFE duce la efecte inevitabile asupra elementului rămas: osul alveolar.

Cauzele și condițiile pierderilor dentare, de asemenea, condiționează modificarea creștelor alveolare. Pierderea timpurie a dinților, infecțiile osoase, boala parodontală, cavitățile reziduale alveolare au un impact direct asupra modificărilor creștelor alveolare. Anomaliile dento-maxilare au și ele un rol major în creșterea, dezvoltarea și morfologia post-extracțională alveolară. Hipo- sau oligodontia și tulburările metabolice perturbă structura naturală a osului alveolar și/sau procesul de creștere [4]. Dimensiunea verticală a crestei alveolare este, adesea, condiționată de anomaliile morfologice manifestate prin apariția unei ocluzii adânci cu subdezvoltare în segmentul posterior. Pe de altă parte, ocluzia deschisă anterioară sau laterală (cu spațiu infraocluzal, ca urmare a parafuncțiilor, cum ar fi suptul degetului mare) afectează, de asemenea, procesul alveolar [4]. Parodontopatia marginală cronică participă semnificativ la modificările procesului alveolar dentat și, ca rezultat, asupra celui edentat, unii autori descriind și rolul ei resorbativ asupra osului peri-implantar viitor [5, 6].

Astfel, resorbția alveolară va fi evaluată în funcție de etiologie, care se clasifică în mai multe categorii (Seban și colab., 2003, Harris, 1997) [7, 8]:

- Etiologia patologică: resorbția osoasă postextracțională; parodontopatia marginală cronică cu atrofi osoasă; parodontopatia apicală; defectele posttraumatice; defectele osoase maxilare după extirpări tumorale; malformațiile congenitale sau de dezvoltare; anomaliile anatomice legate de sinusul maxilar, de canalul mandibular și de nervul alveolar inferior.
- Etiologia chirurgicală: extracțiile traumatice, extracții de dinți incluși, rezecțiile apicale, exereza de tumori, dar și eșecurile de implantare dentară.
- Etiologia fiziologică: poate fi incriminată în urma pierderii dinților și pneumatizărilor de sinus maxilar. După pierderea dentiției resorbția osului alveolar are loc inițial orizontal în primele 6 luni, după care în direcție verticală [9].

Cea mai răspândită clasificare a defectelor de creastă alveolară se consideră după C. E. Misch (Figura 1). În dependență de gradul de atrofi, *Misch* clasifică creasta edentată în 4 tipuri:

- Tip A – os suficient, cu lățimea >6 mm, înălțimea >12 mm, spațiu pentru coroană ≤15 mm.
- Tip B – os disponibil la limită, care se împarte în 2 grupe B+ (lățimea 4-6 mm) și B-w (lățimea 2,5-4 mm), înălțimea >12 mm, spațiu disponibil pentru coroană <15 mm.
- Tip C – os insuficient pe verticală (C-h înălțimea <12 mm) sau orizontală (C-w 0-2,5 mm), angularea ocluzală >30°, spațiul pentru coroană >15 mm.
- Tip D – atrofia completă a crestei alveolare însoțită de atrofia marginii bazilare, maxilar plat, mandibulă subțire tip lamă, spațiul disponibil pentru coroană >20 mm.

lar vestibular cortical is resorbed, but, the entire width of the ridge is reduced [3]. Exclusion of the tooth and, consequently, of the periodontal ligament from the dentoalveolar complex or from the OFE leads to inevitable effects on the alveolar bone.

The causes and conditions of dental loss, also lead to changes of the alveolar ridges. Early tooth loss, bone infections, periodontal disease, residual alveolar cavities have a direct impact on the changes of the alveolar ridges. Dentomaxillary abnormalities also play a major role in alveolar post-extraction growth, development and morphology. Hypo- or oligodontia and metabolic disorders disrupt the natural structure of the alveolar bone and/or the growth process [4]. On the one hand, the vertical size of the alveolar ridge is often conditioned by morphological anomalies manifested by the appearance of a deep occlusion with underdeveloped posterior segment. On the other hand, the anterior or lateral open occlusion (with infraoclusal space, as a result of parafunctions, such as thumb sucking) also affects the alveolar process [4]. Chronic marginal parodontopathy participates significantly in the changes of the dental alveolar process and, as a result, in the edentulous dentures some, authors also describe its resorptive role on the future peri-implant bone [5, 6].

Thus, alveolar resorption is evaluated according to its etiology, which is classified into several categories, as follows (Seban *et al.*, 2003, Harris, 1997) [7, 8]:

- Pathological etiology: post-extraction bone resorption; chronic marginal parodontopathy with bone atrophy; apical parodontopathy; post-traumatic defects; mandibular bone defects after tumor removal; congenital or growth abnormalities; anatomical abnormalities related to the maxillary sinus, mandibular canal and inferior alveolar nerve.
- Surgical etiology: traumatic extractions, tooth extractions of included teeth, apical resections, tumor exegesis, and dental implantation failures.
- Physiological etiology: can be considered as a result of loss of teeth and maxillary sinus pneumatization. After loss of teeth the resorption of the alveolar bone occurs horizontally during the first 6 months, after which it goes in a vertical direction [9].

The most common classification of alveolar ridge defects is that of C. E. Misch (Figure 1). According to the degree of atrophy, *Misch* divides the edentulous ridge into 4 types:

- Type A – sufficient bone, width >6 mm, height >12 mm, crown space ≤15 mm.
- Type B – bone available at the limit, which is divided into 2 groups B+ (width 4-6 mm) and B-w (width 2,5-4 mm), height >12 mm, space available for crown < 15 mm.
- Type C – insufficient bone in vertical position (C-h height <12 mm) or horizontal (C-w 0-2.5 mm), occlusal angulation >30°, crown space >15 mm.
- Type D – complete atrophy of the alveolar ridge accompanied by basilar edge atrophy, flat jaw, thin blade-like mandible, space available for crown >20 mm.

În 1988, *Cawood și Howell* au împărțit statusul crestei alveolare în 6 clase (Figura 2):

- Clasa I: creasta alveolară dentată;
 - Clasa II: creasta alveolară la care s-au practicat extracții dentare recent;
 - Clasa III: creasta alveolară edentată, suficient de înaltă și lată;
 - Clasa IV: creasta alveolară ascuțită, înaltă, dar cu diametru transversal mic;
 - Clasa V: creasta plată cu atrofie verticală și transversală;
 - Clasa VI: creasta resorbită în ambele sensuri, până la osul bazal.
- Tipurile de defecte au fost grupate de către Terheyden

In 1988, *Cawood and Howell* divided the alveolar ridge status into 6 classes (Figure 2):

- Class I: full alveolar ridge;
- Class II: alveolar ridge in which dental extractions have been carried out recently;
- Class III: edentulous alveolar ridge, sufficient height and width;
- Class IV: sharp alveolar ridge, high, but with small transverse diameter;
- Class V: flat ridge with vertical and transverse atrophy;
- Class VI: ridge resorbed in both directions to the basal bone.

Terheyden (2010) grouped the types of defects into 4

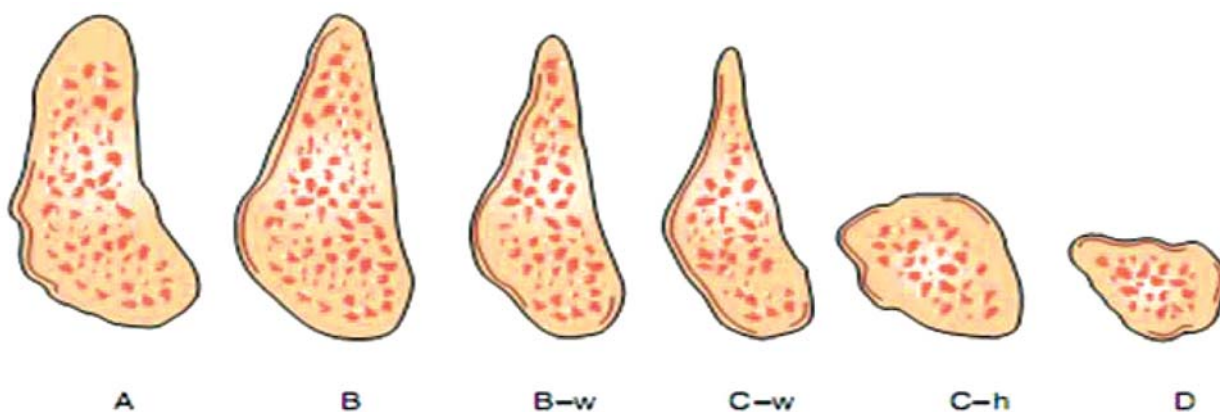


Fig. 1 Clasificarea defectelor de creastă alveolară după C. E. Misch (Referință: Sîrbu D. Biomateriale în reconstrucția creștelor alveolare mandibulare în tratamentul implantar. Chișinău, 2018).

Fig. 1 Classification of alveolar ridge defects by C. E. Misch (Reference: Sîrbu D. Biomateriale în reconstrucția creștelor alveolare mandibulare în tratamentul implantar. Chișinău, 2018).

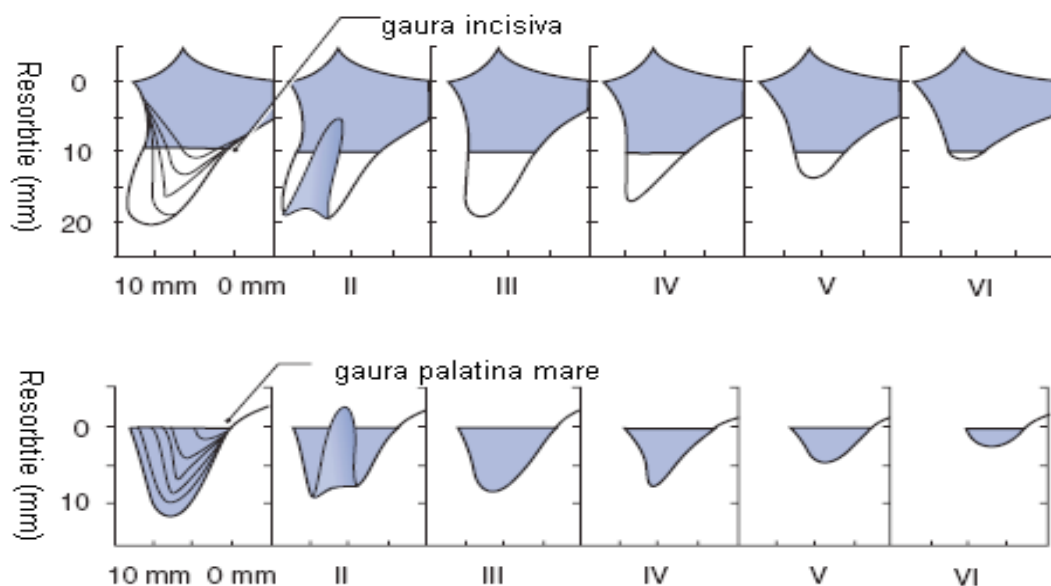


Fig. 2 Statusul crestei alveolare după *Cawood și Howell* (regiune anterioară și regiune laterală).

Fig. 2 Alveolar ridge status according to *Cawood and Howell* (anterior and lateral region).

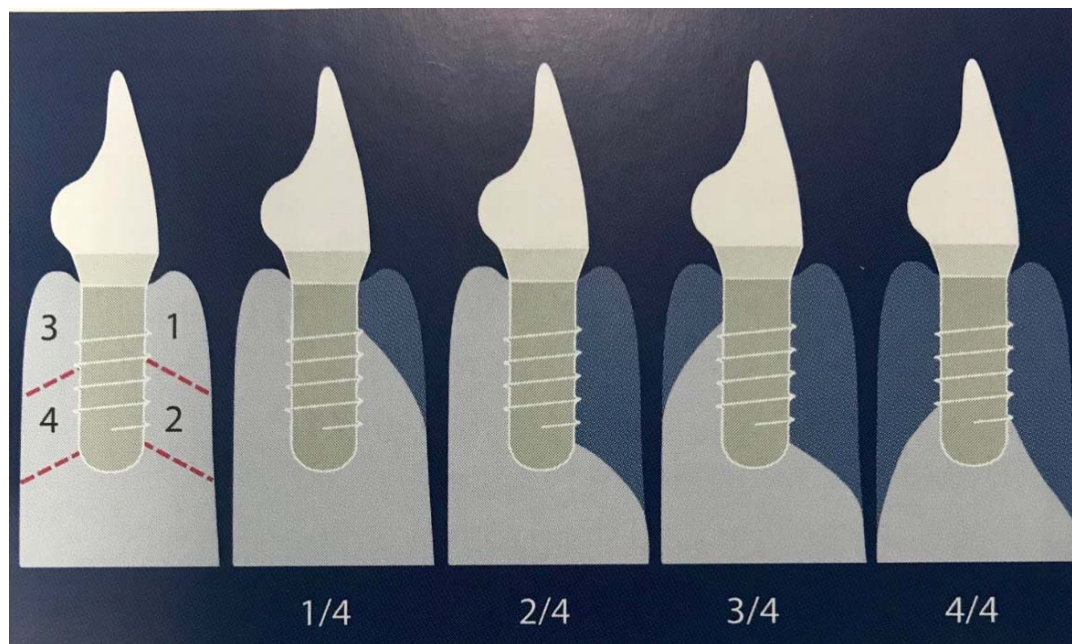


Fig. 3 Clasificarea defectelor osoase alveolare de către Terheyden (2010) (Referință: Cordaro L, Terheyden H. ITI Treatment Guide, Volume 7).
Fig. 3 Classification of alveolar bone defects by Terheyden (2010) (Reference: Cordaro L, Terheyden H. ITI Treatment Guide, Volume 7).

(2010) în 4 clase, care se referă la cantitatea de os lipsă în raport cu implantul dentar poziționat corect (Figura 3):

- 1/4: corticală vestibulară este redusă la mai puțin de 50% din lungimea potențială a implantului;
- 2/4: corticală vestibulară este redusă la mai mult de 50% din lungimea potențială a implantului; creasta este îngustă, ascuțită, dar înaltă;
- 3/4: corticală orală este redusă la mai puțin de 50% din lungimea potențială a implantului, iar corticala vestibulară este resorbită total;
- 4/4: reducerea totală a înălțimii crestei alveolare prin resorbția și corticalei sale orale.

Pentru evaluarea defectelor osoase de creastă alveolară există mai multe metode clinice și paraclinice: examenul fotografic, analiza modelelor de studiu, fișa clinică parodontală, metodele radiologice și scanarea intraorală.

Una din utilitățile mai puțin scoase în evidență ale fotografiei dentare este instrument de diagnostic. Acestui aspect i s-a acordat mai puțină importanță în trecut, dar care devine din ce în ce mai vizibil în zilele noastre, ceea ce permite să fie un element util în realizarea planificării digitale a unor variate soluții chirurgicale [10]. Soluțiile terapeutice estetice moderne impun o analiză minuțioasă estetică dento-facială, care cuprinde, după Fradeani M., următoarele aspecte: analiza facială, analiza dento-labială, analiza fonetică, analiza dinților, analiza gingivală. Toate aceste informații nu pot fi obținute doar din examinarea clinică directă ci, mai ales din examinarea fotografiilor digitale, eventual utilizând programe speciale care permit evidențierea parametrilor și dimensiunilor cazului în parte [11].

Pentru a se putea asigura o viziune medicală completă cu

classes, which refer to the amount of bone missing in relation to the correctly positioned dental implant (Figure 3):

- 1/4: vestibular cortical is reduced to less than 50% of the potential length of the implant;
- 2/4: vestibular cortical is reduced to more than 50% of the potential length of the implant; the ridge is narrow, sharp, but high;
- 3/4: oral cortical bone is reduced to less than 50% of the potential length of the implant, and the vestibular cortical bone is totally resorbed;
- 4/4: total reduction of the height of the alveolar ridge by resorption and its oral cortical bone.

For the assessment of alveolar ridge bone defects there are several clinical and paraclinical methods: photographic examination, analysis of study models, periodontal clinical file, radiological methods, and intraoral scanning.

Dental photography was one of the less highlighted diagnostic tools, but it is becoming more and more used nowadays, constituting a useful element in the digital planning of various surgical solutions [10]. According to Fradeani M., modern aesthetic therapeutic solutions require a thorough dentofacial aesthetic analysis, which includes, the following aspects: facial, dentolabial, phonetic, tooth and gum examination. This information can be obtained not only from direct clinical examination but, in particular, from the examination of digital photographs using special programs to reveal the parameters and dimensions of each case in part [11].

In order to ensure a complete medical assessment with a guided prosthetic bone reconstruction, it is necessary to analyze the state of static gearing of the two dental arches and models performed after a prior impression of the arches. Stu-

o reconstrucție osoasă protetic ghidată, este necesară analiza stării de angrenare statică a celor două arcade dentare și a modelelor, executate după o prealabilă amprentare a arcadeilor. Modelele de studiu, denumite și diagnostice, sunt necesare pentru observarea particularităților morfologice ale câmpului protetic dentat sau edentat. Pentru crestele edentate se va determina: înălțimea, lățimea, direcția (orizontală, concavă, ascendentă mezial/distal, descendentă mezial/distal), forma profilului pe secțiune (triunghiulară, parabolică, trapezoidală), aspect (neted, rugos, cu exostoze), dimensiunea mezio-distală a spațiului edentat, distanța de la creasta alveolară până la planul de ocluzie, aspectul versanților crestei alveolare (retențivi, neretențivi, neutri), inserția frenurilor și bridelor laterale.

Parodontograma este o metodă auxiliară în evaluarea defectelor osoase, este metoda de stabilire a stării parodontiului dinților adiacenți defectului osos. Scopul acesteia este de a înregistra existența și adâncimea pungilor parodontale și nivelelor de atașament a dinților sau implantului care limitează defectul osos. Un eventual tratament parodontal sau peri-implantar se va efectua simultan cu tratamentul defectului osos sau amânat. În evaluarea defectelor osoase se apreciază și lungimea defectului, iar starea dinților limitrofi vor condiționa această dimensiune.

Metodele radiologice în stomatologie sunt utilizate pentru confirmarea diagnosticului clinic, planificarea tratamentului și supravegherea evoluției efectului terapeutic, aici putem remarca utilizarea radioviziografiei dentare (RVG), ortopantomografiei (OPG) și a tomografiei computerizate cu fascicol conic (CBCT). Radioviziografia reprezintă metoda cea mai simplă de înregistrare radiologică a statusului dento-alveolar, aceasta ne oferă procesarea imediată a imaginii pe ecranul computerului, calitate înaltă a imaginii, dar cu o captare limitată la 1-3 dinți.

În calitate de metodă paraclinică de diagnostic servește și ortopantomografia, care permite obținerea imaginii integrale a regiunii oro-maxilo-faciale. Metoda dată este utilizată cel mai frecvent în practica stomatologică datorită avantajelor sale: tehnica de efectuare simplă, este suficient de informativă pentru un diagnostic preventiv-orientativ, este accesibilă, durata scurtă a procedurii, poate fi efectuată de orice specialist fără o pregătire specială, doză de iradiere minimă. Însă în unele situații clinice această metodă nu ne oferă informații suficiente [12].

Datorită progresului tehnico-științific și apariția noilor metode de tratament, apare necesitatea implementării noilor metode de diagnostic cu o capacitate de prelucrare și prezentare a informației în plan 3D. Aceasta a contribuit la implementarea computer tomografiei spiralate sau dentare cu fascicol conic, utilizate ca instrumente de diagnosticare și planificare al tratamentului [12]. De la introducerea sa la sfârșitul anilor 1990, tomografia computerizată cu fascicol conic (CBCT) a devenit o metodă imagistică comună care furnizează date tridimensionale ale scheletului facial, cu o expunere semnificativ mai redusă la radiații, perioade de scanare mai scurte și costuri mai mici comparativ cu tomografia computerizată convențională [13]. Pentru stomatologia implantologică, CBCT-ul a îmbunătățit evident planificarea tratamentului, deoarece oferă o re-

dy models, also called diagnostic ones, are necessary for observing the morphological peculiarities of the dentulous or edentulous prosthetic field. To assess the edentulous ridges are applied the following determinants: height, width, direction (horizontal, concave, mesial/distal ascending, mesial/distal descendant), the shape of the profile per section (triangular, parabolic, trapezoidal), appearance (smooth, rough, with exostoses), mesiodistal dimension of the edentulous space, distance from the alveolar ridge to the occlusion plane, appearance of the slopes of the alveolar ridge (retention, non-retentive, neutral), as well as insertion of the lateral frenes and bridles.

Periodontograma is an auxiliary method in the assessment of bone defects, it is the method of determining the state of the periodontium of teeth adjacent to the bone defect. Its purpose is to record the presence and depth of periodontal bags and attachment levels of the teeth or implant that limit the bone defect. Possible periodontal or peri-implant treatment are performed simultaneously with the treatment of the bone defect or deferred. To determine the range of bone defects, the length of the defect is assessed, thus, the state of the limitroph teeth usually conditions it.

In dentistry, radiological methods are used to confirm clinical diagnosis, treatment planning and evolution of the therapeutic outcome. For this purpose, are used the following procedures: dental radiovisiography (RVG), orthopantomography (OPG) and computed tomography with conical beam (CBCT). Radiovisiography is the simplest method of radiological recording of dentoalveolar status, it gives an immediate image processing on the computer screen and high image quality, but with a capture limited to 1-3 teeth.

Orthopantomography serves as a paraclinical diagnostic method, which allows to obtain the integral imaging of the oral and maxillofacial region. The given method is most commonly used in dental practice due to its advantages, such as: simple technique; sufficiently informative for a preventive diagnosis; accessibility; short duration of the procedure; it can be performed by any specialist without special training; and exposure to low dosage of radiation. However, in some clinical situations this method does not provide dentists with sufficient information [12].

Due to technical and scientific progress and development of new methods of treatment, there is a need to implement new diagnostic methods with the capacity to process and present information in 3D plan. This fact contributed to the implementation of spiral or dental tomography with conical beam, which is used as a diagnostic and planning tool [12]. Since its introduction in the late 1990s, conical beam computed tomography (CBCT) has become a common imaging method providing three-dimensional facial skeleton image with significantly lower radiation exposure, shorter scanning periods and lower costs in comparison to conventional computed tomography [13]. In implant dentistry, CBCT has obviously improved treatment planning as it provides cross section reconstruction of the bone, allowing the assessment of its quantity and quality [14]. CBCT is a method that provides the most accurate assessment of bone architecture [3].

construcție cu secțiuni încrucișate a osului, permițând evaluarea cantității și calității acestuia [14]. CBCT-ul este o metodă care oferă evaluarea cea mai precisă a arhitecturii osoase [3].

Versiunea contemporană ale amprentelor/modelelor de studiu clasice o reprezintă scanarea intra-orală sau amprenta digitală. Aceasta este o tehnică modernă, foarte rapidă și exactă de înregistrare a arcadelor dentare care înlocuiește metoda tradițională de amprentare cu lingura și material de amprentă. Avantajele scanării intra-orale față de amprenta clasică sunt numeroase: confort, rapiditate, acuratețe, predictibilitate, replicabilitate, înregistrarea ușoară a ocluziei, non-contact (risc scăzut de transmitere a infecțiilor), arhivarea digitală, printarea 3D ale arcadelor dento-alveolare scanate. Cel mai important aspect este că scanarea digitală a făcut posibil saltul medicinei stomatologice către epoca digitală.

În acest articol a fost prezentată metoda de analiză a defectelor de creastă alveolară prin măsurători pe CBCT. Parametrul principal analizat a fost dimensiunea defectului osos de creastă alveolară, iar parametrii secundari au fost lățimea crestei alveolare dentate, înălțime și lățime gingie în zona defectului, starea dinților adiacenți defectului, nivelul osos a dinților adiacenți.

Scopul studiului a fost evaluarea metodelor de măsurare a defectelor osoase de creastă alveolară și interpretarea lor pentru alegerea corectă a tehnicii de reconstrucție osoasă, a materialului pentru reconstrucție și a zonei donor în recoltarea grefelor autogene.

Material și metode

În acest studiu au fost analizate defectele osoase de creastă alveolară la maxilarul superior la 70 pacienți, 27 de bărbați și 43 femei, cu vârsta cuprinsă între 18 și 67 ani, media fiind $42,1 \pm 1,4$ ani. În total, au fost analizate 79 de defecte osoase, dintre care 26 de defecte orizontale, 1 defect vertical și 52 de defecte combinate.

Următorii pacienți au fost selectați în conformitate cu criteriile de includere:

- 1) Cel puțin 18 ani în momentul efectuării CBCT-ului;
- 2) Pacienți cu defecte osoase la nivelul crestei alveolare a maxilarului superior;
- 3) Nu există dovezi radiologice/clinice de patologie oro-maxilo-facială care contraindică reconstrucțiile osoase de creastă;
- 4) Nu există dovezi radiologice/istoric de chirurgie (regenerare osoasă / tisulară ghidată) la creasta maxilarului superior.

Toți pacienții au fost examinați clinic, paraclinic (examen radiologic) și le-a fost efectuat examenul fotografic. Toate datele au fost introduse în fișa medicală personală a pacientului și în fișa parodontală.

Examenul fotografic a fost efectuat în baza imaginilor obținute cu aparatele de fotografiat Nikon D7100 cu obiectivul macro AF-S Micro Nikkor 60 mm 1:2.8G, pentru a obține poze de detaliu. La toți pacienții a fost efectuat setul de poze conform protocolului standard, care a fost format din poze exorale (poze portret) și poze endorale. Pozele portret au fost

The contemporary version of classical impressions/study models is intra-oral scanning or digital impression. This is a modern, very fast and accurate dental arch recording technique that is replacing the traditional method of impression with spoon and impression materials. The advantages of intra-oral scanning over the classical impression are numerous: comfort, speed, accuracy, predictability, replicability, easy recording of occlusion, non-contact (low risk of transmission of infections), digital archiving, 3D printing of scanned dentoalveolar arches. The most important aspect is that digital scanning has made possible the leap of dental medicine towards the digital age.

This article presented the method of analysis of alveolar ridge defects by measurements performed with CBCT. The main parameter analyzed was the size of the alveolar ridge bone defect, and the secondary parameters were the width of the alveolar ridge, height and width of the gum from the affected area, the condition of the adjacent teeth, and the bone level of the adjacent teeth.

The purpose of the study was to assess methods for measurement of alveolar ridge bone defects to elect a correct reconstruction technique, reconstruction material, and donor area in the harvesting of the autogenic grafts.

Material and methods

This article analyzed alveolar ridge bone defects at the upper jaw in 70 patients: 27 men and 43 women, aged between 18 and 67 years, with an average of 42.1 ± 1.4 years. A number of 79 bone defects were analyzed, including 26 horizontal defects, 1 vertical defect and 52 combined defects.

The patients were selected according to the following inclusion criteria:

- 1) the age 18 years at the time of CBCT performance;
- 2) patients with alveolar ridge defects at the upper jaw;
- 3) lack of radiological/clinical evidence of oral and maxillo-facial pathology that would contraindicate the ridge bone reconstructions;
- 4) lack of radiological/historical evidence of surgery (guided bone/tissue regeneration) at the upper jaw ridge.

All patients were assessed by clinical, paraclinical (radiological examination) and photographic means. All data were filled in the patient's personal medical and periodontal records.

To obtain detailed pictures, the photographic examination was performed on the basis of images obtained with Nikon D7100 camera with the macro lens AF-S Micro Nikkor 60 mm 1:2.8G. All patients were photographed according to a standard protocol constituted of extraoral pictures (portrait pictures) and intraoral ones. Portrait pictures were taken from a distance of about 150 cm at several planes: frontal, profile and semi profile (45°) from both sides (right/left). The patients were photographed with relaxed muscles, ordinary smile, and large smile with lifting of mouth angles. All the steps were performed to obtain a broad picture extra and intraoral appearance of the patients. Intraoperative pictures of different incidences, perpendicular or parallel to the alveolar ridge were taken at a

efectuate de la o distanță de aproximativ 150 cm din mai multe planuri: frontal, profil și semiprofil (45°) din ambele părți (dreapta/stânga), pentru fiecare din aceste poziții pacientul a fost fotografiat cu musculatura relaxată, cu zâmbet obișnuit și cu zâmbet maximal cu ridicarea unghiurilor gurii. Toate incidențele au fost efectuate pentru a obține o imagine cât mai amplă al aspectului exo și endooral al pacientului. De asemenea, au fost efectuate poze intraoperatorii din diferite incidențe, perpendiculare sau paralele cu creasta alveolară, la o distanță de 30-40 cm, utilizându-se sonde parodontale. Pozele intraoperatorii au fost utilizate pentru analiza clinică a defectului osos și pentru documentare.

Paraclinic, tomografiile computerizate cu fascicol conic (CBCT) au fost obținute folosind tomografele Planmeca ProMax 3D (Helsinki, Finlanda) cu dimensiunea voxelului de 150 mSv, 90 kV, 10.0 mA, câmp de vedere 10×10 cm sau tomograful Sirona Orthophos SL 3D cu dimensiunea voxelului 160 mSv, 80 kV, 11 mA, câmp de vedere 11×10 cm. CBCT-urile au fost analizate cu ajutorul programelor *Planmeca Romexis Viewer versiunea 5.1.0.4* și *Sidexis X-ray versiunea 4.2*. Toate imaginile au fost analizate de același examinator la același calculator și același monitor (cu o rezoluție de 1920×1080 pixeli), pentru a reduce erorile de măsurare. Toate scanările CBCT au fost efectuate pentru diagnostic și/ sau tratament la pacienții care au necesitat crearea ofertei osoase la maxilarul superior în pregătirea preimplantară.

Evaluarea defectelor osoase a fost realizată prin analiza CBCT-urilor și pozelor pre- și intra-operatorii. Au fost studiate următorii parametri:

- sex, vârstă;
- localizarea (nivelul dintelui lipsă);
- biotipul și anatomia gingivală în zona defectului (gros / mediu / subțire; intactă / cu cicatrici);
- grosime și lățime gingie;
- nivelul osos la dinții adiacenți (de la marginea osoasă până la punctul de contact interdental);
- statutul dinților adiacenți mezial / distal de defect (lipsă, intact, recuperabil, tratat, compromis, implant);
- prezența parodontopatiei marginale a dinților restanți (lipsă, localizată, generalizată superficială/ medie/ profundă);
- cauza și tipul defectului;
- lățime creastă dentată (la nivelul incisivului superior lateral);
- lățime creastă în zona defectului osos;
- lungime, lățime și înălțime defect osos.

Pentru a obține dimensiunile defectelor osoase au fost efectuate următoarele măsurări: a fost trasată o linie ce a unit vârful osos alveolar ale dinților limitrofi breșei, lungimea acesteia a reprezentat lungimea defectului. Perpendicular pe acest marcaj, la nivelul fiecărui dinte lipsă, au fost trasate linii ce au unit nivelul osos al crestei alveolare reziduale și axa lungimii defectului, distanța dintre acestea a reprezentat înălțimea defectului (Figura 4). Pentru a detecta locul măsurărilor ce a reprezentat lățimea defectului, s-a procedat după cum urmează: în plan axial, la nivelul fiecărui dinte lipsă, la

distance of 30-40 cm, by using periodontal probes. Intraoperative photos were used for clinical analysis of the bone defect and for documentation.

To obtain paraclinical data, computed tomography with conical fascicle (CBCT), *Planmeca ProMax 3D tomographs* (Helsinki, Finland) with voxel size of 150 mSv, 90 kV, 10.0 mA, 10×10 cm field of view or *Sirona Orthophos SL 3D tomography* with voxel size 160 mSv, 80 kV, 11 mA, field of view 11×10 cm were used. CBCTs were assessed by using *Planmeca Romexis Viewer version 5.1.0.4* and *Sidexis X-ray version 4.2 programs*. To reduce measurement errors, all images were analyzed by the same examiner on the same computer and screen (with a resolution of 1920×1080 pixels). All CBCT scans were performed for diagnosis and/ or treatment in patients who needed bone growth of the upper jaw in preimplantation preparation.

The assessment of bone defects was carried out by analysis of CBCTs and pre- and intra-operative photos. The following parameters were studied:

- gender, age;
- location (level of missing tooth);
- biotype and gum anatomy in the affected area (thick / medium / thin; intact / scarred);
- thickness and width of the gum;
- bone level of the adjacent teeth (from the bone edge to the point of interdental contact);
- status of damaged teeth, mesial/distal area (missing, intact, recoverable, treated, compromised, implant);
- presence of marginal periodontopathy of the present teeth (missing, localized, superficial/ medium/ deep, generalized);
- cause and type of defect;
- dentulous ridge width (at the level of the lateral upper incisor);
- ridge width in the area of the bone defect;
- length, width and height of the bone defect.

In order to obtain the dimensions of the bone defects the following measurements were made: a line was drawn to unite the alveolar bone edges of the teeth which are bordering the gap, as a result, its length represented the length of the defect. Perpendicularly to this marking, at the level of each missing tooth, lines were drawn that joined the bone level of the residual alveolar ridge and the axis of the defect length, thus, the distance between them represented the height of the defect (Figure 4). In order to detect the location of the measurements representing the width of the defect, the following steps have been done: in the axial plane, at the level of each missing tooth, at 2.0 ± 0.1 mm from the alveolar ridge, a line that joined the vestibular cortical with the palatal one was drawn, the length of this marking represented the width of the residual alveolar ridge (Figure 5). This value (in mm) was subtracted from the value of 7.0 mm (the minimum bone thickness standard set for implant insertion) [15], and the difference represented the width of the defect.

Statistical analysis of the data was performed by using the Microsoft Excel and *IBM SPSS Statistics 22* programs, using the standard and paired *t-tests*, with a significance level of 0.05.

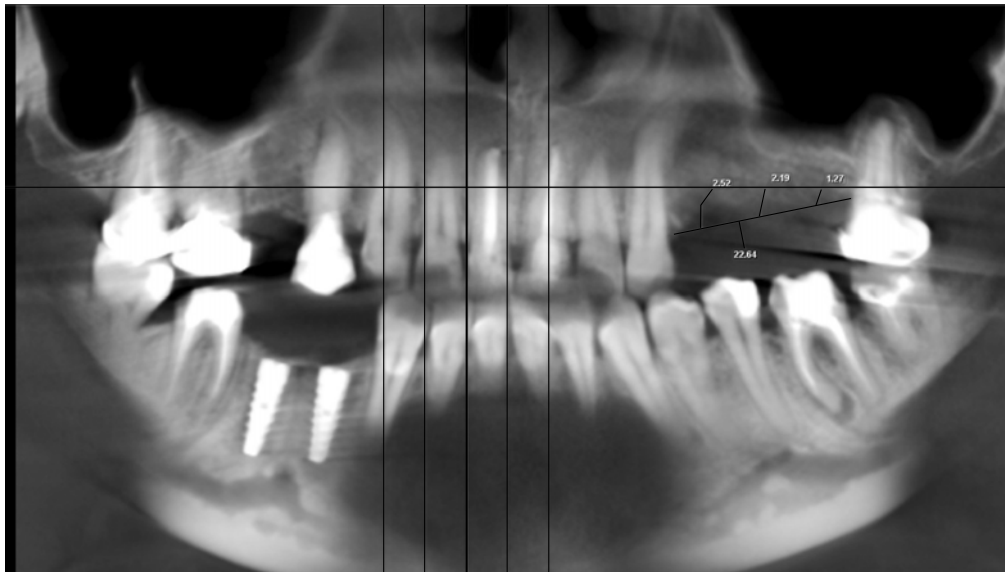


Fig. 4 Măsurarea lungimii și înălțimii defectului.
Fig. 4 Measurement of length and height of the defect.

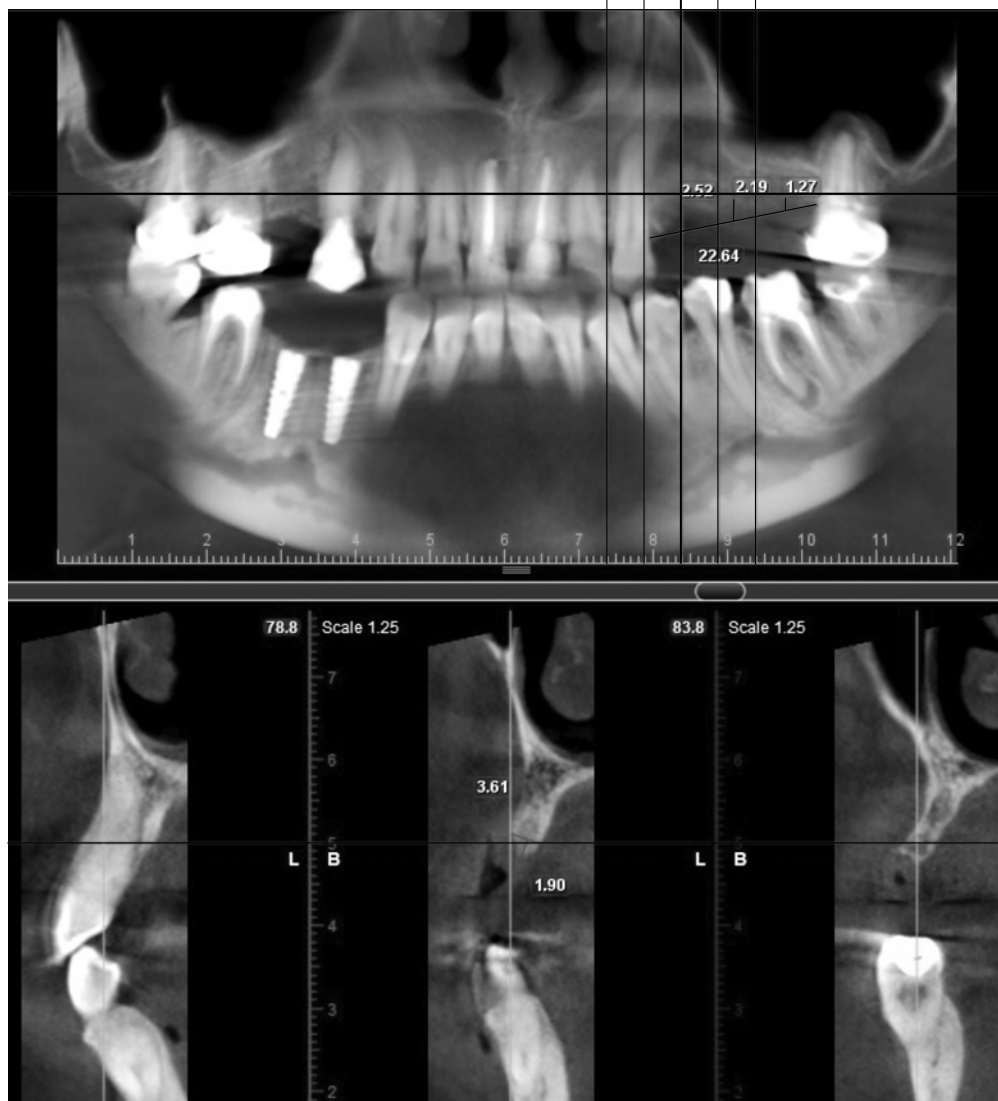


Fig. 5 Măsurarea lățimii crestei alveolare în zona defectului.
Fig. 5 Measurement of the width of the alveolar ridge in the area of the defect.

$2,0 \pm 0,1$ mm de creasta alveolară, a fost trasată o linie ce a unit corticala vestibulară cu cea palatinală, lungimea acestui marcaj a reprezentat lăţimea crestei alveolare reziduale (Figura 5). Această valoare (în mm) a fost scăzută din valoarea de 7,0 mm (standardul grosimii osoase minime stabilit pentru inserarea unui implant) [15], iar diferenţa a reprezentat lăţimea defectului.

Analiza statistică a datelor s-a realizat utilizând programele Microsoft Excel și IBM SPSS Statistics 22, utilizând testul standard t și testul pereche t cu un nivel de semnificație de 0,05. Datele categoriale au fost prezentate drept valori absolute și relative, datele de tip continuu – sub formă de medie și eroare standard.

Rezultate

După colectarea datelor și analiza lor statistică, a fost observat că cele mai multe defecte de creastă alveolară au fost întâlnite la nivelul dinților 1.4 și 2.4, 21 de defecte osoase (10,6%) și respectiv 22 de defecte osoase (11,1%) (Figura 6).

Datele obținute despre țesuturile moi au arătat că la nivelul defectelor osoase gingia a fost groasă în 34 cazuri, medie în 37 cazuri și 8 cazuri cu fenotip subțire. Grosimea gingiei a variat între 1,0-6,3 mm având în medie $2,9 \pm 0,1$ mm, iar lăţimea a fost între 1,0-8,0 mm, media fiind $4,5 \pm 0,1$ mm. Inspectând anatomia gingivală supraiacentă defectului osos, la nivelul fiecărui dinte lipsă, au fost observate cicatrici în 95 cazuri (47,7%) și gingie intactă în 104 cazuri (52,3%).

De asemenea, a fost înregistrat nivelul osos la dinții adiacenți, de la marginea osoasă până la punctul de contact interdental: 55 cazuri cu nivel înalt, 18 cazuri cu nivel mediu, nici un caz cu nivel osos jos, iar în 6 cazuri nu a fost posibilă depistarea nivelului osos deoarece dinții adiacenți au lipsit. În

The categorical data were presented as absolute and relative values and the continuous data – in the form of mean and standard error.

Results

After collecting the data and analyzing them from the statistical point of view, it was observed that most alveolar ridge defects were found in teeth 1.4 and 2.4, respectively, 21 bone defects (10.6%) and 22 bone defects (11.1%) (Figure 6).

Data obtained on soft tissues showed that in bone defects the gum was thickened in 34 cases, the gum of medium thickness – 37 cases, and the gum with a thin phenotype – 8 cases. The thickness of the gum ranged from 1.0 to 6.3 mm with an average of 2.9 ± 0.1 mm, and the width was between 1.0 mm and 8.0 mm, with an average of 4.5 ± 0.1 mm. By inspecting the overlying gingival area of the bone defect, scars were observed in each missing tooth – 95 cases (47.7%) and an intact gum in 104 cases (52.3%).

The adjacent tooth bone levels were also recorded. Thus, the data on bone edge to the point of interdental contact have been assessed: with high levels – 55 cases, with medium level – 18 cases, no cases with low bone level, and in 6 cases it was not possible to detect the bone level because the adjacent (neighboring) teeth were absent. In cases where the teeth bordering the bone defect were present, they were also evaluated. In most situations, at the intact teeth, the mesial defect was present in 41 cases and distal one – in 37 cases.

Localized marginal periodontitis of the remaining teeth was present in 2 cases (1%), superficial generalized periodontitis – 27 cases (13.6%), moderate generalized periodontitis – 19 cases (9.5%), lack of periodontitis – 27 cases (13.6%), and edentulous denture – 4 cases (2%). The most common ca-

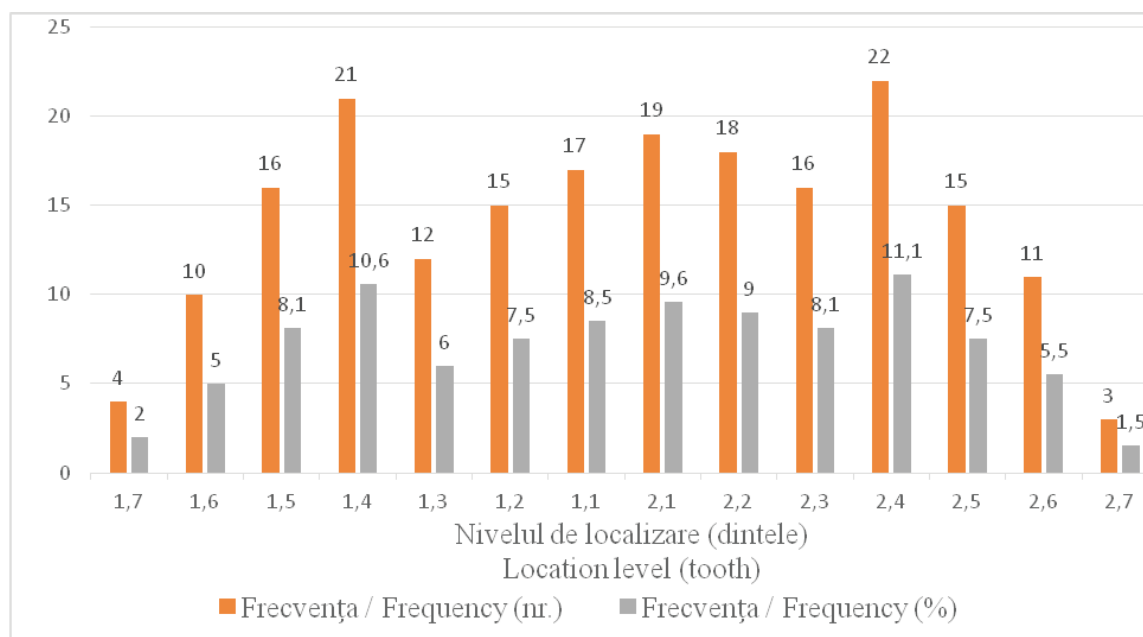


Fig. 6 Frecvența defectelor osoase după localizare.

Fig. 6 Frequency of bone defects by localization.

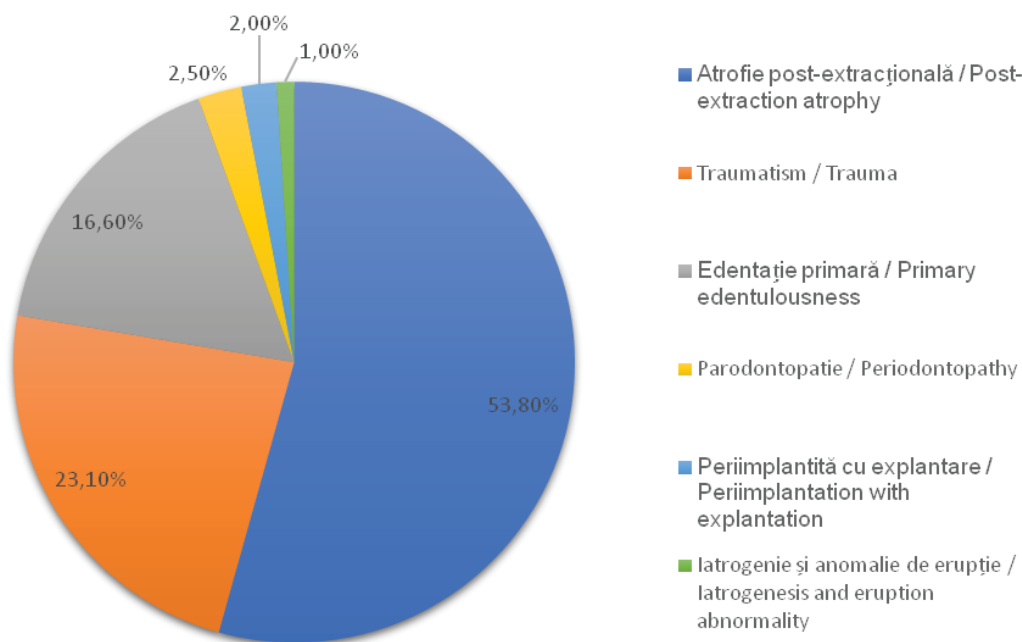


Fig. 7. Frecvența cauzei defectelor osoase.
Fig. 7 Frequency the of bone defects causes.

cazurile în care dinții limitrofi defectului osos au fost prezenți, aceștia, de asemenea, au fost evaluați. Mezial defectului în cele mai multe situații au fost prezenți dinți intacti – 41 cazuri, iar distal – dinți tratați – 37 cazuri.

Parodontopatia marginală localizată a dinților restanți a fost prezentă în 2 cazuri (1%), generalizată superficială – 27 cazuri (13,6%), generalizată medie – 19 cazuri (9,5%), absentă în 27 cazuri (13,6%), iar în 4 cazuri (2%) au fost edentații totale. Cea mai frecventă cauză a defectelor osoase a fost atrofia post-extracțională (53,8%), urmată de parodontopatie (23,1%), traumatism (16,6%), peri-implantita cu explantare (2,5%), edentația primară (2%), finalizând cu iatrogenia și anomalia de erupție (câte 1%) (Figura 7).

În fiecare caz clinic, cu excepția celor cu edentație totală, a fost măsurată lățimea crestei alveolare dentate la nivelul incisivului lateral superior, măsurările au fost între 5,3-9,3 mm și a fost în medie de $7,3 \pm 0,1$ mm. De asemenea, a fost măsurată lățimea crestei în zona defectului, aceasta a variat între 1,1 mm (la defectele orizontale) și 12,3 mm (la defectele verticale) constituind o medie de $3,9 \pm 0,1$ mm, mediana fiind 3,5 mm.

În urma evaluării defectelor osoase în cele trei planuri au fost obținute următoarele dimensiuni: lungimea defectelor a fost între 4,6-52,3 mm, fiind în medie $18,4 \pm 1,2$ mm; lățimea defectelor a fost cuprinsă între 0,4-5,9 mm cu o medie de $3,4 \pm 0,1$ mm; înălțimea defectelor osoase a variat între 0,5-9,6 mm, formând în medie $3,9 \pm 0,2$.

Discuții

Există mai multe metode descrise pentru evaluarea și măsurarea defectelor osoase ale crestelor alveolare. Una dintre

usative agents of bone defects were: post-extraction atrophy (53.8%), periodontopathy (23.1%), trauma (16.6%), peri-implantitis with explanation (2.5%), primary full denture (2%), iatrogenic and abnormal eruption (1% each) (Figure 7).

In each clinical case, except for those with totally edentulous denture, the width of the dentoalveolar ridge in the upper lateral incisor was measured, the measurements were between 5,3 and 9,3 mm and they an average constituted – $7,3 \pm 0,1$ mm. The width of the ridge in the defect area was also measured, it ranged between 1.1 mm (horizontal defects) and 12.3 mm (vertical defects) constituting an average of – 3.9 ± 0.1 mm, and the median one – 3.5 mm.

Assessment of bone defects in the three-dimensional planes revealed the following: the length of the defects was between 4.6 and 52.3 mm, being on average – 18.4 ± 1.2 mm; the width of the defects was between 0,4 and 5,9 mm, with an average of $3,4 \pm 0,1$ mm; the height of bone defects ranged between 0.5 and 9.6 mm, forming on average 3.9 ± 0.2 .

Discussion

There are numerous assessment methods for measuring the alveolar ridges defects. One of them is the photographic exam. For a long time, dental photography was considered to be a tool reserved for the scientific environment, with the main purpose of documenting cases in order to carry out activities specific to academic medium (courses, publications, conferences, etc.). One of the less-highlighted utilities of dental photography is the diagnostic one. Little importance was given in the past to this aspect, but it is becoming more and more popular nowadays [10]. Dental photography is the static

ele o reprezintă examenul fotografic. Foarte mult timp, fotografia dentară a fost considerată un instrument rezervat mediului științific având ca principală utilitate documentarea cazurilor în vederea desfășurării activităților specifice mediului academic (cursuri, publicații, conferințe etc.). Una din utilitățile mai puțin scoase în evidență ale fotografiei dentare este acela de instrument de diagnostic. Este unul din aspectele căruia i s-a acordat mai puțină importanță în trecut, dar care devine din ce în ce mai vizibil în zilele noastre [10]. Fotografia dentară este imaginea statică a aspectului exo și endooral al pacientului, pe care putem observa detalii, care nu se pot percepe pe imaginea dinamică văzută cu ochiul liber. De asemenea, această imagine poate fi mărită pentru a vedea detalii de finețe.

Un alt examen paraclinic este examenul radiologic. În 2015, Ilic *et al.* au măsurat înălțimea crestei alveolare prin 2 metode radiologice: (1) pe CRDG măsurările s-au efectuat pe imaginea radiografică cu ajutorul riglei ortodontice și un șubler folosind negatoscopul și lupa; (2) pe imaginea digitală RVG a fost elaborată opțiunea de măsurare automată cu instrumentele prin programul software Trophy 2001. Ei nu au găsit nici o diferență semnificativă dintre rezultatele măsurătorilor pe CRDG și RVG [16]. Însă aceste metode ne oferă doar imagini 2D, lipsindu-ne de informația celei de-a 3-a dimensiune.

Într-un articol din 2014, Flores-Mir *et al.*, comparând dimensiunile unor dinți extrași măsurate direct cu șublerul pe ortopantomografie și pe tomografia computerizată, au ajuns la concluzia că reconstrucțiile CBCT duc la valori de măsurare care corespund foarte apropiat măsurătorilor directe cu șublerul (4% subestimare lungime) comparativ cu cele ale radiografiilor panoramice convenționale (29% supraestimare lungime) [17]. Un alt avantaj al reconstrucțiilor CBCT față de radiografiile panoramice convenționale este capacitatea de reorientare volumetrică mai fidelă cu ajutorul unui software de imagistică în scopul de a standardiza planurile anatomice ale imaginii, reducând astfel eroarea introdusă de poziția variabilă al pacientului atunci când radiografiile sunt efectuate de mai mulți membri ai personalului [17]. Astfel, a fost demonstrată acuratețea și importanța examenului CBCT în evaluarea crestelor alveolare.

Klinge *et al.* au prezentat într-un articol în 2017 metoda lor de măsurare a crestelor alveolare, conform căreia înălțimea a fost determinată și măsurată printr-o linie trasată prin axa lungă a zonei transversale maxilare. În timpul măsurărilor pe maxilă, linia a fost trasată perpendicular pe creasta alveolară în NL (linia trasată de la spina nazală anterioară care continuă posterior prin palatul dur și planșeul cavității nazale până la spina nazală posterioară) care a fost stabilită ca limită superioară. Măsurătorile de înălțime reprezentau o înălțime totală care include atât osul alveolar, cât și osul bazal [13], fapt care este exclus în metoda de evaluare propusă de noi, măsurând înălțimea defectului, având ca reper linia imaginată al viitorului vârf al crestei alveolare, trasată pe imaginea CBCT, orientându-ne după mai multe repere obiective. Aceste repere au fost: vârful crestei alveolare dentate mezial și/sau distal defectului osos, tuberozitatea maxilară, spina nazală anterioară, planșeul foselor nazale, creasta alveolară contralaterală, pla-

image of the extra and intraoral appearance of the patient due to which dentists can observe details that cannot be perceived on the dynamic image or seen with the naked eye. This image can also be zoomed in order to see fine details.

Another paraclinical examination is the radiological one. In 2015, Ilic *et al.* measured the height of the alveolar ridge by using 2 radiologic diagnostical techniques: (1) CRDG, measurements carried out on the radiographic imaging by using the orthodontic ruler, the negatoscope and the magnifying glass; and (2) RVG digital imaging, which is the automatic measurement option with the tools related to Trophy 2001 software program. There was found no significant difference between CRDG and RVG measurements [16]. However, these methods give only 2D images and do not allow dentists to get the three-dimension plans.

In 2014, Flores-Mir *et al.*, after comparing the dimensions of extracted teeth measured directly with the screw on orthopantomography and computed tomography, concluded that CBCT reconstructions lead to measurement values that correspond accurately to direct measurements with the screw (4% length understatement) compared to those of conventional panoramic X-rays (29% overestimation length) [17]. Another advantage of CBCT reconstructions over conventional panoramic X-rays is the more accurate volumetric reorientation capability with imaging software in order to standardize the anatomical planes of the image, thus, reducing the error induced by the variable position of the patient when X-rays are performed by different staff members [17]. Thus, the accuracy and importance of the CBCT examination in the evaluation of alveolar ridges has been demonstrated.

In 2017, Klinge *et al.* presented their own method of alveolar ridge measurement, according to it, the height was determined and measured with the help of a line drawn by the long axis of the maxillary transverse area. During the measurements on the maxilla, the line was drawn perpendicularly to the alveolar ridge in NL (line drawn from the anterior nasal spine that continues posteriorly through the hard palate and the nasal cavity floor to the posterior nasal spine) which was appreciated as being the superior limit. The height measurements represent a total height that included both the alveolar bone and the basal one [13], fact which was excluded in the diagnostic method proposed by us. Our research was oriented on the objective landmarks aimed to measure the height of the defect, having its reference the imaginary line of the future peak of the alveolar ridge drawn on the CBCT image. These landmarks were: the peak of the dentulous alveolar ridge with mesial and/or distal bone defect, the maxillary tuberosity, the anterior nasal spine, the nasal fossa floor, the contralateral alveolar ridge, and the lower occlusal plane (if it existed and if the lower teeth were not migrated). In cases of total edentulous dentures, the same landmarks were used; in addition, for the insertion of a dental implant in the upper jaw, the minimum required height of the alveolar ridge was established - 10 mm [18]. Width measurements were recorded perpendicularly to the longitudinal axis in two locations. One line was drawn at a distance of 1/3 and the other at 2/3 of the

nul ocluzal inferior (dacă acesta exista și dacă dinții inferiori nu erau migrați). În edentațiile totale au fost folosite aceleași repere, dacă existau, de asemenea, s-a ținut cont și de înălțimea minimă necesară a crestei alveolare, pentru inserarea unui implant dentar la nivelul maxilarului superior – 10 mm [18]. Măsurătorile de lățime au fost înregistrate perpendicular pe axa longitudinală în două locații. O linie a fost trasată la o distanță de 1/3 și cealaltă la 2/3 din înălțimea crestei [13]. Aceste două locații variază, de la caz la caz, în dependență de înălțimea crestei alveolare, oferindu-ne date despre lățimea crestei alveolare la distanțe diferite de vârful crestei alveolare ce duc la erori sau imposibilitate de comparare. De aceea am propus măsurarea lățimii crestei alveolare la 2 mm apical de vârful crestei alveolare, independent de înălțimea acesteia.

Resorbția creștelor alveolare edentate are ca rezultat rotația înainte și în sus a mandibulei, cu scăderea dimensiunii verticale ocluzale și creșterea prognatismului mandibular (tendința de clasa a III-a după *Angle*) [4]. Acest lucru, de asemenea, a fost luat în considerație la evaluarea defectelor de creastă alveolară, în special în cazul edentațiilor totale a maxilarului superior.

Analizând țesuturile moi supraiacente defectelor osoase am obținut următoarele: gingie groasă în 34 cazuri, medie în 37 cazuri și 8 cazuri cu fenotip subțire. Mai mulți autori definesc fenotipul gingival ca fiind subțire și gros. Alți autori îl definesc ca fiind subțire, mediu și gros, iar în tabelul 1 este prezentată această clasificare. Fenotipul subțire este reprezentat de o gingie cu grosimea până la 2 mm, fenotipul mediu 2-3 mm, iar cel gros mai mare de 3 mm. Totuși există un deficit de studii în această direcție [19, 20]. Știind că grosimea gingivală

height of the ridge [13]. Those two locations were varying on a case-by-case basis, in dependence of the height of the alveolar ridge. Although, that data supplied us with information on the width of the alveolar ridge at different distances from the top of the alveolar ridge, sometimes they led to errors or impossibility of comparison. That is why, it was proposed to measure the width of the alveolar ridge from the tip of the alveolar ridge at 2 mm apically, without taking into consideration its height.

Resorption of the edentulous alveolar ridges results in the forward and upward rotation of the mandible, with a decrease in the vertical occlusal size and an increase in mandibular prognathism (third-grade tendency after *Angle*) [4]. This was also taken into account while assessing alveolar ridge defects, especially in the case of fully edentulous upper jaw.

Assessment of soft tissues, which were suprajacent to bone defects, revealed the following data: thick gum – 34 cases, an average type – 37 cases and 8 cases presented thin phenotype. Several authors defined the gingival phenotype as thin and thick. Others defined it as thin, medium and thick (this classification is presented in Table 1). The thin phenotype is represented by a gum up to 2 mm thick, the medium phenotype constitutes 2-3 mm, and the thickened one is greater than 3 mm. However, there is a shortage of studies in this direction [19, 20]. Due to the fact that keratinized gum thickness plays an important role in bone reconstructions of alveolar ridges, it was possible to evaluate it and the obtained data were used to establish the treatment plan.

Inspection of the suprajacent gingival bone defect revealed scars in each missing tooth area – 95 cases (47.7%) and

Tabelul 1. Clasificarea grosimii gingivale după fenotip, conform Corado L. și Terheyden H.

Table 1. Classification of gingival thickness by phenotype, according to Corado L. and Terheyden H.

Fenotipul gingival <i>Gingival phenotype</i>	Grosimea gingivală <i>Gingival thickness</i>
Subțire <i>Thin</i>	Până la 2 mm <i>Up to 2 mm</i>
Mediu <i>Medium</i>	2-3 mm <i>2-3 mm</i>
Gros <i>Thick</i>	Mai mult de 3 mm <i>More than 3 mm</i>

Tabelul 2. Clasificarea nivelului osos a dinților adiacenți defectului, conform Corado L. și Terheyden H.

Table 2. Classification of the bone level of the adjacent teeth to the defect, according to Corado L. and Terheyden H.

Nivelul osos la dinții adiacenți defectului <i>Bone level of the teeth adjacent to the defect</i>	Înălțimea de la marginea osoasă până la punctul de contact interdental <i>The height from the edge of the bone to the point of interdental contact</i>
Înalt <i>High</i>	Până la 5 mm <i>Up to 5 mm</i>
Mediu <i>Medium</i>	5-7 mm <i>5-7 mm</i>
Jos <i>Low</i>	Mai mult de 7 mm <i>More than 7 mm</i>

cheratinizată joacă un rol important în reconstrucțiile osoase ale crestelor alveolare, aceasta a putut fi evaluată și datele au fost utilizate în stabilirea planului de tratament.

Inspectând anatomia gingivală supraiacentă defectului osos, la nivelul fiecărui dinte lipsă, au fost observate cicatrici în 95 cazuri (47,7%) și gingie intactă în 104 cazuri (52,3%). Prezența sau absența cicatricilor fiind un factor favorizant în vindecarea plăgilor postoperatorii și, nemijlocit, în succesul reconstrucției osoase.

Analizând nivelul osos la dinții adiacenți, de la marginea osoasă până la punctul de contact interdental, am înregistrat 55 cazuri cu nivel înalt, 18 cazuri cu nivel mediu, nici un caz cu nivel osos jos, iar în 6 cazuri nu a fost posibilă depistarea nivelului osos deoarece dinții limitrofi au fost absenți. Tabelul 2 prezintă clasificarea nivelului osos a dinților adiacenți. Nivelul înalt prezintă o distanță mai mică sau egală cu 5 mm, un nivel mediu este cuprins între 5-7 mm, iar nivelul osos jos prezintă o distanță mai mare sau egală cu 7 mm de la marginea osoasă până la punctul de contact interdental [21]. Acest lucru ne permite evaluarea riscului estetic în reconstrucția crestelor alveolare și reabilitarea implanto-protetică ulterioară.

În evaluarea riscului estetic și a celui infecțios a fost inclusă și analiza dinților limitrofi defectului. Mezial defectului în cele mai multe situații au fost prezenți dinți intacti – 41 cazuri, iar distal – dinți tratați – 37 cazuri.

O altă problemă abordată în evaluarea defectelor de creastă alveolară a fost parodontopatia marginală a dinților rezanți, care a avut o formă localizată medie în 2 cazuri (1%), generalizată superficială – 27 cazuri (13,6%), generalizată medie – 19 cazuri (9,5%), absentă în 27 cazuri (13,6%), iar în 4 cazuri (2%) au fost edentații totale. Aceasta poate condiționa infectarea grefei și resorbția timpurie a țesutului osos nou-format.

Cea mai frecventă cauză a defectelor osoase a fost atrofia post-extracțională (53,8%), urmată de parodontopatie (23,1%), traumatism (16,6%), peri-implantita cu explantare (2,5%), edentația primară (2%), finalizând cu iatrogenia și anomalia de erupție (câte 1%). Etiologia apariției defectului osos influențând direct caracteristicile morfo-funcționale a țesutului osos rezidual.

După măsurarea lățimii crestei alveolare dentate la nivelul incisivului lateral superior, valorile au fost între 5,3-9,3 mm, în medie $7,3 \pm 0,1$ mm. Această lățime medie a crestei alveolare dentate a fost calculată la nivelul incisivului lateral maxilar deoarece a fost nevoie de lățimea minimă a crestei alveolare, iar incisivul lateral este dintele cu diametrul cel mai mic de pe arcada maxilară. De asemenea, a fost adunat diametrul minim implantar (4 mm) cu grosimea vestibulară osoasă minimă (2 mm) și cea palatinală (1 mm), a fost obținută o dimensiune minimă a crestei alveolare necesară după reconstrucție (7 mm), care a fost aproximativ egală cu lățimea medie a crestei în zona incisivului lateral maxilar (7,3 mm).

De asemenea, a fost măsurată lățimea crestei în zona defectului, aceasta a variat între 1,1 mm (la defectele orizontale) și 12,3 mm (la defectele verticale), constituind o medie de $3,9 \pm 0,1$ mm. A fost calculată și mediana, aceasta fiind 3,5 mm, de

intact gum – in 104 cases (52.3%). The presence or absence of scars being a favorable factor in the healing of postoperative wounds and, directly, led to successful bone reconstruction.

Analysis of bone levels in the adjacent (neighboring) teeth, from the bone edge to the point of interdental contact were recorded. There where: high level defects – 55 cases, medium level – 18 cases, no cases with low bone level, and in 6 cases it was not possible to detect bone level because the surrounding teeth were absent. Table 2 shows the classification of the bone level of the adjacent teeth. The high level has a distance of 5 mm or less, an average level is between 5 and 7 mm, and the lower bone level has a distance of 7 mm or more from the bone edge to the interdental point of contact [21]. These data allowed us to assess the aesthetic risk in the reconstruction of alveolar ridges and the subsequent implant-prosthetic rehabilitation.

Study of bone level at the region of the bordering teeth was also included in the assessment of the aesthetic and infectious risk factors. Mezial defect, in most situations, was present at intact teeth – 41 cases, and distal defect at treated teeth was found in 37 cases.

Assessment of alveolar ridge defects also found the presence of marginal parodontopathy of the remaining teeth, which was on average revealed in 2 cases (1%), superficial generalized – 27 cases (13.6%), mean generalized – 19 cases (9.5%), absent in 27 cases (13.6%), and in 4 cases (2%) were totally edentulous. It can lead to graft infection and early resorption of newly formed bone tissue.

The most common cause of bone defects was post-extraction atrophy (53.8%), followed by periodontopathy (23.1%), trauma (16.6%), peri-implantitis with explantation (2.5%), primary edentation (2%), and iatrogenesis or eruption anomalies (1% each). The etiology of the occurrence of bone defect is directly influencing the morpho-functional characteristics of residual bone tissues.

After measuring the width of the alveolar ridge at the upper lateral incisor, the values were between 5.3 and 9.3 mm, on average 7.3 ± 0.1 mm. This average width of the dental alveolar ridge was calculated at the level of the maxillary lateral incisor because it required the minimum width of the alveolar ridge, and the lateral incisor is the tooth with the smallest diameter on the jaw arch. The minimum implant diameter (4 mm) with the minimum bone vestibular thickness (2 mm) and the palatal diameter (1 mm) were also collected, a minimum alveolar ridge size required after reconstruction (7 mm) was obtained, which was approximately equal to the average width of the ridge in the lateral maxillary incisor area (7.3 mm).

The width of the ridge in the defect area was also measured, ranging from 1.1 mm (horizontal defects) to 12.3 mm (vertical defects), constituting an average of 3.9 ± 0.1 mm. The median width was also calculated, which was 3.5 mm, thus the results has shown that the half of the existing ridges were up to 3.5 mm.

Assessment of bone defects in the three-dimensional planes revealed the following results: the length of the defects was between 4.6 and 52.3 mm, constituting on average of 18.4

unde rezultă că jumătate din crestele existente au avut lățimea de până la 3,5 mm.

În urma evaluării defectelor osoase în cele 3 planuri au fost obținute următoarele dimensiuni: lungimea defectelor a fost între 4,6-52,3 mm, fiind în medie $18,4 \pm 1,2$ mm, această lungime fiind condiționată de numărul dinților lipsă, uneori ea fiind mai mică decât lungimea breșei. Lățimea defectelor a fost cuprinsă între 0,4-5,9 mm cu o medie de $3,4 \pm 0,1$ mm, aceasta a fost măsurată în defectele orizontale și combinate, ținând cont de lățimea minimală necesară a crestei alveolare – 7,0 mm. Cel mai mic defect orizontal a fost la nivelul dintelui 2.6, iar cel mai mare – la nivelul dintelui 1.4. Înălțimea defectelor osoase a fost măsurată în defectele verticale și combinate și a variat între 0,5-9,6 mm, formând în medie $3,9 \pm 0,2$ mm. Cel mai mic defect vertical a fost la nivelul dintelui 1.1, iar cel mai mare – la nivelul dintelui 1.3, acesta din urmă a fost condiționat de o parodontopatie marginală cronică.

Concluzii

Metodele de evaluare prezentate în articol au furnizat multiple date suplimentare despre defectul osos de creastă alveolară, ceea ce a oferit o evaluare complexă a defectului.

Totalitatea metodelor enumerate mai sus reprezintă modalități de evaluare a defectelor osoase și pot fi utilizate atât solitar, cât și combinate între ele pentru obținerea unei imagini cât mai complexe a cazului clinic.

Precizia măsurărilor și evaluării defectelor osoase au reprezentat unul din punctele cheie în alegerea metodei de reconstrucție osoasă și stabilirea planului de tratament.

Este necesară o standardizare a protocolului de măsurare a osului alveolar ca parametru foarte important pentru aprecierea exactă a dimensiunilor defectului osos.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară că nu se află în conflict de interese financiare sau nonfinanciare pentru datele și informațiile prezentate în manuscris.

Contribuția autorilor

AG a conceput studiul, a elaborat design-ul cercetării, a colectat, interpretat și analizat datele. DS a revăzut în mod critic manuscrisul. VJ a colectat și a interpretat date, a ajutat la redactarea manuscrisului. Manuscrisul final a fost citit și aprobat de către toți autorii. Autorii dau asigurări și sunt responsabili pentru acuratețea și integritatea lucrării.

Mulțumiri

Aducem mulțumiri colectivului Catedrei de chirurgie oro-maxilo-facială și implantologie orală „Arsenie Guțan” și a secției de Chirurgie oro-maxilo-facială a Institutului de Medicină Urgentă pentru ajutorul acordat în realizarea studiului.

± 1.2 mm, this length being conditioned by the number of missing teeth, sometimes less in size than the length of the gap. The width of the defects was between 0,4 and 5,9 mm with an average of $3,4 \pm 0,1$ mm, this was measured in cases of horizontal and combined defects and it was performed by taking into account the required minimum width of the alveolar ridge – 7,0 mm. The smallest horizontal defect was at the level of tooth 2.6, and the largest – at the level of tooth 1.4. The height of bone defects was measured in vertical and combined defects, as a result, it ranged from 0.5 to 9.6 mm, forming on average- 3.9 ± 0.2 mm. The smallest vertical defect was in tooth 1.1, and the largest – in tooth 1.3, the latter was conditioned by presence of chronic marginal periodontopathy.

Conclusions

Assessment methods presented in the article provided multiple additional data on the alveolar ridge bone defects, thus providing a complex analysis on this issue.

The totality of methods listed above constitute the ways of assessing bone defects and can be used both alone or in combination with each other in order to obtain a more complex picture of the clinical case.

Accuracy of measurements and assessments of bone defects was one of the key points in choosing the bone reconstruction method and establishing the treatment plan.

It is necessary to standardize the protocol for the measurement of alveolar bone as it is considered to be a parameter of the utmost importance in the assessment of bone defects.

Declaration of conflict of interests

The authors state that they are not in conflict of financial or non-financial interests for the data and information presented in the manuscript.

Authors' contributions

AG designed the study, developed the design of the research, collected, interpreted and analyzed the obtained data. DS reviewed the manuscript according to critical parameters. VJ collected and interpreted data, and helped in the manuscript writing. The final version of the manuscript was read and approved by all authors. The authors give assurances and are responsible for the accuracy and the integrity of the work.

Acknowledgements

We would like to give special thanks for the collective from *Arsenie Gutan* Chair of oral and maxillofacial surgery and oral implantology and the Oral and Maxillofacial Surgery Section of the Institute of Emergency Medicine for their support in carrying out the study.

Referințe / references

1. Sîrbu D. Biologia și fiziologia refacerii leziunilor tisulare (p. 30-43). Biomateriale în reconstrucția creștelor alveolare mandibulare în tratamentul implantar. Tipografia-Sirius, Chișinău, Republica Moldova, 2018.
2. Khoury F, Antoun H, Missika P. Biology and physiology of the implant bone site (p. 9-41). Bone augmentation in oral implantology. Editura: Quintessence Publishing, Londra, Marea Britanie, 2007.
3. Rojo J, Vina J, Penarrocha D, Penarrocha M. Facial alveolar bone width at the first and second maxillary premolars in healthy patients: A cone beam computed tomography study. *J Oral Implantol*, 2017; 43 (4): 261-265.
4. Kuc J, Sierpinska T, Golebiewska M. Alveolar ridge atrophy related to facial morphology in edentulous patients. *Clin Interv Aging*, 2017; 12: 1481-1494.
5. As'ad F, Monje A, Larsson L. Role of epigenetics in alveolar bone resorption and regeneration around periodontal and peri-implant tissues. *Eur J Oral Sci*, 2019; 00: 1-17.
6. Thoma D, Naenni N, Figuero E, Hammerle C, Schwarz F, Jung R, Sanz-Sanchez I. Effects of soft tissue augmentation procedures on peri-implant health or disease: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*, 2018; 29: 32-49.
7. Ashok S, Tomas K. Additional diagnostic procedures (p. 24-66). Practical implant dentistry: The science and art. Editura: Quintessence Publishing, Londra, Marea Britanie, 2005.
8. Minns R, Sher L. An iliac bone biopsy trephine. *Injury*, 1983; 14:370-371.
9. Shibli J, Faveri M, Ferrari D, Melo L, Garcia R, d'Avila S, Figueiredo L, Feres M. Prevalence of Maxillary Sinus Septa in 1024 Subjects with Edentulous Upper Jaws: A Retrospective Study. *J Oral Implantol*, 2007; 33 (5): 293-296.
10. Oprea B, Lazar D, Cernușcă-Mițariu S, Ștef L, Gligor R, Tantar C., Cernușcă-Mițariu M., Fotografia – instrument de diagnostic în medicina dentară. *AMT*, 2014; II (2): 127-129.
11. Fradeani M. Esthetic rehabilitation in fixed prosthodontics – esthetic analysis approach to prosthetic treatment. *Quintessence Pub. Inc*, 2004; 1: 18-19.
12. Sîrbu D, Topalo V, Zănoagă O, Procopenco O, Suharschi I, Mostovei A, Mighic A. Aspecte ale utilizării metodelor imagistice în chirurgia orală și maxilo-facială. *Medicina Stomatologică*, 2012; 1 (22): 36-39.
13. Klinge A, Becktor K, Lindh C, Becktor J. Craniofacial height in relation to cross-sectional maxillary and mandibular morphology. *Prog Orthod*, 2017; 18: 32-42.
14. Luangchana P, Pornprasertsuk-Damrongsri S, Kiattavorncharoen S, Jirajariyavej B. Accuracy of linear measurements using cone beam computed tomography and panoramic radiography in dental implant treatment planning. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2015; 30 (6): 1287-1294.
15. Temmerman A, Keestra J, Coucke W, Teughels W, Quirynen M. The outcome of oral implants placed in bone with limited bucco-oral dimensions: a 3-year follow-up study. *J Clin Periodontol*, 2015; 42 (3): 311-318.
16. Ilic D, Stojanovic L. Application of digital radiography for measuring in clinical dental practice. *Srp Arh Celok Lek*, 2015; 143 (1-2): 16-22.
17. Flores-Mir C, Rosenblatt M, Major P, Carey J, Heo G. Measurement accuracy and reliability of tooth length on conventional and CBCT reconstructed panoramic radiographs. *Dental Press J Orthod*, 2014; 19 (5): 45-53.
18. Cordaro L, Terheyden H. Resorption patterns in the edentulous maxilla and mandible (p. 15-17). Ridge augmentation procedures in implant patients. Editura: Quintessence Publishing Co, Berlin, Germania, 2014.
19. Kim D, Bassir S, Nguyen T. Effect of gingival phenotype on the maintenance of periodontal health: an American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol*, 2020; 91 (3): 311-338.
20. Fischer K, Kunzlberger A, Donos N, Fickl S, Friedmann A. Gingival biotype revisited – novel classification and assessment tool. *Clin Oral Investig*, 2018; 22 (1): 443-448.
21. Cordaro L, Terheyden H. Iliac-crest block for vertical and horizontal space filling in the anterior maxilla (p. 181-192). Ridge augmentation procedures in implant patients. Editura: Quintessence Publishing Co, Berlin, Germania, 2014.



ARTICOL DE CERCETARE

Midazolam versus tiopental pentru inducția anesteziei generale. Analiza comparativă a modificărilor hemodinamice și relația acestora cu tonusul cardiac vegetativ preanestezic: studiu clinic prospectiv randomizat

Iuliana Feghiu^{1,3*}, Galina Frunză¹, Natalia Cernei², Sergiu Șandru^{1,2}

¹Catedra de anesteziologie și reanimatologie nr. 1 „Valeriu Ghereg”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Departamentul Clinic de Anestezie și Terapie Intensivă, Institutul de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova;

³Catedra de fiziopatologie și fiziopatologie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 06.03.2020

Data acceptării spre publicare: 10.11.2020

Autor corespondent:

Iuliana Feghiu, asist. univ.

Catedra de fiziopatologie și fiziopatologie clinică
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
str. Nicolae Testemițanu, 27, Chișinău, Republica Moldova, MD-2025
e-mail: iuliana.feghiu@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Midazolam versus thiopental for induction of general anesthesia. A comparative analysis of hemodynamic changes and their relation with preanesthetic heart vegetative tonus: prospective, randomized clinical study

Iuliana Feghiu^{1,3*}, Galina Frunza¹, Natalia Cernei², Sergiu Sandru^{1,2}

¹Chair of anesthesiology and reanimatology no. 1 “Valeriu Ghereg”, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Clinical Department of Anesthesia and Intensive Care, Institute of Emergency Medicine, Chisinau, Republic of Moldova;

³Chair of physiopathology and clinical physiopathology Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 06.03.2020

Accepted for publication on: 10.11.2020

Corresponding author:

Iuliana Feghiu, assist. prof.

Chair of physiopathology and clinical physiopathology
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
27, Nicolae Testemitanu str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2025
e-mail: iuliana.feghiu@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Nu se cunoaște cum tonusul cardiac autonom preanestezic al pacientului poate condiționa modificarea tensiunii arteriale și a ritmului cardiac după inducția intravenoasă a anesteziei generale cu tiopental sau midazolam.

Ipoteza de cercetare

Simpaticotonia cardiacă sau vagotonia cardiacă preanestezic la pacient poate favoriza apariția evenimentelor hemodinamice după inducția anesteziei generale cu midazolam sau tiopental.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Vagotonia cardiacă preanestezică reprezintă un factor de risc pentru dezvoltarea hipotensiunii arteriale și bradicardiei sinusale după administrarea midazolamului pentru inducția anesteziei generale.

What is not known yet, about the topic

There is not known how preanesthetic heart vegetative tonus of the patient is able to favor development of arterial hypotonia, arterial hypertonia, sinus tachycardia, sinus bradycardia and ectopic heart arrhythmias after induction of general anesthesia with thiopental or midazolam.

Research hypothesis

Enhanced preanesthetic sympathetic or parasympathetic heart tonus in the patient can favor development of adverse hemodynamic events after induction of general anesthesia with midazolam or thiopental.

Article's added novelty on this scientific topic

Preanesthetic heart vagotonia is a risk factor for development of arterial hypotension and sinus bradycardia after administration of midazolam for induction of general anesthesia.

Rezumat

Introducere. Administrarea tiopentalului sau midazolamului pentru inducția anesteziei generale se asociază cu modificări ale presiunii arteriale și a ritmului cardiac. Până la moment nu există studii clinice care ar fi dovedit riscul pentru dezvoltarea acestor evenimente hemodinamice în funcție de predominarea tonusului cardiac vegetativ simpatic sau parasimpatic la pacient.

Material și metode. Studiu de tip prospectiv, randomizat. Aviz pozitiv al CEC. Au fost înrolați după un acord informat semnat, 94 de pacienți, care au fost repartizați aleator în unul din cele 2 eșantioane: eșantionul M care a beneficiat de inducția anesteziei generale cu midazolam (0,2-0,3 mg/kg + fentanil 1,0 mkg/kg) și eșantionul T care a beneficiat de inducția anesteziei generale cu tiopental 5,0-6,0 mg/kg + fentanil 1,0 mkg/kg). Tonusul cardiac vegetativ preanestezic a fost determinat prin analiza ECG Holter a raportului LFun/HFun. Monitorizarea hemodinamică a inclus măsurarea neinvazivă a TAs, TAd, TAM și FCC. Rezultatele sunt prezentate drept medie și 95%CI (pentru variabilele cu distribuție simetrică) sau mediană și interval intercuartilic (pentru variabilele cu distribuție asimetrică).

Rezultate. În lotul M, TAs s-a redus cu 20,6% (129 mmHg (95%CI 124 - 133) vs 102 mmHg (95%CI 98 - 107) ($p=0,001$), TAd s-a redus cu 27,8% (78 mmHg (95%CI 74 - 81) vs 56 mmHg (95%CI 53 - 60) ($p<0,001$) iar TAM s-a redus cu 24,3% (97 mmHg (95%CI 94 - 101) vs 74 mmHg (95%CI 70 - 78) ($p=0,001$). La fel s-a redus și FCC cu 18,0% (74 (95%CI 70 - 77) vs 61 (95%CI 56 - 67) ($p=0,03$). După administrarea soluției de tiopental pentru inducția anesteziei generale TAs s-a redus cu 19,7% (129 mmHg (95%CI 125 - 132) vs. 103 mmHg (95%CI 99 - 108) ($p<0,0001$), iar TAd s-a redus cu 26,1% (77 mmHg (95%CI 75 - 80) vs 57 mmHg (95%CI 49 - 64) ($p<0,0001$), TAM s-a redus cu 23,0% (97mmHg (95%CI 94 - 100) vs 75 mmHg (95%CI 71 - 79) ($p<0,0001$) iar FCC a crescut cu 8,0% (75,9 (95%CI 72 - 79) vs 82,5 (95%CI 79 - 86) ($p=0,02$). Parasimpaticotonia cardiacă preanestezică crește riscul de dezvoltarea a bradicardiei sinusale: RR - 4,5 (95%CI 1,7 - 11,4; $p=0,0002$), Se - 0,79 (95%CI 0,54 - 0,94), Sp - 0,77 (95%CI 0,58 - 0,91) și a hipotensiunii arteriale: RR - 4,8 (95%CI 1,6 - 14,5; $p=0,0003$), Se - 0,84 (95%CI 0,60 - 0,97), Sp - 0,70 (95%CI 0,59 - 0,86).

Concluzii. Parasimpaticotonia cardiacă preexistentă la pacient reprezintă un factor de risc pentru apariția hipotensiunii arteriale (riscul relativ - 4,8) și bradicardiei sinusale (riscul relativ - 4,5) după inducția anesteziei generale cu midazolam.

Cuvinte cheie: variabilitatea ritmului cardiac, tonus cardiac vegetativ, simpaticotonie cardiacă, vagotonie cardiacă.

Introducere

Midazolamul este un agent utilizat frecvent în practica anestezicologică pentru sedare sau pentru inducția anesteziei generale. Este un agent de inducție preferat datorită timpu-

Abstract

Introduction. Administration of thiopental or midazolam for induction of general anesthesia is associated with changes of arterial pressure and heart rhythm. There are no studies which proved the risk for development of these hemodynamic events in function of predominance of sympathetic or parasympathetic heart tonus.

Material and methods. Prospective, randomized study. Approved by Ethic Committee. A number of 94 patients was randomly distributed in 2 groups: group M, in which induction of general anesthesia was performed with midazolam (0,2-0,3 mg/kg + fentanyl 1,0 mkg/kg) and group T in which induction was performed with thiopental (5,0-6,0 mg/kg + fentanyl 1,0 mkg/kg). Preanesthetic vegetative heart tonus was assessed by ECG Holter and interpretation of LFun/HFun ratio. Hemodynamic monitoring involved non-invasive registration of SBP, DBP, MAP and HR. Results are presented as mean with 95%CI and median with IQR (for values with asymmetric distribution).

Results. În group M, SBP dropped by 20,6% (129 mmHg (95%CI 124 to 133) vs 102 mmHg (95%CI 98 to 107) ($p=0,001$), DBP dropped by 27,8% (78 mmHg (95%CI 74 to 81) vs 56 mmHg (95%CI 53 to 60) ($p<0,001$) and MAP dropped by 24,3% (97 mmHg (95%CI 94 to 101) vs 74 mmHg (95%CI 70 to 78) ($p=0,001$). The same was attested a reduction by 18,0% of HR (74 (95%CI 70 to 77) vs 60 (95%CI 56 to 67) ($p=0,03$). After induction of general anesthesia with midazolam the most patients presented normal HR (53,2%) and arterial hypotension (51,0%). After induction of general anesthesia with thiopental, SBP dropped by 19,7% (129 mmHg (95%CI 125 to 132) vs. 103 mmHg (95%CI 99 to 108) ($p<0,0001$), DBP dropped by 26,1% (77 mmHg (95%CI 75 to 80) vs 57 mmHg (95%CI 49 to 63) ($p<0,0001$), MAP reduced by 23,0% (97 mmHg (95%CI 94 to 100) vs 75 mmHg (95%CI 71 to 79) ($p<0,0001$) and HR enhanced by 8,0% (76 (95%CI 72 to 79) vs 82 (95%CI 79 to 86) ($p=0,02$). Preanesthetic enhanced parasympathetic heart tonus represents a risk factor for development of sinus bradycardia: RR - 4,5 (95%CI 1,7 to 11,4; $p=0,0002$), Se - 0,79 (95%CI 0,54 to 0,94), Sp - 0,77 (95%CI 0,58 to 0,91) and arterial hypotension: RR - 4,8 (95%CI 1,6 to 14,5; $p=0,0003$), Se - 0,84 (95%CI 0,60 to 0,97), Sp - 0,70 (95%CI 0,59 to 0,86).

Conclusions. Enhanced preanesthetic parasympathetic heart tonus is a risk factor for development of arterial hypotension (RR - 4,8) and sinus bradycardia (RR - 4,5) after induction of general anesthesia with midazolam.

Key words: heart rate variability, vegetative heart tonus, heart sympatheticotonia, heart vagotonia.

Introduction

Midazolam is an agent frequently used in anesthesiology for sedation or for induction of general anesthesia. Is a preferred drug for induction due to its short duration of action and

lui scurt de acțiune și a efectelor adverse relative puține [1, 2, 3]. Combinarea midazolamului cu un opioid este cea mai frecventă metodă utilizată pentru a asigura sedarea în endoscopia gastrointestinală [3, 4]. Efectele hipnotice, sedative, anxiolitice și anticonvulsivante ale medicamentului se datorează efectelor pe receptorii pentru acidul gama-aminobutiric (receptorii GABAA), care deasemenea sunt implicați și în reglarea sistemului nervos vegetativ [2]. Deși se consideră că midazolamul are efecte minimale asupra sistemului cardiovascular, Zhang R. *et al.* (2018) și Frolich M. *et al.* (2011) au dovedit că dozele recomandate de 0.2-0.3 mg/kg de midazolam pentru inducția anesteziei generale pot cauza hipotensiune severă. În consecință, cu scop de sedare se recomandă administrarea unui bolus care nu v-a depăși 5 mg midazolam. Această doză însă nu este suficientă pentru a asigura inducția anesteziei generale, iar creșterea dozei injectate va crește și riscul instabilității hemodinamice a pacientului [3, 5].

Tiopentalul este un agent din grupa barbituricelor utilizat pentru inducția anesteziei generale [1, 6]. În pofida implementării în practica clinică a agenților de inducție noi, tiopentalul este încă larg folosit în Republica Moldova dar și în alte țări, de preferință în obstetrică și neurochirurgie. Farmacologia agentului de inducție este bine cunoscută iar efectele acestuia se datorează interacțiunii cu aceiași receptori GABAA, ca și în cazul midazolamului, deci este de așteptat ca și efectele cardiovasculare să fie asemănătoare [2, 6]. Inducția cu tiopental se asociază cu micșorarea tensiunii arteriale sistolice (TAs) și diastolice (TAd) și modificarea ritmului cardiac, deaceia cel mai frecvent tiopentalul este folosit în co-inducție, asociat cel mai frecvent cu o benzodiazepină [7, 8]. Fentanilul este un opioid utilizat pentru premedicație și se asociază la barbiturice sau benzodiazepine pentru inducția anesteziei generale [9].

Influențele sistemului nervos vegetativ simpatic și parasimpatic asupra nodului sinusal se manifestă clinic prin variațiile intervalului RR pe ECG, fenomen cunoscut drept variabilitatea ritmului cardiac (VRC). Prin analiza spectrală a VRC este posibil de a determina prezența vagotoniei sau simpaticotoniei cardiace la pacient, iar acest fapt poate fi utilizat și în anesteziologie [10-12]. Padley J. *et al.* (2018) și Reimer P. *et al.* (2017) au demonstrat eficacitatea analizei VRC pentru aprecierea rezervelor fiziologice și a riscului de dezvoltare a instabilității hemodinamice după inducția anesteziei generale în chirurgia abdominală majoră [13, 14]. Mahajan A. *et al.* (2017) și Toptaș M. *et al.* (2014) au utilizat analiza VRC pentru aprecierea tonusului cardiac vegetativ și predicția riscului de dezvoltare a hipotensiunii arteriale după anestezia spinală sau epidurală [15, 16].

Acest studiu clinic prospectiv randomizat a comparat efectele hemodinamice ale tiopentalului și midazolamului și a testat ipoteza că simpaticotonia cardiacă sau vagotonia cardiacă preanestezică pot fi factori predictibili pentru dezvoltarea fenomenelor hemodinamice adverse după inducția anesteziei generale cu acești agenți de inducție.

relative few side effects [1, 2, 3]. Combination of midazolam with an opioid is the most frequently used methods for sedation in gastrointestinal endoscopy [3, 4]. Hypnotic, sedative, anxiolytic and anticonvulsivants effects of midazolam are attributed to interaction with receptors for gama-aminobutiric acid (GABAA receptors), which the same are involved in regulation of vegetative nervous system [2]. Although there is considered that midazolam has minimal effects on cardiovascular system, Zhang R. *et al.* (2018) and Frolich M. *et al.* (2011) proved the fact that the recommended doses of 0,2-0,3 mg/kg of midazolam can cause severe arterial hypotension. In consequences, recommended sedative dose of midazolam will not exceed 5,0 mg. This dose, anyway, is not enough to perform induction of general anesthesia, and enhancing the dose the same will increase the risc for hemodynamic instability in patients [3, 5].

Thiopental is an agent from barbiturates used in anesthesiology for induction of general anesthesia [1, 6]. Despite the fact that new induction agents were introduced in the clinical practice, thiopental is still frequently used in the Republic of Moldova and in other countries mainly in obstetrics and neurosurgery. Pharmacology of the agent is well known and its effects the same are due to interaction with the same GABAA receptors, as midazolam, so there is expected to see the same cardiovascular effects [2, 6]. Induction with thiopental is associated with drop in systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and changes in heart rate (HR), this is why most frequently thiopental is used in co-induction with another agent, preferably a benzodiazepine [7, 8]. Fentanyl is an opioid used for premedication and is associated with barbiturates or benzodiazepines for induction of general anesthesia [9].

Influences of sympathetic and parasympathetic nervous system on sinus node of the heart clinically are represented by variations of RR intervals on ECG, phenomenon known as heart rate variability (HRV). By spectral analysis of HRV there is possible to determine the presence of heart vagotonia or heart sympaticotonia in the patient, and this information can be useful in anesthesiology [10, 11, 12]. Padley J. *et al.* (2018) and Reimer P. *et al.* (2017) proved efficiency of HRV analysis for appreciation of physiological reserves and the risk for hemodynamic instability after induction of general anesthesia in major abdominal surgery [13, 14]. Mahajan A. *et al.* (2017) and Toptaș M. *et al.* (2014) used HRV analysis for prediction of the risk for arterial hypotension after spinal or epidural anesthesia [15, 16].

This clinical prospective randomized study compared the hemodynamic effects of thiopental and midazolam and tested the hypothesis that preanesthetic heart parasympathicotonia or sympaticotonia can be predictable factors for development of adverse hemodynamic effects after induction of general anesthesia with these agents.

Material și metode

Studiu de tip prospectiv, randomizat, conceput pentru a evalua comparativ modificările tensiunii arteriale și a frecvenței cardiace în timpul inducției intravenoase a anesteziei generale cu tiopental sau midazolam și relația acestor modificări cu tonusul cardiac vegetativ preanestezic la pacienți. Studiul s-a realizat în perioada iunie 2014 – august 2017 la Catedra de anesteziologie și reanimatologie nr. 1 „Valeriu Ghereg” (baza clinică de anestezie și terapie intensivă a Institutului de Medicină Urgentă din Chișinău). Protocolul de cercetare a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării (CEC) al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (înregistrat cu nr. 28 din 08.02.2016. Președinte al CEC – Prof. Nacu Viorel). Toți pacienții înrolați au semnat acordul informat de participare în studiu. Randomizarea s-a realizat cu tabele de randomizare cu raportul 1:1.

Criteriile de includere în studiu au fost:

- pacient adult (≥ 18 ani și ≤ 60 ani), pentru a exclude influența vârstei asupra VRC;
- semnarea acordului scris de înrolare în studiu;
- ASA I-II;
- intervenții chirurgicale în care aria operată nu interferează cu electrozii plasați pentru înregistrarea continuă a ECG Holter;
- ritm sinusal pe electrocardiogramă în perioada preoperatorie;
- BMI ≤ 30 kg/m².

Criteriile de non-includere în studiu au fost:

- prezența bolilor care se asociază cu modificarea tonusului cardiac vegetativ (maladii cardiovasculare, maladii endocrine, maladii neurologice);
- alt ritm decât cel sinusal pe electrocardiograma preoperatorie;
- administrarea cronică a medicamentelor care pot interfera cu tonusul cardiac vegetativ (β -adrenoblocante, β -adrenomimetice, inhibitori ai enzimei de conversie, sedative, anticonvulsivante, anxiolitice, glucocorticoizi, tiroxină);
- pe traseul ECG Holter intra-anestezic mai mult de 20% artefacte;
- intervenții chirurgicale în care aria operată interferează cu electrozii ECG Holter;
- BMI ≥ 30 kg/m².

Tonusul cardiac autonom preanestezic la pacienți a fost determinat prin aprecierea VRC prin intermediul ECG Holter. Pentru aceasta pe toracele și abdomenul pacienților s-au amplasat 10 electrozi care s-au conectat la dispozitivul ECG Holter Contec TLC 5000 (USA). Metodologia nu diferă semnificativ de procedura de înregistrare a ECG. Pentru înregistrarea corectă a VRC prin metodologia ECG Holter pacientul s-a plasat în decubit dorsal, cu toracele și membrele descoperite. Plasarea electrozilor este precedată de degresarea cu alcool a pielii iar în scopul măririi conductibilității electrice s-a folosit o pasta specială care asigură adeziunea electrozilor. Din

Material and methods

Prospective, randomized study to perform a comparative evaluation of changes in arterial pressure and heart rate during induction of general anesthesia with thiopental or midazolam and the relation of these changes with preanesthetic vegetative heart tonus of patients. The study was carried out within June 2014 – August 2017 at the Chair of anesthesiology and reanimatology nr. 1 „Valeriu Ghereg” (Institute of Emergency Medicine from Chișinău). The protocol of study was approved by Ethic Committee of the State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu” (registered nr. 28 from 08.02.2016, signed by the president of the Committee Viorel Nacu). All patients involved in the study sign an informed consent. Randomization was performed in tables with ratio 1:1.

Criteria for inclusion were:

- adult patient (≥ 18 years and ≤ 60 years), in order to avoid the influence of age on HRV;
- patients who signed the informed consent;
- ASA I-II;
- surgical intervention in the areas which didn't interfere with electrodes for registration of ECG Holter and HRV analysis;
- preoperative sinus rhythm on ECG;
- BMI ≤ 30 kg/m²

Non-inclusion criteria were:

- presence of diseases which are associated with changes in heart vegetative tonus (cardiovascular disorders, endocrine disorders, neurological disturbances);
- other than sinus rhythm on preoperative ECG;
- chronic administration of drugs which can interfere with vegetative heart tonus (β -adrenoblockers, β -adrenomimetics, inhibitors of conversive enzymes, sedative drugs, anxiolytics, anti-convulsivants, glucocorticoids, thyroxin);
- on Holter ECG more than 20% artefacts;
- surgical intervention in the areas which interfere with electrodes for ECG Holter;
- BMI ≥ 30 kg/m².

Preanesthetic vegetative heart tonus was attested by analysis of HRV by mean of HRV. For this on the thorax and abdomen of the patients were placed 10 electrodes which were connected to ECG Holter Contec TLC 5000 (USA). The method doesn't differ from the method for registration of ECG. For correct registration of HRV with ECG Holter the patients were placed in supine position. Placement of electrodes was preceded by skin degreasing and in order to enhance electric conductivity a special pasta was applied to enhance adherence. From 10 electrodes used, 4 were placed on the root of limbs, the other 6 were placed as follows:

- V1 – parasternal right IV intercostal space;
- V2 – parasternal left IV intercostal space;
- V3 – in the middle of the distance between V2 and V4;
- V4 – intercostal V space, on the medioclavicular line (apex of the heart);

cei 10 electrozi folosiți pentru înregistrarea ECG Holter, 4 s-au amplasat pe rădăcina membrului (s-au evitat zonele osoase), ceilalți 6 electrozi s-au poziționat după cum urmează:

- V1 – spatial intercostal IV parasternal drept;
- V2 – spatial intercostal IV parasternal stâng;
- V3 – la mijlocul distanței dintre V2 și V4;
- V4 – spatial intercostal V, pe linia medioclaviculară stângă (vârful inimii);
- V5 – spatial intercostal V, pe linia axilară anterioară stângă;
- V6 – spatial intercostal pe linia axilară mijlocie stângă.

Înregistrarea ECG Holter s-a realizat timp de 10-20 minute dimineață până la intervenția chirurgicală (etapa T1). Înregistrarea s-a efectuat la temperatura de confort (20-22°C), evitându-se temperaturile scăzute (determină frison cu contracții musculare) sau temperaturile ridicate (transpirația determină modificări de conductibilitate prin piele), care pot produce erori de înregistrare a potențialelor electrice a cordului. Înregistrarea ECG Holter a continuat și pe parcursul inducției anesteziei generale pentru a monitoriza modificările frecvenței cardiace și momentul apariției și frecvența aritmiilor cardiace normotopice și ectopice.

Premedicația a fost realizată cu fentanil (1,0-1,5 mkg/kg) (etapa T2). Pentru premedicație s-a evitat administrarea oricărui altor droguri care interferează cu tonusul cardiac vegetativ (colinoblocante, barbiturice, benzodiazepine). Inducția anesteziei generale s-a realizat cu midazolam (0,2-0,3 mg/kg) și fentanil (1,0-1,5 mkg/kg) sau tiopental (5,0-6,0 mg/kg) și fentanil (1,0-1,5 mkg/kg) (etapa T3). Pentru înregistrarea modificărilor hemodinamice (TAs, TAd, TAM) în timpul inducției anesteziei generale pe brațul pacientului s-a amplasat o manjetă care a permis măsurarea neinvazivă în fiecare minut a presiunii arteriale timp de 25-30 minute cât a durat studiul. Oxigenoterapia s-a realizat prin masca facială prin care s-a administrat un FiO_2 standard de 0,8-0,9 pe parcursul studiului. Dacă la pacient s-a dezvoltat hiponee sau apnee a fost asigurată ventilația prin masca facială iar parametrii ventilatorii au fost standardizați astfel încât ventilatorul să asigure pacientului un FiO_2 de 0,8-0,9; s-a asigurat o frecvență respiratorie astfel ca $EtCO_2$ să fie în limitele 35-40 mmHg; volumul curent de 7,0-8,0 ml/kg.

VRC preoperatorie a fost apreciată prin metoda standard, recomandată de Societatea Europeană de Cardiologie și Societatea nord-americană de ritmologie și electrocardiologie [17]. Analiza spectrală sau de frecvență presupune compartimentarea perioadelor de intervale examinate (cantitatea intervalelor într-o anumită perioadă de timp) cu ajutorul transformării rapide Fourier și analiza de tip autoregresiv a spectrelor de frecvență de diferită intensitate. În analiza spectrală a VRC clasic se utilizează fragmente a câte 5 minute. În rezultatul analizei înscrisurilor Holter, după o redactare minuțioasă a principalelor evenimente ECG, în mod automat au fost primiți următorii indicatori ai frecvenței ritmului sinusal pe perioada analizată:

- valoarea LFun și a HFun pentru determinarea raportului LFun/HFun, care permite evaluarea tonusului cardiac autonom (valoarea LFun/HFun peste 2,0 indică simpati-

- V5 – intercostal V space, on the left anterior axillary line;
- V6 – intercostal V space on the left middle axillary line.

Registration of ECG was performed 10-20 minutes in the morning before surgical intervention (stage T1). ECG Holter was performed at temperature 20-22°C, to avoid shivering caused by low ambient temperature, as well as excessive sweating (change of skin conductivity) caused by high ambient temperature, such avoiding errors in recording electric potential of the heart. ECG Holter registration continued during induction of general anesthesia for surveillance of changes in HR as well as to monitor the type and the moment of development of normotopic and ectopic heart arrhythmias.

Premedication was performed with fentanyl (1,0-1,5 mkg/kg) (stage T2). For premedication any other drug which can interfere with vegetative heart tonus (colinoblockers, benzodiazepines, barbiturates) were avoided. Induction of general anesthesia was performed with midazolam (0,2-0,3 mg/kg) and fentanyl (1,0-1,5 mkg/kg) or thiopental (5,0-6,0 mg/kg) and fentanyl (1,0-1,5 mkg/kg) (stage T3). For registration of SBP, DBP, MAP on the arm of the patient was placed a cuff for non-invasive measurement of these hemodynamic parameters every minute during 25-30 minutes of the study. Oxygenotherapy was supplied by facial mask by administration of oxygen with standard FiO_2 of 0,8-0,9 during the study. If in the patient was attested hypopnea or apnea, mask ventilation was started in order to ensure a FiO_2 of 0,8-0,9; ventilatory frequency was adjusted to have an $EtCO_2$ within 35-40 mmHg; tidal volume 7,0-8,0 ml/kg.

Preanesthetic HRV was assessed by standard methods recommended by European Society of Cardiology and American Society of Rythmology and Electrocardiology [17]. Spectral analysis (or frequency analysis) of HRV is done by fragmentation of examined ECG in intervals by rapid Fourier transformation and auto-regressive analysis of frequency distribution. In a classical spectral analysis of HRV, 5-minutes intervals are used. In the result of spectral analysis of recorded ECG, after a careful analysis of main changes, automatically were given following parameters of HRV:

- value of LFun and HFun for calculation of LFun/HFun ratio, which allow evaluation of vegetative tonus of the heart (a LFun/HFun ratio above 2,0 shows enhanced sympathetic tonus of the heart and a LFun/HFun ratio less than 1,0 mark enhanced parasympathetic tonus of the heart);
- frequency of heart beats pe minut (HR), the average for every stage of the study;
- type, frequency, duration and moment of development of heart arrhythmias registered by ECG Holter during the study.

Hemodynamic monitoring involved non-invasive measurement of SBP, DBP, and MAP. Systolic arterial hypotension was defined as a SBP <90 mmHg, or a decrease by 20% from baseline value. Diastolic hypotension was defined as DBP <60 mmHg or a decrease by 20% from baseline values. Arterial hypertension was defined as SBP >139 mmHg or enhanced by 20% from baseline value. Sinus tachycardia was defined as a

cotonie cardiacă iar valoarea raportului LFun/HFun sub 1,0 indică vagotonie cardiacă);

- frecvența contracțiilor cardiace (FCC), media pentru fiecare etapă a studiului;
- tipul, frecvența, momentul apariției și durata aritmiilor cardiace înregistrate pe perioada studiului.

Monitorizarea hemodinamică a inclus măsurarea neinvazivă a TAs, TAd, TAM și FCC. Hipotensiunea arterială sistolică a fost definită drept TAs <90 mmHg, sau scăderea valorilor cu cel puțin 20% față de valorile inițiale. Hipotensiunea arterială diastolică a fost definită drept TAd <60 mmHg sau scăderea valorilor cu cel puțin 20% față de valorile inițiale. Hipertensiunea arterială a fost definită drept TAs >139 mmHg sau creșterea valorilor mai mult de 20% față de valorile inițiale. Tahicardia sinusală a fost definită drept FCC >100 bpm iar bradycardia sinusală a fost considerată când FCC <60 bpm. FCC a fost determinată cu dispozitivul ECG Holter în fiecare minut din cele 5 minute al celor 3 etape ale studiului, iar pentru fiecare etapă ECG Holter a calculat o medie.

Toate variabilele numerice obținute au fost importate în softul de analiză statistică GraphPad Prism, versiunea 8 (Graph Pad Software Inc, CA, SUA). Analiza statistică a fost realizată conform instrucțiunilor de analiză și a luat în considerație tipul de date, distribuția (normală sau asimetrică). Pentru compararea variabilelor cu distribuție simetrică în cadrul aceleiași grup s-a utilizat testul statistic t-Student pentru eșantioane perechi. Pentru compararea rezultatelor cu distribuție asimetrică în cadrul aceleiași grup s-au utilizat testul statistic Wilcoxon al rangurilor pereche. Pentru analiza statistică a variabilelor cu distribuție simetrică între loturile de studiu s-au utilizat testele statistice t-Student pentru eșantioane neperechi iar pentru variabilele cu distribuție asimetrică s-a utilizat testul statistic Mann-Whitney. Datele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative, sau medie și interval de încredere de 95% (95%CI) pentru datele cu distribuție simetrică și mediană cu interval intercuartilic (IQR) pentru datele cu distribuție asimetrică. A fost aplicat testul Fisher exact pentru datele de tip categorie 2×2, pentru a determina riscul relativ (RR), sensibilitatea (Se) și specificitatea (Sp). Un p<0,05 a fost considerat statistic semnificativ.

Rezultate

Pentru a descrie rezultatele studiului, lotul de pacienți care au beneficiat de inducția anesteziei generale cu tiopental și fentanil va fi numit lotul T, iar lotul pacienților care au beneficiat de inducția anesteziei generale cu midazolam și fentanil – lotul M. Loturile de pacienți a studiului nu s-au diferențiat semnificativ după vîrstă, masa corporală și riscul anestezic ASA. În ambele loturi au predominat femeile (Tabelul 1). Spectrul intervențiilor chirurgicale în ambele loturi este reprezentat în Tabelul 2. În ambele loturi cei mai mulți pacienți au beneficiat de colecistectomie laparoscopică.

Preoperator în lotul M cei mai mulți pacienți (48,9%) aveau tonusul cardiac simpatic sporit iar în lotul T cei mai mulți pacienți (44,7%) aveau tonusul cardiac parasimpatic sporit (Tabelul 3).

HR >100 bpm and sinus bradycardia was defined as a HR <60 bpm. HR was register by ECG Holter every minute during the study, and the Holter computerized system gave an average for every stage of the study.

All numeric parameters were imported in the soft for statistical analysis GraphPad Prism, version 8 (Graph Pad Software Inc, CA, SUA). Statistical analysis was performed according to type of data and distribution (symmetric or assymetric). For comparing results within the same grup was used paired t-Student test (for values with symmetric distribution) and Wilcoxon matched pair signed rank test (for values with assymetric distribution). For comparison of results between groups was used unpaired t-Student test (for values with symmetric distribution) and Mann-Whitney test (for values with assymetric distribution). Data are presented as mean with 95% confidence interval (95%CI) (for values with symmetric distribution) and median with intercuartilic range (IQR) (for values with assymetric distribution). Fisher's exact test was applied for cathegorical data and for calculation of relative risk (RR), sensibility (Se) and specificity (Sp). A p<0,05 was considered statistically significant.

Results

For description of the results of the study, the group of patients who received midazolam for induction of general anesthesia will be named group M, and the group of patients who received thiopental will be named group T. There were not found significant differences between the groups when referring to age, body weight and ASA risk. In both groups females where more than males (Table 1). The spectrum of surgical procedures is represented in the Table 2. In both groups most patients beneficiated of laparoscopic cholecistectomy.

Preoperatively, most (48,9%) patients in the M group presented enhanced sympathetic heart tonus while in the group T most (44,7%) patients presented with enhanced parasympathetic heart tonus (Table 3).

In both groups analysis of ECG Holter in T1 showed presence of sinus rythm in all patients. In both groups, initially there was attested normal arterial pressure and normal HR on ECG (Figure 1).

In the group M, in T1 in 5 (10,6%) patients was found sinus tachycardia and all 5 patients presented enhanced sympathetic heart tonus. Maximal HR registered by ECG Holter in M group in T1 was 106 bpm. In 6 (12,8%) patients ECG Holter registered sinus bradycardia, 5 from these presenting enhanced parasympathetic heart tonus and one heart eutonia in T1. Minimal HR registered by ECG Holter in M group in T1 was 45 bpm. In 10 (21,2%) patients from M group, ECG Holter registered ectopic heart arrythmias (Figure 2).

In 6 patients were registered single supraventricular extrasystole (SE) and in 4 patients – single ventricular extrasystoles (VE). Most (70%) patients with ectopic heart arrythmias in T1 on HRV presented enhanced sympathetic tonus of the heart. In 18 patients from group M, in T1 was attested arterial hypertension and most (75%) of these where with enhanced

Tabelul 1. Caracteristica demografică a pacienților loturilor de cercetare (n = 94).**Table 1.** Demographic characteristics of patients in the study groups (n = 94).

Parametrii demografici <i>Demographic parameters</i>	Lotul M / Group M (n = 47)	Lotul T / Group T (n = 47)	t	p
Vârsta, ani <i>Age, years</i>	38,0±12,0	35,4±11,2	1,44	0,15
BMI (kg/m ²)	24,5±3,3	23,9±4,1	0,83	0,40
Bărbați / Femei <i>Males / Females</i>	20/27	23/24	-	NS
ASA I / II	21/26	19/28	-	NS

Notă: BMI – indice de masa corporală; NS – nesemnificativ; ASA – risc anestezic după American Society of Anesthesiologists. Analiza statistică: testul t-Student impar.

Note: BMI – body mass index; NS – non-significant, ASA – anesthetic risk according to American Society of Anesthesiologists. Statistical analysis: unpaired t-Student test.

Tabelul 2. Distribuția intervențiilor chirurgicale în loturile de cercetare.**Table 2.** Distribution of surgical interventions in the study groups.

Intervenția chirurgicală <i>Surgical intervention</i>	Lotul T / Group T (n = 47)	Lotul M / Group M (n = 47)
Colecistectomie laparoscopică <i>Laparoscopic cholecistectomy</i>	18	18
Osteosinteza mandibulei <i>Mandible osteosynthesis</i>	9	9
Dissectomie <i>Dissectomy</i>	3	12
Sinusotomie <i>Sinusotomy</i>	2	3
Sialoadenectomie <i>Sialoadenectomy</i>	3	3

Tabelul 3. Structura loturilor după frecvența simpaticotoniei / parasimpaticotoniei / eutoniei cardiace, valorile tensiunii arteriale, valorile FCC și frecvența aritmiilor cardiace ectopice în preoperator.**Table 3.** Structure of the study groups in function of frequency of heart sympatheticotonia / vagotonia / eutonia, values of arterial pressure, values of HR and frequency of ectopic heart arrhythmias in preoperative stage.

Parametri / Parameters	Lotul M / Group M (n = 47)	Lotul T / Group T (n = 47)
Simpaticotonie cardiac / Enhanced cardiac sympathetic tonus	23	20
Parasimpaticotonie cardiac / Enhanced cardiac parasympathetic tonus	19	21
Eutonie cardiac / Heart eutonia	5	6
Normotensiune arterial / Normal arterial blood pressure	31	29
Hipertensiune arterial / Arterial hypertension	16	18
FCC normal / Normal HR	36	28
Tahicardie sinusală / Sinus tachycardia	5	11
Bradycardie sinusală / Sinus bradycardia	6	8
Aritmii cardiace ectopice / Ectopic heart arrhythmias	10	2

În ambele loturi la analiza ECG Holter în T1 a fost determinată prezența ritmul sinusal la toți pacienții. În ambele loturi cei mai mulți pacienți au prezentat inițial normotensiune arterială și FCC normală pe ECG Holter (Figura 1).

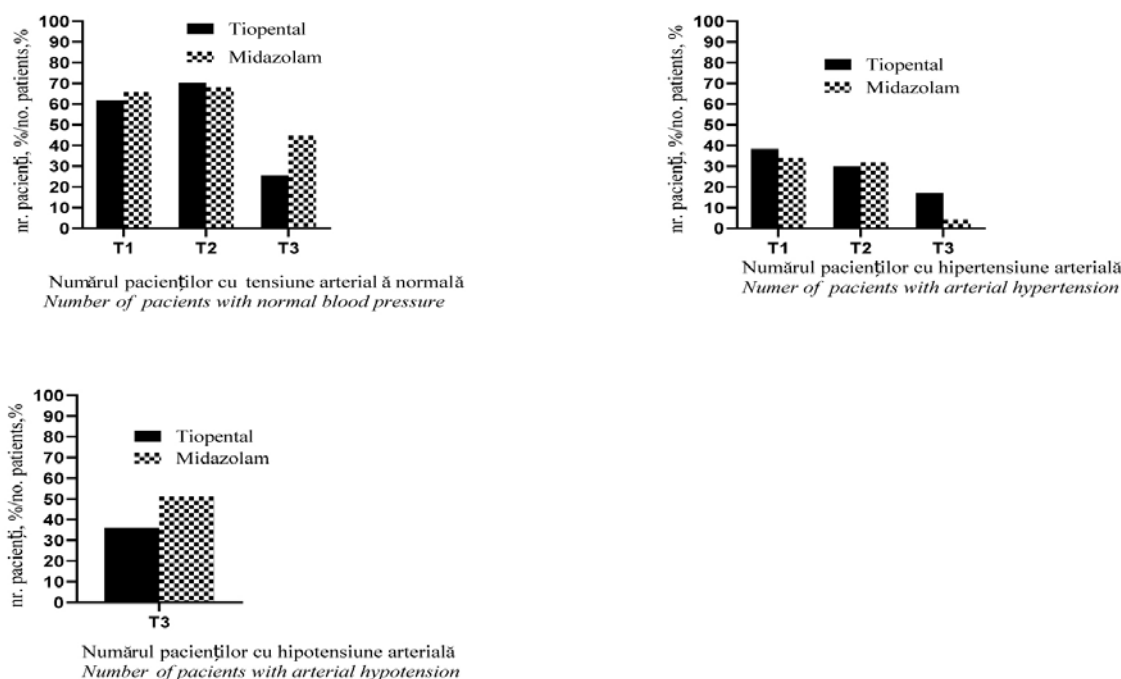


Fig. 1 Structura eșantioanelor studiului după frecvența tensiunii arteriale normale, hipertensiunii arteriale și hipotensiunii arteriale.
Fig. 1 Structure of the study groups in function of frequency of normal arterial tension, arterial hypertension and arterial hypotension.

În lotul M la 5 (10,6%) pacienți inițial s-a instalat tahicardie sinusală și toți prezentau simpaticotonie cardiacă preanestezică. FCC maximală înregistrată ECG Holter în T1 a fost de 106 bpm. La 6 (12,8%) pacienți din lotul M s-a înregistrat bradicardie sinusală, dintre aceștia 5 pacienți fiind cu parasimpaticotonie cardiacă iar unul cu eutonie cardiacă preoperatorie. FCC minimală înregistrată ECG Holter în T1 a fost de 45 bpm. La 10 (21,2%) pacienți din eșantionul M s-a depistat la analiza ECG Holter prezența aritmiilor cardiace ectopice în T1 (Figura 2).

La 6 pacienți, ECG Holter a înregistrat extrasistolii supra-ventriculare unice (ESV) iar la 4 – extrasistolii ventriculare unice (EV). Cei mai mulți (70%) pacienți care au prezentat aritmii cardiace unice în T1 aveau tonusul cardiac simpatic crescut. La 18 pacienți din lotul M preanestezic s-a constatat hipertensiune arterială și cei mai mulți (75%) dintre aceștia au prezentat tonus cardiac simpatic crescut. TAs maximală în eșantionul M în etapa T1 a fost de 188 mmHg iar TAd maximală a fost de 120 mmHg.

La 11 (23,4%) pacienți din lotul T inițial s-a instalat tahicardie sinusală și dintre aceștia, 8 prezentau simpaticotonie cardiacă preanestezică (Figura 2). FCC maximală înregistrată ECG Holter în lotul T a fost de 121 bpm. La 8 (17,0%) pacienți s-a înregistrat bradicardie sinusală în T1, dintre aceștia la 7 fiind prezentă parasimpaticotonia cardiacă și la unul tonus ve-

sympathetic tonus of the heart. Maximal SBP in M group in T1 was 188 mmHg and maximal DBP was 120 mmHg.

In 11 (23,4%) patients from the group T, initially was attested sinus tachycardia, and from these in 8 patients was found en-

hanced sympathetic tonus of the heart (Figure 2). Maximal HR in T group in T1 was 121 bpm. In 8 (17,0%) patients where was attested sinus bradycardia in T1 and 7 from these had enhanced parasymphatic heart tonus. Minimal HR registered by ECG Holter in the group T in T1 was 53 bpm. In 2 (4,3%) patients from the group T, ECG Holter analysis showed ectopic heart arrhythmias (one case of SVE and one case of VE). Both these patients had enhanced parasymphatic tonus in T1. In 18 patients initially was found arterial hypertonia, and in 10 (55,5%) patients from these there was attested enhanced sympathetic tonus of the heart. Maximal systolic blood pressure in T1 in the group T was 168 mmHg, and minimal diastolic blood pressure in T1 was – 104 mmHg. Maximal MAP was 168 mmHg.

After administration of fentanyl (1,0-1,5 mkg/kg) for premedication there were not found significant changes in SBP, DBP, MAP and HR (Table 4, Figure 1, Figure 2). In the group M, SBP has reduced by 4,6%, DBP has reduced by 6,5% and TAM has reduced by 5,9%, insignificantly when comparing with stage T1 (Table 4). In 15 patients (31,9%) there was found arterial hypertension. Should be remarked that from these in 12 (80,0%) patients was attested enhanced sympathetic heart tonus in T1. Maximal SBP registered in T2 in the group M was 170 mmHg, maximal DBP was 101 mmHg and maximal MAP was 124 mmHg. In 7 (14,9%) patients from the group M in T2 on ECG Holter were founded ectopic heart arrhythmias in

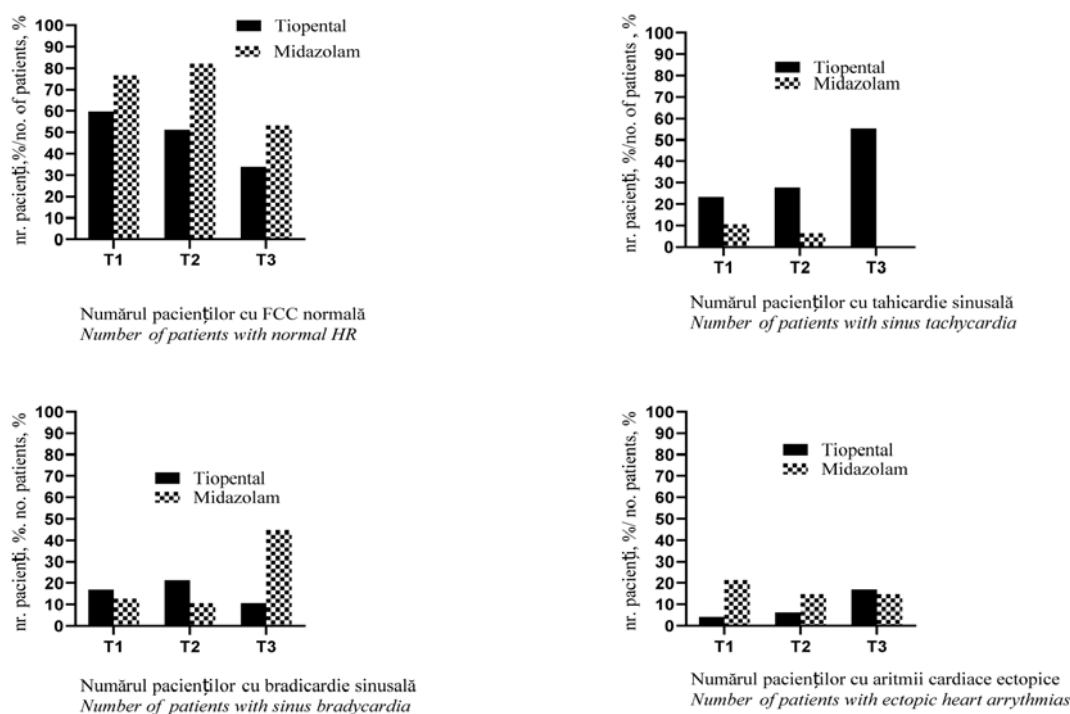


Fig. 2 Structura eşantioanelor studiului după frecvența tahicardiei sinusale, bradicardiei sinusale și a aritmiilor cardiace ectopice.
Fig. 2 Structure of the study groups in function of frequency of sinus tachycardia, sinus bradycardia and ectopic heart arrhythmias.

getativ cardiac simpatic sporit. FCC minimală înregistrată ECG Holter a fost de 53 bpm. La 2 (4,3%) pacienți din eşantionul T s-a depistat la analiza ECG Holter prezența aritmiilor cardiace ectopice (un caz de ESV unică și un caz de EV unică). Ambii pacienți au prezentat tonus cardiac vegetativ parasimpatic în T1. La 18 (38,3%) pacienți s-a înregistrat hipertensiune arterială (Tabelul 3, Figura 1). Din cei 18 pacienți cu hipertensiune arterială în T1, 10 (55,5%) prezentau tonus cardiac vegetativ simpatic crescut. Hipertensiunea sistolică maximală înregistrată în această etapă a fost de 168 mmHg, iar cea diastolică maximală – 104 mmHg. TAM maximală înregistrată a fost 168 mmHg.

După administrarea fentanilului (1,0-1,5 mkg/kg) pentru premedicație nu s-au constatat modificări semnificative ale TAs, TAd, TAM și FCC nici într-un eşantion (Tabelul 4, Figura 1, Figura 2). În lotul M, TAs s-a redus cu 4,6%, TAd s-a redus cu 6,5% iar TAM cu 5,9%, nesemnificativ comparativ cu etapa T1 (Tabelul 4). La 15 (31,9%) pacienți s-a dezvoltat hipertensiune arterială. De remarcat că, 12 (80,0%) dintre ei au prezentat tonus cardiac vegetativ simpatic sporit în T1. TAs maximală înregistrată în T2 a fost de 170 mmHg, TAd maximală – 101 mmHg iar TAM maximală – 124 mmHg. La 7 (14,9%) pacienți din lotul M s-au înregistrat la ECG Holter aritmii cardiace ectopice unice sub formă de ESV sau EV. La 4 dintre aceștia (57,1%) s-a constatat simpaticotonie cardiacă în T1.

În lotul T după administrarea soluției de fentanil cu scop de premedicație TAs s-a redus cu 5,3%, TAd s-a redus cu 5,9% iar TAM s-a redus cu 2,6%, fără modificări statistice semnificative comparativ cu valorile inițiale (Tabelul 4).

form of SVE or VE. In 4 patients from these, there was attested enhanced sympathetic tonus of the heart in T1.

In the group T after administration of fentanyl for premedication SBP has reduced by 5,3%, DBP has reduced by 5,9% and MAP has reduced by 2,6%, insignificantly when comparing with the values from T1 (Table 4).

In T2 in this group in 14 (29,8%) patients was found arterial hypertension (Figure 1). Should be remarked that in 8 patients from these there was found enhanced sympathetic heart tonus in T1. Maximal SBP was 163 mmHg, maximal DBP was – 106 mmHg and maximal MAP was 127 mmHg. In 13 (27,6%) patients from group T in T2 on ECG Holter was found sinus tachycardia and in 10 (21,3%) patients – sinus bradycardia (Figure 2). Maximal HR registered by ECG Holter in this stage was 108 bpm and minimal HR was 52 bpm. Should be mentioned the fact that from 10 patients with sinus bradycardia in T2, in 9 was found enhanced parasympathetic tonus of the heart in T1. In the group T in T2 in 3 (6,4%) patients were attested ectopic heart arrhythmias – all cases were SVE.

In the stage T3 there were attested significant changes of SBP, DBP, MAP and HR in both groups of the study (Table 4).

In the group M, SBP has reduced by 20,6% (129 mmHg (95%CI 124 to 133) vs 102 mmHg (95%CI 98 to 107) ($p=0,001$)), DBP has reduced by 27,8% (78 mmHg (95%CI 74 to 81) vs 56 mmHg (95%CI 53 to 60) ($p<0,001$)) and MAP has reduced by 24,3% (97 mmHg (95%CI 94 to 101) vs 74 mmHg (95%CI 70 to 78) ($p=0,001$)). The same there was attested a drop in HR by 18,0% (74 (95%CI 70 to 77) vs 60 (95%CI 56 to 67) ($p=0,03$)). In the stage T3, structure of the group M changed

Tabelul 4. Modificările TAs, TAd, TAM și FCC în loturi în timpul inducției intravenoase a anesteziei generale.
Table 4. Changes of SBP, DBP, MAP and HR in the study groups during intravenous induction of general anesthesia.

Secvențe și parametri Sequences and parameters	Lotul M / Group M (n = 47)	Lotul T / Group T (n = 47)	t	p	
T1	TAs / SBP (mmHg)	135 (130 – 139)	136 (132 – 139)	0,22	0,82
	Tad / DBP (mmHg)	83 (79 – 87)	82 (78 – 87)	0,16	0,86
	TAM / MAP (mmHg)	103,4 (99 – 107)	100 (94 – 105)	1,02	0,30
	FCC / HR*	75 (72 – 79)	77 (74 – 81)	–	0,55
T2	TAs / SBP (mmHg)	129 (124 – 133)	129 (125 – 132)	0,01	0,98
	TAd / DBP (mmHg)	78 (74 – 81)	77 (75 – 80)	0,36	0,71
	TAM / MAP (mmHg)	97 (94 – 101)	97 (94 – 100)	0,13	0,89
	FCC / HR*	74 (70 – 77)	76 (72 – 79)	–	0,46
T3	TAs / SBP (mmHg)	102 (98 – 107)	103 (99 – 108)	0,29	0,76
	TAd / DBP (mmHg)	56 (53 – 60)	57 (49 – 64)	0,41	0,67
	TAM / MAP (mmHg)	74 (70 – 78)	75 (71 – 79)	0,42	0,67
	FCC / HR	60 (56 – 67)	83 (79 – 84)	–	0,0009

Notă: Teste statistice utilizate: testul t-Student pentru eșantioane neperechi și testul Mann-Whitney. Valorile prezentate sub formă de medie ± 95%CI. * – media obținută la ECG Holter.

Note: Applied statistical tests were unpaired t-Student test and Mann-Whitney test. Values are represented as mean ± 95%CI. * – mean obtained at Holter ECG.

În etapa T2, la 14 (29,8%) pacienți s-a instalat hipertensiune arterială (Figura 1). Merită de remarcat faptul că 8 dintre pacienții care au dezvoltat hipertensiune arterială în T2 aveau tonusul cardiac simpatic crescut în T1. Hipertensiune sistolică maximală înregistrată în T2 a fost de 163 mmHg, iar hipertensiunea diastolică maximală – 106 mmHg. TAM maximală în T2 a fost 127 mmHg. La 13 (27,6%) pacienți din eșantionul T la ECG Holter s-a înregistrat tahicardie sinusală iar la 10 (21,3%) pacienți – bradicardie sinusală (Figura 2). FCC maximală înregistrată ECG Holter a fost de 108 bpm. Merită a fi menționat faptul că din cei 10 pacienți care au dezvoltat bradicardie sinusală în T2, 9 au prezentat parasimpaticotonie cardiacă inițială. FCC minimală înregistrată ECG Holter în etapa T2 în lotul T a fost de 52 bpm. În etapa T2 aritmii cardiace ectopice s-au înregistrat la 3 (6,4%) pacienți din eșantion – în toate cazurile fiind înregistrate la ECG Holter ESV unice.

În etapa T3 au avut loc modificări însemnate a TAs, TAd, TAM și a FCC în ambele loturi (Tabelul 4).

În lotul M, TAs s-a redus cu 20,6% (128,8 mmHg (95%CI 124 – 133) vs 102 mmHg (95%CI 98 – 107) (p=0,001)), TAd s-a redus cu 27,8% (78 mmHg (95%CI 74 – 81) vs 56 mmHg (95%CI 53 – 60) (p<0,001) iar TAM s-a redus cu 24,3% (97mmHg (95%CI 94 – 101) vs 74 mmHg (95%CI 70 – 78) (p=0,001). La fel s-a redus și FCC cu 18,0% (74 (95%CI 70 – 77) vs 60 (95%CI 56 – 67) (p=0,03). În etapa T3 structura lotului M s-a modificat astfel încât cei mai mulți pacienți au prezentat FCC normală (53,2%) și hipotensiune arterială (51,0%) (Figura 1, Figura 2).

Cei mai mulți (51,0%) pacienți din eșantionul M au prezentat hipotensiune sistolică-diastolică sau diastolică în T3 (Figura 1). Cei mai mulți (66,6%) dintre aceștia aveau parasimpaticotonie cardiacă preanestezică. TAs minimală înregistrată a fost de 74 mmHg. Cei mai mulți pacienți prezentau hipotensiune sistolică la 4,1±0,5 minute după administrarea

in manner that most of patients were with normal HR (53,2%) and arterial hypotension (51,0%) (Figure 1, Figure 2).

Most (51,0%) patients from the group M, in T3 presented systolic-dyastolic hypotension or diastolic hypotension (Figure 1). In most (66,6%) of these was found enhanced parasympathetic tonus of the heart in T1. Minimal SBP was 74 mmHg, minimal DBP was 38 mmHg and minimal MAP was 53 mmHg. Most frequently arterial hypotension was registered at 4,1±0,5 minutes after administration of midazolam and fentanyl. In 9 (19,1%) patients from this group in T3 was found arterial hypertension, but there should be mentioned that in 7 patients arterial hypertension was present only the first 1-2 minutes after initiation of induction, and in one patient initial arterial hypertension turned to arterial hypotension at minute 4,0 after administration of midazolam. So there are reasons to consider that only in 2 patients from the group M in T3 was found arterial hypertension (both patients were with enhanced sympathetic tonus of the heart in T1).

In the group M, in 25 patients HR was normal, in other 21 (44,7%) patients ECG Holter registered sinus bradycardia. From these 21 patients with sinus bradycardia, in 15 (71,4%) patients was found enhanced parasympathetic tonus of the heart in T1. So we can make the statement that from 19 patients with heart vagotonia in T1, only in 4 patients was not found sinus bradycardia after administration of midazolam and fentanyl for induction of general anesthesia. Minimal HR registered by ECG Holter in T3 in the group M was 24 bpm, most patients presenting bradycardia at 4,5±0,4 minutes after injection of midazolam. Sinus tachycardia in the group M was found in 5 (10,6%) patients but there should be mentioned that in all patients tachycardia was present only the first 0,5-1,0 min after injection of midazolam, after in all patients on ECG Holter was present normal HR, so sinus tachycardia shouldn't be consider an effect of the drug (was not represent-

midazolamului și fentanilului. TAd minimală înregistrată a fost de 38 mmHg. TAM minimală înregistrată în T3 a fost de 53 mmHg. La 9 (19,1%) pacienți din eșantionul M în etapa T3 s-a înregistrat hipertensiune arterială, dar se v-a menționa faptul că la 7 dintre ei aceasta a fost prezentă dar primele 1-2 minute de la inițierea inducției cu midazolam, iar la un pacient hipertonia arterială inițială a trecut în hipotonie sistolo-diastolică la minutul 4,0 după administrarea soluției de midazolam și fentanil. Astfel se v-a considera că doar la 2 pacienți din eșantion după administrarea midazolamului s-a dezvoltat hipertensiune arterială (ambii prezentând tonus cardiac vegetativ simpatic sporit preanestezic).

FCC normală a fost prezentă la 25 pacienți din eșantion, la alți 21 (44,7%) pacienți dezvoltându-se bradicardie sinusală după administrarea midazolamului și fentanilului. Din cei 21 pacienți care au dezvoltat bradicardie sinusală în T3, la 15 (71,4%) s-a constatat și parasimpaticotonie cardiacă preanestezică. Astfel, putem afirma că din cei 19 pacienți cu parasimpaticotonie cardiacă în T1, numai la 4 pacienți nu s-a dezvoltat bradicardie sinusală după administrarea midazolamului și fentanilului. FCC minimală înregistrată ECG Holter a fost de 24 bpm, cei mai mulți dintre pacienți dezvoltând bradicardie sinusală la minutul $4,5 \pm 0,4$ după administrarea midazolamului. Tahicardia sinusală în lotul M în T3 s-a pus în evidență la 5 (10,6%) pacienți dar, se va remarca faptul că la toți 5 pacienți, tahicardia sinusală a fost prezentă doar primele 0,5-1,0 min după administrarea midazolamului, ulterior înregistrându-se FCC normală, astfel că nu se va considera un efect al hipnoticului (nu s-a reprezentat în grafic). În etapa T3, la 7 (14,9%) pacienți s-a constatat prezența aritmiilor cardiace ectopice. La 5 pacienți au fost prezente aritmii cardiace unice sub formă de ESV sau EV, iar la 2 pacienți s-au dezvoltat aritmii cardiace care au persistat: un caz de EV multiple și un caz de pauză RR cu bradicardie severă (Figura 3). Se v-a remarca faptul că din cei 7 pacienți care au dezvoltat aritmii cardiace în T3, 5 aveau tonusul cardiac simpatic crescut preanestezic. Pacientul care a dezvoltat pauză RR pe ECG Holter avea parasimpaticotonie cardiacă în T1.

În eșantionul T după administrarea soluției de tiopental și fentanil pentru inducția anesteziei generale structura lotului s-a modificat astfel încât cei mai mulți pacienți au prezentat normotensiune (46,8%) și tahicardie sinusală (55,3%) (Figura 1, Figura 2). Astfel, tensiunea arterială sistolică s-a redus cu 19,7% (129 mmHg (95%CI 125 – 132) vs. 103 mmHg (95%CI 99 – 108) ($p < 0,0001$), iar cea diastolică s-a redus cu 26,1% comparativ cu etapa T2 (77 mmHg (95%CI 75 – 80) vs 57 mmHg (95%CI 49 – 63) ($p < 0,0001$). TAM s-a redus cu 23,0% (97 mmHg (95%CI 94 – 100) vs 75 mmHg (95%CI 71 – 79) ($p < 0,0001$) iar FCC a crescut cu 8,0% (76 (95%CI 72 – 79) vs 82 (95%CI 79 – 86) ($p = 0,02$) (Tabelul 4).

Din cei 26 pacienți care au dezvoltat tahicardie sinusală în etapa T3, 22 (86,4%) aveau tonus cardiac vegetativ simpatic crescut preanestezic. FCC maximală înregistrată ECG Holter în acest eșantion a fost de 125 bpm. FCC maximală cel mai frecvent s-a înregistrat la minutul $3,8 \pm 1,1$ după administrarea tiopentalului și fentanilului. Doar la 5 (10,6%) pacienți din

ed in the graph). In T3 in the M group ECG Holter registered ectopic heart arrhythmias in 7 patients (14,9%). In 5 patients were found single SVE and VE and in 2 patients were registered ectopic heart arrhythmias which persisted: in one case was a patient with multiple EV and in another patient ECG Holter registered RR pause with severe bradycardia (Figure 3). Should be remarked that in 5 patients who presented ectopic heart arrhythmias in T3 was found enhanced sympathetic heart tonus in T1. The patient who developed RR pause in T3 was with enhanced parasympathetic heart tonus in T1.

In the group T after administration of thiopental and fentanyl for induction of general anesthesia the structure of the group has changed in a manner that most patients were with normal blood pressure (46,8%) and sinus tachycardia (55,3%) (Figure 1, Figure 2). SBP has reduced by 19,7% (129 mmHg (95%CI 125 to 132) vs. 103 mmHg (95%CI 99 to 108) ($p < 0,0001$), DBP has reduced by 26,1% (77 mmHg (95%CI 75 to 80) vs 57 mmHg (95%CI 49 to 63) ($p < 0,0001$) and MAP has reduced by 23,0% (97 mmHg (95%CI 94 to 100) vs 75 mmHg (95%CI 71 to 79) ($p < 0,0001$), meantime the HR has enhanced by 8,0% (80 (95%CI 72 to 79) vs 82 (95%CI 79 to 86) ($p = 0,02$) (Table 4).

From 26 patients who developed sinus tachycardia in T3, 22 (86,4%) patients were with enhanced sympathetic heart tonus in T1. Maximal HR registered by ECG Holter in T group was 125 bpm. Maximal HR most frequently was registered at $3,8 \pm 1,1$ minute after administration of thiopental. Only in 5 (10,6%) patients from T group ECG Holter registered sinus bradycardia in T3. From these, in 3 patients was found enhanced parasympathetic heart tonus in T1. Minimal HR registered by ECG Holter in T group was 45 bpm, at minute $3,3 \pm 1,6$ after administration of thiopental and fentanyl.

In 17 (36,2%) patients from T group in T3 was found arterial hypotension, and in 8 patients (17,0%) – arterial hypertension (Figure 1). Minimal SBP registered was 79 mmHg, minimal DBP was – 36 mmHg and minimal MAP was 53 mmHg. Most frequently arterial hypotension was registered at $4,3 \pm 0,8$ min after administration of thiopental and fentanyl. In 9 patients who developed arterial hypotension was attested enhanced parasympathetic heart tonus in T1. Maximal registered SBP was 159 mmHg, maximal DBP was 98 mmHg and maximal MAP was – 121 mmHg.

In the group T in 8 (17,0%) patients ECG Holter registered ectopic heart arrhythmias (5 cases of single VE and 3 cases of single SVE). In 5 patients from these was attested enhanced parasympathetic heart tonus in T1 and in 3 – enhanced sympathetic heart tonus in T1.

In the group M there was observed a significant relation between development of sinus bradycardia and arterial hypotension in T3 and and the presence of enhanced parasympathetic heart tonus in T1. Statistical analysis of relation between baseline heart vagotonia and the risk for development of sinus bradycardia after administration of midazolam revealed: RR – 4,5 (95%CI 1,7 to 11,4; $p = 0,0002$) with Se – 0,79 (95%CI 0,54 to 0,94) and Sp – 0,77 (95%CI 0,58 to 0,91). So, enhanced preanesthetic parasympathetic heart tonus repre-



Fig. 3 Imagine ECG Holter Contec TLC 5000 (derivata II).

Pauză RR după administrarea midazolamului și fentanilului la un pacient ASA I, bărbat, 23 ani, BMI 22 kg/m², nefumător. ECG preoperator – ritm sinusal cu FCC – 72/min. Parasimpaticotonie cardiacă preanestezică.

Fig. 3 Image from ECG Holter Contec TLC 5000.

RR pause after administration of midazolam and fentanyl in a patient ASA I, 23 years, BMI-22 kg/m², non-smoker, preoperative ECG – sinus rythm with HR – 72/min. Enhanced baseline parasympathetic heart tonus.

eșantion s-a constatat la ECG Holter bradicardie sinusală după inducție. Dintre acestea, 3 prezentau parasimpaticotonie cardiacă în T1. FCC minimală înregistrată ECG Holter a fost de 45 bpm, la minutul 3,3±1,6 min după administrarea tiopentalului și fentanilului.

La 17 (36,2%) pacienți din eșantion după administrarea tiopentalului și fentanilului s-a constatat hipotensiune arterială iar la 8 (17,0%) pacienți – hipertensiune arterială (Figura 1). Hipotensiunea sistolică minimală înregistrată în acest eșantion a fost de 79 mmHg, iar cea diastolică – 36 mmHg. TAM minimală a fost de 53 mmHg. Cel mai frecvent hipotonia arterială s-a înregistrat la minutul 4,3±0,8 min după administrarea tiopentalului pentru inducția anesteziei generale. La 9 pacienți care au dezvoltat hipotensiune arterială după inducția cu tiopental și fentanil s-a constatat prezența parasimpaticotoniei cardiace preanestezice. TAS maximală înregistrată a fost de 159 mmHg, TAd maximală a fost de 98 mmHg, iar TAM maximală – 121 mmHg.

În eșantionul T la 8 (17,0%) pacienți s-a constatat la ECG Holter prezența aritmiilor cardiace ectopice (5 cazuri de EV și 3 cazuri de ESV unice). La 5 pacienți care au dezvoltat aritmii cardiace ectopice, a fost constatată vagotonia cardiacă în T1, iar la 3 analiza ECG Holter a pus în evidență prezența simpatotoniei cardiace preanestezice.

În eșantionul M s-a observat o relație semnificativă între dezvoltarea bradicardiei sinusale și a hipotensiunii arteriale în etapa T3 și prezența parasimpaticotoniei cardiace inițiale. Astfel, analiza statistică a relației între prezența bradicardiei sinusale după administrarea midazolamului și tonusul vegetativ cardiac parasimpatic crescut preanestezic a evidențiat:

sent a risk factor for development of sinus bradycardia when induction of general anesthesia is performed with midazolam and fentanyl. In the group M from 19 patients with enhanced preanesthetic parasympathetic heart tonus in 15 was found sinus bradycardia on ECG Holter in T3. The same, preanesthetic heart vagotonia enhanced the risk for development of arterial hypotension after administration of midazolam: RR – 4,8 (95%CI 1,6 to 14,5; p=0,0003) with Se – 0,84 (95%CI 0,60 to 0,97) and Sp – 0,70 (95%CI 0,59 to 0,86). In the group M from 19 patient with preanesthetic heart vagotonia, in 16 was attested arterial hypotension after induction of general anesthesia with midazolam.

In the group T was studied the relation between preanesthetic heart vegetative tonus and the risk for development of arterial hypotension and sinus tachycardia after administration of thiopental. From 20 patients with enhanced sympathetic heart tonus in baseline, 11 developed sinus tachycardia after administration of thiopental. Statistical analysis of relation between preanesthetic heart sympathetic tonus and the risk for sinus tachycardia revealed: RR – 0,99 (95%CI 0,58 to 1,66, p=0,1) with Se – 0,42 (95%CI 0,23 to 0,63) and Sp – 0,57 (95%CI 0,34 to 0,78) (p=0,06). So, enhanced preanesthetic sympathetic heart tonus doesn't represent a risk factor for development of sinus tachycardia after induction of general anesthesia with thiopental.

From 21 patients who presented enhanced parasympathetic tonus of the heart in baseline, in 9 patients was attested arterial hypotension after induction of general anesthesia with thiopental. The statistical analysis of the relation between preanesthetic heart vagotonia and development of arterial hypo-

RR – 4,5 (95%CI 1,7 – 11,4; $p=0,0002$) cu Se de 0,79 (95%CI 0,54 – 0,94) și Sp de 0,77 (95%CI 0,58 – 0,91). Astfel, parasimpaticotonia cardiacă inițială crește riscul de dezvoltarea a bradicardiei sinusale în timpul inducției anesteziei generale cu midazolam și fentanil. În eșantionul M din cei 19 pacienți care au prezentat vagotonie cardiacă preanestezică, 15 au dezvoltat bradicardie sinusală în T3.

La fel, tonusul cardiac vegetativ parasimpatic sporit inițial crește riscul de dezvoltare a hipotensiunii arteriale după administrarea soluției de midazolam: RR – 4,8 (95%CI 1,6 – 14,5; $p=0,0003$) cu Se de 0,84 (95%CI 0,60 – 0,97) și Sp de 0,70 (95%CI 0,59 – 0,86). În eșantionul M din cei 19 pacienți care au prezentat tonus cardiac vegetativ parasimpatic crescut în T1, 16 au dezvoltat hipotensiune arterială după administrarea midazolamului pentru inducția anesteziei generale.

În eșantionul T s-a studiat relația dintre tonusul cardiac vegetativ inițial și riscul de dezvoltare a hipotensiunii arteriale și a tahicardiei sinusale după administrarea tiopentalului și fentanilului pentru inducția anesteziei generale. Din cei 20 pacienți care au prezentat tonus vegetativ cardiac simpatic sporit în T1, 11 au dezvoltat tahicardie sinusală după administrarea tiopentalului și fentanilului pentru inducția anesteziei generale. Astfel, analiza statistică a relației între prezența tahicardiei sinusale și tonusul cardiac simpatic crescut inițial a evidențiat: RR – 0,99 (95%CI 0,58 – 1,66, $p=0,1$) cu Se de 0,42 (95%CI 0,23 – 0,63) și Sp de 0,57 (95%CI 0,34 – 0,78) ($p=0,06$). Astfel, tonusul cardiac simpatic sporit inițial nu este un factor de risc pentru dezvoltarea tahicardiei sinusale după administrarea tiopentalului pentru inducția anesteziei generale.

Din cei 21 pacienți care au prezentat parasimpaticotonia cardiacă inițială, la 9 s-a dezvoltat hipotensiune arterială după administrarea tiopentalului și fentanilului pentru inducția anesteziei generale. Analiza relației între tonusul cardiac vegetativ parasimpatic inițial și riscul de dezvoltare a hipotensiunii arteriale a scos în evidență: RR – 1,4 (95%CI 0,65 – 2,97, $p=0,54$) cu Se de 0,53 (95%CI 0,28 – 0,77) și Sp de 0,60 (95%CI 0,40 – 0,77). Astfel, parasimpaticotonia cardiacă inițială nu prezintă un factor de risc pentru dezvoltarea hipotensiunii arteriale după administrarea tiopentalului pentru inducția anesteziei generale.

Discuții

Ritmul cardiac este controlat de către nodul sinusal al cordului și se poate modifica în funcție de necesitățile fiziologice pentru a menține homeostazia hemodinamică. Schimbările ritmului cardiac, cunoscute drept VRC, sunt generate de modificările influențelor simpatică sau parasimpatică asupra nodului sinusal. Analiza VRC furnizează informație despre tonusul cardiac autonom și este utilizat în mai multe domenii clinice. Dispozitivele ECG Holter moderne permit măsurarea VRC [10-13]. Este deja acceptat și a fost demonstrat în multe studii că raportul LFun/HFun reprezintă balanța simpatică-parasimpatică a cordului [12-14].

Nu au fost găsite studii clinice care ar fi apreciat relația dintre tonusul cardiac autonom preanestezic și riscul de dez-

tenționare după administrarea de tiopental a arătat: RR – 1,4 (95%CI 0,65 to 2,97, $p=0,54$) with Se – 0,53 (95%CI 0,28 to 0,77) and Sp – 0,60 (95%CI 0,40 to 0,77). So, enhanced pre-anesthetic parasympathetic heart tonus doesn't represent a risk factor for development of arterial hypotension after induction of general anesthesia with thiopental.

Discussion

Heart rhythm is controlled by sinus node of the heart and can be changed depending on physiological needs for maintaining hemodynamic homeostasis. Changes in heart rhythm, known as HRV are generated by cyclic changes in sympathetic and parasympathetic influences on sinus node. Analysis of HRV gives information about vegetative heart tonus and can be useful in many medical fields. Modern ECG Holter devices permit measurement of HRV [10-13]. There is already accepted and was proved by many studies that the LFun/HFun represents sympathetic parasympathetic balance of the heart [12-14].

There were not found clinical studies which appreciated the relation between preanesthetic vegetative heart tonus and the risk for development of adverse hemodynamic events after induction of general anesthesia with thiopental or midazolam.

Zhang R. *et al.* (2018) and Tsai H. *et al.* (2015) appreciated the hemodynamic changes after administration of midazolam, but in these studies the doses of the drug were for sedation [3, 4]. In two recent studies, Hino H. *et al.* (2019) and Han D. *et al.* (2019) analyzed the effects of midazolam on hemodynamic parameters during induction of general anesthesia, but the used technique was co-induction [7, 20].

In a recent meta-analysis, Zhang R. *et al.* (2018) proved that sedation with midazolam for gastrointestinal endoscopy is safer than sedation with propofol [3]. Tsai H. *et al.* (2015) compared 5 randomized studies carried out between 2003-2012 and described the hemodynamic effects of midazolam administered for endoscopic procedures in patients with hepatic cirrhosis [4]. The incidence of bradycardia in these studies was 2,8% and in 13 patients from 182 there was attested arterial hypotension. In a study by Frolich M. *et al.* (2011) which involved 60 healthy volunteers, ASA I-II, was proved that intravenous administration of 3,0-5,0 mg/kg of midazolam was not associated with marked changes in SBP, DBP, MAP and HR when compared with the same hemodynamic parameters in patients in whom was given propofol or dexmedetomidine [5]. In another clinical study conducted by Uzman S. *et al.*, (2016) was proved that sedation with midazolam 0,05 mg/kg combined with 0,4 mg/kg meperidin is more safe from hemodynamic aspects than sedation with propofol 1,0 mg/kg. In none of patients who received midazolam with meperidine was attested arterial hypotension or sinus bradycardia [18].

Choi Y. *et al.* (2004) in a clinical study analyzed the changes in arterial pressure after administration of midazolam 2,0-4,0 mg for endotracheal intubation in emergency department [19]. The authors described a reduction by 10% in SBP and in 19,5% of patients was attested arterial hypotension. Patients

voltare a evenimentelor hemodinamice adverse după inducția anesteziei generale cu tiopental sau midazolam.

Zhang R. *et al.* (2018) și Tsai H.C. *et al.* (2015) au studiat efectele midazolamului asupra parametrilor hemodinamici, însă în aceste studii midazolamul a fost administrat în doze sedative [3, 4]. În alte două studii recente, Hino H. *et al.* (2019) și Han D. *et al.* (2019) au analizat efectele midazolamului asupra hemodinamicii în timpul inducției anesteziei generale, dar tehnica utilizată a fost co-inducția [7, 20].

Intr-o meta-analiză recentă, Zhang R. *et al.* (2018) a demonstrat că sedarea cu midazolam pentru endoscopia gastro-intestinală este mai sigură din punct de vedere hemodinamic decât sedarea cu propofol [3]. Tsai H. *et al.* (2015) a comparat 5 studii randomizate realizate între anii 2003-2012, care au descris efectele hemodinamice ale midazolamului administrat pentru endoscopie la pacienții cu ciroză hepatică [4]. Incidența bradicardiei a fost de 2,8% iar la 13 din 182 pacienți s-a înregistrat hipotensiune arterială. În studiul realizat de Frolich M. *et al.* (2011) care a inclus 60 de voluntari sănătoși, ASA I-II, a fost demonstrat că administrarea intravenoasă a midazolamului 3,0-5,0 mg/kg nu s-a asociat cu modificări majore ale valorilor TAs, TAd, TAM și FCC, când s-a comparat cu aceleași valori hemodinamice la pacienții la care s-a administrat propofol sau dexmedetomidină [5]. În alt studiu clinic, Uzman S. *et al.*, (2016) a dovedit că sedarea cu midazolam 0,05 mg/kg combinat cu 0,4 mg/kg meperidină este mai sigură din punct de vedere hemodinamic decât sedarea cu 1,0 mg/kg propofol. Nici unul din pacienții care au dezvoltat hipotensiune arterială și bradicardie sinusală nu a fost din grupul la care s-a administrat midazolam cu meperidină [18].

Choi Y. *et al.* (2004) a analizat modificările TA după administrarea midazolamului 2,0-4,0 mg/kg pentru a asigura intubația endotraheală în unitatea de urgențe medicale [19]. Autorii au descris o reducere cu 10% a TAs, iar 19,5% din pacienți au făcut hipotensiune arterială. Pacienții cu vârsta peste 70 ani au fost mai predispuși spre hipotensiune în acest studiu clinic.

În alt studiu clinic recent Han D. *et al.* (2019) a demonstrat că combinația între midazolam (0,2 mg/kg) cu sufentanil (1,0 mkg/kg) este o metodă sigură din punct de vedere hemodinamic pentru inducția anesteziei generale în chirurgia cardiacă pediatrică [20]. Chiar dacă după intubația endotraheală s-a constatat reducerea FCC, această combinație a fost mai favorabilă hemodinamic atunci când s-a comparat cu sevofluranul. În studiul prezent am remarcat o scădere mai marcată a TAd decât a TAs (27,8% vs 20,6%), deși toți pacienții au beneficiat de hidratare preanestezică 10 ml/kg cristaloidi. Bradicardia sinusală s-a dezvoltat la 44,7%, dar cei mai mulți pacienți au prezentat FCC normală (53,2%).

Siamak Y. *et al.* (2015) într-un studiu pilot a comparat efectele hemodinamice ale propofolului cu cele ale tiopentalului pentru sedarea pacienților cu leziuni cerebrale acute care se pregătesc pentru intervenții neurochirurgicale [21]. În acest studiu tiopentalul s-a administrat în doză de 2,0 mg/kg urmat de 2,0 mg/kg/h. Nu s-au găsit diferențe statistice semnificative în ceea ce privește modificările TAs, TAd, TAM și FCC între gru-

older that 70 years were more prone to develop hypotension in this study.

In another recent clinical study, Han D. *et al.* (2019) proved that combination between midazolam (0,2 mg/kg) and sufentanyl (1,0 mkg/kg) is a safe method for induction of general anesthesia in pediatric cardiac surgery [20]. Even if after endotracheal intubation there was attested a reduction in HR, this combination was safer from hemodynamic aspects when compared with sevoflurane. In present study there was attested a more decrease in DBP than SBP (27,8% vs 20,6%), even if all patients benefited of preanesthetic hydration with 10 ml/kg crystalloids. Sinus bradycardia was attested on ECH Holter in 44,7% patients, but most patients were with normal HR (53,2%).

Siamak Y. *et al.* (2015) in a pilot study compared the hemodynamic effects of propofol with that of thiopental for sedation in patients with acute brain injuries who prepare for neurosurgical interventions [21]. In this study thiopental was given in doses of 2,0 mg/kg followed by 2,0 mg/kg/h. there were not found significance differences in term of changes in SBP, DBP, MAP and HR between groups. Yunus O. *et al.* (2017) studied the efficacy and security of sedation with thiopental during magnetic resonance in a pediatric group (age 4,7±3,0 years, ASA I – II) which involved 300 subjects. Thiopental was given in doses of 3,0 mg/kg followed by 1,0 mg/kg for maintaining a Ramsay score = 4. In this study no one adverse hemodynamic event was attested. HR before sedation, 5 and 10 minutes after administration of thiopental didn't change significantly: 101,0±12.5 vs. 100,0±12.4 vs 100,0±12.2 bpm. In another clinical study (2016) were appreciated the hemodynamic effects of thiopental given during electroconvulsive therapy. This clinical research involved 100 patients, with average age 31,3±8,57, which randomly were distributed in the group who were sedated with thiopental 2,0 mg/kg or propofol 1,0-1,5 mg/kg. In the group where sedation was performed with propofol, the values of SBP, DBP, MAP and HR, 3 and 5 minutes after administration of sedative were lower than in the group where sedation was performed with thiopental [23].

Cwanestazia Z. *et al.* (2018) studied the hemodynamic changes after induction of general anesthesia with thiopental or propofol in neurosurgery (the study group involved patients with age 18-65 years, ASA I-II) [24]. In this double-blind randomized study, the dose of thiopental was 4,5 mg/kg. In both groups SBP, DBP, MAP reduced significantly and were lower in patients who received propofol. Regarding changes in HR there were not found significant differences.

In the present study the effects of induction with midazolam or thiopental on SBP, DBP, MAP were the same. Both anesthetic agent reduced values of arterial pressure, and there were not found differences between groups (Table 4). Anyway, frequency of arterial hypotension was higher in the group of patients who received midazolam. The effects of the drugs on HR was different, induction with midazolam was associated with a higher frequency of sinus bradycardia (44%) and induction with thiopental was associated with a high frequency of sinus tachycardia (55,3%). So, even if both agents exert

pe. Yunus O. *et al.* (2017) au studiat eficacitatea și siguranța sedării cu tiopental pentru realizarea rezonanței magnetice la un lot pediatric (vârsta $4,7 \pm 3,0$ ani, ASA I-II) care a inclus 300 subiecți [22]. Tiopentalul a fost administrat în doze de 3,0 mg/kg urmat de 1,0 mg/kg pentru a atinge un scor Ramsay = 4. În acest studiu nu s-a înregistrat nici un fenomen hemodinamic advers, care ar fi impus spitalizarea neprogramată a copiilor. FCC până la sedare, 5 minute și 10 minute după administrarea tiopentalului nu s-a modificat semnificativ: $101,0 \pm 12,5$ vs. $100,0 \pm 12,4$ vs $100,0 \pm 12,2$ bpm. Alt studiu clinic (2016) a evaluat efectele hemodinamice ale tiopentalului administrat pentru terapia electroconvulsivă. Acest studiu clinic a inclus 100 pacienți, cu vârsta medie $31,3 \pm 8,57$, care aleator au fost sedați cu tiopental 2,0 mg/kg sau propofol 1,0-1,5 mg/kg. În lotul care a beneficiat de sedare cu propofol, valorile medii ale TAs, TAd, TAM și FCC la 3 minute și 5 minute după administrare au fost mai joase comparativ cu valorile înregistrate în grupul sedat cu tiopental, iar diferența a fost statistic semnificativă [23].

Cwanestazia Z *et al.* (2018) au studiat efectele hemodinamice ale inducției cu propofol sau tiopental în neurochirurgie (lotul de pacienți cu vârsta 18-65 ani, ASA I-II) [24]. În acest studiu clinic dublu orb randomizat doza de tiopental a fost de 4,5 mg/kg. Valorile TAs, TAd și TAM în cele două loturi au diminuat semnificativ și au fost mai reduse în lotul de pacienți la care pentru inducția anesteziei generale s-a administrat propofol. În ceea ce privește FCC, nu s-au înregistrat diferențe semnificative între loturile de studiu.

În studiul prezent, efectele inducției cu midazolam sau tiopental asupra TAd, TAs, și TAM sunt aceleași. Ambii agenți de inducție reduc valorile tensiunii arteriale, iar între grupuri nu s-a constatat diferență statistic semnificativă (Tabelul 4). Totuși, frecvența hipotensiunii arteriale a fost mai mare în grupul pacienților care au beneficiat de inducția anesteziei generale cu midazolam. Efectele agenților de inducție asupra FCC sunt însă diferite, inducția cu midazolam asociindu-se cu o frecvență sporită a bradicardiei sinusale (44% pacienți) iar inducția cu tiopental s-a asociat cu frecvența sporită a tahicardiei sinusale (55,3% pacienți). Astfel, deși ambii agenți de inducție exercită efectul pe receptorii GABAA, efectele asupra nodului sinusal sunt diferite. La fel, în studiu s-a constatat că vagotonia cardiacă preexistentă este un factor predictiv pentru apariția bradicardiei sinusale și a hipotoniei arteriale după inducția anesteziei generale cu midazolam (risc relativ 4,5 și 4,8 respectiv). Pe de altă parte, tonusul cardiac autonom preanestezic la pacient nu a fost un factor predictiv pentru evenimentele hemodinamice adverse după inducția anesteziei generale cu tiopental.

Un neajuns al acestui studiu a fost faptul că la pacienți nu a fost determinată profunzimea anesteziei.

Concluzii

- 1) Administrarea midazolamului sau tiopentalului pentru inducția anesteziei generale s-a asociat cu scăderea TAs, TAd și TAM, în timp ce efectele agenților de inducție asupra FCC au fost diferite.

their effects on GABAA receptors, the effects on sinus node of the heart is different. The same, this study proved that enhanced preanesthetic parasympathetic heart tonus was a risk factor for development of sinus bradycardia and arterial hypotension after induction of general anesthesia with midazolam (relativ risk 4,5 and 4,8 respectively). On the other hand, preanesthetic vegetativ tonus of the heart didn't represent a predictive factor for hemodynamic events in induction of general anesthesia with thiopental.

One drawback of the study was the fact that in patients the depth of anesthesia wasn't appreciated.

Conclusions

- 1) Administration of midazolam or thiopental for induction of general anesthesia was associated with reduction of SBP, DBP and MAP, meantime the effects on HR were different.
- 2) Thiopental administration was characterized by enhanced frequency of sinus tachycardia and midazolam administration was characterized by enhanced frequency of sinus bradycardia.
- 3) Preanesthetic heart vagotonia was a risk factor for development of sinus bradycardia and arterial hypotension after induction of general anesthesia with midazolam.

Declaration of conflicts of interests

Authors declare lack of any financial or non-financial conflict of interest.

Authors's contribution

IF and SŞ elaborated the hypothesis and design of the study. IF, GF and NC gathered the primary material. IF numerized data and performed statistical analysis.

- 2) Administrarea tiopentalului s-a caracterizat prin frecvența sporită a tahicardiei sinusale iar inducția cu midazolam prin frecvența sporită a bradicardiei sinusale.
- 3) Vagotonia cardiacă preexistentă la pacient a reprezentat un factor de risc pentru dezvoltarea bradicardiei sinusale sau a hipotensiunii arteriale după inducția anesteziei generale cu midazolam.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de natură financiară sau nonfinanciară, în legătură cu cercetarea sau publicația în cauză.

Contribuția autorilor

IF și SȘ au elaborat ipoteza și designul studiului și a realizat analiza statistică a datelor. IF, GF și NC au acumulat materialul primar. IF, GF și NC au numerizat datele, au scris draftul lucrării.

Referințe / references

1. Dumps C, Halbeck E, Bolkenius D. Drugs for intravenous induction of anesthesia: barbiturates. *Anaesthesist*, 2018; 67 (7): 535-552.
2. Maldifassi M., Baur R., Pierce D., Nourmahad A., Stuart A., Sigel E. Novel positive allosteric modulators of GABA-A receptors with anesthetic activity. *Sci Rep*, 2016; 6: 25943.
3. Zhang R, Lu Q, Wu Y. The comparison of midazolam and propofol in gastrointestinal endoscopy: a systematic review and meta-analysis. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2018; 28 (3): 153-158.
4. Tsai H., Lin Y., Ko C., Lou H., Chen T., Tam K., Chen C. Propofol versus midazolam for upper gastrointestinal endoscopy in cirrhotic patients: a metaanalysis of randomized controlled trials. *PLoS One*, 2015; 10 (2): e0117585.
5. Frölich M., Arabshahib A., Katholi C. Prasain J., Barnes S. Hemodynamic characteristics of midazolam, propofol, and dexmedetomidine in healthy volunteers. *J Clin Anesth*, 2011; 23 (3): 218-223.
6. Naseri M., Parham A., Moghimi A. The effect of sodium thiopental as a GABA mimetic drug in neonatal period on expression of GAD65 and GAD67 genes in hippocampus of newborn and adult male rats. *Iran J Basic Med Sci*, 2017; 20: 996-1001.
7. Hino H., Matsuura T., Kihara Y., Tsujikawa S., Mori T., Nishikawa K. Comparison between hemodynamic effects of propofol and thiopental during general anesthesia induction with remifentanyl infusion: a double-blind, age-stratified, randomized study. *J Anesth*, 2019; 33 (4): 509-515.
8. Aslan N., Vural Ç., Yilmaz A., Alanoğlu Z. Propofol versus thiopental for rapid-sequence induction in isolated systolic hypertensive patients: a factorial randomized double-blind clinical trial. *Turk J Anaesthesiol Reanim*, 2018; 46 (5): 367-72.
9. Suzuki J., El-Haddad S. A review: fentanyl and non-pharmaceutical fentanyl. *Drug Alcohol Depend*, 2017; 171: 107-116.
10. Anderson T. Heart rate variability: implications for perioperative anesthesia care. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2017; 30 (6): 691-697.
11. Pichot V., Roche F., Celle S., Barthélémy J.C., Chouchou F. HRV analysis: a free software for analyzing cardiac autonomic activity. *Front Physiol*, 2016; 22 (7): 557.
12. Mazzeo A., La Monaca E., Di Leo R., Vita G., Santamaria L. Heart rate variability: a diagnostic and prognostic tool in anesthesia and intensive care. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2011; 55: 797-811.
13. Padley J., Ben-Menachem E. Low pre-operative heart rate variability and complexity are associated with hypotension after anesthesia induction in major abdominal surgery. *J Clin Monit Comput*, 2018; 32 (2): 245-252.
14. Reimer P., Máca J., Szturz P., Jor O., Kula R., Ševčík P., Burda M., Adamus M.. Role of heart-rate variability in preoperative assessment of physiological reserves in patients undergoing major abdominal surgery. *Ther Clin Risk Manag*, 2017; 13: 1223-1231.
15. Mahajan A, Takamiya T, Benharash P, Zhou W. Effect of thoracic epidural anesthesia on heart rate variability in a porcine model. *Physiol Rep*, 2017; 5 (7): pii: e13116.
16. Toptaş M, Uzman S, İstemiz İ, Uludağ Yanaral T, Akkoç İ, Bican G. A comparison of the effects of hyperbaric and isobaric bupivacaine spinal anesthesia on hemodynamics and heart rate variability. *Turk J Med Sci*, 2014; 44 (2): 224-231.
17. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 1996; 93 (5): 1043-1065.
18. Uzman S., Gurbulak B., Gurbulak E. K., Donmez T., Hut A., Yildirim D. A comparison of propofol and midazolam/mepredine sedation in upper gastrointestinal endoscopy. *Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne*, 2016; 11 (3): 178-185.
19. Choi Y., Wong T., Lau C. Midazolam is more likely to cause hypotension than etomidate in emergency department rapid sequence intubation. *Emerg Med J*, 2004; 21 (6): 700-702.
20. Han D., Liu Y., Pan S. *et al.* Comparison of sufentanil-midazolam and sevoflurane for anesthesia induction in children undergoing cardiac surgery by real-time hemodynamic and cardiac efficiency monitoring: a prospective randomized study. *Heart Surg Forum*, 2019; 22 (1): E038-E044.
21. Siamak Y., Marzieh B. *et al.* A pilot study of cerebral and hemodynamic changes during sedation with low dose of thiopental sodium or propofol in patients with acute brain injury. *J Clin Diagn Res*, 2015; 9 (8): UC05-UC07.
22. Atalay Y., Leman T., Tobias J. Efficacy and safety of intravenous thiopental for sedation during magnetic resonance imaging in pediatric patients: a retrospective analysis. *Saudi J Anaesth*, 2017; 11 (2): 185-189.
23. Jarineshin H., Kashani S., Fekrat F. *et al.* Seizure duration and hemodynamic state during electroconvulsive therapy: sodium thiopental versus propofol. *Glob J Health Sci*, 2016; 8 (2): 126-31.
24. Cwanestasia Z., Achsannuddin H., Akhyar H. Comparison of hemodynamic response between propofol and thiopental as an induction agent in neurosurgery anesthesia at Haji Adam Malik General Hospital Medan, Indonesia. *Bali Med J*, 2018; 7 (3): 717-722.



ARTICOL DE CERCETARE

Aprecierea calității vieții copiilor marcați de migrația parentală de muncă conform chestionarului PedsQL™ 4.0: studiu transversal

Galina Gorbunov^{1*}

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

Data primirii manuscrisului: 16.04.2020
Data acceptării spre publicare: 10.11.2020

Autor corespondent:

Galina Gorbunov, dr. șt. med., conf. univ.
Departamentul de pediatrie
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004
e-mail: galina.gorbunov@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Assessment of the quality of life of children affected by parental labor migration according to the PedsQL™ 4.0 survey: cross-sectional study

Galina Gorbunov^{1*}

¹Department of pediatrics, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 16.04.2020
Accepted for publication on: 10.11.2020

Corresponding author:

Galina Gorbunov, PhD, assoc. prof.
Department of pediatrics
Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: galina.gorbunov@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Impactul migrației de muncă a părinților asupra calității vieții copiilor este unanim recunoscut. Evaluarea calității vieții copiilor marcați de migrația parentală de muncă prin aplicarea chestionarului PedsQL™ Pediatric Quality of Life Inventory Version 4.0 nu a fost, deocamdată, estimat.

Ipoteza de cercetare

Chestionarul PedsQL™ Pediatric Quality of Life Inventory Version 4.0 poate reflecta calitatea vieții, sănătatea fizică și psiho-socială a copiilor marcați de migrația parentală de muncă.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Chestionarul PedsQL™ Pediatric Quality of Life Inventory Version 4.0 s-a dovedit a fi fezabil în cuantificarea calității vieții, sănătății fizice și psiho-sociale a copiilor marcați de migrația parentală de muncă.

What is not known yet, about the topic

The impact of parental labor migration on children's quality of life is unanimously recognized. The assessment of the quality of life of children affected by parental labor migration by the PedsQL™ Pediatric Quality of Life Inventory 4.0 survey has not been estimated yet.

Research hypothesis

The PedsQL™ Pediatric Quality of Life Inventory 4.0 survey can reflect the quality of life, physical and psycho-social health of children affected by parental labor migration.

Article's added novelty on this scientific topic

The PedsQL™ Pediatric Quality of Life Inventory 4.0 survey proved feasible to quantify the quality of life, physical and psycho-social health of children affected by parental labor migration.

Rezumat

Introducere. Conform datelor MSMPS pentru anul 2019, numărul total de copii rămași fără îngrijire părintească în urma migrației a fost 36817. Fenomenul migrației parentale de muncă este actual la nivel global, studiile calității vieții copiilor migraților sunt puține raportate la amploarea feno-

Abstract

Introduction. According to the Ministry of Health, Labor and Social Protection data, in 2019 the total number of children without parental care due to migration amounted to 36817. Globally, the phenomenon of parental labor migration is a common issue. Studies of the quality of life of migrant chil-

menului. În acest context, investigația calității vieții copiilor în dependență de prezența experienței migrației parentale la muncă este utilă și foarte actuală.

Material și metode. Cercetarea a fost condusă în maniera unui studiu de tip transversal realizat pe parcursul anilor 2018-2019. Eșantionul cercetat a reprezentat 280 de persoane. Grupul de respondenți a fost stratificat în 4 loturi: lotul I – 70 de copii marcați de migrația parentală de muncă; lotul II – 70 de părinți / tutori ai copiilor marcați de migrația parentală de muncă; lotul III – 70 de copii fără experiența migrației de muncă a părinților; lotul IV – 70 părinți / tutori ai copiilor fără experiența migrației de muncă ai părinților. Parametrii înregistrați au fost: sănătatea fizică și sănătatea psiho-socială. Parametrul principal de rezultat a fost scorurile obținute la aplicarea chestionarului Pediatric Quality of Life Inventory PedsQL™ 4.0, care a servit ca instrument de cercetare al calității vieții.

Rezultate. În cadrul evaluării *Funcționării Fizice (FF)* a copiilor s-a detectat că, în toate categoriile de vârstă ale copiilor lotului martor valorile scorului calității vieții era statistic semnificativ ($p < 0,0001$) mai mic comparativ cu valorile copiilor lotului control. Calitatea vieții copiilor lotului martor era foarte mică raportată la modulul *Funcționarea Emoțională*, valorile deviau de la $42,0 \pm 25,32$ puncte la copiii cu vârsta 13-18 ani la $43,7 \pm 25,94$ puncte la vârsta 8-12 ani și erau semnificativ diferite de valorile copiilor neafecțați de migrație ($p < 0,0001$). La evaluarea punctajului calității vieții pe modulul *Funcționarea socială (FS)* am evidențiat că, copiii lotului martor prezintă valori destul de mici la toate categoriile de vârstă, de la $51,4 \pm 22,96$ puncte la 13-18 ani la $64,3 \pm 29,60$ puncte la 5-7 ani. Pe modul *Funcționarea școlară (FȘ)*, calitatea vieții copiilor migranților la toate categoriile de vârstă era statistic semnificativ mai joasă ca, cea a copiilor neafecțați de migrația parentală: la 5-7 ani $54,0 \pm 26,29$ puncte versus $83,2 \pm 25,83$ puncte ($p < 0,001$); la 8-12 ani $52,2 \pm 21,66$ puncte versus $81,0 \pm 20,89$ puncte ($p < 0,001$); la 13-18 ani $44,4 \pm 19,28$ puncte versus $78,6 \pm 20,01$ puncte ($p < 0,001$). În lotul martor, o valoare mai scăzută a *sănătății psiho-sociale* au prezentat copiii cu vârsta 13-18 ani ($45,9 \pm 22,95$ puncte), iar o valoare mai mare au avut copiii cu vârsta 5-7 ani ($53,9 \pm 28,95$ puncte).

Concluzii. Studiul realizat a detectat că, migrația parentală de muncă are un impact negativ asupra sănătății copiilor migranților. Rezultatele obținute demonstrează elocvent că, copiii marcați de migrația parentală de muncă prezintă valori foarte mici pe toate modulele și caracteristicile integrale ale calității vieții.

Cuvinte cheie: copiii migranților de muncă, sănătatea fizică, sănătatea psiho-socială, calitatea vieții, chestionarul Pediatric Quality of Life Inventory PedsQL™ 4.0.

dren are few compared to the phenomenon magnitude. In this context, the investigation of children's quality of life related to the presence of parental labor migration experience is useful and relevant.

Material and methods. A cross-sectional study was carried out over the period 2018-2019. The researched sample included 280 people. The group of respondents was stratified into 4 groups: group I – 70 children affected by parental labor migration, group II – 70 parents / legal guardians of children affected by parental labor migration, group III – 70 children without parental labor migration experience, group IV – 70 parents / legal guardians of children without parental labor migration experience. The recorded parameters were as follows: physical health and psycho-social health. The scores obtained by the Pediatric Quality of Life Inventory PedsQL™ 4.0 survey represented the main outcome parameter, which served as a research instrument of quality of life.

Results. During the assessment of *Physical Functioning (PF)* of children, it was detected that in all age categories of the children in the experimental group the values of the quality of life score were true ($p < 0.0001$) and considerably lower compared to the values of the children in the control group. The quality of life related to *Emotional Functioning* of the experimental group children was very low, with values deviating from 42.0 ± 25.32 points in children aged 13-18 years, to 43.7 ± 25.94 points in children aged 8-12 years, being significantly different from the values of children not affected by migration ($p < 0.0001$). The assessment of the quality of life score in terms of *Social Functioning (SF)* revealed that the children in the experimental group had quite low values at all age categories. Lower score values were found in adolescents aged 13-18 years (51.4 ± 22.96 points), higher values being revealed in children aged 5-7 years (64.3 ± 29.60 points). In terms of *School Functioning (SchF)*, the quality of life of children affected by migration, at all age categories, and was significantly and considerably lower than that of children not affected by parental migration. The following value comparisons can be used as an example: at 5-7 years – 54.0 ± 26.29 points compared to 83.2 ± 25.83 points ($p < 0.001$), at 8-12 years – 52.2 ± 21.66 points compared to 81.0 ± 20.89 points ($p < 0.001$), at 13-18 years – 44.4 ± 19.28 points compared to 78.6 ± 20.01 points ($p < 0.001$). In the experimental group, children aged 13-18 years had lower values of *psycho-social health* (45.9 ± 22.95 points), while children aged 5-7 years had higher values (53.9 ± 28.95 points).

Conclusions. The study found that parental labor migration had a negative impact on the health of children temporarily left without parental care. The obtained results demonstrated eloquently that children affected by parental labor migration had very low values at all modules and integral characteristics of quality of life.

Key words: children of migrant workers, physical health, psycho-social health, quality of life, Pediatric Quality of Life Inventory PedsQL™ 4.0 survey.

Introducere

Actualmente, cea mai dificilă problemă socială, politică și economică, cu care se confruntă Republica Moldova, este migrația forței de muncă. Migrația și-a pus amprenta pe toate sferele vieții, a schimbat comportamentul, modul de gândire și viziunile oamenilor. Actualmente Republica Moldova se află în topul țărilor afectate de procesele migraționale. Conform datelor statistice oficiale Republica Moldova are circa 800 mii de migranți de muncă [1].

În Republica Moldova, fenomenul copiilor separați de unul sau ambii părinți plecați la muncă în străinătate a atins unul dintre cele mai înalte niveluri din Europa [2]. Conform datelor MSMPS pentru anul 2017, numărul total de copii rămași fără îngrijire părintească în urma migrației a fost 36114, pentru anul 2018 au fost înregistrați 37866 copii cu părinți migrați la muncă, iar la finele anului 2019 cifra copiilor marcați de migrația parentală de muncă constituia 36817 [3, 4].

Premordial, la copiii rămași temporar fără grija părintească din motivul migrației de muncă a părinților suferă calitatea vieții (CV) [5]. În medicină *calitatea vieții* presupune bunăstarea fizică, psihică și socială, precum și capacitatea pacienților de a-și îndeplini sarcinile obișnuite, în existența lor cotidiană [6]. Studiile consacrate calității vieții sunt actuale, utile pentru practica medicală, în evaluarea efectelor fizice, psihice, sociale ale îmbolnăvirilor și tratamentelor medicale asupra vieții de zi cu zi a oamenilor; în analiza efectelor tratamentelor sau bolii, din punctul de vedere al pacientului, precum și în determinarea necesităților pacientului de suport psihic, fizic și social pe durata îmbolnăvirii.

Studiile medico-sociale devin din ce în ce mai populare în medicina modernă. Majoritatea din ele sunt orientate spre cercetarea calității vieții diferitor loturi de copii (cu vârstă fragedă, preșcolară sau școlară) din diferite țări și evaluării eficienței programelor de supraveghere medicală. Autorii străini relatează necesitatea implementării evaluării calității vieții în instituțiile școlare în calitate de criteriu de sănătate al copiilor.

Calitatea vieții copiilor, în aspect medical, a fost evaluată în cadrul unui număr impunător de studii de cohortă. În ultimii ani, cercetările științifice în domeniu, relatează despre calitatea vieții copiilor ce suferă de artrită juvenilă ideopatică, obezitate, diabet zaharat, patologii oncologice, cronic renale și alergologice [7, 8, 9, 10].

Regretabil, dar, în pofida faptului că fenomenul migrației parentale de muncă este actual la nivel global, studiile calității vieții copiilor migranților sunt puține raportate la amploarea fenomenului [11, 12, 13].

Cu prezentarea sintetică a unor instrumente destinate evaluării calității vieții în practica medicală s-au ocupat numeroși cercetători [14, 15]. Pentru unele grupe speciale de pacienți și unele patologii sau grupe de patologii distincte sunt destinate *instrumentele specifice*. Cele mai utilizate și informative pentru *pacienții pediatrici* sunt: A. PedsQL – *Pediatric Quality of Life*, aplicabil la copii în vârstă de 5-12 ani (prin interviu al medicului sau asistentei) și prin autoadministrare pentru copiii de 13-18 ani și B. KINDL, chestionar pentru evaluarea calității vieții copiilor și adolescenților [16-20].

Introduction

Currently, the Republic of Moldova is facing labor migration, which is the most difficult social, political and economic issue. Migration has impacted all spheres of life, changing people's behavior, thinking and visions. Currently, the Republic of Moldova is at the top of countries affected by migration processes. According to official statistics, the Republic of Moldova has about 800 thousand labor migrants [1].

In the Republic of Moldova, the phenomenon of children separation from one or both parents working abroad has reached one of the highest levels in Europe [2]. According to the Ministry of Health, Labor and Social Protection data, in 2017, the total number of children without parental care as a result of migration accounted for 36114; in 2018, 37866 children with migrant worker parents were recorded. At the end of 2019, the number of children affected by parental labor migration amounted to 36817 [3, 4].

In children temporarily left behind without parental care due to parents' labor migration, the quality of life (QoL) is primarily affected [5]. In medicine, *the quality of life* involves physical, mental and social well-being, as well as the ability of patients to perform their usual tasks in their daily lives [6]. Studies on QoL are relevant, being useful for medical practice, assessing the physical, mental, and social effects of illness, and medical treatments on people's daily lives; analyzing the effects of treatments or disease, from the patient's point of view, and determining the patient's needs for mental, physical and social support over the disease period.

Medical and social studies are becoming increasingly popular in modern medicine. Most of them are aimed at studying the quality of life of different groups of children (infancy, pre-school or school age) in different countries and evaluating the effectiveness of medical surveillance programs. Foreign authors have reported the need to implement the quality of life assessment in educational settings as a criterion for children's health.

The quality of life of children, in terms of health care, was evaluated in an impressive number of cohort studies. In recent years, the scientific research in the field has reported on the quality of life of children suffering from juvenile idiopathic arthritis, obesity, diabetes mellitus, oncological, chronic renal and allergic diseases [7, 8, 9, 10].

Unfortunately, although globally the phenomenon of parental labor migration is relevant, there are few studies of the quality of life of migrant children related to the phenomenon extent [11, 12, 13].

Numerous researchers have studied the synthetic presentation of different instruments for assessing the quality of life in medical practice [14, 15]. *Specific instruments* are intended for special groups of patients and distinct diseases or groups of diseases. In *pediatric patients*, the most used and informative instruments are as follows: PedsQL – *Pediatric Quality of Life*, applicable to children aged 5-12 years (survey carried out by a doctor or nurse) and self-administration by children aged 13-18 years, and B. KINDL questionnaire for assessing the quality of life of children and adolescents [16-20].

Regretabil, dar actualmente, sunt insuficiente studii la nivel național care ar elucida calitatea vieții copiilor marcați de migrația parentală de muncă. Majoritatea studiilor sunt axate pe impactul psihologic al migrației de muncă parentale asupra copiilor; solitare sunt studiile care se axează pe efectele negative asupra sănătății copiilor migranților. Plecând de la faptul ca legislația, prin Convenția ONU privind drepturile copilului, apără interesele copilului, argumentăm necesitatea cercetării situației în care se află acești copii, rămași fără îngrijire părintească, fiind importantă evidențierea necesităților pe care ei le au pentru a crește într-un mediu propice dezvoltării normale și armonioase.

În acest context, a fost efectuată investigarea calității vieții copiilor în dependență de prezența experienței migrației parentale la muncă. Scopul studiului a fost de a determina impactul migrației parentale de muncă asupra calității vieții copiilor.

Material și metode

Cercetarea a fost condusă în maniera unui studiu de tip transversal. Protocolul de cercetare a fost avizat favorabil de Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (procesul verbal nr. 12 din 20.09.2019). Studiul a fost realizat pe parcursul anilor 2018-2019. Colectarea datelor a fost posibilă în baza acordului dat de Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale al Republicii Moldova și Ministerul Educației, Culturii și Cercetării al Republicii Moldova.

Volumul eșantionului reprezentativ în studiul pentru analiza calității vieții copiilor marcați de procesul migrațional, s-a determinat după formula: $n = P \times (1 - P) \times (Z\alpha / d)^2$, unde: d – eroarea admisă ($d = 0,05$); $Z\alpha = 1,96$ pentru 95,0% semnificație a rezultatelor obținute; P – conform datelor *Direcției Politici de protecție a drepturilor copilului și familiilor cu copii* din raionul Orhei, fenomenul „copii rămași temporar fără grija părintească din motivul migrației de muncă a părinților” se întâlnește în localitățile raionului Orhei cu frecvența de 4,3%. Introducând datele în formula cu rata de 10,0% de nonrăspuns, am obținut valoarea de 70 de respondenți. Astfel, atât lotul de cercetare, cât și lotul martor trebuie să includă nu mai puțin de 70 de pacienți.

Participarea în studiu a fost benevolă, în baza acordului informat, prin semnarea formularului de acceptare. Criterii de includere au fost:

- copii marcați de migrația parentală de muncă pe parcursul cel puțin al ultimelor 12 luni;
- vârsta copiilor 5-18 ani;
- acordul părinților / tutelei la studiu.

Criterii de excludere au fost:

- refuz pentru participarea la studiu;
- copii fără experiența migrației părinților la muncă sau cu experiența efectuată la un interval mai mare de 12 luni din momentul debutului studiului;
- lipsa ambilor părinți din motivul migrației combinată cu lipsa persoanei-tutelă asupra copilului.

Eșantionul cercetat a reprezentat 280 de persoane. Grupul de respondenți a fost stratificat în 4 loturi: lotul I – 70 copii marcați de migrația parentală de muncă; lotul II – 70 părinți /

Unfortunately, at present, there are insufficient studies at national level elucidating the quality of life of children affected by parental labor migration. Most studies focus on the psychological impact of parental labor migration on children. There are few studies focusing on the negative effects on migrant children's health. Given the fact that the United Nations Convention on the Rights of the Child protects the interests of the child, the need to investigate the situation of children left without parental care is argued. It is important to highlight the children's needs in order to grow up in an environment conducive to normal and harmonious development.

In this context, the quality of life of children was investigated depending on the presence of parental labor migration experience. The aim of the study was to determine the impact of parental labor migration on children's quality of life.

Material and methods

A cross-sectional study was conducted. The research protocol was approved by the Research Ethics Committee of *Nicolae Testemițanu* SUMPh (minutes no. 12 of 20.09.2019). The study was conducted during 2018-2019. The data was collected based on the agreement between by the Ministry of Health, Labor and Social Protection of the Republic of Moldova and the Ministry of Education, Culture and Research of the Republic of Moldova.

The volume of the representative sample in the study, for the analysis of the quality of life of children affected by the migration process, was determined by the following formula: $n = P \times (1 - P) \times (Z\alpha / d)^2$, where: d – permissible error ($d = 0.05$); $Z\alpha = 1,96$ for 95.0% significance of the obtained results; P – according to the data of the *Department of Policies for the Protection of the rights of the child and families with children* in Orhei district, the frequency of the phenomenon of “children temporarily left behind without parental care due to parental labor migration” in the localities of Orhei district accounts for 4.3%. Data entry into the formula, with a 10.0% rate of non-response, resulted in the obtained value of 70 respondents. Thus, no less than 70 patients had to be included in both the experimental and control group.

Enrollment in the study was voluntary, based on the informed consent and signing the acceptance form. The inclusion criteria were as follows:

- children affected by parental labor migration over at least the last 12 months;
- children aged 5-18 years;
- the agreement of parents / legal guardians to the study;

The exclusion criteria were as follows:

- refusal to participate in the study;
- children without parental labor migration experience or with parental labor migration experience at an interval of more than 12 months from the beginning of the study;
- the lack of both parents due to migration combined with the lack of legal guardians of the child.

The researched sample included 280 people. The group of respondents was stratified into 4 groups: group I – 70 children affected by parental labor migration, group II – 70

tutori ai copiilor marcați de migrația parentală de muncă; lotul III – 70 copii fără experiența migrației de muncă a părinților; lotul IV – 70 părinți / tutori ai copiilor fără experiența migrației de muncă.

Parametrii înregistrați au fost: sănătatea fizică și sănătatea psiho-socială. Parametrul principal de rezultat a fost scorurile obținute la aplicarea chestionarului PedsQL™4.0

Ca instrument de cercetare a servit chestionarul *Pediatric Quality of Life Inventory* PedsQL™4.0. Chestionarul conține 23 itemi, combinate în module: funcționarea fizică (FF) – 8 itemi, funcționarea emoțională (FE) – 5 itemi, funcționarea socială (FS) – 5 itemi, funcționarea școlară (FȘ) – 5 itemi. Punctajul funcționării fizice determină *sănătatea fizică*, iar punctajul total al modulelor FE, FS și FȘ determină *sănătatea psiho-socială*. Chestionarul este divizat în module pe categoriile de vârstă 5-7, 8-12 și 13-18 ani, care au formulare de completare separate pentru copii și părinți. Punctajul total pentru toate modulele a fost calculat după scorul de 100 puncte: cu cât este mai mare punctajul total, cu atât este mai înaltă calitatea vieții copilului. În cadrul cercetărilor s-a considerat calitatea vieții copiilor cu nivel înalt al punctajului de la 100 la 91, moderat – de la 90 la 81, mic – de la 80 la 71, foarte mic – mai puțin de 70 puncte.

Pe durata completării chestionarului, copiii au fost supravegheați de către persoane fără studii medicale, și anume de către pedagogi. Prin această procedură, a fost exclusă influențarea răspunsurilor.

Datele primare au fost numerizate în tabele Excel și analizate statistic cu soft-ul *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versiunea 22. Datele sunt prezentate drept valori absolute și relative sau medie și deviere standard. Normalitatea distribuției datelor a fost testată prin *criteriul Shapiro-Wilk*. Testul statistic aplicat a fost t-Student nepereche bicaudal, iar un $p < 0,05$ a fost considerat drept statistic semnificativ. Comparațiile inter- și intragrupale au fost efectuate folosind analiza nonparametrică multivariabilă ANOVA.

Rezultate

În studiu au fost înrolați 280 de respondenți, dintre ei 140 copii și 140 părinți ai copiilor. Copiii din studiu au fost strati-ficați în 2 loturi a câte 70 persoane: lotul copiilor cu părinți migranți – lot martor și lotul copiilor fără experiența migrației părinților la muncă – lot control. Părinții încadrați în studiu au fost și ei repartizați în 2 loturi: părinții rămași în țară ai copiilor marcați de migrație și părinții copiilor fără experiența migrației de muncă a părinților. Vârsta copiilor incluși în studiu a variat între 5 și 18 ani. Distribuția pe sexe a subiecților a fost reprezentată numeric de 64 fete (45,7%) și 76 (54,3%) băieți. Valorile calității vieții copiilor în dependență de prezența în familie a fenomenului migrației parentale de muncă sunt prezentate în Tabelul 1.

În cadrul evaluării *Funcționării Fizice* (FF) a copiilor s-a detectat că, în toate categoriile de vârstă ale copiilor lotului martor, valorile scorului CV erau statistic semnificativ ($p < 0,0001$) și considerabil mai mic comparativ cu valorile copiilor lotului control. La copiii lotului martor valorile FF prezentau un nivel

parents / legal guardians of children affected by parental labor migration, group III – 70 children without parental labor migration experience, group IV – 70 parents / legal guardians of children without parental labor migration experience.

The following parameters were registered: physical health and psycho-social health. The scores obtained by the PedsQL™ 4.0 survey represented the main outcome parameter.

The Pediatric Quality of Life Inventory PedsQL™ 4.0 survey served as a research instrument. The survey contained 23 items, divided into modules: physical functioning (PF) – 8 items, emotional functioning (EF) – 5 items, social functioning (SF) – 5 items, school functioning (SchF) – 5 items. The score of physical functioning determined the *physical health*, and the total score of EF, SF and SchF determined the *psycho-social health*. The survey was divided into modules, comprising the following age categories: 5-7, 8-12 and 13-18 years. It contained separate completion forms for children and parents. The total score for all modules was calculated according to the score of 100 points: the higher the total score, the higher the quality of life of the child. In the research, the quality of life of children was considered as follows: 100-91 points – high score, 90-81 points – moderate score, 80-71 points – low score, less than 70 points – very low score.

During the survey completion, the children were supervised by people with no medical education, namely, by teachers. This helped prevent the influence of answers.

The primary data were numbered in Excel tables and statistically analyzed with the *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) software, version 22. The data were presented as absolute and relative or mean values and standard deviation. The normality of data distribution was tested by the *Shapiro-Wilk test*. The unpaired bicaudal *t-Student's test* was applied for statistical analysis, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. Inter- and intragroup comparisons were performed using nonparametric multivariate analysis ANOVA.

Results

A group of 280 respondents were enrolled in the study, of which 140 children and their parents ($n=140$). The children in the study were divided into 2 groups of 70 people each: the experimental group – children with parental labor migration experience and the control group-children without parental labor migration experience. The parents enrolled in the study were also divided into 2 groups: parents left in the country of children affected by migration and parents of children without parental labor migration experience.

The age of the children enrolled in the study ranged from 5 to 18 years. The gender distribution of the subjects was numerically represented by 64 girls (45.7%) and 76 (54.3%) boys. The values of children's quality of life depending on the presence in the family of the phenomenon of parental labor migration are presented in Table 1.

During the assessment of *Physical Functioning* (PhF) of the children, it was detected that in all age categories of the children in the experimental group, the QoL score values were true ($p < 0.0001$) and considerably lower compared to the val-

Tabelul 1. Calitatea vieții copiilor în funcție de prezența în familie a fenomenului migrației parentale de muncă.
Table 1. Quality of life of children depending on the presence in families of the phenomenon of parental labor migration.

Modul Module	Grupe de vârstă, ani Age groups, years	Familii cu migranți Families with migrants		Familii fără migranți Families without migrants	
		Copii (n=70) Children (n=70)	Părinți (n=70) Parents (n=70)	Copii (n=70) Children (n=70)	Părinți (n=70) Parents (n=70)
Funcționare fizică (FF) Physical functioning (PF)	5-7	59,7 ± 28,95*	49,8 ± 17,91	86,6 ± 23,61	80,0 ± 17,91**
	8-12	54,6 ± 25,97*	36,8 ± 26,15	83,3 ± 20,30	80,2 ± 20,16**
	13-18	48,4 ± 26,36*	44,1 ± 25,92	82,6 ± 19,21	81,1 ± 22,56**
Funcționare emoțională (FE) Emotional functioning (EF)	5-7	43,5 ± 35,29*	40,3 ± 17,50	89,0 ± 20,82	76,8 ± 17,50**
	8-12	43,7 ± 25,94*	42,5 ± 22,94	85,8 ± 19,30	82,4 ± 21,65**
	13-18	42,0 ± 25,32*	37,7 ± 26,77	85,0 ± 19,83	81,0 ± 20,99**
Funcționare socială (FS) Social functioning (SF)	5-7	64,3 ± 29,60*	53,0 ± 18,77	84,5 ± 24,30	84,8 ± 18,77**
	8-12	53,5 ± 28,57*	46,3 ± 25,06	85,7 ± 19,93	81,2 ± 21,47**
	13-18	51,4 ± 22,96*	52,1 ± 23,85	84,5 ± 19,02	82,6 ± 20,39**
Funcționare școlară (FȘ) School Functioning (SF)	5-7	54,0 ± 26,29*	42,3 ± 23,30	83,2 ± 25,83	75,5 ± 23,30**
	8-12	52,2 ± 21,66*	38,3 ± 20,62	81,0 ± 20,89	75,3 ± 23,33**
	13-18	44,4 ± 19,28*	43,8 ± 20,74	78,6 ± 20,01	71,4 ± 20,50**
Sănătate psiho-socială (SPS) Psychosocial health summary score (PSHSS)	5-7	53,9 ± 28,95*	45,2 ± 22,56	85,6 ± 23,80	79,0 ± 20,36**
	8-12	49,8 ± 25,85*	42,4 ± 23,12	84,2 ± 20,13	79,6 ± 22,32**
	13-18	45,9 ± 22,95*	44,5 ± 24,55	82,7 ± 19,79	78,3 ± 21,16**
Punctaj total (PT) Summary scores (SS)	5-7	55,9 ± 30,85*	46,8 ± 19,53	85,9 ± 23,70	79,3 ± 19,53**
	8-12	51,5 ± 25,98*	40,4 ± 24,34	83,9 ± 20,18	79,8 ± 21,59**
	13-18	46,8 ± 24,19*	44,3 ± 25,02	82,7 ± 19,57	79,2 ± 21,67**

Notă: datele sunt prezentate drept medie și deviere standard.

Note: data are presented as mean and standard deviation.

* - $p < 0,0001$ (seria de date copii cu / fără migrație parentală).

** - $p < 0,0001$ (seria de date părinții copiilor cu / fără migrație parentală).

* - $p < 0,0001$ (data series of children with / without parental migration).

** - $p < 0,0001$ (the significance level of the values in the parents of the children with / without parental migration).

foarte mic al CV și variaua de la $48,4 \pm 26,36$ puncte la copiii cu vârsta 13-18 ani la $59,7 \pm 28,95$ puncte la copiii cu vârsta 5-7 ani. În acelaș timp, copiii lotului control aveau un nivel moderat al CV la compartimentul FF, cea ce este prezentat în Figura 1.

Studiind CV copiilor la compartimentul *Funcționarea Emoțională (FE)* am detectat cele mai mici valori din toate compartimentele studiate la toate categoriile de vârstă ale copiilor lotului martor. Calitatea vieții copiilor acestui lot era foarte mică raportată la modulul FE, valorile deviau de la $42,0 \pm 25,32$ puncte la copiii cu vârsta 13-18 ani la $43,7 \pm 25,94$ puncte la vârsta 8-12 ani și erau semnificativ diferite de valorile copiilor neafecțați de migrație ($p < 0,0001$). Calitatea vieții joasă a adolescenților afectați de migrație poate fi explicată prin următoarele: în adolescență copiii mai dificil suportă lipsa atenției și grijei părintești, aflându-se într-o stare deosebită de stres emoțional. Copiii lotului martor manifestau o calitate a vieții moderată cu valori de la $85,0 \pm 19,83$ puncte la 13-18 ani, la $89,0 \pm 20,82$ puncte la 5-7 ani. Cele mai mici valori ale CV o prezentau copiii migranților $42,0 \pm 25,32$ puncte la vârsta 13-

ues of the children in the control group. The children in the experimental group showed a very low level of QoL in terms of PhF values, ranging from 48.4 ± 26.36 points in children aged 13-18 years, to 59.7 ± 28.95 points in children aged 5-7 years. The children in the control group had a moderate level of QoL in terms of PF (Figure 1).

Assessment of children's QoL in terms of *Emotional Functioning (EF)* detected the lowest values of all the modules studied in all age categories of the children in the experimental group. The QoL of the children in this group was very low related to the EF module, the values ranging from 42.0 ± 25.32 points in children aged 13-18 years, to 43.7 ± 25.94 points at the age of 8-12 years, being significantly different from the values of children not affected by migration ($p < 0.0001$). The low QoL of adolescents affected by migration can be accounted for the fact that adolescents find it more difficult to bear the lack of parental attention and care, thus being subjected to emotional stress. The children in the experimental group had a moderate quality of life with values from 85.0 ± 19.83 points at 13-18

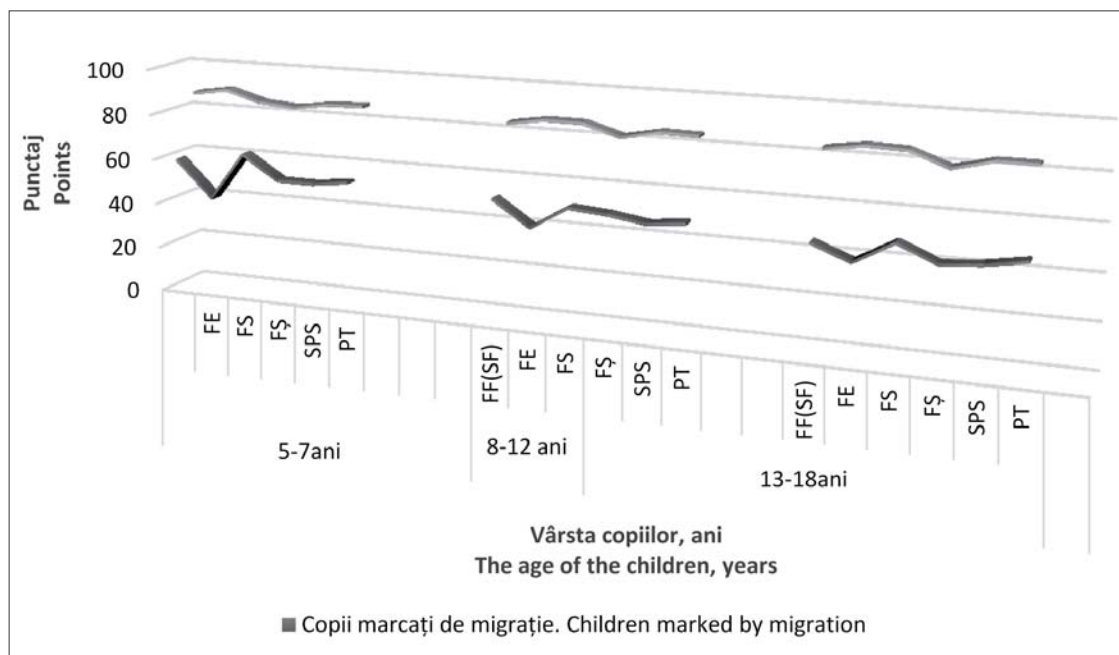


Fig. 1 Calitatea vieții copiilor în dependență de vârstă și prezența experienței migrației parentale.
Fig. 1 Quality of life of children depending on age and presence of parental migration experience.

18 ani, iar cele mai mari valori manifestau copiii neafecțați de migrație la vârstele 5-7 ani ($89,0 \pm 20,82$ puncte), urmate de categoria de vârstă 8-12 ani ($85,8 \pm 19,30$ puncte), cea ce este prezentat în Figura 2.

Este interesant de relatat că, părinții rămași în țară ai copiilor afectați de migrație, la interviu au apreciat CV copiilor cu valori mai mici decât însăși copii. Aceste valori erau foarte mici (de la $37,7 \pm 26,77$ puncte la $42,5 \pm 22,94$ puncte), se încadrau în o calitate a vieții foarte mică la modulul FE și

years, to 89.0 ± 20.82 points at 5-7 years. The lowest QoL values were found in migrants' children, namely, 42.0 ± 25.32 points at the age of 13-18 years, the highest QoL values ing revealed in children not affected by migration at the age of 5-7 years (89.0 ± 20.82 points), followed by the age of 8-12 years (85.8 ± 19.30 points) (Figure 2).

It is noteworthy that, the parents remaining in the country of children affected by migration, in the survey assigned lower values to the QoL of children than the children themself-

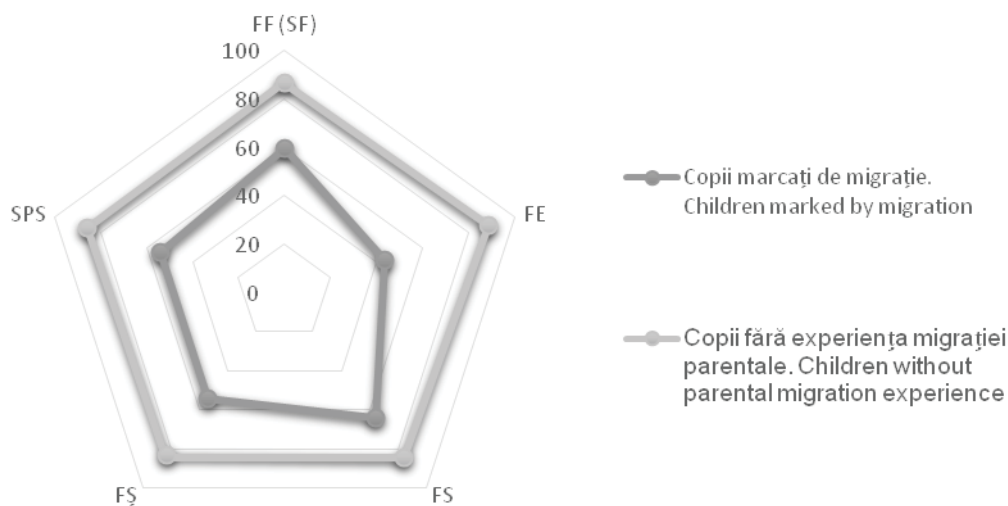


Fig. 2 Calitatea vieții copiilor cu vârsta 5-7 ani, în dependență de prezența / lipsa experienței migrației parentale de muncă (puncte).
Fig. 2 Quality of life of children aged 5-7 years, depending on the presence / lack of parental labor migration experience (points).

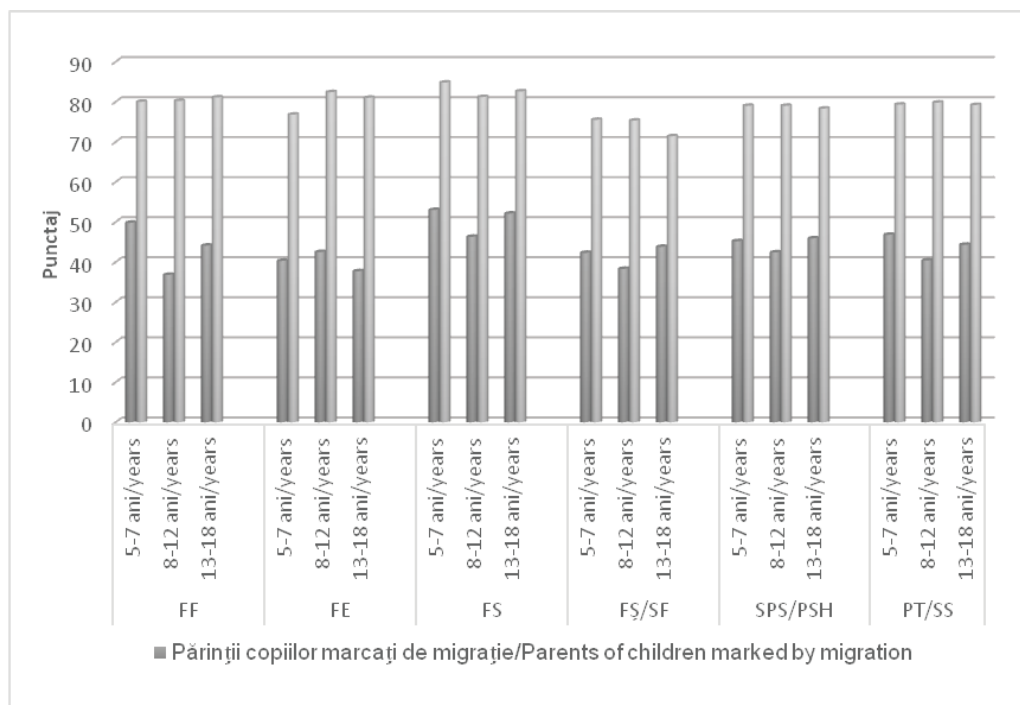


Fig. 3 Calitatea vieții copiilor conform interviuării părinților.
Fig. 3 The quality of children's life according to parents' report.

se deosebeau semnificativ ($p < 0,0001$) de valorile obținute la interviuarea părinților copiilor neafecțați de migrație (de la $76,8 \pm 17,50$ puncte la $82,4 \pm 21,65$ puncte), cea ce este prezentat în Figura 3.

La evaluarea punctajului CV pe modulul *Funcționării sociale* (FS) am evidențiat că, copiii lotului martor prezintă valori destul de mici la toate categoriile de vârstă. Valori ai punctajului mai mici au prezentat copiii adolescenți la vârsta 13-18 ani ($51,4 \pm 22,96$ puncte), iar mai mari copiii cu vârsta 5-7 ani ($64,3 \pm 29,60$ puncte). Datele obținute se deosebeau semnificativ de valorile copiilor lotului control ($84,5 \pm 24,30$ puncte la 5-7 ani și $84,5 \pm 19,02$ puncte la 13-18 ani; $85,7 \pm 19,93$ puncte la vârsta 8-12 ani). La anchetarea părinților copiilor marcați de migrație s-a depistat că și părinții au apreciat calitatea vieții copiilor săi cu punctaj foarte scăzut: $46,3 \pm 25,06$ puncte-părinții copiilor cu vârsta 8-12 ani, $53,0 \pm 18,77$ puncte-părinții copiilor cu vârsta 5-7 ani. Părinții copiilor neafecțați de migrație au marcat valori ai CV pe modulul *Funcționării sociale* superioare părinților lotului martor: $81,2 \pm 21,47$ puncte la 8-12 ani, $84,8 \pm 18,77$ puncte la 5-7 ani. Studiind valorile calității vieții, obținute la interviuarea copiilor neafecțați de migrație și părinților săi deosebiri semnificative nu am atestat.

La evaluarea modulului *Funcționării școlare* am observat deosebiri semnificative între punctajul obținut la interviuarea părinților atât a copiilor lotului martor, cât și a părinților lotului control ($p < 0,001$). Totodată putem relata că, valorile punctajului acestui modul al părinților copiilor atât a lotului martor cât și lotului control au fost mai mici decât valorile punctajului copiilor din loturile respective (Tabelul 1). Pe acest modul calitatea vieții copiilor marcați de migrație la toate categoriile de vârstă era statistic semnificativ și considera-

ves. These values were very low (from 37.7 ± 26.77 points to 42.5 ± 22.94 points), being within a low QoL value in the *EF* module and differed significantly ($p < 0.0001$) from the values obtained after surveying the parents of children not affected by migration (from 76.8 ± 17.50 points to 82.4 ± 21.65 points) (Figure 3).

Assessment of the QoL score at the module *Social Functioning* (SF) revealed that the children in the experimental group had quite low values in all age categories. Lower values of the QoL score were found in adolescents aged 13-18 years (51.4 ± 22.96 points), and in older children aged 5-7 years (64.3 ± 29.60 points). The obtained data differed significantly from the values of the children in the control group (84.5 ± 24.30 points at 5-7 years, 84.5 ± 19.02 points at 13-18 years, 85.7 ± 19.93 points at 8-12 years). The survey of the parents of the children affected by migration found that the parents also assigned a very low score to the quality of life of their children: 46.3 ± 25.06 points in children aged 8-12 years, 53.0 ± 18.77 points in children aged 5-7 years. The parents of the children not affected by migration assigned higher values of QoL in terms of *Social Functioning*, compared to the parents in the experimental group: 81.2 ± 21.47 points at 8-12 years, 84.8 ± 18.77 points at 5-7 years. The assessment of the QoL values obtained after surveying children not affected by migration and their parents did not find any significant differences.

Evaluation of the module *School Functioning* revealed significant differences between the score obtained after surveying the parents of both the children in the experimental group and the parents in the control group ($p < 0,001$). It is worth mentioning that the score at this module of the parents of children in both the experimental and control group were lower than the

bil mai joasă ca, cea a copiilor neafecți de migrația parentală. Ca exemplu, pot servi următoarele rezultate: la 5-7 ani $54,0 \pm 26,29$ puncte comparativ cu $83,2 \pm 25,83$ puncte ($p < 0,001$); la 8-12 ani $52,2 \pm 21,66$ puncte comparativ cu $81,0 \pm 20,89$ puncte ($p < 0,001$); la 13-18 ani $44,4 \pm 19,28$ puncte comparativ cu $78,6 \pm 20,01$ puncte ($p < 0,001$). Adolescenții marcați de migrația parentală, prezintă o calitate a vieții foarte joasă, posibil pe motivul interferenței mai multor factori și anume: a lipsei grijei părintești și particularităților fiziologice de vârstă în adolescență.

Valoarea *Sănătății psiho-sociale* a copiilor a fost obținută la însumarea valorilor la modulele *Funcționarea emoțională*, *Funcționarea socială* și cea *școlară*. Putem relata, că la compararea calității vieții la acest modul, conform datelor anchetării, nu am depistat deosebiri semnificative între valorile copiilor și părinților din ambele loturi. Totodată, au fost semnalate deosebiri considerabile la compararea valorilor copiilor lot martor / lot control și al părinților copiilor marcați de migrație / copiilor fără experiența migrației parentale ($p < 0,0001$).

La copiii lotului martor o valoare mai scăzută a *sănătății psiho-sociale* sa detectat la vârsta 13-18 ani ($45,9 \pm 22,95$ puncte), iar o valoare mai mare la vârsta 5-7 ani ($53,9 \pm 28,95$ puncte). Putem presupune că, odată cu înnaintarea în vârstă copiii migranților simt tot mai mult povara factorilor sociali de existență, cea ce determină diminuarea sănătății psiho-sociale.

Modulul *Punctajul total* ne permite să conturăm tendințele generale în calitatea vieții copiilor, rămași temporar fără grija părintească pe motivul migrației de muncă. Evaluând copiii marcați de migrație pe acest modul am sesizat că, odată cu înnaintarea în vârstă calitatea vieții acestor copii scade de la $55,9 \pm 30,85$ puncte la 5-7 ani, la $46,8 \pm 24,19$ puncte, cifrele fiind semnificativ mai joase comparativ cu cele ale copiilor neafecți de migrație $85,9 \pm 23,70$ puncte la 5-7 ani și $82,7 \pm 19,57$ puncte la 13-18 ani (Figura 4).

Rezultatele obținute ne permit să concluzionăm că, pe mo-

score of the children in the respective groups (Table 1). At this module, the quality of life of children affected by migration at all age groups was significantly and considerably lower than that of children not affected by parental migration. The following results can be used as an example: at 5-7 years – 54.0 ± 26.29 points compared to 83.2 ± 25.83 points ($p < 0.001$), at 8-12 years – 52.2 ± 21.66 points compared to 81.0 ± 20.89 points ($p < 0.001$), at 13-18 years – 44.4 ± 19.28 points compared to 78.6 ± 20.01 points ($p < 0.001$). Adolescents affected by parental migration had a very low quality of life. This was likely due to the interference of several factors, namely, the lack of parental care and physiological features of adolescents.

The value of *Psycho-social health* of children was obtained by summing up the values of *Emotional functioning*, *Social and School functioning*. The comparison of the quality of life at this module, according to the survey data, did not find any significant differences between the values of children and parents in both groups. Considerable differences were reported when comparing the values of the children in the experimental group / control group and of the parents of the children affected by migration / children without parental migration experience ($p < 0.0001$).

Lower values of *psycho-social health* were detected in the experimental group children, at the age of 13-18 years (45.9 ± 22.95 points), and higher values at the age of 5-7 years (53.9 ± 28.95 points). It can be assumed that, with age, the children of migrants feel increasingly the burden of social factors of existence, which determines the decrease of psycho-social health.

The module *Total score* outlined the general trends in the QoL of children left temporarily without parental care due to labor migration. Assessment of the children affected by migration at this module, revealed that, with age, the QoL of these children decreased from 55.9 ± 30.85 points at 5-7 years, to 46.8 ± 24.19 points, the figures being significantly lower compared to those not affected by migration, 85.9 ± 23.70 points at 5-7 years and 82.7 ± 19.57 points at 13-18 years (Figure 4).

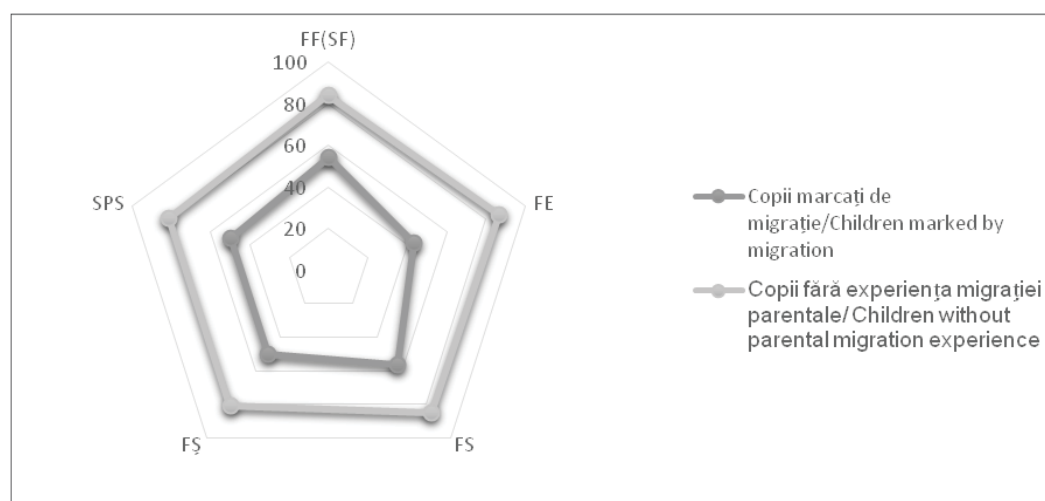


Fig. 4 Calitatea vieții copiilor (punctaj total, integral pe toate vârstele) în dependență de prezența experienței migrației parentale.

Fig. 4 Quality of life of children (total score, integrally for all ages) depending on the presence of parental migration experience.

dul *Punctaj total* calitatea vieții copiilor marcați de migrație, conform interviului atât a copiilor, cât și a părinților lor este la un *nivel foarte mic*, având valori mai mici de 70 puncte. Copiii fără experiența migrației parentale, posedând valori ai CV în limitele 81-90 puncte, au avut un *nivel moderat* al calității vieții, iar părinții acestor copii au apreciat un *nivel mic* al CV copiilor săi.

Discuții

Sunt deosebit de utile pentru practica medicală studiile axate pe evaluarea calității vieții, deverselor efecte fizice, psihice și sociale ale maladiilor și medicațiilor asupra vieții oamenilor; pe analiza efectelor tratamentelor sau maladiilor, din punctul de vedere al pacientului, precum și pe determinarea necesităților pacientului de suport psihic, fizic și social pe durata îmbolnăvirii.

Instrumentele moderne pentru evaluarea calității vieții pacienților beneficiază alegerea de către personalul medical al diferitor metode terapeutice eficiente, informarea pacienților asupra efectelor posibile ale diferitelor proceduri medicale, monitorizarea dinamicii medicației utilizate, permite personalului medical să elaboreze programe eficiente de supraveghere [5].

Evaluarea fenomenului migrației parentale este necesar pentru aprecierea calității vieții copiilor marcați de procesele migraționale. Nu și-a găsit reflectarea cuvenită, deocamdată, în cercetările din Republica Moldova așa aspect important cum ar fi impactul migrației asupra calității vieții copiilor migranților. Cu regret, nu-și regăsește locul în evidențele statisticii naționale categoria copiilor aflați temporar fără grijă pe motivul migrației de muncă a părinților. Datele pot fi colectate din mai multe surse fragmentar. Remarcăm, în statistica oficială, copii implicați în procesele migraționale nu figurează drept indicator aparte. Registrele administrative ale Ministerului Educației Culturii și Cercetării, ale Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale, care ar putea elucida problema în cauză, sunt fragmentare, incomplete, nu asigură compatibilitatea și comparabilitatea datelor.

Sistemul de referire privind copiii în dificultate și copiii părinții cărora au plecat la lucru peste hotare, creat în baza ordinului comun al Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale; Ministerului Educației, Culturii și Cercetării; Ministerului Afacerilor Interne din 12 ianuarie 2012, va avea valoare de instrument doar în cazul când se va efectua actualizarea periodică a datelor [1, 3, 4].

Republica Moldova este la etapa elaborării și perfecțării sistemului de evidențiere și monitorizare a copiilor migranților, pe când în alte țări se elaborează și perfectează diferite instrumente de apreciere a calității vieții copiilor sănătoși, cu diferite patologii sau afectați de diferite procese sociale, ca exemplu: migrația la muncă a părinților sau integrarea socială a copiilor migrați odată cu părinții.

Cercetarea dată este primul studiu efectuat la nivel de țară, axat pe cercetarea calității vieții copiilor Republicii Moldova,

The obtained results allowed us to conclude that, at the module *Total score*, the QoL of children affected by migration, according to the survey of both children and parents, was *very low*, with values below 70 points. Children without parental migration experience, with QoL values of 81-90 points, had a *moderate level* of QoL, but the children's parents reported a low level of QoL of their children.

Discussion

Studies focused on assessing the QoL, various physical, mental and social effects of diseases and medications on people's lives are particularly useful for medical practice. Also, studies of the analysis of the effects of treatments or diseases, from the patient's point of view, as well as studies of the determination of the patient's needs for mental, physical and social support during the disease, are of particular importance.

Modern tools for assessing patients' quality of life benefit the choice of different effective therapeutic methods of the medical staff, informing patients about the possible effects of various medical procedures, monitoring the dynamics of medication used, and allowing the medical staff to develop effective surveillance programs [5].

The evaluation of the phenomenon of parental migration is necessary to assess the QoL of children affected by migration processes. Such an important aspect as the impact of migration on the QoL of migrant children has not been appropriately reflected yet in the researches in the Republic of Moldova. Unfortunately, the category of children temporarily left behind without parental care due to parental labor migration is not found in the records of national statistics. Data can be collected from several fragmentary sources. It is noteworthy that, in the official statistics, children involved in migration processes are not listed as a separate indicator. The administrative registers of the Ministry of Education, Culture and Research, as well as the Ministry of Health, Labor and Social Protection, which could elucidate the discussed issue, are fragmentary and incomplete, and do not ensure data compatibility and comparability. The referral system of children in difficulties and children whose parents are migrant workers, developed by the joint order of the Ministry of Health, Labor and Social Protection; the Ministry of Education, Culture and Research; and the Ministry of Internal Affairs (January 12, 2012), will have the value of an instrument unless periodic data update is performed [1, 3, 4].

The Republic of Moldova is about to elaborate and improve the system for highlighting and monitoring migrant workers' children, while other countries have already elaborated and improved different instruments for assessing the quality of life of healthy children, as well as children with different diseases or affected by different social processes, for example: parental labor migration or social integration of migrant children and parents.

This research is the first study conducted at the country level, focused on studying the quality of life of children in the

marcați de fenomenul migrației de muncă a părinților. Avem ferma convingere că, asemenea studii sunt necesare și foarte utile, deși ne întâlnim actualmente și cu procesul neprevăzut de întoarcere a părinților în țară, motivat de declanșarea pandemiei COVID 19.

Aplicarea în studiul nostru ca instrument specific de cercetare a chestionarului *Pediatric Quality of Life Inventory* (PedsQL™4.0) a facilitat aprecierea și măsurarea sănătății copiilor marcați de migrația de muncă a părinților. Fezabilitate, fiabilitate și validitate acestui instrument a fost demonstrată de Varni J. *et al.* (2003, 2005, 2007) prin anchetarea efectuată pe 20031 familii cu copii din California, SUA [15, 17, 18]. Desai A. *et al.* (2014) a relatat despre utilitatea instrumentului *Pediatric Quality of Life Inventory* (PedsQL™4.0) în evaluarea CV copiilor cu diferite patologii cronice: ARJ, lupus pediatric, diabet zaharat, malformații congenitale [19].

Implementarea instrumentului *Pediatric Quality of Life Inventory* (PedsQL™4.0) pentru măsurarea sănătății comportamentului pediatric a fost studiată de Butz C. *et al.* (2017) în cercetarea efectuată timp de 16 luni pe un lot de 800 copii, consultați în clinica de psihologie pediatrică din Spitalul național pentru copii, Columbus, Ohio. Autorii relatează despre administrarea cu succes al chestionarului *Pediatric Quality of Life Inventory* (PedsQL™4.0) în timpul îngrijirii copiilor și adolescenților într-o clinică mare de psihologie pentru evaluarea cantitativă a progresului tratamentului și identificarea căilor de administrare ale măsurilor suplimentare [20].

Castaneda H. *et al.* (2015) a relatat despre concordanța între procesele migraționale și sănătatea publică. Autorii propun înțelegerea efectelor procesului migrațional ca determinante sociale ale sănătății, ce dețin potențialul de a poziționa sănătatea publică ca un actor-cheie în dezvoltarea unei societăți globale cu adevărat sănătoase, inclusiv a persoanelor obligate să traverseze frontierele internaționale [12].

Concluziile noastre, referitoare necesității studiilor cu referință la CV copiilor, sunt în concordanță cu rezultatele cercetărilor efectuate de Clarke S. *et al.* (2004), care a evaluat 18 studii pediatrice derulate în perioada anilor 1999-2004 pentru aprecierea CV copiilor. Aceste cercetări au evidențiat necesitatea studierii CV copiilor prin aplicarea și dezvoltarea noilor instrumente, metode de apreciere a calității vieții [6].

Afirmația noastră despre faptul că, părinții copiilor studiați frecvent apreciază calitatea vieții copiilor săi mai jos comparativ cu însuși copiii, sunt concordate cu rezultatele obținute de Hall C. *et al.* (2019), care s-a preocupat de identificarea problemelor legate de calitatea vieții copiilor cu boli cronice. Dovezile acumulate indică că părinții copiilor cu boli cronice își percep copiii ca având o calitate a vieții mai slabă decât raportează copiii pentru ei înșiși [7]. La concluzii asemănătoare au ajuns și savanții chinezi Ma J. *et al.* (2018) care au studiat calitatea vieții a 332 de copii cu boli cronice, internați în 2 clinici pediatrice din orașul Shanghai, China. Autorii au concluzionat că CV copiilor cu boli cronice este semnificativ mai joasă comparativ cu cea a copiilor sănătoși și este în dependență directă de abilitățile de comunicare ale familiilor cu copii cronici

Republic of Moldova, affected by the phenomenon of parental labor migration. We strongly believe that such studies are necessary and useful, although we are currently facing the unforeseen process of migrant workers returning to the country, caused by the outbreak of the COVID19 pandemic.

The application in our study of the Pediatric Quality of Life Inventory survey (PedsQL™ 4.0) as a specific research instrument facilitated the assessment and measurement of the health of children affected by parental labor migration. The feasibility, reliability and validity of this instrument was demonstrated by Varni J. *et al.* (2003, 2005, 2007) in the survey of 20031 families with children in California, USA [15, 17, 18]. Desai A. *et al.* (2014) reported on the usefulness of the Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL™ 4.0) in evaluating the quality of life of children with various chronic health conditions – JRA, pediatric systemic lupus erythematosus, diabetes mellitus, congenital malformations [19].

The implementation of the Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL™ 4.0) to measure the pediatric behavioral health was studied by Butz C. *et al.* (2017) in the research conducted for 16 months on a group of 800 children, consulted in the Pediatric Psychology Clinic of the National Children's Hospital, Columbus, Ohio. The authors reported on the successful administration of the Pediatric Quality of Life Inventory survey (PedsQL™ 4.0) during the care of children and adolescents in a large psychology clinic to quantitatively assess the treatment progress and to identify the ways to administer additional measures [20].

Castaneda H. *et al.* (2015) reported on the consistency between migration processes and public health. The authors highlighted the importance of understanding the effects of migration as social determinants of health, having the potential to position public health as a key player in the development of a truly healthy global society, including people compelled to cross international borders [12].

Our conclusions, regarding the need for studies of children's quality of life, are consistent with the results of the researches conducted by Clarke S. *et al.* (2004) that evaluated 18 pediatric studies conducted over the period 1999-2004, assessing children's quality of life. These researches highlighted the need to study children's quality of life by applying and developing new tools and methods of the quality of life assessment [6].

Our assertion, that the parents of studied children frequently assessed their children's quality of life lower compared to the children themselves, is consistent with the results obtained by Hall C. *et al.* (2019), who was concerned with identifying the quality of life issues of children with chronic diseases. The cumulative evidence indicated that parents of children with chronic diseases reported a lower quality of life of their children than children self-reported [7]. Similar conclusions were drawn by the Chinese scientists Ma J. *et al.* (2018), who studied the QoL of 332 children with chronic diseases, hospitalized in two pediatric clinics in Shanghai, China. The authors concluded that the QoL of children with chronic

raportate la instituțiile prestatoare de asistență medicală [9].

Savantul olandez Bai G. *et al.* (2018) a studiat impactul patologiei cronice asupra CV unui lot de 5301 copii din Olanda cu vârsta 4-11 ani. Au fost detectate diferențe semnificative între CV copiilor sănătoși și cei bolnavi cu 1 sau mai multe patologii cronice, cea ce a permis concluzionarea că copiii cu 1 și mai multe patologii cronice demonstrează un nivel mai scăzut al CV comparativ cu copiii sănătoși [13].

În cadrul cercetării noastre am evidențiat că, adolescenții marcați de migrație manifestă o CV mai scăzută comparativ cu alte categorii de vârstă, cea ce concordează cu rezultatele obținute de Petersen K. *et al.* (2018) care a folosit instrumentul pediatric (PedsQL) pentru evaluarea CV a 775 de adolescenți din comunitatea australiană cu vârsta între 15-17 ani și a ajuns la concluzia că, scorurile calității vieții legate de sănătate la adolescenți se deosebesc în funcție de starea de sănătate auto-raportată și de statutul socio-economic [10].

Cercetătorii chinezi Xu F. *et al.* (2017) au evaluat impactul migrației parentale de muncă asupra CV legate de sănătate a 824 copii din China. Rezultatele obținute au constatat că, copiii migranților au obținut un nivel mai scăzut în ceea ce privește calitatea vieții legate de sănătate, ceea ce a fost asociat cu neglijarea părinților, supraprotejarea mamei, relațiile tensionate cu colegii de școală, insuficiența asistenței sociale și sprijinului din partea comunității [11]. Aceleași tendințe au fost elucidate și în cercetarea proprie.

Aprecierea calității vieții pacienților va contribui la ameliorarea calității serviciilor medicale, va permite obiectivizarea aprecierii asistenței medicale din perspectiva pacienților și evaluarea atitudinii față de aspectele financiare de îngrijire pentru sănătate.

Concluzii

Aplicarea instrumentului specific de cercetare *Pediatric Quality of Life Inventory* (PedsQL™4.0) permite obiectivizarea aprecierii și măsurării sănătății copiilor marcați de migrația de muncă a părinților. Studiul realizat a detectat că migrația parentală de muncă are un impact negativ asupra sănătății copiilor rămași temporar fără grija părintească. Rezultatele obținute demonstrează elocvent că, copiii marcați de migrația parentală de muncă prezintă valori foarte mici pe toate modulele și caracteristicile integrale ale calității vieții. Toți copiii marcați de migrația părinților la muncă prezintă un nivel foarte mic al calității vieții. Calitatea vieții în aspectele *sănătatea fizică și psiho-socială* a copiilor cu părinți migranți are valori semnificativ mai mici, comparativ cu cele ale copiilor fără experiența migrației parentale de muncă.

Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

diseases was significantly lower than the QoL of healthy children, being directly dependent on the communication skills of families with children with chronic health conditions related to health care settings [9].

The Dutch scientist Bai G. *et al.* (2018) studied the impact of chronic disease on the QoL of 5301 children, aged 4-11 years, in the Netherlands. Significant differences were detected between the QoL of healthy children and children with one or more chronic diseases, which led to the conclusion that children with one and more chronic diseases had a lower level of QoL compared to healthy children [13].

Our research found that adolescents affected by migration had a lower QoL compared to other age groups. This finding is consistent with the results obtained by Petersen K. *et al.* (2018), who used the pediatric instrument (PedsQL) to assess the QoL of 775 adolescents, aged 15-17 years, in the Australian community and concluded that adolescent health-related QoL scores differed according to self-reported health and socio-economic status [10].

The Chinese researchers Xu F. *et al.* (2017) assessed the impact of parental labor migration on the health-related QoL of 824 children in China. The results found that the children of migrants achieved a lower level of health-related QoL, which was associated with parental neglect, overprotective parents, strained relationships with schoolmates, lack of social assistance and community support [11]. The same trends were elucidated in our research.

The assessment of patients' quality of life will contribute to improving the quality of health care services, performing an objective assessment of health care from patients' perspective and evaluating the attitude towards the financial aspects of health care.

Conclusions

The application of the specific research instrument *Pediatric Quality of Life Inventory* (PedsQL™ 4.0) contributes to an objective assessment and measurement of children's health affected by parental labor migration. The study found that parental labor migration had a negative impact on the health of children temporarily left behind without parental care. The obtained results demonstrated clearly that children affected by parental labor migration had very low values at all modules and integral characteristics of the quality of life. All children affected by parental labor migration had a very low level of the quality of life. The quality of life in terms of *physical and psycho-social health* of children with migrant parents had significantly lower values, compared to those of children without parental migration experience.

Declaration of conflict of interests

Nothing to declare.

Referințe / references

1. Biroul Național de Statistică. Forța de muncă în Republica Moldova: ocuparea și șomajul în trimestrul III 2019. Disponibil la adresa: [https://statistica.gov.md/newsview.php?l=ro&idc=168&id=6521]. Accesat pe 12.03.2020.
2. *International Migration Outlook 2019*. OECD Publishing. Disponibil la adresa: [https://read.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/international-migration-outlook-2019_c3e35eec-en].doi:https://doi.org/10.1787/c3e35eec-en. Accesat pe 14.03.2020.
3. Raport de evaluare ex-post de impact al legii nr. 140 cu privire la protecția specială a copiilor aflați în situație de risc și a copiilor separați de părinți. Parlamentul Republicii Moldova, 2018. Disponibil la adresa: [http://www.parliament.md/Controlparlamentar/Audieri%20aencomisie/tabid/263/ContentId/5033/Page/0/language/en-US/Default.aspx]. Accesat pe 18.04.2019.
4. Raport de evaluare al copiilor în situații de risc. Formular statistic N103. Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale al Republicii Moldova, 2018. Disponibil la: [https://msmps.gov.md/sites/default/files/raport_cer_103_pentru_anul_2018.pdf]. Accesat pe 02.09.2019.
5. Mărginean I. Modelul social românesc din perspectiva calității vieții populației. *Revista Calitatea Vieții*, 2004; 15 (3-4): 215-216.
6. Clarke S., Eiser C. The measurement of health-related quality of life (QOL) in paediatric clinical trials: a systematic review. *Health Qual Life Outcomes*, 2004; 2: 66. doi:10.1186/1477-7525-2-66.
7. Hall C., Donza C., McGinn S., Rimmer A. Health-Related Quality of Life in children with chronic illness compared to parents: a systematic review. *Pediatric Physical Therapy*, 2019; 31 (4): 315-322. doi: 10.1097/PEP.0000000000000638.
8. Newham J., Forman J., Heys M., Cousens S., Lemer C. Children and Young People's Health Partnership (CYPHP) Evelina London model of care: protocol for an opportunistic cluster randomised controlled trial (cRCT) to assess child health outcomes, health-care quality and health service use. *BMJ Open*, 2019; 9 (8): 27301. doi: 10.1136/bmjopen-2018-027301.
9. Ma J., Sheng N., Ding W., Zhang Y. Impact of transition readiness on quality of life in children with chronic diseases. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2018; 20 (1): 60-66 [article in Chinese].
10. Petersen K., Chen G., Mpundu-Kaambwa C., Stevens K. Measuring Health-Related Quality of Life in adolescent populations: an empirical comparison of the CHU9D and the PedsQL TM 4.0 Short Form 15. *Patient*, 2018; 11 (1): 29-37. doi: 10.1007/s40271-017-0265-5.
11. Xu F, Xing H, Yu W, Chen S, Li H. Health-related quality of life and influencing factors among migrant children in Shaoxing, China. *Health Qual Life Outcomes*, 2017; 30; 15 (1): 100. doi: 10.1186/s12955-017-0679-8.
12. Castaneda H., Holmes S., Madrigal D, Young M-ED. Immigration as a social determinant of health. *Annu Rev Public Health*, 2015; 36: 375-392. Disponibil la: [https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurevpublhealth-032013-182419]. Accesat 24.04.2018.
13. Bai G., Herten M., Landgraf G., Korfage I., Raat H. Childhood chronic conditions and health-related quality of life: Findings from a large population-based study. *PLOS ONE*, 2017; 12 (6): e0178539. doi: 10.1371/journal.pone.0178539.
14. Stevanovic D., Atilola O., Vostanis P., Balhara Y. Cross-cultural measurement invariance of adolescent self-report on the Pediatric Quality of Life Inventory™ 4.0. *J Res Adolesc.*, 2016; 26 (4): 687-695. doi: 10.1111/jora.12218.
15. Varni J., Burwinkle T., Seid M., Skarr D. The PedsQL 4.0 as a pediatric population health measure: feasibility, reliability, and validity. *Ambulatory Pediatrics*, 2003; 3 (6): 329-41. doi: 10.1367/1539-4409(2003)003<0329:tpaapp>2.0.co;2.
16. Hullmann S., Ryan J., Ramsey R., Chaney J., Mullins L. Measures of General Pediatric Quality of Life Child Health Questionnaire (CHQ), DISABKIDS Chronic Generic Measure (DCGM), KINDL-R, Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL) 4.0 Generic Core Scales, and Quality of My Life Questionnaire (QoML). *Arthritis Care & Research*, 2011; 63 (S11): 420-430. doi: 10.1002/acr.20637.
17. Varni J., Burwinkle T., Lane M. Health-related quality of life measurement in pediatric clinical practice: an appraisal and precept for future research and application. *Health Qual Life Outcomes*, 2005; 334: 1-9. doi: 10.1186/1477-7525-3-34.
18. Varni J., Limbers C., Burwinkle T. Parent proxy-report of their children's health-related quality of life: an analysis of 13,878 parents' reliability and validity across age subgroups using the PedsQL 4.0 Generic Core Scales. *Health Qual Life Outcomes*, 2007; 5: 2. doi: 10.1186/1477-7525-5-2.
19. Desai A., Zhou C., Stanford S. Validity and Responsiveness of the Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL) 4.0 Generic Core Scales in the Pediatric Inpatient Setting. *JAMA Pediatr.*, 2014; 168 (12): 1114-1121. doi: 10.1001/jamapediatrics.2014.1600.
20. Butz C., Valleru J., Castillo A., Butter E. Implementation of an outcome measure in pediatric behavioral health: a process improvement initiative. *Pediatr Qual Saf*, 2017; 2 (6): e043. doi: 10.1097/pq9.0000000000000043.

ARTICOL DE CERCETARE

Tratamentul cu sulodexide al retinopatiei diabetice: studiu prospectiv, randomizat

Veronica Chișca^{1,4†*}, Angela Corduneanu^{1,4†},
Natalia Ciobanu^{2,3†}, Stanislav Groppa^{2,3†}

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

²Catedra de neurologie nr. 2, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chisinau, Republica Moldova;

³Departamentul de neurologie, epileptologie și boli interne, Institutul de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova;

⁴Secția de oftalmologie, Institutul de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 01.10.2020

Data acceptării spre publicare: 05.12.2020

Autor corespondent

Veronica Chișca, student doctorand

Catedra de oftalmologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: chisca_veronica@mail.ru

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Există puține studii care să releve acțiunea sulodexidei în retinopatia diabetică în ceea ce privește îmbunătățirea acuității vizuale în apropiere și la distanță, sensibilității la contrast, deasemenea studierea parametrilor OCT (tomografia în coerența optică), grosimea maculară și PEV (potențialului evocat vizual).

Ipoteza de cercetare

Administrarea sulodexidei în tratamentul retinopatiei diabetice ar putea ameliora funcțiile vizuale.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Administarea tratamentului cu sulodexide la pacienții cu retinopatie diabetică a condus la îmbunătățirea acuității vizuale, s-au îmbunătățit semnificativ comparând vizita 1 și 3 la lotul Angioflux [+] funcțiile vizuale (pentru AV pentru apropiere $p=0,04$, sensibilitatea la contrast $p=0,38$). Examenul electrofiziologic a demonstrat o dinamică pozitivă a perioadei de latență și a amplitudei undei P100 ($p=0,0047$ și, respectiv, $p=0,018$) în grupul de bază până și după 60 zile de tratament.

Rezumat

Introducere. Diabetul zaharat (DZ) are efecte importante asupra vaselor sanguine, iar complicațiile majore, responsabile de creșterea morbidității și a mortalității, sunt în princi-

RESEARCH ARTICLE

Sulodexide treatment of diabetic retinopathy: a prospective, randomized study

Veronica Chisca^{1,4†*}, Angela Corduneanu^{1,4†},
Natalia Ciobanu^{2,3†}, Stanislav Groppa^{2,3†}

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

²Chair of neurology no. 2, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Department of neurology, epileptology and internal diseases, Institute of Emergency Medicine, Chisinau, Republic of Moldova;

⁴Department of ophthalmology, Institute of Emergency Medicine, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 01.10.2020

Accepted for publication on: 05.12.2020

Corresponding author:

Veronica Chisca, PhD student

Chair of ophthalmology

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

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

e-mail: chisca_veronica@mail.ru

What is not known yet, about the topic

There are few studies to reveal the action of sulodexide in diabetic retinopathy in terms of near and far vision and contrast sensitivity improvement, as well as the study of optical coherence tomography parameters, macular thickness and visual evoked potential.

Research hypothesis

Sulodexide in the treatment of diabetic retinopathy may improve visual function.

Article's added novelty on this scientific topic

The administration of sulodexide to patients with diabetic retinopathy led to improved visual acuity, during the 3rd visit, visual functions in Angioflux [+] group patients significantly improved as compared to the 1st visit (for near visual acuity $p=0.04$, for contrast sensitivity $p=0.38$). The electrophysiological examination showed a positive dynamics of the period of latency and P100 wave amplitude ($p=0.0047$, and $p=0.018$, respectively) in the angioflux group after 60 days of treatment.

Abstract

Introduction. Diabetes mellitus (DM) has an important impact on blood vessels, while its major complications, responsible for increased morbidity and mortality, are mainly

pal, consecința afectării vasculare. Retinopatia diabetică este o complicație cu impact fatal previzibil. Unele preparate cu acțiune dezagregantă, ar putea influența evoluția și progresarea retinopatiei diabetice, dar există puține studii în această direcție.

Material și metode. A fost efectuat un studiu clinic randomizat. În studiu au fost incluși 48 pacienți (96 de ochi) cu retinopatie diabetică de divers grad, pacienții au fost separați în 2 loturi (Lotul experimental – Angioflux [+] și Lotul de referință – Angioflux [-]). Pacienților din lotul experimental li s-a administrat tratament cu preparatul sulodexid. Pacienții incluși în studiu au fost examinați oftalmologic și electrofiziologic prin potențiale evocate vizuale (PEV). Testul statistic aplicat a fost t-student, iar un $p < 0,05$ a fost considerat statistic semnificativ. Protocolul de cercetare a fost aprobat de Comisia de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” nr. 7 din 08.02.2016. Pacienții au semnat consimțământul informat.

Rezultate. Vârsta medie a pacienților din lotul Angioflux [+] este de $61,8 \pm 5,8$ ani, în lotul Angioflux [-] vârsta medie este de $60,2 \pm 11,0$ ani. Durata medie a diabetului zaharat în grupul experimental este de $13,2 \pm 7,0$ ani, iar în grupul de referință: $10,2 \pm 5,7$ ani. S-au îmbunătățit semnificativ comparând vizita 1 și 3 la lotul Angioflux [+] funcțiile vizuale (pentru AV pentru apropiere $p=0,04$, sensibilitatea la contrast $p=0,38$). La examenul OCT al retinei s-au înregistrat valori semnificativ statistice, prin micșorarea edemului macular la lotul ce a primit tratament cu sulodexid comparativ cu grupul de pacienți ce nu a administrat acest tratament ($p=0,02$). Deasemenea, în grupul Angioflux [+] până și după 60 zile de tratament, pentru perioada de latență și amplituda undei P100, s-a constatat o dinamică pozitivă ($p=0,0047$, și respectiv $p=0,018$).

Concluzii. Utilizarea preparatului sulodexid la pacienții cu retinopatie diabetică s-a soldat cu îmbunătățirea funcțiilor vizuale și creșterea transmiterii impulsurilor neuronale de-a lungul căilor vizuale.

Cuvinte cheie: retinopatie, diabet zaharat, potențiale evocate vizuale, sulodexid (angioflux).

Introducere

Diabetul zaharat (DZ) se caracterizează prin modificări specifice la nivel de microvase, provocând astfel microangiopatie diabetică, și anume nefropatia și retinopatia diabetică, precum și modificări la nivel de macrovase, conducând la dezvoltarea macroangiopatiei, o alta leziune cronică cauzată de hiperglicemie este neuropatia diabetică [1].

Studiile demonstrează că ocluzia capilară joacă un rol important în dezvoltarea retinopatiei diabetice. Retinopatia diabetică – constituie prima cauză a cecității la circa 5% din populația globului. Unele preparate cu acțiune dezagregantă, ar putea influența evoluția și progresarea retinopatiei diabetice, dar există puține studii în această direcție [2].

Sulodexidul este un glicozaminoglican înalt purificat – o combinație de heparin sulfat și dermatan sulfat, care prin multiple studii clinice, multicentrice, randomizate și-a dovedit eficiența atât în tratarea, cât și profilaxia angiopatiei

the consequence of vascular damage. Diabetic retinopathy is a complication with a predictable fatal impact. Some disaggregating action drugs could affect the course and progression of diabetic retinopathy, but studies in this sense are scarce.

Materials and methods. We conducted a randomized therapeutic study. The study included 48 patients (96 eyes) with diabetic retinopathy of various degrees who were divided into 2 groups (the study group Angioflux [+], the control group – Angioflux [-]). Angioflux [+] patients were treated with sulodexide (angioflux). The patients included in the study underwent ophthalmological and electrophysiological examination by means of visual evoked potential (VEP). The statistically applied test was Student's t-test, and a $p < 0.05$ was considered statistically significant. The research protocol was approved by the Research Ethics Commission of Nicolae Testemitanu SUMP under no 7 on 08.02.2016. Patients signed the informed consent.

Results. The average age of patients in Angioflux [+] group was 61.8 ± 5.8 years old, in Angioflux [-] group – 60.2 ± 11.0 years old. The average duration of DM in the Angioflux [+] group was 13.2 ± 7.0 years, in the Angioflux [-] group – 10.2 ± 5.7 years. During the 3rd visit, visual functions in Angioflux [+] group patients significantly improved as compared to the 1st visit (for near visual acuity $p=0.04$, for contrast sensitivity $p=0.38$). In retinal OCT, statistically significant values were registered at the end of the treatment, specifically decreased macular edema in the angioflux group compared to the group of patients who did not receive this treatment ($p = 0.02$). Also, in the Angioflux [+] group, up to and after 60 days of treatment, the latency period and the P100 waveform amplitude recorded positive dynamics ($p=0.0047$ and $p=0.018$, respectively).

Conclusions. The use of sulodexide (angioflux) in patients with diabetic retinopathy has resulted in improved visual function and increased transmission of neural impulses along visual pathways.

Key words: retinopathy, diabetes, visual evoked potentials, sulodexide (angioflux).

Introduction

Diabetes mellitus (DM) causes specific changes in microvessels, leading to diabetic microangiopathy, specifically diabetic nephropathy and retinopathy, as well as changes in macrovessels, leading to the development of macroangiopathy. Another chronic lesion caused by hyperglycemia is diabetic neuropathy [1].

Studies show that capillary occlusion plays an important role in the development of diabetic retinopathy. Diabetic retinopathy is the leading cause of blindness in about 5% of the world's population. Some disaggregating action drugs could affect the course and progression of diabetic retinopathy, but studies in this sense are scarce [2].

Sulodexide (angioflux) is a highly purified glycosaminoglycan – a combination of heparin sulfate and dermatan sulfate which, through multiple multicenter randomized clinical trials, has proven effective in both the treatment and prevention

diabetice [3]. Sulodexidul posedă proprietăți antitrombotice, anticoagulante, profibrinolitice și angioprotectoare. Activitatea anticoagulantă e determinată de afinitatea sa față de cofactorul heparinei II, care inhibă trombina. Acțiunea antitrombotică e determinată de inhibiția factorului activator X; intensificarea sintezei și secreției prostaciclinoi și scăderea nivelului fibrinogenului în sânge. Acțiunea profibrinolitică a preparatului se realizează prin creșterea nivelului activatorului tisular al plasminogenului și reducerea concentrației inhibitorului plasminogenului din sânge. Acțiunea angioprotectoare e determinată de restabilirea integrității structurale și funcționale a endoteliocitelor, restabilirea densității normale a sarcinii electrice negative a porilor membranei bazale a vaselor [3, 4].

La fel, sulodexidul ameliorează proprietățile reologice ale sângelui datorită scăderii concentrației trigliceridelor în sânge (prin mecanismul de activare a lipoproteinlipazei – enzima care hidrolizează trigliceridele) [3, 4]. Există puține studii care au studiat rolul sulodexidului în retinopatia diabetică, dar acesta ar putea avea un rol important precum este înregistrat în alte microangiopatii diabetice ca nefropatia diabetică, fenomen demonstrat și de alte studii [5, 6, 7, 8].

În această ordine de idei, s-a presupus că tratamentul cu sulodexid ar putea ameliora acuitatea vizuală la pacienții cu retinopatie diabetică.

Materiale și metode

A fost realizat un studiu terapeutic randomizat. În studiu au fost incluși 48 pacienți (96 ochi) cu retinopatie diabetică de divers grad. Aprecierea gradului retinopatiei diabetice a fost efectuată conform clasificării Consiliului Internațional al Oftalmologiei din 2013, rectificat în 2017.

Criteriile de includere în cercetare au fost:

- acordul informat în formă scrisă al pacientului;
- pacienți cu retinopatie diabetică;
- vârsta cuprinsă între 18-70 ani.

Criterii de excludere a pacienților din studiu:

- lipsa acordului informat al pacientului;
- patologia mentală;
- patologii sistemice asociate (reumatismul, boala Behcet, lupus, artrita reumatoidă, aneurisme cerebrale, cancerul);
- vârsta mai mică de 18 ani și mai mare de 70 ani;
- patologii oftalmologice asociate (glaucom primar, anomalii oculare, patologii inflamatorii);
- graviditatea.

Datele au fost colectate în Institutul de Medicină Urgentă. Pacienții înrolați au fost separați în 2 loturi (Lotul experimental – Angioflux [+] și Lotul de referință – Angioflux [-]), în fiecare lot câte 24 pacienți (48 ochi în fiecare lot). Rata de alocare a pacienților din loturile de studii a fost de 1:1. Randomizarea a fost efectuată cu ajutorul metodei bilelor.

Pacienților din lotul experimental li s-a administrat tratamentul cu preparatul angioflux. Tratamentul cu angioflux s-a efectuat conform următorului protocol: primele 10 zile s-a administrat angioflux 600 ULS/2,0 ml i.m. o dată pe zi, iar ur-

of diabetic angiopathy [3]. Sulodexide possesses antithrombotic, anticoagulant, profibrinolytic and angioprotective properties. Its anticoagulant activity is determined by the affinity for the heparin II cofactor which inhibits thrombin. The antithrombotic action is determined by the inhibition of factor X, increased prostacyclin synthesis and secretion and decreased blood fibrinogen levels. The profibrinolytic action of the drug is achieved by increasing the level of tissue plasminogen activator and reducing the blood concentration of plasminogen inhibitor. The angioprotective action is determined by the restoration of structural and functional integrity of endotheliocytes and the recovery of normal density in the negative surface charge of the vascular basement membrane pores [3, 4].

Sulodexide also improves hemorheological properties due to a decrease in the concentration of blood triglycerides (through the activation of lipoprotein lipase – the enzyme that hydrolyzes triglycerides) [3, 4]. There are few studies that have studied the role of sulodexide in diabetic retinopathy, but it could have an important role as recorded in other diabetic microangiopathies such as diabetic nephropathy, a phenomenon demonstrated by other studies [5, 6, 7, 8].

In this connection, it has been suggested that sulodexide treatment may improve visual acuity in patients with diabetic retinopathy.

Material and methods

We conducted a randomized therapeutic study. The study included 48 patients (96 eyes) with diabetic retinopathy of varying degrees. The assessment of the degree of diabetic retinopathy was performed according to the classification of the International Council of Ophthalmology from 2013, rectified in 2017.

The inclusion criteria in the research were:

- informed written consent of the patient;
- patients with diabetic retinopathy;
- age between 18-70 years.

The excluding criteria from the study were:

- lack of informed consent of the patient;
- mental pathology;
- associated systemic pathologies; (rheumatism, Behcet's disease, Lupus, rheumatoid arthritis, cerebral aneurysms, cancer);
- age under 18 and over 70 years;
- associated ophthalmological pathologies (primary glaucoma, ocular abnormalities, inflammatory pathologies);
- pregnancy.

The patients data were collected at the IMSP Institute of Emergency Medicine. Enrolled patients were divided into 2 groups (Experimental group – Angioflux [+] and Reference group – Angioflux [-]) of 24 patients each (total 48 eyes). The allocation rate of patients in the study groups was 1:1. Randomization was performed using the bile method.

Experimental group patients were treated with angioflux. Angioflux treatment was performed according to the following protocol: 600 ULS/2.0 ml i.m. once a day for 10 days, and

mătoarele 60 zile câte o capsulă 250 ULS de 2 ori pe zi la un interval de 12 ore între mese.

Pacienții incluși în studiu au fost examinați oftalmologic și electrofiziologic prin potențiale evocate vizuale (PEV). Examenul oftalmologic a inclus evaluarea acuității vizuale (AV) în depărtare și în apropiere, sensibilității la contrast, examen oftalmoscopic și rezultatele tomografiei în coerența optică (OCT), grosimea maculară.

PEV reprezintă o explorare electrofiziologică cu sensibilitate înaltă pentru detectarea unor modificări de conducere pe căile vizuale, mai ales a leziunilor situate anterior chiasmei. Această investigație s-a dovedit a fi eficientă în depistarea retinopatiei diabetice. În timpul examenului PEV s-au aplicat stimuli monoculari, non-paterni de tip flash, utilizând ochelarii LED-goggles.

Testul statistic aplicat a fost t-student, iar un $p < 0,05$ a fost considerat statistic semnificativ. Protocolul de cercetare a fost aprobat de Comisia de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” nr. 7 din 08.02.2016. Pacienții au semnat consimțământul informat.

Rezultate

Vârsta medie a pacienților din lotul Angioflux [+] este de $61,8 \pm 5,8$ ani, în lotul Angioflux [-] vârsta medie este de $60,2 \pm 11,0$ ani, ($p=0,54$). În grupul de referință au predominat pacienții de sex feminin ($n = 19$; 79%), iar în grupul experimental cu o frecvență mai mare s-au întâlnit bolnavi de sex masculin ($n = 15$; 62,5%).

În ceea ce privește gradul retinopatiei diabetice, în grupul Angioflux [+] am observat următoarea distribuție: retinopatie diabetică neproliferativă forma ușoară – 18 ochi (37,5%), retinopatie diabetică neproliferativă forma medie – 11 ochi (22,9%), retinopatie diabetică neproliferativă formă severă – 5 (10,4%), retinopatie diabetică proliferativă (fără neovase active) – 14 (29,2%).

Iar în grupul Angioflux [-] s-a determinat următoarea repartizare a celor 48 de ochi: retinopatie diabetică neproliferativă formă ușoară s-a constatat la 9 ochi (18,7%), retinopatie diabetică neproliferativă formă medie – 12 ochi (25%), retinopatie diabetică neproliferativă formă severă – 10 ochi (20,8%), retinopatie diabetică proliferativă (fără neovase active) – 17 ochi (35,4%).

Durata medie a diabetului zaharat în grupul experimental este de $13,2 \pm 7,0$ ani, iar în grupul de referință: $10,2 \pm 5,7$ ani. Nu s-a observat o diferență semnificativă statistică în ceea ce privește durata diabetului zaharat la cele 2 grupe de studiu ($p=0,11$). În grupul Angioflux [-] au fost depistați doi pacienți cu DZ tip 1, iar în grupul Angioflux [+] – 1 pacient.

Pentru a demonstra eficacitatea tratamentului cu sulodexid (angioflux) pacienții au fost supuși examenului oftalmologic și examenului PEV în momentul includerii în studiu, la 10 zile și la 60 zile de tratament (Tabelul 1).

Conform datelor putem evidenția faptul că s-au înregistrat valori mai bune ale AV și datelor OCT la pacienții lotului experimental comparativ cu lotul de referință, cu toate că nu a existat o diferență semnificativă statistic între cele 2 loturi de studii la

then 1 capsule (250 ULS) twice a day every 12 hours between meals for 60 days.

Patients included in the study underwent ophthalmological and electrophysiological examination by means of visual evoked potential (VEP). The ophthalmological examination included assessment of near and far visual acuity (NVA and FVA) and contrast sensitivity, ophthalmoscopy, optical coherence tomography (OCT), and macular thickness measurement.

VEP is a high-sensitivity electrophysiological examination used to detect changes in visual pathways, especially antechiasmal lesions. This examination has shown to be effective in detecting diabetic retinopathy. Monocular non-pattern flash stimuli were applied during the VEP using LED goggles.

The statistically applied test was Student's t-test, and a $p < 0.05$ was considered statistically significant. The research protocol was approved by the Research Ethics Commission of Nicolae Testemițanu SUMP under no 7 on 08.02.2016. Patients signed the informed consent.

Results

The average age of patients from Angioflux [+] group was 61.8 ± 5.8 years old, and in Angioflux [-] group – 60.2 ± 11.0 years old ($p=0.54$). In the Angioflux [-] group, the dominant gender was female ($n = 19$; 79%), and in the Angioflux [+] group male patients were found in a higher rate ($n = 15$; 62.5%).

Regarding the degree of diabetic retinopathy, in the Angioflux [+] group we observed the following distribution: mild non-proliferative diabetic retinopathy – 18 eyes (37.5%), medium non-proliferative diabetic retinopathy – 11 eyes (22.9%), severe non-proliferative diabetic retinopathy – 5 (10.4%), proliferative diabetic retinopathy (without active neovascularization) – 14 (29.2%).

In the Angioflux [-] group (48 eyes) the following distribution was seen: mild non-proliferative diabetic retinopathy – 9 eyes (18.7%), medium non-proliferative diabetic retinopathy – 12 eyes (25%), severe non-proliferative diabetic retinopathy – 10 eyes (20.8%), proliferative diabetic retinopathy (without active neovascularization) – 17 eyes (35.4%).

The average duration of diabetes in the experimental group was 13.2 ± 7.0 years, and in the reference group – 10.2 ± 5.7 years. No statistically significant difference was observed in the duration of diabetes in the two study groups ($p=0.11$). Two patients were detected in the Angioflux [-] group with type 1 diabetes, and 1 patient – in the Angioflux [+] group.

To demonstrate the effectiveness of sulodexide treatment, the patients underwent an ophthalmologic examination and a VEP examination at the time of being enrolled in the study, after 10 days and after 60 days of treatment (Table 1).

The data clearly show that VA values and OCT results were better in patients in the Angioflux [+] group than in the Angioflux [-] group, although results suggested that there was no statistically significant difference between the two study groups during the 3 visits. Near VA was significantly improved between visits 1 and 3 in the Angioflux [+] group ($p=0.04$).

Table 1. Rezultatele examenului oftalmologic în cadrul celor trei vizite la lotul de bază și control (AV și OCT).
Table 1. Results of the ophthalmological examination during the three visits to the main and control group (VA and OCT).

Parametri Parameters	Angioflux [+]	Angioflux [-]
AV la apropiere la 1 vizită AV for near vision, the 1st visit	0,47	0,48
AV la apropiere la a 2-a vizită AV for near vision, the 2nd visit	0,51	0,49
AV la apropiere la a 3-a vizită AV for near vision, the 3rd visit	0,56	0,49
AV la depărtare la 1 vizită AV for distant vision, the 1st visit	0,41	0,42
AV la depărtare la a 2-a vizită AV for distant vision, the 2nd visit	0,44	0,43
AV la depărtare la a 3-a vizită AV for distant vision, the 3rd visit	0,48	0,45
OCT (microni) la 1 vizită OCT(microns) the 1st visit	332	333
OCT (microni) la a 2-a vizită OCT(microns) the 2nd visit	328	347
OCT (microni) la a3-a vizită OCT (microns) the 3rd visit	294	349

cele 3 vizite. S-a îmbunătățit semnificativ AV pentru apropiere comparând vizita 1 și 3 la lotul Angioflux [+] ($p=0,04$).

Este de remarcat faptul că OCT la a 3-ea vizită a înregistrat valori semnificativ statistic mai bune în lotul ce a primit tratament cu angioflux comparativ cu grupul de pacienți ce nu a administrat acest tratament ($p=0,02$), de asemenea s-a înregistrat o dinamică pozitivă a diminuării edemului macular (la OCT la vizita a treia comparativ cu vizita 1 la grupul Angioflux [+] ($p=0,0043$).

Rezultatele examenului oftalmologic în cadrul celor trei vizite la lotul experimental și lotul de referință în funcție de sensibilitatea la contrast este prezentată în Tabelul 2. Este de evidențiat faptul că în grupul de pacienți tratați cu sulodexid s-a remarcat o îmbunătățire moderată a sensibilității la contrast pe când în grupul de control sensibilitatea la contrast în cadrul celor 3 vizite a prezentat modificări minore (Tabelul 2).

Rezultatele examenului electrofiziologic în momentul includerii în studiu, peste 10 zile și peste 60 zile de tratament sunt prezentate în Tabelul 3.

În ceea ce privește dinamica perioadei de latență în grupul de bază până și după 10 zile de tratament nu s-a înregistrat vreo diferență semnificativă statistică pentru nici una din unde (pentru latența undei N2, $p=0,07$, pentru latența undei P2, $p=0,36$, pentru latența undei N3, $p=0,34$ și pentru amplitudă undei P100, $p=0,43$).

Peste 60 zile de tratament, s-au înregistrat modificări la nivel de traseu pentru unda P2 la lotul 1 de pacienți, deși nu au existat modificări semnificative statistic între undele înregistrate la grupul de bază și la cel de control (Tabelul 4).

Referitor la perioada de latență și amplituda undei P100, în grupul de bază până și după 60 zile de tratament, s-a constatat o dinamică pozitivă ($p=0,0047$, și respectiv $p=0,018$), iar pentru

It is noteworthy that OCT during the 3rd visit recorded statistically significantly better values in the angioflux group compared to the group of patients who did not receive this treatment ($p=0.02$), and also showed positive dynamics of macular edema decrease compared to visit 1 in the Angioflux [+] group ($p=0.0043$).

The results of the ophthalmological examination during the three visits to the Angioflux [+] and Angioflux [-] groups in terms of contrast sensitivity are given in Table 2. To be mentioned that the sulodexide (angioflux) group showed a moderate improvement in contrast sensitivity, while in the control group contrast sensitivity during the 3 visits showed minor changes (Table 2).

The results of the electrophysiological examination conducted at the time of inclusion in the study, after 10 and 60 days of treatment are presented in Table 3.

Regarding latency dynamics in the main group before the treatment and after 10 days of treatment, there was no statistically significant difference for any of the waves (for the N2 wave $p=0.07$, and for P2 amplitude, $p=0.36$; for N3 wave, $p=0.34$, nor for the P100 waveform amplitude $p=0.43$).

Over 60 days of treatment, there were changes in the P2 wave route in the first group, although there were no statistically significant changes between the waves recorded in the main and the control group (Table 4).

Regarding the latency period and the amplitude of the P100 wave, in the main group until and after 60 days of treatment, a positive dynamic was found ($p=0.0047$, and $p=0.018$, respectively), but the latency period of the waves N2 and N3 did not register statistically changes ($p=0.09$ and $p=0.16$, respectively).

Analyzing the Pearson's correlation index between the

Tabelul 2. Repartizarea pacienților în funcție de sensibilitatea la contrast.**Table 2.** Patient distribution according to contrast sensitivity.

Grupul Angioflux [+] // the Angioflux [+] group			
Parametri Parameters	1-a vizită the 1st visit	a 2-a vizită the 2nd visit	a 3-a vizită the 3rd visit
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 25%-100%	9	9	9
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 10%-15%	16	16	9
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 5%-3,5%	12	8	15
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 1%-1,25%	11	15	15
Grupul Angioflux [-] // the Angioflux [-] group			
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 25%-100%	9	10	9
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 10%-15%	25	21	22
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 5%-3,5%	8	11	12
sensibilitatea la contrast contrast sensitivity 1%-1,25%	6	6	5

Tabelul 3. Traseul PEV în prima zi, peste 10 zile, peste 60 zile de studiu la cele 2 loturi.**Table 3.** VEP route on day 1, after 10 days, after 60 days of the study in the two groups.

Parametri Parameters	Angioflux [+]	Angioflux [-]	p
Latența (ms) în prima zi Latency (ms) on day 1	88,84 ± 19,24	87,04 ± 8,26	0,55
Latența P2 (ms) în prima zi Latency P2 (ms) on day 1	131,4 ± 18,29	123,4 2± 12,25	0,05
Latența N3 (ms) în prima zi Latency N3 (ms) on day 1	166,39 ± 25,5	158,53 ± 14,07	0,065
Amplituda undei P100 (μV) în prima zi Waveform amplitude P100 (μV) on day 1	9,05 ± 6,24	9,85 ± 8,55	0,6
Latența N2 (ms) peste 10 zile Latency N2 (ms) after 10 days	85,96 ± 16,23	84,95 ± 14,6	0,74
Latența P2 (ms) peste 10 zile Latency P2 (ms) after 10 days	125,44 ± 14,44	124,1 ± 11,58	0,61
Latența N3 (ms) peste 10 zile Latency N3 (ms) after 10 days	162,03 ± 21,6	156,55 ± 12,89	0,13
Amplituda undei P100 (μV) peste 10 zile Waveform amplitude P100 (μV) after 10 days	10,17 ± 5,25	9,96 ± 4,86	0,83
Latența N2 (ms) peste 60 zile Latency N2 (ms) after 60 days	83,32 ± 11,57	85,3 ± 7,68	0,32
Latența P2 (ms) peste 60 zile Latency P2 (ms) after 60 days	122,19 ± 12,28	124,66 ± 11,21	0,30
Latența N3 (ms) peste 60 zile Latency N3 (ms) after 60 days	159,62 ± 21,8	156,4 ± 12,09	0,37
Amplituda undei P100 (μV) peste 60 zile Waveform amplitude P100 (μV) after 60 days	11,79 ± 4,83	10,17 ± 4,51	0,09

Tabel 4. Valorile indicelui de corelație stabilit între latența și amplituda undei P100 cu indicatorii oftalmologici.**Table 4.** Correlation values between the P100 wave latency and amplitude based on ophthalmological exam data.

Parametri <i>Parameters</i>	Indicele de corelație între latența undei P100 (ms) <i>Correlation between P100 wave latency (ms)</i>	Indicele de corelație între amplituda undei P100 (ms) <i>Correlation between P100 wave amplitude (ms)</i>
AV depărtare la 1 vizită <i>Far VA, 1st visit</i>	0,09	0,06
AV depărtare la 2 vizită <i>Far VA, 2nd visit</i>	0,03	0,04
AV depărtare la 3 vizită <i>Far VA, 3rd visit</i>	0,05	0,07
AV apropiere la 1 vizită <i>Near VA, 1st visit</i>	0,17	0,14
AV apropiere la 2 vizită <i>Near VA, 2nd visit</i>	0,15	0,19
AV apropiere la 3 vizită <i>Near VA, 3rd visit</i>	0,16	0,14
OCT (microni) la 1 vizită <i>OCT (microns), 1st visit</i>	0,19	0,20
OCT (microni) la la 2 vizită <i>OCT (microns), 2nd visit</i>	0,18	0,15
OCT (microni) la 3 vizită <i>OCT (microns), 3rd visit</i>	0,24	0,16

Notă: AV – acuitatea vizuală, OCT– tomografia în coerență optică.

Note: VA – visual acuity, OCT– optical coherence tomography.

perioada de latență a undelor N2 și N3 nu s-a înregistrat vreo diferență semnificativă statistică ($p=0,09$, respectiv $p=0,16$).

Analizând indicii de corelație Pearson între valorile constatate pe traseul PEV (amplituda și latența undei P100) s-a constatat lipsa corelării cu AV la distanță, și prezența corelației cu AV în apropiere și cu datele OCT.

Discuții

În prezent există mai multe opțiuni de tratament disponibil pentru retinopatia diabetică, însă nu a fost definită nicio abordare farmacologică. Observațiile preliminare pe pacienții cu retinopatie diabetică care au fost tratați cu sulodexid au indicat reduceri semnificative ale edemului la nivel retinian, evidențiind astfel un beneficiu potențial la nivelul capilarelor retiniene [9-10]. În plus, incidența și severitatea evenimentelor adverse asociate sulodexidei nu au fost diferite de cele ale grupului tratat cu placebo, chiar și la doze mari, dar au fost raportate tulburări gastrointestinale ușoare [9]. În studiul nostru nu s-a înregistrat nici o reacție adversă la administrarea preparatului sulodexid.

Studiul DRESS a fost conceput pentru a evalua eficacitatea sulodexidei în tratamentul edemului retinian la pacienții cu DZ de tip 1 și 2 cu retinopatie diabetică forma neproliferativă. Complicațiile vasculare ale DZ sunt, în general, însoțite de dezvoltarea disfuncției endoteliale, iar în modele experimentale această disfuncție endotelială sau leziune se manifestă prin creșterea numărului de celule endoteliale circulante. Modelele *in vitro* și pe animale, la care s-a indus disfuncție endotelială,

values found on the VEP path (P100 wave amplitude and latency), we found there was no correlation with far VA but a certain correlation with near VA and OCT data.

Discussion

There are currently several treatment options available for diabetic retinopathy, but no pharmacological approach has been defined. Preliminary observations in patients with diabetic retinopathy who have been treated with sulodexide have indicated significant reductions in retinal edema, highlighting a potential benefit in retinal capillaries [9-10]. In addition, the incidence and severity of sulodexide-associated adverse effects were not different from those of the placebo group, even at high doses, but mild gastrointestinal disorders were reported [9]. No adverse reactions were reported in our study with sulodexide administration.

The DRESS study was designed to evaluate the efficacy of sulodexide in the treatment of retinal edema in patients with type 1 and 2 diabetes with non-proliferative diabetic retinopathy. Vascular complications of DM are generally accompanied by the development of endothelial dysfunction, and in experimental models this endothelial dysfunction is manifested through an increased number of circulating endothelial cells. *In vitro* and animal models with induced endothelial dysfunction reported that sulodexide was able to repair or prevent endothelial damage, reduce the number of circulating endothelial cells and improve vasodilation of small arteries [9-12]. Recently, oral administration of sulodexide in patients with type

au raportat că sulodexidul a fost capabil să repare sau să prevină leziunile endoteliale, să reducă numărul celulelor endoteliale circulante și să îmbunătățească vasodilatația arterelor de calibrul mic [9-12]. Recent, s-a demonstrat că administrarea sulodexidei orale la pacienții cu DZ de tip 2 îmbunătățește disponibilitatea precursorilor pentru sinteza glucozaminoglicanilor, îmbunătățind astfel dimensiunea glicocalixului endotelial în paturile vasculare sublinguale și retiniene. Sulodexidul a contribuit, de asemenea, la normalizarea permeabilității vasculare sistemice și a metabolizării glucozaminoglicanului [3, 4, 7].

Conform unui studiu, după administrarea orală, sulodexidul afișează proprietăți biologice noi, cum ar fi capacitatea de a regla interacțiunile celulelor sanguine în endoteliu, pentru a contracara schimbările vasculare inflamatorii și proliferative, și pentru a proteja și restabili structurile și funcțiile endotelului lezate, toate acestea menținând într-o măsură ușoară acele activități inerente antitrombotice și profibrinolitice care prevalează după administrarea parenterală [13].

Studiul nostru s-a realizat pe 48 pacienți care au fost repartizați în 2 grupuri de cercetare, a câte 24 pacienți cu divers grad de retinopatie diabetică. Obiectivul primar al acestui studiu a fost stabilirea eficacității sulodexidei (angiofluxului) în tratamentul retinopatiei diabetice. Astfel s-a evidențiat o îmbunătățire a unor parametri oftalmologici și electrofiziologici. Nu s-au constatat careva reacții adverse la pacienții supuși tratamentului cu acest preparat.

Cercetarea noastră demonstrează o îmbunătățire semnificativă statistic a indicatorilor acuității vizuale și sensibilității la contrast, precum și a celor înregistrați la OCT și a traseului PEV la pacienții cu diabet zaharat tratați cu sulodexid pe parcurs de 60 zile, comparativ cu pacienții din aceeași grupă de vârstă, cu același grad de retinopatie diabetică, dar care nu au primit tratament cu sulodexid. Traseul PEV la bolnavii din grupul de control nu s-a schimbat semnificativ în cele 60 zile de monitorizare oftalmologică. Din păcate, există puține studii în domeniul respectiv pentru a compara datele obținute din cercetarea noastră cu cele internaționale, majoritatea studiilor axându-se pe eficacitatea tratamentului cu sulodexid în nefropatia diabetică și utilitatea acestuia în tratamentul piciorului diabetic. Posibil că mecanismul de ameliorare a retinopatiei diabetice este același ca și cel înregistrat în alte microangiopatii diabetice precum este nefropatia diabetică, fenomen demonstrat și de alte studii [5, 6, 7, 8].

Concluzii

S-a constatat că terapia prin administrarea de compoziții farmaceutice care conțin cantități eficiente terapeutic de sulodexid (angioflux) la pacienții cu retinopatie diabetică a favorizat îmbunătățirea funcțiilor vizuale, a sensibilității la contrast, a contribuit la micșorarea edemului macular și la facilitarea neurotransmiterii oculare (traseul PEV).

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal la căutarea literaturii științifice, selectarea bibliografiei, citirea și analiza referințelor

2 diabetes has shown to improve the availability of precursors for glucosaminoglycan synthesis, thus improving the size of endothelial glyocalix in the sublingual and retinal vascular beds. Sulodexide also improved systemic vascular permeability and glucosaminoglycan metabolism [3, 4, 7].

According to a study, after oral administration, sulodexide displays new biological properties, such as the ability to regulate blood cell interactions in the endothelium to counteract inflammatory and proliferative vascular changes, and to protect and restore damaged endothelial structures and functions, maintaining to a small extent those inherent antithrombotic and profibrinolytic activities which prevail after parenteral administration [13].

Our study was performed on 48 patients who were divided into 2 research groups, 24 patients each, with various degrees of diabetic retinopathy. The primary objective of this study was to determine the efficacy of sulodexide (angioflux) in the treatment of diabetic retinopathy. Thus, an improvement in some ophthalmological and electrophysiological parameters was highlighted. No adverse reactions were observed in patients treated with this drug.

Our research demonstrates a statistically significant improvement in visual acuity and contrast sensitivity, as well as OCT data and VEP pathway in patients with diabetes treated with sulodexide over 60 days, compared to patients of the same age, with the same degree of diabetic retinopathy, who have not received treatment with sulodexide. The VEP route in the control group patients did not change significantly during the 60 days of ophthalmological monitoring. Unfortunately, there are few studies in this area to compare the data obtained in our research with international ones, most of the studies focusing on the effectiveness of sulodexide treatment in diabetic nephropathy and its usefulness in the treatment of diabetic foot. It is possible that the mechanism of amelioration of diabetic retinopathy is the same as that recorded in other diabetic microangiopathies such as diabetic nephropathy, a phenomenon demonstrated by other studies [5, 6, 7, 8].

Conclusions

Therapy with pharmaceutical compositions containing therapeutically effective amounts of sulodexide (angioflux) in patients with diabetic retinopathy has been found to improve visual functions, contrast sensitivity, decrease macular edema and facilitate ocular neurotransmission (VEP route).

Author contributions

The authors contributed equally to the search of scientific literature, the selection of bibliography, the reading and analysis of biographical references, the writing of the manuscript and its peer review. All authors read and approved the final version of the article.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

biografice, la scrierea manuscrisului și la revizuirea lui colegială. Toți autorii au citit și au aprobat versiunea finală a articolului.

Declarația conflictului de interese

Nimic de declarat.

Mulțumiri

Aducem mulțumiri companiei SC TOP-FARM SRL pentru alocarea cantității necesare de preparat pentru efectuarea studiului.

Referințe / references

- Dakhli S., Khedher A., Borni Z., Achour A., Hachicha J. A clinical experience on sulodexide in the treatment of patients with diabetic nephropathy. *Journal of Nephrology & Therapeutics*. <https://www.omicsonline.org/open-access/a-clinical-experience-on-sulodexide-in-the-treatment-of-patients-with-diabetic-nephropathy-2161-0959-1000284.php?aid=86318&view=mobile>
- Lopes de Jesus C., Atallah A., Valente O., Moça Trevisani V. Pentoxifylline for diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008; 2008 (2): CD006693.
- <http://www.medicinform.net/spravka/a/a1193.htm>
- <https://health.mail.ru/drug/angioflux/>
- Satirapoj B., Kaewput W., Supasyndh O., Ruangkanhasetr P. Effect of sulodexide on urinary biomarkers of kidney injury in normoalbuminuric type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Journal of Diabetes Research*, 2014; 2015: 1-6.
- Gambaro G. Discounting the efficacy of sulodexide in diabetic nephropathy is premature. *AJKD*, 2012; 60 (1): 169-170.
- Koblik T., Sieradzki J., Sendur R. *et al.* The effect of insulin and sulodexide (Vessel Due F) on diabetic foot syndrome: pilot study in elderly patients. *J. Diabetes Complications*, 2001; 15 (2): 69-74.
- Weiss R., Niecestro R., Raz I. The role of sulodexide in the treatment of diabetic nephropathy. *Drugs*, 2007; 67 (18): 2681-96.
- Ji Hun Song, Hee Seung Chin, Oh Woong Kwon *et. al.* Effect of sulodexide in patients with non-proliferative diabetic retinopathy: diabetic retinopathy sulodexide study (DRESS). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2015; 253 (6): 829-837.
- Karimov K., Shakhmaliyeva A. Effect of sulodexide on non-proliferative diabetic retinopathy. *Research gate*, 2002: 72-76.
- Rubbi F., Boccia S., Caramazza R. The effects of sulodexide on diabetic retinopathy. *Minerva cardioangiologica*, 2000; 48 (1): 81-82.
- Ryden L., Standl E., Bartnik M. *et al.* Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J*, 2007; 28: 88-136.
- Coccheri S., Mannello F. Development and use of sulodexide in vascular diseases: implications for treatment. *Drug design, development and therapy*, 2013; 8: 49-65.

Acknowledgments

We thank the company SC TOP-FARM SRL for allocating the necessary amount of preparation for the study.



ARTICOL DE CERCETARE

Valorificarea speciilor din colecția Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Maria Cojocaru-Toma^{1,3}, Cristina Ciobanu^{2,3},
Anna Benea^{1,3}, Nicolae Ciobanu^{2,3}

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

²Catedra de tehnologie a medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

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

Data primirii manuscrisului: 01.11.2020

Data acceptării spre publicare: 05.12.2020

Autor corespondent:

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

Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: maria.cojocaru@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Valorization of species from the collection of the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants of the Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

Maria Cojocaru-Toma^{1,3}, Cristina Ciobanu^{2,3},
Anna Benea^{1,3}, Nicolae Ciobanu^{2,3}

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

²Chair of drug technology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Scientific-Practical Center in the Field of Medicinal Plants, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 01.11.2020

Accepted for publication on: 05.12.2020

Corresponding author:

Maria Cojocaru-Toma, PhD, assoc. prof.

Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

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

e-mail: maria.cojocaru@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Conform datelor din literatură, doar 20% din flora mondială este cercetată științific. Cercetarea plantelor din colecții și flora spontană a Republicii Moldova reprezintă un vast tărâm pentru cunoaștere.

Ipoteza de cercetare

Valorificarea plantelor medicinale din colecția Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale (CȘPDPM) a USMF „Nicolae Testemițanu” prin prisma compușilor chimici și acțiunii farmacologice, ca potențiale surse de produse vegetale și principii active pentru elaborarea de produse noi fitoterapeutice.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Pentru prima dată în Republica Moldova a fost evaluată colecția de plante din CȘPDPM, au fost analizate biologic, fitochimic și determinată activitatea farmacologică a speciilor introduse în cultura Centrului: *Agrimonia eupatoria* L., *Cichorium intybus* L., *Centaurea cyanus* L., *Cynara scolymus* L. și *Hypericum perforatum* L.

What is not known yet, about the topic?

According to literature, only 20% of the world's flora is scientifically researched. The research of the plants from the collections and the spontaneous flora of the Republic of Moldova represents a vast realm for knowledge.

Research hypothesis

Valorization of medicinal plants from the collection of the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants (SPCFMP) of Nicolae Testemitanu SUMPh in terms of chemical compounds and pharmacological action, as potential sources of vegetal products and active principles for the elaboration of new phytotherapeutic products.

Article's added novelty on this scientific topic

For the first time in the Republic of Moldova, was evaluated the collection of plants from the SPCFMP, were analyzed biologically, phytochemically and determined the pharmacological activity of the species introduced in the Center's culture: *Agrimonia eupatoria* L., *Cichorium intybus* L., *Centaurea cyanus* L., *Cynara scolymus* L. and *Hypericum perforatum* L.

Rezumat

Introducere. Centrul Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale (CȘPDPM) a fost fondat în anul 2002 pe un teritoriu de 4,74 ha lângă comuna Bardar, Ialoveni. Pe parcursul anilor, colecția de plante medicinale, s-a extins semnificativ și în prezent include cca 200 taxoni. Managementul universității a creat posibilități de studii biologice, fitochimice, farmaceutice și agrotehnice ale plantelor medicinale autohtone și alohtone cultivate în colecția Centrului. Un subiect de interes științific deosebit se referă la studierea corelației dintre conținutul principiilor active și acțiunea farmacologică a produselor vegetale.

Material și metode. În calitate de materiale au servit plantele medicinale cultivate în colecția CȘPDPM. Cercetarea a fost axată pe evaluarea plantelor medicinale și produselor vegetale după principii active și acțiuni farmacologice în baza surselor bibliografice, prezentarea rezultatelor analizelor fitochimice și biologice, cât și a metodologiilor de cercetare utilizate.

Rezultate. A fost efectuat studiul analitico-descriptiv al colecției prin evaluarea și repartizarea plantelor după conținutul chimic al produselor vegetale, acțiunile farmacologice, gradul de vulnerabilitate și toxicitate. Astfel, colecția include un număr semnificativ de plante cu conținut de ulei volatil, urmat de compuși fenolici, flavonoide, taninuri, alcaloii etc., cu multiple utilizări precum ca agenți sedativi, antimicrobieni, carminativi, antihelmintici ș.a. Au fost elaborate metode de identificare și dozare, prin tehnici fizico-chimice spectrale și de cromatografie, inclusiv au fost studiate procedeele de optimizare a extracțiilor principiilor active, asistate de ultrasunet și macerare. A fost demonstrată acțiunea antioxidantă (metoda DPPH, ABTS și FRAP), antiinflamatoare, antimicrobiană și viabilitate celulară a extractelor etanolice standardizate din produse vegetale.

Concluzii. Prospectiv, rezultatele cercetărilor științifice ale CȘPDPM urmăresc crearea unei baze științifice de obținere a unui material ecologic, cu conținut înalt de principii active atât de necesar industriei farmaceutice din Republica Moldova

Cuvinte cheie: plante medicinale, principii active, analiza fitochimică și biologică.

Introducere

Republica Moldova deține un mediu natural bogat din punct de vedere al diversității peisajelor, întinse pe trei ecoregiuni principale ale Europei – pădurile mixte central-europene, stepa pontică și silvostepa est-europeană. Flora țării numără cca 1550 de specii din 550 de genuri și 101 de familii. Strategia cea mai importantă de conservare a biodiversității naturii și de utilizare durabilă a resurselor vegetale, se axează pe constituirea ecosistemelor naturale protejate. Primele încercări în domeniul ocrotirii vegetației din R. Moldova s-au întreprins în secolul XIX. Menționăm că din 1550 de specii de plante, 46 sunt incluse în Cartea Roșie a R. Moldova, ediția a III (2015), iar 224 sunt protejate de stat [1].

Abstract

Introduction. The Scientific-Practical Center of Medicinal Plants (SPCFMP) has been founded in 2002 on a territory of 4.74 ha, near the commune of Bardar, Ialoveni. Over the years, the collection of medicinal plants has expanded significantly and now includes about 200 taxa. The university management has created possibilities for biological, phytochemical, pharmaceutical and agrotechnical studies of local and non-native medicinal plants grown in the Centre's collection. A topic of special scientific interest refers to the study of the correlation between the content of active principles and the pharmacological action of vegetal products.

Material and methods. Medicinal plants grown in the collection of SPCFMP served as materials. The research had been focused on the evaluation of medicinal plants and vegetal products according to active principles and pharmacological actions based on bibliographic sources, the presentation of the results of phytochemical and biological analysis with the used research methodologies as well.

Results. The analytical-descriptive study of the collection was performed by evaluating and distributing the plants according to the chemical content of the vegetal products, the pharmacological actions, the degree of vulnerability and toxicity. Thus, the collection includes a significant number of plants with volatile oil content, followed by phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, etc., with multiple uses such as sedatives, antimicrobials, carminatives, anthelmintics, etc. Identification and dosing methods were developed, through spectral physico-chemical and chromatography techniques, including the procedures for optimizing the extraction of active principles, assisted by ultrasound and maceration. Has been demonstrated the antioxidant action (DPPH, ABTS and FRAP method), anti-inflammatory, antimicrobial action and viability cells of standardized ethanolic extracts from vegetal products.

Conclusions. Prospectively, the results of the scientific research of the SPCFMP aim at creating a scientific basis for obtaining an ecological material, with a high content of active principles so necessary for the pharmaceutical industry in the Republic of Moldova.

Key words: medicinal plants, active principles, phytochemical and biological analysis.

Introduction

The Republic of Moldova has a rich natural environment in terms of landscape diversity, spread over three main ecoregions of Europe – central European mixed forests, pontic steppe and eastern European forest-steppe. The country's flora has about 1550 species from 550 genus and 101 families. The most important strategy for conserving nature's biodiversity and sustainable use of plant resources is focused on building protected natural ecosystems. The first attempts in the field of vegetation protection in the Republic of Moldova were undertaken in the 19th century. Out of 1550 plant species, 46 are included in the Red Book of the Republic of Moldova, III edition (2015), and 224 are protected by the state [1].

Un ecosistem natural prezintă și colecția de plante din cadrul Centrului Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale (CȘPDPM) a USMF „Nicolae Testemițanu”. Fondat în anul 2002, actualmente ocupă o suprafață totală de 13 ha, situat la 4 km nord-est de comuna Bardar, r-nul Ialoveni. Pe acest teren a fost creată o colecție de plante medicinale care în prezent numără cca 200 taxoni de plante din 14 grupe de principii active cu diverse acțiuni farmacoterapeutice [2]. În colecția Centrului sunt și plante medicinale cu risc de vulnerabilitate și grad de dispariție, identificate în urma evaluării speciilor din Cartea Roșie, în conformitate cu Lista Roșie a Uniunii Internaționale a Conservării Naturii, conform grupelor:

- *specii vulnerabile*: care se consideră că în timpul apropiat vor trece în categoria speciilor pereclitate, dacă factorii cauzali vor continua să afecteze starea speciilor; în colecția CȘPDPM sunt introduse: *Ephedra distachya* L., fam. Ephedraceae și *Scopolia carnioloca* Jacq, fam. Solanaceae;
- *specii periclitare*: plante în pericol de exterminare, a cărei supravețuire este improbabilă dacă factorii cauzali continuă să influențeze starea ei; aici se clasează *Padus avium* Mill., fam. Rosaceae;
- *specii critic periclitare*: cele amenințate cu dispariția în viitorul apropiat din habitatele naturale, cum ar fi degețelul-lânos (*Digitalis lanata* Ehrn.), fam. Scrofulariaceae, lăcrămioara (*Convallaria majalis* L.), fam. Asparagaceae, cu restricții la recoltarea produselor vegetale [3].

Principalele direcții de cercetare ale Centrului constau în studiul biologic al plantelor medicinale din flora spontană și cea cultivată a R. Moldova; cercetări fitochimice ale plantelor medicinale din colecția Centrului; lucrări de introducere în cultură a plantelor medicinale din flora spontană autohtonă și din alte regiuni floristice; studiul condițiilor de creștere și elaborarea tehnologiilor de cultivare a plantelor medicinale; lucrări de creare a unei baze științifice de producere a materialului semincer și săditor de plante medicinale [2].

Aici sunt organizate și efectuate cercetări științifice în bază de proiecte instituționale finanțate din bugetul de stat, precum și cercetări de inițiativă la nivel de lucrări de licență a studenților, rezidenților și doctoranzilor. În același timp la Centru se petrece practica didactică a studenților Facultății de Farmacie la disciplinele „Botanica farmaceutică” și „Farmacognozie” și a specialiștilor în cadrul ciclurilor de perfecționare în domeniul Fitoterapiei a Facultății de Educare continuă în medicină și farmacie a USMF „Nicolae Testemițanu”.

În această lucrare propunem un studiu bazat pe cercetările farmacognostice, fitochimice și farmacologice a plantelor medicinale cultivate în colecție în vederea reactualizării concepțiilor fitoterapiei holistice materializate prin rezultate științifice.

Material și metode

Cercetările privind introducerea în cultură a plantelor medicinale din flora spontană autohtonă și din alte regiuni floristice, includ stabilirea parametrilor optimi de cultivare cu

The collection of plants from the Scientific-Practical Center of Medicinal Plants (SPCFMP) of *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy presents also a natural ecosystem. Founded in 2002, it currently occupies a total area of 13 ha, situated 4 km north-east from Bardar commune, Ialoveni district. A collection of medicinal plants has been created on this land, which currently counts about 200 plant taxa from 14 groups of active principles with various pharmacotherapeutic actions [2]. The SPCFMP collection also includes medicinal plants at risk of vulnerability and extinction, identified following the evaluation of the species from the Red Book, in accordance with the Red List of the International Union for Conservation of Nature, according to the groups:

- *vulnerable species*: which are considered soon to pass into the category of endangered species, if the causal factors continue to affect the status of the species; in the SPCFMP collection are introduced: *Ephedra distachya* L., fam. Ephedraceae and *Scopolia carnioloca* Jacq, fam. Solanaceae;
- *endangered species*: plants in danger of extinction, the survival of which is unlikely if the causal factors continue to influence its condition; *Padus avium* Mill, fam. Rosaceae;
- *critically endangered species*: those threatened with extinction in the near future from natural habitats, such as the Woolly foxglove (*Digitalis lanata* Ehrn.), fam. Scrofulariaceae, Lily of the valley (*Convallaria majalis* L.), fam. Asparagaceae, with restrictions on harvesting plant products [3].

The main research directions of SPCFMP consist in the biological study of medicinal plants from the spontaneous and cultivated flora of the Republic of Moldova; phytochemical researches of medicinal plants from the Centre's collection; works of introduction into culture of medicinal plants from the native spontaneous flora and from other floristic regions; study of growing conditions and elaboration of technologies for cultivation of medicinal plants; works to create a scientific basis for the production of seed and seedlings of medicinal plants [2].

Here are organized and conducted scientific researches based on institutional projects funded by the state budget, as well as initiative research at the level of undergraduate work of students, residents and doctoral students. At the same time, here takes place the teaching practice of the students of the Faculty of Pharmacy in the disciplines “Pharmaceutical botany” and “Pharmacognosy” and of the specialists within the training cycles in the field of Phytotherapy of the Faculty of Continuing Education in Medicine and Pharmacy of *Nicolae Testemitanu* SUMPh.

In this writing we propose a study based on the pharmacognostical, phytochemical and pharmacological research of medicinal plants grown in the SPCFMP collection in order to update the concepts of holistic phytotherapy materialized by scientific results.

Material and methods

Researches on the introduction into culture of medicinal plants from native spontaneous flora and other floristic regions, includes establishing optimal cultivation parameters

identificarea factorilor de mediu ce influențează asupra procesului de creștere și dezvoltare a speciilor, cum ar fi: condițiile edafice și orografice, termenii de prelucrare a solului, regimul hidric, termenii de semănat, densitatea plantelor pe unitatea de suprafață, urmate de determinări biometrice și analize morfo-anatomice a plantelor medicinale și produsele vegetale prin studiu farmacognostic.

Analiza fitochimică se efectuează cu scopul identificării profilului de compuși bioactivi și a dinamicii acumulării principiilor active în funcție de stadiul de dezvoltare și de tipul de țesut. În cadrul cercetărilor se aplică diferite metode spectrale și cromatografice, folosind dispozitive performante pentru identificare și separare de compuși, precum cromatografia pe strat subțire (CSS) și cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC-UV/MS sau HPLC-MS/MS) și respectiv spectrofotometria UV-VIS. Studiul activității biologice și farmacologice ale plantelor include cercetarea potențialului antioxidant, antimicrobian și antiinflamator realizate *in vitro* și *in vivo*.

În cadrul colaborărilor cu Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică, Catedra de tehnologie a medicamentelor, Catedra de microbiologie, virusologie și imunologie, Laboratorul de infecții intraspitalicești, Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare, Centrul Științific al Medicamentului a USMF „Nicolae Testemițanu” se execută studii fitochimice, de optimizare a metodelor de extracție și studii biologice.

Rezultate

Plantele medicinale din colecția Centrului au fost evaluate după componența principiilor active (Figura 1), astfel ponderea cea mai înaltă este atribuită uleiurilor volatile (29%), constituite din amestecuri multiple de hidrocarburi alifatiche, aromatice și hidroaromatice ce aparțin clasei terpenoidelor; alcaloizilor le este atribuit locul 2 în clasament (14%), urmați de substanțe tanante (12%), substanțe amare (12%) și flavo-

with identification of environmental factors that influence the process of growth and development of species, such as: edaphic and orographic conditions, soil processing terms, water regime, sowing terms, plant density per unit area, followed by biometric determinations and morpho-anatomical analyzes of medicinal plants and vegetal products by pharmacognostical study.

Phytochemical analysis is performed in order to identify the profile of bioactive compounds and the dynamics of the accumulation of the active principles depending on the stage of development and the type of tissue. Various spectral and chromatographic methods are used in the research, using high-performance devices for the identification and separation of compounds, such as thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC-UV / MS or HPLC-MS / MS) and respectively UV-VIS spectrophotometry.

The study of the biological and pharmacological activity of plants includes researching the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential performed *in vitro* and *in vivo*.

Within the collaborations with the Chair of pharmacognosy and pharmaceutical botany, the Chair of drug technology, the Chair of microbiology, virology and immunology, the Laboratory of in-hospital infections, the Laboratory of tissue engineering and cell cultures, Scientific- Practical Center of Medicine of *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy, perform phytochemical studies, optimization of extraction methods and biological studies.

Results

The medicinal plants in the Center's collection were evaluated according to the composition of the active principles (Figure 1), so the highest share is attributed to essential oils (29%), consisting of multiple mixtures of aliphatic, aromatic and hydroaromatic hydrocarbons belonging to the class of terpenoids, alkaloids are ranked 2nd place (14%), followed by

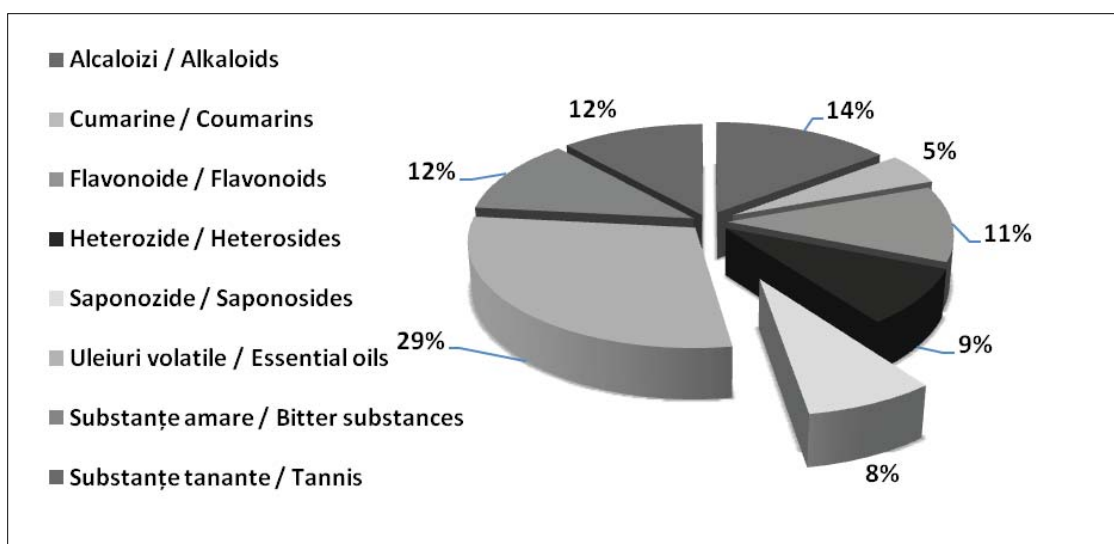


Fig. 1 Repartizarea plantelor medicinale ale colecției CȘPDPM după grupe de principii active.
Fig. 1 Distribution of medicinal plants of the SPCDMP collection according to groups of active principles.

noide (11%). În minoritate se clasează cumarinele, ponderea acestora constituind 5%.

Studiile recente au atestat că conținutul compușilor chimici în plante depinde de factori intrinseci – genotipul plantei și factori extrinseci – mediu ambiant, manipulare/colectare și depozitare a produselor vegetale. Acumularea principiilor active, realizată preponderent în cuticulă, epidermă și trihomi, este direct proporțională cu expunerea la razele ultraviolete. De exemplu, a fost demonstrată influența perioadei de recoltare a produsului vegetal de anghinare (*Cynara scolymus* L.) asupra conținutului de principii active acumulate. Conținutul cel mai înalt a compușilor polifenolici s-a determinat la începutul de înflorire a plantei, când minim 15-20% din flori sunt deschise ($52,66 \pm 1,93$ GAE mg/g în frunzele bazale) [4].

Totodată, din numărul total al speciilor din colecție, 22 de plante sunt considerate cu potențial toxic (0,11%), prin conținutul de compuși chimici, supradozarea cărora pot provoca intoxicație. Acestea sunt, în mare parte, plante cu conținut de alcaloizi, heterozide cardiotonice și cianogenice, saponozide furocumarine, derivații antracenului, rezine și ulei volatil. Plantele cu potențial toxic sunt din diverse categorii, în funcție de toxicitate, la administrarea lor perorală:

- *extrem de toxice*: sunt considerate plantele care provoacă intoxicație în doze de 5 mg/kg masă corporală și mai puțin, în aceasta grupă se regăsesc: *Atropa belladonna* L., *Hyoscyamus niger* L., *Datura stramonium* L., *Scopolia carniolica* Jacq., *Ricinus communis* L., *Digitalis purpurea* L., *Conium maculatum* L., *Iuniperus sabina* L.;
- *foarte periculoase*: plantele care provoacă intoxicație de la 5 până la 50 mg/kg greutate corporală. Din colecție, în acest grup clasăm: *Chelidonium majus* L., *Convallaria majalis* L., *Adonis vernalis* L., *Buxus sempervirens* L., *Solanum dulcamara* L.;
- *moderat de periculoase*: sunt plantele care provoacă semne de intoxicație la ingerare de la 50 până la 500 mg/kg masă corporală, cum ar fi: *Ranunculus sceleratus* L., *Cynoglossum officinale* L., *Aristolochia clematidis* L., *Hedera helix* L., *Tanacetum vulgare* L. [5].

Mecanismele de acțiune ale plantelor toxice sunt diverse și depind de grupul de compuși chimici, proprietăți și concentrația lor în organe. Neuroreceptorii reprezintă ținta principală pentru multe principii active, care au o structură chimică asemănătoare cu neurotransmițătorii endogeni, cum ar fi acetilcolina, dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina, receptorii GABA. Principiile neuroactive pot funcționa fie ca agonști, care suprastimulează neuroreceptorii, fie ca antagonști, care blochează un anumit neuroreceptor, prin excitație, halucinații și tulburări generale asupra sistemului nervos central [5].

Plantele medicinale din colecția Centrului au fost evaluate după acțiuni farmacologice și repartizate după sisteme (Tabelul 1): sistemul nervos, digestiv, respirator, cardiovascular, excretor, procese metabolice, inclusiv plante medicinale cu proprietăți antibacteriene, antimicotice și antihelmințice, în mare parte produse care se regăsesc în studiu în cadrul proiectului: „*Studiul biologic și fitochimic al plantelor medicinale*

tannins (12%), bitter substances (12%) and flavonoids (11%). Coumarins are in the minority, their share being 5%.

Recent studies have shown that the content of chemical compounds in plants depends on intrinsic factors – plant genotype and extrinsic factors – environment, handling / collection and storage of vegetal products. The accumulation of active principles, mainly in the cuticle, epidermis and trichomes, is directly proportional to exposure to ultraviolet rays. For example, the influence of the harvest period of the artichoke vegetal product (*Cynara scolymus* L.) on the content of accumulated active principles has been demonstrated. The highest content of polyphenolic compounds in the basal leaves was determined at the beginning of flowering of the plant, when at least 15-20% of the flowers are open (52.66 ± 1.93 GAE mg/g) [4].

At the same time, out of the total number of species in the collection, 22 plants are considered with toxic potential (0.11%), due to the content of chemical compounds, the overdose of which can cause intoxication. These are mostly alkaloid-containing plants, cardiogenic and cyanogenic heterosides, furocoumarin saponosides, anthracene derivatives, resins and essential oil. Potentially toxic plants fall into various categories, depending on toxicity, on their oral administration:

- *extremely toxic*: plants considered to cause intoxication in doses of 5 mg/kg body weight and less are considered to be found in this group: *Atropa belladonna* L., *Hyoscyamus niger* L., *Datura stramonium* L., *Scopolia carniolica* Jacq., *Ricinus communis* L., *Digitalis purpurea* L., *Conium maculatum* L., *Iuniperus Sabina* L.;
- *very dangerous*: plants that cause intoxication from 5 to 50 mg/kg body weight. From the collection, in this group we classify: *Chelidonium majus* L., *Convallaria majalis* L., *Adonis vernalis* L., *Buxus sempervirens* L., *Solanum dulcamara* L.;
- *moderately dangerous*: these are plants that cause signs of intoxication when ingested from 50 to 500 mg/kg body weight, such as: *Ranunculus sceleratus* L., *Cynoglossum officinale* L., *Aristolochia clematidis* L., *Hedera helix* L., *Tanacetum vulgare* L. [5].

The mechanisms of action of toxic plants are diverse and depend on the group of chemical compounds, their properties and concentration in organs. Neuroceptors are the main target for many active ingredients, which have a chemical structure similar to endogenous neurotransmitters, such as acetylcholine, dopamine, norepinephrine, adrenaline, serotonin, GABA receptors. Neuroactive principles can function either as agonists, which overstimulate neuroreceptors, or as antagonists, which block a certain neuroreceptor, through excitation, hallucinations and general disorders of the central nervous system [5].

The medicinal plants in the Centre's collection were evaluated by pharmacological actions and distributed by systems (Table 1): nervous, digestive, respiratory, cardiovascular, excretory, metabolic processes, including medicinal plants with antibacterial, antifungal, and anthelmintic properties, mostly products that are found in the study within the project: “*Biological and phytochemical study of medicinal plants with antimicrobial, antioxidant and hepatoprotective activity*” [6, 7].

Table 1. Plante medicinale cu conținut de principii active, repartizate după acțiunea farmacologică.**Table 1.** Medicinal plants containing active ingredients, distributed according to their pharmacological action.

Plante cu acțiune asupra sistemului nervos // *Plants with action on the nervous system*

- Analgezice / *Analgesics*: *Amygdalus communis* L., *Atropa belladonna* L., *Chelidonium majus* L., *Macleaya microcarpa* (Maxim.), *Papaver somniferum* L.
- Sedative / *Sedatives*: *Ginkgo biloba* L., *Humulus lupulus* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Valeriana officinalis* L.
- Antiparkinsonice / *Antiparkinsonian*: *Datura stramonium* L.

Plante cu acțiune asupra sistemului digestiv // *Plants with action on the digestive system*

- Coleretice, colagoge / *Choleretics, collagogues*: *Berberis vulgaris* L., *Betula verrucosa* L., *Calendula officinalis* L., *Chelidonium majus* L., *Centaurea cyanus* L., *Cynara scolymus* L., *Dracocephalum moldavica* L., *Fraxinus excelsior* L., *Fumaria officinalis* L., *Gypsophila paniculata* L., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Hypericum perforatum* L., *Mentha piperita* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Silybum marianum* (L.) Gaertner, *Tanacetum vulgare* L., *Taraxacum officinale* (L.) Weber, *Rosa canina* L.
- Laxative, purgative / *Laxatives, purgatives*: *Armoracia rusticana* Gaertn., Mey. et Scherb., *Linum usitatissimum* L., *Ricinus communis* L.
- Carminative / *Carminatives*: *Anethum graveolens* L., *Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Fumaria officinalis* L., *Levisticum officinale* Koch., *Ocimum basilicum* L., *Nepeta cataria* L.
- Stomahice / *Stomachicals*: *Achillea millefolium* L., *Acorus calamus* L., *Anethum graveolens* L., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia vulgaris* L., *Carum carvi* L., *Cichorium inthybus* L., *Coriandrum sativum* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Inula helenium* L., *Levisticum officinale* Koch., *Ocimum basilicum* L., *Rumex acetosa* L., *Symphytum officinale* L., *Taraxacum officinale* (L.) Weber.
- Hepatoprotectoare / *Hepatoprotectives*: *Agrimonia eupatoria* L., *Chelidonium majus* L., *Cichorium inthybus* L., *Cynara scolymus* L., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Silybum marianum* (L.) Gaertner, *Symphytum officinale* L., *Potentilla anserina* L.
- Galactogoge: *Carum carvi* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Galega officinalis* L.

Plante cu acțiune asupra sistemului respirator // *Plants with action on the respiratory system*

- Antitusiv / *Antitussives*: *Amygdalus communis* L., *Glaucium flavum* Crantz., *Papaver rhoeas* L., *Papaver somniferum* L., *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L.
- Expectorante / *Expectorantes*: *Althaea officinalis* L., *Armoracia rusticana*, *Eryngium planum* L., *Hyssopus officinalis* L., *Inula helenium* L., *Iris germanica* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Gypsophila paniculata* L., *Marrubium vulgare* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L., *Saponaria officinalis* L., *Tussilago farfara* L., *Verbascum phlomoides* L.

Table 2. Plante medicinale cu conținut de principii active, repartizate după acțiunea farmacologică.**Table 2.** Medicinal plants containing active ingredients, distributed according to their pharmacological action.

Plante cu acțiune asupra sistemului cardiovascular // *Plants with action on the cardiovascular system*

- Antihipertensive / *Antihypertensives*: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, *Aesculus hippocastanum* L., *Viburnum opulus* L.
- Cardiotonice / *Cardiacs*: *Adonis vernalis* L., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, *Convallaria majalis* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Digitalis lanata* Ehrh., *Digitalis purpurea* L., *Leonurus cardiaca* L.

Plante cu acțiune asupra aparatului excretor // *Plants with action on the excretory system*

- Diuretice / *Diuretics*: *Berberis vulgaris* L., *Betula verrucosa* L., *Centaurea cyanus* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Filipendula ulmaria* L. Maxim., *Fraxinus excelsior* L., *Galium verum* L., *Juniperus communis* L., *Iris germanica* L., *Lamium album* L., *Levisticum officinale* Koch., *Ocimum basilicum* L., *Padus racemosa* Gilib., *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss., *Polygonum aviculare* L., *Populus nigra* L., *Prunus padus* L., *Prunus spinosa* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Saponaria officinalis* L., *Solidago canadensis* L., *Solidago virgaurea* L., *Thymus serpyllum* L., *Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia tomentosa* Moench., *Trifolium pratense* L., *Urtica dioica* L., *Viburnum opulus* L., *Zea mays* L.
- În litiaze renale / *In nephrolithiasis*: *Acorus calamus* L., *Corylus avellana* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Zea mays* L.

Plante cu acțiune asupra proceselor metabolice // *Plants with action on the metabolic processes*

- Antiinflamatoare / *Antiinflammatorys*: *Althaea officinalis* L., *Bergenia crassifolia* (L.), *Calendula officinalis* L., *Chaenomeles japonica* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Filipendula ulmaria* L. Maxim., *Fraxinus excelsior* L., *Galium verum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Hypericum perforatum* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Macleaya microcarpa* (Maxim.) *Matricaria chamomilla* L.
- Vitaminizante / *Vitamins*: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., *Chaenomeles japonica* L., *Calendula officinalis* L., *Capsella bursa pastoris* (L.) Medic., *Daucus carota* L., var. *Sativa*, *Fragaria vesca* L., *Viburnum opulus* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Pastinaca sativa* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss., *Ribes nigrum* L., *Rosa canina* L., *Rubus fruticosus* L., *Rubus idaeus* L., *Sorbus aucuparia* L., *Zea mays* L.
- Antihistaminice / *Antihistamines*: *Matricaria chamomilla* L., *Verbascum phlomoides* L.
- Hipoglicemizante / *Hypoglycemics*: *Cichorium inthybus* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Galega officinalis* L., *Junglans regia* L., *Salvia officinalis* L., *Sorbus aucuparia* L., *Urtica dioica* L.

Plante cu proprietăți antibacteriene, antimicotice și antihelmintice // *Plants with antibacterial, antifungal and anthelmintic properties*

- Antibacteriene / *Antibacterial*: *Aristolochia clematitis* L., *Bergenia crassifolia* (L.), *Coriandrum sativum* L., *Cornus mas* L., *Ginkgo biloba* L., *Hypericum perforatum* L., *Macleaya microcarpa* (Maxim.), *Nepeta cataria* L., *Thymus vulgaris* L.
- Antimicotice / *Antifungal*: *Hippophae rhamnoides* L., *Rosa damascena* Mill.
- Antihelmintice / *Anthelmintic*: *Achillea millefolium* L., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia vulgaris* L., *Cornus mas* L., *Inula helenium* L., *Ruta graveolens* L., *Tanacetum vulgare* L.

cu acțiune antimicrobiană, antioxidantă și hepatoprotectoare” [6, 7].

Materia primă vegetală utilizată în fitoterapie, în industria de medicamente este reprezentată de produsul vegetal medicinal, care prin particularitățile genetice și funcționale ale speciei, în urma biosintezei, acumulează principiile active. Recoltarea produselor vegetale prezintă o operațiune importantă din complexul de lucrări, prin care se asigură calitatea în strictă corespundere cu cerințele farmaceutice, condiționarea produselor vegetale, cât și asigurarea condițiilor de păstrare.

Conform datelor prezentate în Figura 2, ponderea cea mai înaltă, din produsele vegetale recoltate din colecție o constituie părțile aeriene (34,5%), urmate de inflorescențe (17,5%). În minoritate se recoltează scoarța și părțile subterane.

Optimizarea metodelor de extragere a principiilor active

O condiție primordială în asigurarea unei concentrații maxime de principii active în soluțiile extractive, este optimizarea metodelor de extracție. Astfel, au fost optimizate condițiile de extracție a compușilor fenolici în părți aeriene de *Hyperici herba*, *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, cu utilizarea alcoolului etilic în concentrație de 30-90%, cu extragere optimă a polifenolilor și flavonoidelor, având în calitate de extragent alcool etilic de 50-60% [8]. Prin procedeul extracției fracționate și caracteristicii spectrale a fracțiilor extractive din florile de *Centaurea cyanus* a fost demonstrată necesitatea extracției succesive cu cloroform și alcool etilic, pentru înlăturarea clorofilei [9].

În prezent se utilizează pe larg planurile experimentale în studiul comparativ al metodelor de extracție. Folosirea planului experimental fracționat D optimal cu trei factori și două niveluri a demonstrat că conținutul maxim de principii active din *Cynarae folia* se obțin prin extracția asistată de ultrasunet; folosind planul experimental fracționat rezoluție V+ cu cinci

The vegetal raw material used in phytotherapy, in the medicine industry is represented by the medicinal vegetal product, which through the genetic and functional particularities of the species, following the biosynthesis, accumulates the active principles. The harvesting of vegetal products presents an important operation from the complex of works, through which the quality is ensured in strict accordance with the pharmacopoeic requirements, the conditioning of the vegetal products, as well as the ensuring of the storage conditions.

According to the data presented in Figure 2, the highest share of vegetal products harvested from the collection belongs to aerial parts (34.5%), followed by inflorescences (17.5%). In the minority are harvested bark and underground parts.

Optimization for extraction methods of active principles

A primordial condition in ensuring a maximum concentration of active principles in extractive solutions, is optimization of extraction methods. Thus, the extraction conditions of phenolic compounds in the aerial parts of *Hyperici herba*, *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, with the use of ethyl alcohol in a concentration of 30-90%, had shown optimal extraction of polyphenols and flavonoids having as extragent 50-60% ethyl alcohol [8]. By the procedure fractional extraction and spectral characteristic of extractive fractions from *Centaurea cyanus* flowers has been shown to require successive extraction with chloroform and ethyl alcohol, for the removal of chlorophyll [9].

Experimental plans are currently widely used in the comparative study of extraction methods. Using the optimal fractional experimental plan D with three factors and two levels demonstrated that the maximum content of active ingredients in *Cynarae folia* is obtained by ultrasound-assisted extraction; using the fractional resolution experimental plan V + with five

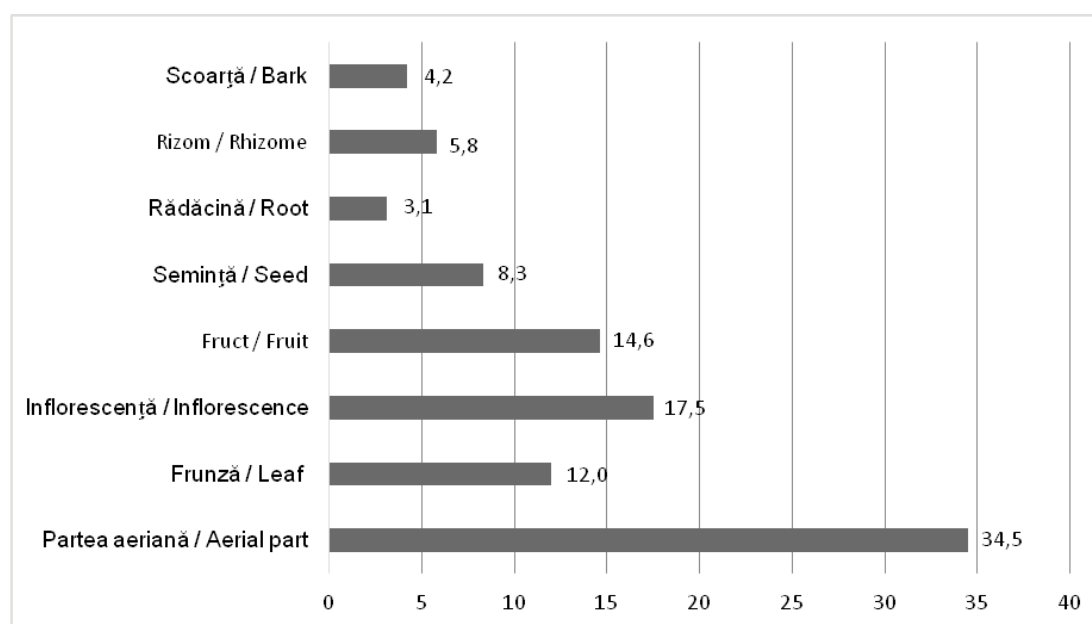


Fig. 2 Produse vegetale recoltate din colecția CȘPDMP (%).

Fig. 2 Vegetable products harvested from the SPCDMP (%)

factori și două niveluri 2^{5-2} , a fost evidențiat regimul optimal de lucru: temperatura de 80°C, durata de extracție 30 minute, concentrația alcoolului 70% la amplitudinea de 100 kHz [10].

Identificarea și dozarea principiilor active

În analiza chimică a produselor vegetale se utilizează multiple metode analitice ca: reacțiile de culoare, metode titrimetrice, gravimetrice, însă tendința mondială este configurată de utilizarea metodelor fizico-chimice spectrale, electrochimice și de cromatografie. Prin aplicarea reacțiilor specifice de identificare, culoare și precipitare au fost puse în evidență grupe de flavonoide: flavone, flavanone, flavonoli, flavononoli în produsele vegetale: *Agrimoniae herba*, *Centaureae flores*, *Cichorii herba*, *Cynarae folia*, *Hyperici herba*, *Rubi fruticosi fructus*, iar prin cromatografie pe strat subțire s-au pus în evidență constituenți fenolici: rutozidă, quercetozidă, apigenină, acid cafeic și acid clorogenic [11, 12, 13].

Prin analiza HPLC a frunzelor de anghinare (*Cynarae folia*) au fost identificați 7 compuși cu conținutul în descreștere după cum urmează: acid clorogenic, acid cafeic, apigenină, luteolină, acid ferulic, acid p-cumaric și acid gentisic, iar în inflorescențe au fost identificați și dozați doar 4 compuși: acidul clorogenic, apigenina, luteolina și acidul cafeic [14]. Screeningul HPLC a părților aeriene de *Centaurea cyanus* a relevat prezența acizilor fenilpropanici, a flavonilor și flavonolilor și a determinat cantitativ hiperozida, apigenina și acidul clorogenic [9].

Un vector nou al cercetărilor fitochimice și fitoterapeutice se bazează pe confirmarea eficacității componentelor uleiurilor volatile ca agenți antimicrobieni. Provocarea majoră în studiul uleiurilor volatile constă din complexitatea tehnologiilor de extracție și separare a acestor principii active. Pentru izolarea și analiză chimică a uleiului volatil de *Hypericum perforatum* L. au fost recoltate părțile aeriene ale speciei (în faza de înflorire în masă), din flora spontană a Republicii Moldova și din colecția CȘPDPM. S-a dovedit, că în părțile aeriene proaspete recoltate din flora spontană conținutul de ulei volatil a fost 0,303% și din colecție 0,204% [15]. Prin gaz cromatografie cu spectrometrie de masă în uleiul volatil din produsul vegetal (*Hyperici herba*) colectat din flora spontană s-au identificat 97 de componente, 33 din care constituie totalul de 82,26%, componentii majori fiind următorii: β -cariofilen (18,39%), germacren D (15,55%), β -pinen (12,47%), β -cis-ocimen (7,12%). Componentii majori al uleiului volatil din *Hyperici herba* colectată din colecția CȘPDPM sunt: germacren D (35,78%), β -cariofilen (24,75%), biciclogermacren (5,64%) iar rezultatele obținute au demonstrat că conținutul și compoziția chimică a uleiului volatil din părțile aeriene de *H. perforatum* sunt influențate de condițiile de creștere [16].

Determinarea acțiunii antioxidante

În ultimii ani, o mare atenție a fost acordată antioxidanților și asocierii lor cu multiple beneficii asupra sănătății, multe dintre aceste studii concentrându-se asupra compușilor polifenolici [17]. Substanțele antioxidante au abilitatea de a inhiba acțiunea nefastă a radicalilor liberi, care sunt molecule cu un electron impar pe orbitalul extern, protejând astfel organismul uman de efectele nocive. Pentru determinarea activității antioxidante a unor plante medicinale din colecția CȘPDPM,

factors and two levels 2^{5-2} , the optimal working regime was highlighted: temperature 80°C, extraction time 30 minutes, alcohol concentration 70% at the 100 kHz amplitude [10].

Identification and dosing of active principles

In the chemical analysis of vegetal products are used multiple analytical methods such as: color reactions, titrimetric methods, gravimetric, but the global trend is configured using physico-chemical methods, spectral, electro-chemical and chromatographic. By applying specific reactions of identification, color and precipitation were highlighted groups of flavonoids: flavones, flavanones, flavonols, flavononols in vegetal products: *Agrimoniae herba*, *Centaureae flores*, *Cichorii herba*, *Cynarae folia*, *Hyperici herba*, *Rubi fruticosi fructus* and thin layer chromatography showed phenolic constituents: rutoside, quercetoside, apigenin, caffeic acid and chlorogenic acid [11, 12, 13].

HPLC analysis of artichoke leaves (*Cynarae folia*) identified 7 compounds with decreasing content as follows: chlorogenic acid, caffeic acid, apigenin, luteolin, ferulic acid, p-coumaric acid and gentisic acid, and in the inflorescences were identified and dose only 4 compounds: chlorogenic acid, apigenin, luteolin and caffeic acid [14]. HPLC screening of the aerial parts of *Centaurea cyanus* revealed the presence of acids, phenylpropanes, flavones and flavonols and quantitatively determination of the hyperoside, apigenin and chlorogenic acid [9].

A new vector of phytochemical and phytotherapeutical research is based on the confirmation of the effectiveness of essential oil components as antimicrobial agents. The major challenge in the study of essential oils consists in the complexity of extraction and separation technologies of these active principles. For the isolation and chemical analysis of the essential oil of *Hypericum perforatum* L. the aerial parts of the species were harvested (in the mass flowering phase), from spontaneous flora of the Republic of Moldova and from the SPCFMP collection. It turned out, that in the aerial parts freshly harvested from spontaneous flora the essential oil content was 0.303% and from collection 0.204% [15]. By gas chromatography with mass spectrometry in essential oil from vegetal product (*Hyperici herba*) collected from spontaneous flora were identified 97 components, 33 of which constitute a total of 82.26%, the major components being the following: β -caryophyllen (18.39%), germacren D (15.55%), β -pinen (12.47%), β -cis-ocimen (7.12%). Major components of the essential oil from *Hyperici herba* collected from the SPCFMP collection are: germacren D (35.78%), β -caryophyllene (24.75%), biciclogermacren (5.64%) and the obtained results showed that the content and chemical composition of the essential oil in the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. are influenced by growing conditions [16].

Determination of antioxidant action

In recent years, great attention has been paid to antioxidants and their association with multiple health benefits, many of these studies are focusing on polyphenolic compounds [17]. Antioxidants have the ability to inhibit the harmful action of free radicals, which are molecules with one electron odd on the outer orbital, thus protecting the human body from harmful effects. For determination of the antioxidant activity of

s-au aplicat trei tehnici complementare (DPPH, ABTS, FRAP). S-a constatat că extractele din diverse produse vegetale, pot preveni acțiunea oxidantă a radicalilor liberi prin captarea sau inhibiția lor, după cum urmează, în descreștere a potențialului antioxidant: *A. eupatoria* > *C. inthybus* > *R. fruticosus* > *H. perforatum* > *C. scolymus*. Aceste date au fost corelate cu conținutul de compuși polifenolici [7, 18].

Determinarea acțiunii antiinflamatorii

Studiul activității antiinflamatorii a extractului polifenolic și poliholozidic din părți aeriene de *C. cyanus* L. a fost realizat *in vivo* prin inducerea edemului labei posterioare la șobolani. Ambele extracte au demonstrat eficacitate în condițiile inflamației acute. Extractul polifenolic a manifestat acțiune antiinflamatoare pronunțată, comparabilă cu cea a diclofenacului de sodiu – antiinflamator nesteroidian, utilizat ca standard. Administrarea extractelor analizate în inflamația indusă a exercitat influență pozitivă asupra indicilor hematologici [19, 20].

S-a demonstrat de asemenea și acțiunea antiinflamatoare *in vivo* a extractelor uscate din *Hyperici flores* și *Hyperici herba*. Extractele uscate au fost introduse intraperitoneal în dozele 50-200 mg/kg. S-a demonstrat că inhibiția inflamației extractului din părțile aeriene este mai pronunțată comparativ cu cea a extractului din flori.

Determinarea acțiunii bacteriostatice, bactericide și antifungice

Studiul activității antibacteriene a uleiului volatil din *Hyperici herba* a fost analizată prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid (bulion peptonat din carne). Activitatea antibacteriană a fost analizată pe următoarele culturi de referință a microorganismelor Gram-pozitive: *Staphylococcus aureus* (tulpina 209-P) și Gram-negative: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (tulpina ATCC 25922), *Proteus vulgaris* (tulpina HX 19222), *Pseudomonas aeruginosa* (tulpina ATCC 27853). Proprietatea antifungică a uleiului volatil au fost demonstrată pe tulpini de *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* și *Penicillium*. Rezultatele studiului au constatat că uleiul volatil din *Hypericum perforatum* L. manifestă activitate bacteriostatică înaltă față de microorganismele Gram-pozitive, în concentrație de 0,0009% către *S. aureus* și 0,125% către *E. faecalis*. Activitatea bactericidă față de *S. aureus* constituie 0,0037%, și față de *E. faecalis* – 0,25%. Concentrația bacteriostatică și bactericidă a uleiului volatil către microorganismele Gram-negative: *E. coli* (tulpina ATCC 25922), *P. vulgaris* (tulpina HX 19222) și *P. aeruginosa* (tulpina ATCC 27853) este mai mare de 0,5%. Uleiul volatil din *Hyperici herba* a demonstrat proprietăți antifungice față de toți fungii luați în studiu până la concentrația de 0,5% [21].

Activitate antimicrobiană au demonstrat și extractele din *Cynara scolymus*, obținute prin metoda asistată de ultrasunete. A fost determinată concentrația bactericidă minimă față de *S. aureus*, *P. aeruginosa* și *B. cereus* (0,341 mg/ml) și *E. coli* și *C. albicans* (0,687 mg/ml) [22].

Determinarea viabilității și citotoxicității pe hepatocite izolate

În extractele de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*, considerate practic netoxice atât la administrarea enterală cât

some medicinal plants from the SPCFMP collection, were applied three complementary techniques (DPPH, ABTS, FRAP). It was found that extracts from various vegetal products, can prevent the oxidative action of free radicals by capturing or their inhibition, as follows, in decreasing antioxidant potential: *A. eupatoria* L. > *C. inthybus* L. > *R. fruticosus* L. > *H. perforatum* L. > *C. scolymus* L. These data were correlated with the content of polyphenolic compounds [7, 18].

Determination of anti-inflammatory action

Study of anti-inflammatory activity of the polyphenolic and polyholosidic extract of aerial parts of *C. cyanus* L. was performed *in vivo* by inducing the edema of the hind paw in rats. Both extracts demonstrated efficacy in conditions of acute inflammation. The polyphenolic extract showed pronounced anti-inflammatory actions, comparable to that of sodium diclofenac – anti-inflammatory nonsteroidal, used as standard. The administration of the analyzed extracts in induced inflammation exerted a positive influence on hematological indices [19, 20].

Have also been demonstrated the anti-inflammatory action *in vivo* of dry extracts of *Hyperici flores* and *Hyperici herba*. Dry extracts were introduced intraperitoneally in doses of 50-200 mg/kg. Inhibition of inflammation of the extract from the aerial parts has been shown to be more pronounced compared to that of the flower extract.

Determination of bacteriostatic, bactericidal, and antifungal action

Study of antibacterial properties of the essential oil of *Hyperici herba* was performed by the dilution method in series in liquid nutrient medium (meat peptone broth). Antibacterial activity was analyzed on the following reference cultures of Gram-positive microorganisms: *Staphylococcus aureus* (209-P strain) and Gram-negative: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (ATCC 25922 strain), *Proteus vulgaris* (HX 19222 strain), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 strain). The antifungal property of essential oil has been demonstrated on strains of *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* and *Penicillium*. The results of the study found that the essential oil in *Hypericum perforatum* L. exhibits high bacteriostatic activity against Gram-positive, at a concentration of 0.0009% to *S. aureus* and 0.125% to *E. faecalis*. The bactericidal activity against *S. aureus* constitutes 0.0037%, and compared to *E. faecalis* – 0.25%. Bacteriostatic and bactericidal concentration of essential oil to Gram-negative microorganisms: *E. coli* (ATCC 25922 strain), *P. vulgaris* (HX19222 strain) and *P. aeruginosa* (ATCC 27853 strain) is greater than 0.5%. The essential oil from *Hyperici herba* has demonstrated antifungal properties against all fungi studied up to concentration of 0.5% [21]. The antimicrobial activity was also demonstrated by the extracts from *Cynara scolymus* L., obtained by the ultrasound-assisted method. The minimum bactericidal concentration against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *B. cereus* (0.341 mg/ml) and *E. coli* and *C. albicans* (0.687 mg/ml) was determined [22].

Determination of viability and cytotoxicity on isolated hepatocytes

In the extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, considered practically non-toxic for both enteral and parenteral

și parenterală: (DL25% = 4412 mg/kg pentru extractul din *Agrimoniae herba*); (DL50% >5000 mg/kg pentru extractele din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba*), conform Metodei TG 423 (Acute Toxic Class Method) ce au caracterizat extractele ca fiind practic inofensive-clasa de toxicitate 5 [23], s-a determinat *in vitro* viabilitatea și citotoxicitatea celulară pe hepatocite. Hepatocitele izolate de la șobolani, în două etape conform protocolului, s-au tratat cu reagentul MTT (bromură de 3-(4,5-dimetiltiazol)-2,5-difenil-2H-tetrazolium), apoi cu extracte de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* în concentrații de 100 mg, 200 mg, 600 mg, 1000 mg, cu măsurarea ulterioară a absorbanței și efectuarea calculelor. Viabilitatea celulară a hepatocitelor tratate cu extract de *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* în dozele de 100 mg și 200 mg sunt similare și constituie 92% și respectiv 76% față de lotul martor; doza de 600 mg prezintă 77,1% pentru *Agrimoniae herba* și respectiv 57,2% pentru *Cichorii herba*. Cea mai mică viabilitate celulară s-a atestat la concentrația de 1000 mg, aceasta fiind de 41,6% la *Cichorii herba* și 49,9% pentru *Agrimoniae herba*, doză considerată cu cea mai înaltă acțiune citotoxică. Astfel, dozele de 100-600 mg obținute din *Agrimoniae herba* și *Cichorii herba* manifestă viabilitate celulară și nu afectează celulele hepatice, respectiv pot fi utilizate în studii ulterioare.

Discuții

Cunoașterea compoziției chimice a plantelor precum și dinamica acumulării acestor metaboliți secundari în organe prezintă un interes deosebit, pentru aprecierea valorii terapeutice și a tehnicii de extracție sau izolare, astfel încât acțiunea farmacologică să fie maximală. Studiile fitochimice și biologice a plantelor medicinale din colecția Centrului rămâne una din direcțiile prioritare de cercetare, colecție cu 200 taxoni de plante din 14 grupe de principii active cu diverse acțiuni farmacoterapeutice, inclusiv plante cu risc de vulnerabilitate și grad de dispariție. În buna cunoaștere și promovare a plantelor medicinale s-a editat compendiu „*Plante din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu”*” și ghidul „*Centrul Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale*” pentru petrecerea stagiului practic la disciplinele „Botanica farmaceutică” și „Farmacognozie” pentru studenții Facultății de Farmacie, cât și specialiștilor în domeniul plantelor medicinale și consumatorilor de produse fitoterapeutice.

În studiul nostru s-a realizat evaluarea și repartizarea plantelor din colecție după conținutul chimic al produselor vegetale, acțiunii farmacologice, gradul de vulnerabilitate și toxicitate, ce denotă că colecția include un număr semnificativ de plante cu conținut de ulei volatil, urmat de compuși fenolici, flavonoidi, taninuri, vitamine, alcaloizi, etc, specii cu un spectru larg de utilizări: ca agenți sedativi, antiinflamatori, antimicrobieni, carminativi, antihelmintici. Au fost elaborate metode de identificare și dozare a principiilor active cu aplicarea tehnicilor fizico-chimice spectrale și de cromatografie. S-au studiat procedee de optimizare a extracțiilor compușilor chimici, asistate de ultrasunet, macerare și diferite concentrații ale reagenților, în extragerea optimală a principiilor active.

administered: (LD25% = 4412 mg/kg for *Agrimoniae herba* extract); (LD50% >5000 mg/kg for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*), according to TG 423 (Acute Toxic Class Method) which characterized the extracts as practical harmless-toxicity class 5 [23], were determined *in vitro* viability and cytotoxicity – on hepatocytes. Hepatocytes isolated from rats, in two stages according to protocol, were treated with MTT reagent (3-(4,5-dimethylthiazole)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium), then with extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* in concentrations of 100 mg, 200 mg, 600 mg, 1000 mg, with subsequent absorbance measurement and performance calculations. Cell viability of hepatocytes treated with *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* extract in doses of 100 mg and 200 mg are similar and constitute 92% and respectively 76% compared to the control group; the 600 mg dose presents 77.1% for *Agrimoniae herba* and 57.2% for *Cichorii herba*, respectively. The lowest cell viability was attested at concentration of 1000 mg, this being 41.6% for *Cichorii herba* and 49.9% for *Agrimoniae herba*, dose considered with the highest cytotoxic action. Thus, doses of 100-600 mg obtained from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba* show cell viability and do not affect liver cells, respectively can be used in further studies.

Discussion

The knowledge of the chemical composition of plants as well as the dynamics of the accumulation of these secondary metabolites in organs is of particular interest, for appreciation of the therapeutic value and of the extraction or isolation technique, so that the pharmacological action to be maximally potent.

Phytochemical and biological studies of medicinal plants from the Centre's collection remain one of the priority research directions, a collection with 200 plant taxa from 14 groups of active principles and various pharmacotherapeutic actions, including plants at risk of vulnerability and extinction. In good knowledge and promotion of medicinal plants, was successfully edited the compendium “*Plants from the collection of the Scientific Center for Cultivation of Medicinal Plants Nicolae Testemitanu SUMPh*” and the guide “*Scientific Center for Cultivation of Medicinal Plants*” for practical training in the disciplines “Pharmaceutical botany” and “Pharmacognosy” of students from Faculty of Pharmacy, as well as specialists in the field of medicinal plants and consumers of phytotherapeutic products.

In our study we evaluated and distributed the plants from the collection by chemical content of vegetal products, pharmacological actions, degree of vulnerability and toxicity, which indicates that the collection includes a significant number of plants with essential oil content, followed by phenolic compounds, flavonoids, tannins, vitamins, alkaloids, etc., species with a wide range of uses: as sedatives, anti-inflammatory, antimicrobial, carminative, anthelmintic. Methods for identification and dosing of active principles have been developed, with the application of spectral physico-chemical and chromatography techniques. Were studied procedures for optimizing

Studiul activității farmacologice al extractelor din plante, realizat *in vitro* și *in vivo*, prin cercetarea potențialului antioxidant (metoda DPPH, ABTS și FRAP); antimicrobian (metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid); antiinflamator (inducerea edemului labei posterioare la șobolani) și determinarea viabilității și citotoxicității pe hepatocite izolate cu reagentul MTT, denotă că plantele și produsele vegetale din colecție pot servi ca sursă de materie primă pentru industria farmaceutică.

Concluzii:

1) Centrul Științifico-Practic în Domeniul Plantelor Medicinale a USMF „Nicolae Testemițanu” poate servi la bioconservarea plantelor medicinale din flora spontană, precum și celor rare și pe cale de dispariție, prin introducerea lor în cultură.

2) Centrul servește ca un edificiu educațional atât pentru studenții Facultății de Farmacie cât și a altor instituții cu profil medical, farmaceutic, biologic, prin popularizarea științei, utilizarea rațională a plantelor medicinale, cât și prin perspectiva utilizării colecției de plante ca bază științifică și schimb de experiență.

3) Plantele medicinale din colecția Centrului pot servi ca sursă de materie primă pentru industria farmaceutică autohtonă în scopul obținerii de noi produse fitoterapeutice.

Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal în realizarea studiului și elaborarea manuscrisului.

Declarația conflictului de interese

Autorii declară lipsa oricărui conflict de interese, financiar sau nonfinanciar, asociat cu această lucrare.

Referințe / references

- Burac T. Plante noi și rare din Republica Moldova și România. *St. Cerc. Biol. Veget.*, vol. 48, nr. 2, București, 1996: 119-121.
- Ungureanu I. *et al.* Scientific Center for the Cultivation of Medicinal Plants, Chisinau, 2019: 3-28.
- Cartea Roșie a Republicii Moldova. Ediția a III, Chișinău, Ed. Știința, 2015: 492 p.
- Ciobanu C. Dinamica acumulării principiilor active în frunzele de *Cynara scolymus* L., cultivată în Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe. Științele vieții*. Chișinău, 2015; 1 (325): 144-151.
- Wink M. Mode of action and toxicology of plant toxins and poisonous plants. *Mitt. Julius Kühn-Inst.* 2009; 421: 93-112.
- Ciobanu N., Cojocaru-Toma M., Pompuș I., Chiru T., Ciobanu C., Benea A. Plante din colecția Centrului Științific de Cultivare a Plantelor Medicinale USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2019, Tipogr. Print Caro: 10-23.
- Ciobanu N., Cojocaru-Toma M. Ciobanu C., Benea A. Evaluation of polyphenolic profile and antioxidant activity of some species cultivated in the Republic of Moldova, *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 2019: 441-447.
- Nwafor I., Shale K., Achilonu M. Chemical composition and nutritive benefits of Chicory (*Cichorium intybus*) as an ideal complementary and/or alternative livestock feed supplement, *Scientific World Journal*, 2017; (11): 11-23.
- Chiru T. Phytochemical study of *Centaurea cyanus* L. *Scientific Papers, USAMV Bucharest, Series A, Vol. LII*, 2009: 293-297.
- Ciobanu C., Diug E., Calalb T., Tomuța I., Achim, M. Optimizarea metodei de extracție cu ultrasunet a principiilor active din specia *Cynara scolymus* L. *Curierul Medical*. Chișinău, 2015; 58 (2): 23-28.
- Abbas Z., Saggi S., Sakeran M. Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of Chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2015; 22 (3): 322-326.
- Ciobanu C., Calalb T., Diug E. Totalul polifenolic în produsul vegetal *Cynarae folia* recoltat în Republica Moldova. *Anale științifice*

the extraction of chemical compounds, assisted by ultrasound, maceration, and different concentrations of reagents, in the optimal extraction of active principles.

Study of the pharmacological activity of plant extracts, performed *in vitro* and *in vivo*, by researching the antioxidant potential (DPPH, ABTS and FRAP method); antimicrobial (method of serial dilutions in liquid nutrient medium); anti-inflammatory (induction of hind paw edema in rats) and determination of viability and cytotoxicity on isolated hepatocytes with MTT reagent, indicates that the plants and vegetal products from the collection can serve as a source of raw material for the pharmaceutical industry.

Conclusions

1) The Scientific-Practical Center in the Field of Medicinal Plants of *Nicolae Testemitanu* SUMPh can serve to bioconserve medicinal plants from spontaneous flora, as well as rarest and endangered ones, by introducing them in culture.

2) The Center serves as an educational edifice both for students of the Faculty of Pharmacy as well as other institutions with medical, pharmaceutical, biological profile, through the popularization of science, rational use of medicinal plants, as well as the perspective of using the plant collection as a scientific basis and exchange experience.

3) The medicinal plants from the collection of SPCFMP of *Nicolae Testemitanu* SUMPh can serve as a source of raw material for the local pharmaceutical industry in order to obtain new phytotherapeutic products.

Authors` contribution

All authors contributed equally to the study and elaboration of the manuscript.

Declaration of conflicting interests

All authors declare no conflict of interest or any financial or non-financial support for the submitted work.

- ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2012; vol. 1. ed. XIII-a: 310-313.
13. Cojocaru-Toma M., Ancuceanu R., Soloviov M., Babileva A. Spectrophotometric analysis of flavonoids in herbal products and extracts from *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*. *The Romanian National Congress of Pharmacy-17th edition*, Bucharest, Romania, Filodiritto Editore-Proceedings, 2018: 58-63.
 14. Чобану К., Дюг Е., Калалб Т., Чобану Н., Унгуряну И., Дюг О. Артишок колющий *Cynara scolymus* L. перспективное лекарственное растение для Республики Молдова. *Материалы всеукраинской научно-практической конференции с Международной участием „Применение методов лечения и аипрепаратов в медицинской, фармацевтической и косметической практике”*. Харьков, 2018: 74-78.
 15. Benea A., Goncariuc M. *et al.* Study of volatile oil from aerial parts of *Hypericum perforatum* L. by GC-MS. *Phytochemical society of Europe meeting*. Book of abstracts. Chisinau, 2018: 37.
 16. Benea A. *et al.* Conținutul și componența uleiului esențial la specii de *Hypericum* L. din flora spontană a Republicii Moldova. *Buletinul academiei de Științe a Moldovei. Științele Vieții*. V 2 (320), Chișinău, 2013: 87-93.
 17. Cojocaru-Toma M., Nistoreanu A., Ciobanu N., Crișan G. Studiul acțiunii antioxidante a unor plante medicinale din colecția CȘCPM USMF „Nicolae Testemițanu” prin utilizarea testului DPPH. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*, 2015; (1): 208-213.
 18. Muruzovic M. *et al.* Extracts of *Agrimonia eupatoria* L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. *J. Food Drug Anal*, 2016; 24 (3): 539-547.
 19. Chiru T., Antognoni F., Poli F., Nistoreanu A., Benea A. The antioxidant and anti-inflammatory activity of *Centuarea cyanus* L. extracts. *Phytochemicals in medicine and Pharmacognosy*. Piatra-Neamț, România, 27-30 aprilie, 2014, Book of abstracts: 31-33.
 20. Chiru T., Bacalov I., Nistoreanu A. Activitatea antiinflamatorie a extractelor din specia *Centaurea cyanus* L. *Anale Științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice, Zilele Universității 16-18 octombrie, ed. XIV-a Chișinău, 2013: 416-418.
 21. Benea A., Prisacari V. *et al.* Acțiunea antibacteriană și antifungică a uleiului volatil din *Hypericum perforatum* L. din flora Republicii Moldova. *Revista farmaceutică a Moldovei*, Chișinău, 2016: 88-90.
 22. Ciobanu C., Diug E., Ciobanu N., Balan G., Tomuta I. Antimicrobial evaluation of *Cynara scolymus* L. leaves extracts. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. Abstracts of the 22th International Congress Phytopharm 2018, 25-27 June, Horgen, Switzerland, 2018: 22.
 23. Cojocaru-Toma M., Parii S. *et al.* Determination of acute toxicity for extracts of *Agrimoniae herba* and *Cichorii herba*, *MJHS*, 2018; 16 (2): 35-43.



ARTICOL DE SINTEZĂ

Top 10 cele mai citate articole relaționate cu infecția SARS-CoV-2 ale anului 2020

Svetlana Plămădeală^{1,2}, Natalia Belii^{1,3*}

¹Catedra de anesteziologie și reanimatologie nr. 1 „Valeriu Ghereg”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Spitalul Internațional Medpark;

³Spitalul Republican pentru Copii „Em. Coțaga”.

Data recepționării manuscrisului: 24.11.2020

Data acceptării spre publicare: 05.12.2020

Autor corespondent:

Natalia Belii, dr. șt. med., asist. univ.

Catedra de anesteziologie și reanimatologie nr. 1 „Valeriu Ghereg”

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

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

e-mail: natalia.belii@usmf.md

REVIEW ARTICLE

Top 10 most cited articles related to SARS-CoV-2 infection of the 2020 year

Svetlana Plamadeala^{1,2}, Natalia Belii^{1,3*}

¹„Valeriu Ghereg” Chair of anaesthesiology and reanimatology no. 1, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Medpark International Hospital;

³The “Em. Coțaga” Clinic, the Institute of Mother and Child.

Manuscript received on: 24.11.2020

Accepted for publication: 05.12.2021

Corresponding author:

Natalia Belii, PhD., assist. prof.

„Valeriu Ghereg” Chair of anaesthesiology and reanimatology no. 1

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

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

e-mail: natalia.belii@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Deocamdată, la nivel internațional nu există o farmacoterapie specifică pentru infecția cu SARS-CoV-2, tiparul agresiv și nespecific de evoluție al căreia a luat prin surprindere întreaga comunitate medicală.

Ipoteza de cercetare

Revista de literatură curentă urmărește cele mai citate articole cu acces deschis ale anului 2020, relaționate cu noul tip de coronavirus.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Articolul reprezintă o selecție a celor mai citate publicații ale revistei „Intensive Care Medicine” pe parcursul anului 2020 la subiectul infecției cu SARS-CoV-2, aducând specialiștilor din domeniu o sinteză cu răspunsuri asupra celor mai dezbătute subiecte. Articolul vine să rezume actualizarea unor importante recomandări în domeniu.

What is not known yet, about this topic

At the moment, at the international level, there is no specific pharmacotherapy for SARS-CoV-2 infection – the which aggressive and non-specific pattern of evolution has taken the entire medical community by surprise.

Research hypothesis

The current literature review follows the most cited open access articles of 2020 related to the new type of coronavirus.

Article’s added novelty on this scientific topic

The article represents a selection of the most cited publications of the journal “Intensive Care Medicine” during 2020 year on the subject of SARS-CoV-2 infection, offering to the specialists of this field a valuable synthesis with answers to the most debated topics. The article summarizes the update of important recommendations in the field.

Rezumat

Introducere. La sfârșitul lunii decembrie 2019, în provincia Wuhan (China) a fost raportat un focar de pneumonie atipică cauzată de un nou tip de coronavirus (SARS-CoV-2), de o contagiozitate exponențială și letalitate înaltă. Infecția cu COVID-19 s-a dovedit a fi o boală zoonotică cu rezervor necunoscut, transmitere de la persoană-la-persoană (prin picături, aerosolii, obiecte și suprafețe contaminate) și cu afinitate

Abstract

Introduction. At the end of the December of 2019, an outbreak of atypical pneumonia caused by a new type of coronavirus (SARS-CoV-2), with exponential contagiousness and high lethality, was reported in Wuhan Province (China). COVID-19 infection has been shown to be a zoonotic disease with unknown reservoir, person-to-person transmission (through droplets, aerosols, objects and contaminated surfaces) and

pentru receptorul ACE2. La scurt timp sistemele medicale din lume s-au pomenit într-un colaps greu de imaginat pe cele mai diverse segmente.

Material și metode. A fost dată o căutare în platforma de publicații „Intensive Care Medicine” pentru articolele anului 2020 cu acces deschis relaționate cu tematica COVID-19. În ordinea descrescătoare a frecvenței descărcărilor și citării, au fost preluate primele 10 titluri populare. Au fost examinate surse în limba engleză, cu următoarele cuvinte cheie: „*management Covid-19*”, „*COVID-19*”, „*SARS-CoV-2 mortality*”, „*Covid-19 prevention*”.

Rezultate. Au fost identificate 219 de publicații, printre care studii pilot, reviste ale literaturii, recomandări și ghiduri de bună practică, scrisori către editor și sinteze de actualizări. Publicațiile potențial eligibile au inclus: studii clinice (uni- / multicentrice), fundamentale, ghiduri, epidemiologice și din domeniul sănătății publice. Au fost evidențiate 10 titluri, subiectul cărora a fost infecția cu SARS-CoV-2. Informația a fost analizată și sintetizată în prezenta revistă a literaturii.

Concluzii. De-a lungul primului an de pandemie COVID-19, comunitatea clinico-științifică internațională s-a luptat și concomitent a studiat maladia provocată de noul tip de coronavirus, demonstrând progrese cu referire la înțelegerea fiziopatologiei și caracterizarea formelor de evoluție a bolii, evaluarea continuă a tratamentelor antivirale, antiinflamatoare și imune existente, determinarea strategiei de oxigenare și ventilare, trasarea recomandărilor terapeutice – toate realizate contra cronometru și într-o luptă atroce pentru fiecare viață umană.

Cuvinte cheie: infecția cu SARS-CoV-2, ghid management al pacientului COVID-19.

Introducere

Răspândirea exponențială a infecției cu coronavirus 2019 (engl. *Corona Virus Disease 2019*, COVID 19) cauzată de virusul SARS-CoV-2 (engl., *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) în orașul Wuhan (provincia Hubei, China) a provocat mii de decese [1], astfel încât, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a ajuns să anunțe oficial stare de pandemie la 11 martie 2020 [2].

De-a lungul „anului pandemic” 2020, comunitatea academică și clinică a lumii medicale a publicat un număr impunător de lucrări pe tema infecției cu SARS-CoV-2. Astfel, în încercarea de a găsi soluții, avalanșa de articole a dezbătut strategiile de prevenire și de bună practică, aplicabilitate clinică a diverselor metode de tratament propuse și probleme conexe – toate în format de studii clinice, scrisori către editor, editoriale, note de actualizare și recenzii.

Este recunoscut deja că numărul de citații ale unui articol este o metodă veridică de a judeca despre impactul echipei de cercetători sau despre locul și meritul pe care îl ocupă articolul în lumea comunității științifice. În acest mod, celor mai frecvent citate articole li se poate oferi titlul de „citare clasică”.

Prezenta revistă a literaturii a avut drept scop identificarea celor mai citate 10 articole ale anului 2020 pe tematica

with affinity for the ACE2 receptor. Soon, the medical systems of the world found themselves in an unimaginable collapse of the most segments.

Material and methods. It was performed a search on the publication platform “Intensive Care Medicine” for the open access articles related to COVID-19 published in English language during the 2020 year. In descending order according to the frequency of downloads and citations, the first 10 popular titles were taken over. Searching keywords: “*Covid-19 management*”, “*COVID-19*”, “*SARS-CoV-2 mortality*”, “*Covid-19 prevention*”.

Results. It were identified 219 publications: pilot studies, literature reviews, recommendations and guides of good practice, letters to the editor and summaries of updates. Potentially eligible publications included: clinical trials (uni- / multicenter), fundamental, epidemiological and public health guidelines. Ten titles the subject of which was SARS-CoV-2 infection were highlighted. The information was analysed and synthesized in the present literature review.

Conclusion. During the first year of the COVID-19 pandemic, the international medical and scientific community has been fighting and, in the same time, studying the disease caused by the new type of coronavirus. Meanwhile, it was registered a progress in understanding of the underlying pathophysiology and disease forms, with continuous re-evaluation and update of existing antiviral, anti-inflammatory and immune treatments, it were determined oxygenation and ventilation strategies, underlined therapeutic recommendations – all of this timed and simultaneously with an atrocious fight for every human life.

Key words: SARS-CoV-2 infection, COVID-19 management.

Introduction

The exponential spread of coronavirus 2019 infectious disease (COVID 19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2) in Wuhan City (Hubei Province, China) has caused thousands of deaths [1], such that the World Health Organization (WHO) officially announced about the pandemic on the 11-th of March 2020 [2].

During the “pandemic year” 2020, the academic and clinical community of the medical world published an impressive number of papers on SARS-CoV-2 infection subject. Thus, in an attempt to find out rapid solutions, the avalanche of articles debated prevention and good clinical practice strategies, clinical applicability of the various proposed treatment methods and other related issues – all of them as different type of articles – clinical trials, letters to the editor, editorials, update notes and reviews.

It is known that the number of citations of an article is a true method of judging about the impact of the research team or the place and merit of the article in the scientific community world. In this way, the most frequently cited articles could be offered the title of “classic citation”.

This present literature review aimed to identify 10 the most

infecției cu SARS-CoV-2 ale revistei „Intensive Care Medicine”, cu furnizarea soluțiilor concrete și implementabile, pe care le oferă la moment comunitatea de specialitate.

Material și metode

A fost dată o căutare în platforma de publicații „Intensive Care Medicine” pentru articolele anului 2020 cu acces deschis, relaționate cu tematica COVID-19. În ordinea descrescătoare a frecvenței descărcărilor și citării, au fost selectate primele 10 titluri. Au fost examinate surse în limba engleză, cu următoarele cuvinte cheie: „management Covid-19”, „COVID-19”, „SARS-CoV-2 mortality”, „Covid-19 prevention”.

Pentru fiecare articol s-au analizat următoarele: publicația, corespunderea titlului cu itemul de căutare, numărul de citări, anul publicării, numărul de autori, tipul articolului (original, studiu clinic, revistă a literaturii, fundamental etc.) și disponibilitatea textului integral. Prioritatea a fost acordată articolelor în acces deschis. Parametrii căutați în mod special au fost: subiectul legat de infecția COVID-19 și locul după numărul de citări în revista „Intensive Care Medicine” printre articolele cu aceeași vârstă; parametru secundar: locul articolului ocupat printre totalitatea de articole de aceeași vârstă din toate revistele platformei SpringerLink.

„Intensive Care Medicine” reprezintă o platformă de publicații pentru comunicare, împărtășire a rezultatelor studiilor curente și a inovațiilor din domeniul terapiei intensive, având un Factor de Impact (FI) de 17,689 (2019) și 14,340 (ultimii 5 ani). FI al unei reviste academice este o unitate de măsură care reflectă numărul mediu de citări ale articolelor recent publicate în revista dată. Acesta aproximează importanța relativă a unei reviste științifice în domeniul său. Astfel, cu cât valoarea FI este mai mare, cu atât se consideră a fi mai importantă publicația.

În același timp, „Intensive Care Medicine” este revista oficială a Societății Europene de Terapie Intensivă, a Societății Europene de Pediatrie și Terapie Intensivă Neonatală. Durata medie de la depunerea articolului la redacția „Intensive Care Medicine” până la prima decizie – 10 zile, până la publicare – 51 zile.

Articolele au fost evaluate după o serie de indici: *Altmetric*, *Web of Science*, *CrossRef*, număr de descărcări solicitate.

Indicele *Altmetric* sumarizează un scor bazat pe atenția de care are parte o publicație în mediul on-line. Fiecare fir colorat din cerc reprezintă un tip divers de atenție online. Numărul afișat în centru este scorul *Altmetric*. Trebuie să menționăm că articolele mai vechi obțin adesea scoruri mai mari, deoarece au avut mai mult timp pentru a fi expuse. Cu scop de a evita acest factor de bias, pentru selectarea publicațiilor am utilizat „datele de context” oferite de indicele *Altmetric*, comparând articolele studiate doar cu cele de o vârstă similară. În același timp, atenționăm că deși scorul *Altmetric* poate servi ca adjuvant al estimării calității unui articol și cuantifica rata de succes, totuși, acesta nu reflectă nemijlocit calitatea.

Contabilizarea citațiilor este furnizată de *Web of Science* și *CrossRef*. Numărul real al citațiilor poate varia în dependență de platformă, de disponibilitatea și accesul de a vizualiza articolele publicate, datele fiind reactualizate zilnic.

cited articles of 2020 on SARS-CoV-2 infection, published by “Intensive Care Medicine” journal. In the same time, another aim was to provide concrete and implementable solutions that are currently offered by the intensive care speciality community.

Material and methods

It was given a search on the publication platform “Intensive Care Medicine” for the articles of the 2020 year, with open access status, related to COVID-19 subject. According to the descending order of frequency of articles’ downloads and citations, the first 10 titles were selected. There were examined articles in English with the following keywords: “Covid-19 management”, “COVID-19”, “SARS-CoV-2 mortality”, “Covid-19 prevention”.

For each article, there were evaluated: publication name, correspondence of the title with the search item, number of citations, year of publication, number of authors, type of article (original, clinical study, literature review, fundamental, etc.) and full text availability. Priority was given to open access articles in English. The parameters searched in particular were: the subject related to COVID-19 infection and its place according to the number of citations in the journal “Intensive Care Medicine”, among the articles of a similar age; the secondary parameter: the rank of the article tracked among all articles of a similar age in all the journals of the SpringerLink platform.

“Intensive Care Medicine” is a publication platform for communication, sharing the results of current studies and innovations in the field of intensive care medicine, with an Impact Factor (IF) of 17,689 (2019) and 14,340 (last 5 years). The IF of an academic journal is a unit of measurement that reflects the average number of citations of recently published articles in the certain journal. It can approximate the relative importance of a scientific journal in its field. Thus, the higher the IF value, the more important the publication is considered.

At the same time, “Intensive Care Medicine” is the official journal of the The European Society of Intensive Care Medicine and The European Society of Paediatric and Neonatal Intensive Care. The average duration from the submission of the article to the editorial office until the first decision – 10 days, submission to acceptance – 51 days.

The articles were evaluated according to a series of indices: *Altmetric*, *Web of Science*, *CrossRef*, number of downloads requested.

The Altmetric index summarizes a score based on the attention an online publication receives. Each coloured thread in the circle represents a diverse type of online attention. The number displayed in the centre is the Altmetric score. We must mention that older articles often get higher scores because they had more time to be exposed. In order to avoid this bias factor, for the selection of publications we used the “context data” provided by the Altmetric index, comparing the studied articles only with those of a similar age. At the same time, we must note that although the Altmetric score can serve as an adjuvant to estimate the quality of an article and quantify the success rate, it does not directly reflect the quality.

Citation accounting is provided by Web of Science and

Rezultate

Au fost preluate spre analiză un total de 10 cele mai citate publicații ce au inclus: 2 studii clinice multicentrice (1 retrospectiv, 1 prospectiv), 1 articol fundamental, 2 ghiduri de management relaționat cu infecția SARS-CoV-2, 3 scrisori către editor, 1 articol de actualizare și 1 editorial (Tabelul 1).

Media indicilor a constituit după cum urmează: scorul Altmetric – 425,2 (1206-26), Web of Science – 401,2 (1192-89), CrossRef – 405,6 (1161-80), Access & Citations – 105 k (193-11).

1. „Predictori clinici ai mortalității relaționate cu infecția COVID-19 în baza analizei datelor a 150 pacienți din provincia Wuhan, China” [2].

Deși de o contagiozitate fără precedent și cu un cu potențial letal înalt, o mare parte dintre pacienții infectați cu SARS-CoV-2 prezintă simptome ce mimează gripa sezonieră. Această controversă a sugerat echipei Ruan Q. și colegilor [2], să determine factorii de risc pentru evoluția severă a maladiei și care ar servi drept instrument de prioritizare a îngrijirilor medicale, cu selectarea pacienților din grupa de risc înalt, toate acestea în realitățile unor sisteme medicale care s-au pomenit la scurt timp în colaps.

Studiul retrospectiv, analizează datele a 150 pacienți din spitalele Jin Yin-tan și Tongji cu infecție confirmată cu SARS-CoV-2: 68 decese (45%) și 82 cazuri de vindecare (55%). Externarea pacienților a fost posibilă la satisfacerea următoarelor condiții: lipsa febrei ≥ 3 zile, ameliorarea funcției respiratorii, 2 teste de laborator pentru SARS-CoV-2 negative consecutiv.

Astfel, se depistează diferențe de vârstă ($p < 0,001$), prezența a comorbidităților ($p = 0,0069$), infecție secundară și alterarea testelor de laborator (hemoleucogramă, valori absolute ale leucocitelor, trombocitelor, albuminei, bilirubinei totale,

CrossRef. The actual number of citations may vary depending on the platform, availability and access to view the published articles, the data being updated daily.

Results

A total number of 10 most cited publications were taken for analysis, including: 2 multicenter clinical trials (1 retrospective, 1 prospective), 1 fundamental article, 2 guidelines of management of SARS-CoV-2 infection, 3 letters to the editor, 1 update article and 1 editorial (Table 1).

The average of the indices was as follows: Altmetric score – 425.2 (1206-26), Web of Science – 401.2 (1192-89), CrossRef – 405.6 (1161-80), Access & Citations – 105 k (193-11).

1. “Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China” [2].

Although of unprecedented infectiousness and with a high lethal potential, a large proportion of patients infected with SARS-CoV-2 have symptoms that mimic seasonal flu. This controversy suggested to the team of Ruan Q. and colleagues [2], to determine the risk factors for the severe evolution of the disease and which could be used as a tool to select and prioritise patients with the highest risk, all this done in the realities of collapsed medical systems.

The conducted a retrospective multicenter study analyses data 150 patients of Jin Yin-tan and Tongji Hospitals with laboratory-confirmed infection of SARS-CoV-2: 68 deaths cases (45%) and 82 discharged cases (55%). The discharge criteria were as follows: absence of fever ≥ 3 days, significantly improved respiratory function, negative SARS-CoV-2 laboratory test results twice successively.

Thereby, there were significant differences in age

Tabelul 1. Lista articolelor selectate și locul lor.
Table 1. List of selected articles and their ranking.

Loc ICM ¹ Rank ICM ¹	Loc, alte reviste ² Rank other journals ²	Autori Authors	Altmetric	Web of Science	CrossRef	Access & Citations	Tipul articolului Type of article	nr. autori authors no.
I	318	Ruan Q. et al. [2]	1206	1192	1161	193 k	RMC	5
III	998	Alhazzani W. et al. [3]	592	637	456	175 k	G	35
II	1527	Zhang H. et al. [4]	383	591	661	240 k	F	5
XIII	3951	Helms J. et al. [6]	231	497	664	35 k	PMC	17*
II	906	Gattinoni L. et al. [7]	684	378	410	132 k	E	7
II	1044	Peng Q. et al. [12]	526	241	255	81 k	LE	3**
XI	4821	Xie J. et al. [13]	157	145	159	56 k	AA	6
VIII	3520	Zeng J. et al. [14]	213	118	80	34 k	LE	3
L	26284	Pan X. et al. [15]	26	124	116	11 k	LE	6
VIII	2961	Bouadma L. et al. [17]	234	89	94	93 k	G	5

* – plus CRICS TRIGGERSEP Group (engl., *Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Trial Group for Global Evaluation and Research in Sepsis*).

** – plus CCUSG (engl., *Chinese Critical Care Ultrasound Study Group*).

¹ – ratingul articolului în revista „Intensive Care Medicine” comparativ cu articolele de aceeași vechime de publicare. // *article’s rank in Intensive Care Medicine Journal among similar age articles.*

² – ratingul articolului comparativ cu articolele de aceeași vechime de publicare în toate revistele de profil de pe platforma SpringerLink. // *article’s rank among other articles of similar age, published in all journals of same profile of the SpringerLink platform.*

Note: RMC – articol pe studiu retrospectiv multicentric // *retrospective multicentric study’s article*; G – ghid // *guidelines*, F – articol de cercetare fundamentală // *fundamental research article*; PMC – articol pe studiu prospectiv multicentric // *prospective multicentric study’s article*; E – editorial // *editorial*; LE – scrisoare către editor // *letter to Editor*; AA – articol de actualizare // *article of actualisation*.

ureei, creatininei, mioglobinei, troponinei cardiace, proteinei C-reactive (CRP) și interleukinei-6 (IL-6)) între grupul de supraviețuitori și cel al deceselor. Nu sunt depistate diferențe între apartenența de sex în cele 2 grupe studiate ($p=0,43$). De asemenea, a fost analizată longevitatea luptei cu boala în grupul pacienților decedați, unde s-au decelat 2 perioade critice: ziua 14 și 22 de la debut.

În concluzie, predictorii pentru o evoluție fatală a infecției cu SARS-CoV-2 au fost constatați: vârsta înaintată, prezența comorbidităților, infecția secundară, elevarea indicatorilor inflamatori – toate indicând declanșarea „furtunii citokinice” de către virusul SARS-CoV-2.

2. „Campania de supraviețuire a Sepsisului: ghid de management al pacientului adult cu COVID-19 în stare critică” [3]

Lucrarea lui Alhazzani W. și a autorilor [3] constituie în sine un ghid de management al pacientului critic cu infecția cu SARS-CoV-2. Metodologic, 32 de experți consacrați în domeniu din 12 țări au pus în dezbatere răspunsul la 54 cele mai controversate întrebări și dileme de conduită clinică formulând recomandări și instrucțiuni clare pentru reducerea morbidității și mortalității la pacienții cu forme de evoluție severă a infecției cu COVID-19. Discuțiile au vizat următoarele subiecte: controlul infecției, probe și diagnostic de laborator, suportul hemodinamic, suportul ventilator, terapia specifică a pacienților diagnosticați cu COVID-19. Experții au generat: 4 recomandări de „cea mai bună practică” (engl., *best practice*), 9 „recomandări stricte” (engl. *strong recommendation*) și 35 de recomandări beneficiul cărora rămâne încă a fi demonstrat (engl., *weak recommendation*).

Cele 4 recomandări de „cea mai bună practică” se referă la:

a) Utilizarea măștilor respiratorii cu grad înalt de protecție (respiratoare N95, FFP2 sau echivalentul acestora) adițional la echipamentul de protecție personală (mănuși, halat, vizieră/ ochelari de protecție) pentru personalul medical și auxiliar implicat în realizarea procedurilor generatoare de aerosoli la pacienții cu COVID-19 din secțiile ATI.

b) Efectuarea procedurilor generatoare de aerosoli la pacienții din ATI diagnosticați cu COVID-19 în încăperi cu presiune negativă.

c) Manopera de protezare a căii aeriene la pacienții cu COVID-19 va fi realizată de medicul specialist cu cea mai mare experiență în domeniu, în scop de a minimiza numărul de tentative și, implicit, riscul de transmitere a infecției.

d) La pacientul adult cu infecția COVID-19 și care beneficiază de ventilare non-invazivă cu presiune pozitivă (engl. *non-invasive positive pressure ventilation*, NIPPV) sau canula nazală cu flux înalt (engl., *high flow nasal cannula oxygen*, HFNC), se recomandă monitorizarea riguroasă a parametrilor ventilatori, pentru a surprinde în timp util o eventuală deteriorare a sistemului respirator cu necesitatea conversiei la intubația timpurie, gestionată în circumstanțe non-urgente și bine controlate.

Dintre recomandările stricte de urmat:

a) Pentru resuscitarea volemică a pacientului adult cu infecția COVID-19 în stare de șoc se recomandă evitarea soluțiilor perfuzabile ce conțin hidroxietyl amidon.

($p<0.001$), underlying diseases ($p=0.0069$), presence of secondary infection and laboratory test results (white blood cell counts, absolute values of lymphocytes, platelets, albumin, total bilirubin, blood urea nitrogen, blood creatinine, myoglobin, cardiac troponin, C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6)) between the two groups: survivors and deaths. There was no difference in the sex ratio ($p=0.43$). Also, there were analyzed survival times of the enrolled patients in the death group, where were revealed 2 critical periods: day 14 and 22 from the onset.

In conclusion, as predictors of a lethal outcome in COVID-19 infection cases are: older age, the presence of underlying diseases, the presence of secondary infection and elevated inflammatory tests in the blood – all of them indicating to SARS-CoV-2-activated “cytokine storm syndrome”.

2. “Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)” [3]

The article of Alhazzani W. and colleagues [3] represent a management guide for critically ill patients with SARS-CoV-2 infection. Methodologically speaking, they formed a discussion group of 36 experts from 12 countries, where they debated on the 54 most encountered controversies and clinical practice dilemmas, formulating clear recommendations and instructions for reducing morbidity and mortality in patients with severe forms of COVID-19 infection. The main themes of discussions were: infection control, laboratory diagnosis and specimens, hemodynamic support, mechanical ventilator support, COVID-19 patients specific therapy. The experts panel generated: 4 best practice statements, 9 strong recommendations, and 35 weak recommendations.

The 4 “best practice” recommendations are regarding to:

a) Is recommended to use fitted respirator masks (N95 respirators, FFP2, or their equivalent) for healthcare workers which perform aerosol generating procedures on patients with COVID-19 in the Intensive Care Unit (ICU), in addition to other personal protective equipment (i.e. gloves, gown, and eye protection, such as are the face shield or special goggles).

b) Is recommended to perform aerosol generating procedures on ICU COVID-19 confirmed patients in a room with negative pressure.

c) Endotracheal intubation of COVID-19 patients requiring ventilator support should be performed by the healthcare worker who is the most experienced with airway management, in order to minimize the number of attempts and risk of infection spread.

d) In adults with COVID-19 infection receiving non-invasive positive pressure ventilation (NIPPV) or high flow nasal cannula oxygen (HFNC), is recommended close monitoring for worsening of respiratory function, and if necessary, early intubation in a controlled setting.

Among strong recommendations are:

a) Is not recommended to use hydroxyethyl starches for the acute hemodynamic resuscitation of adults with COVID-19 infection and shock.

b) Pentru pacientul adult cu infecția COVID-19 în stare de șoc se recomandă evitarea dopaminei atunci când este disponibilă norepinefrina.

c) Pentru pacientul adult cu infecția COVID-19, se sugerează analizarea situației în vederea inițierii suplimentării de oxigen dacă saturația oxigenului periferic (SpO_2) este $<92\%$ și se recomandă strict suplimentarea oxigenului dacă SpO_2 este $<90\%$.

d) La pacientul adult cu insuficiență respiratorie hipoxemică relaționată cu COVID-19 și care beneficiază de oxigenoterapie se recomandă ca valoarea țintă a SpO_2 să nu depășească 96% .

e) La pacientul adult cu formă severă de COVID-19 și ARDS (engl., *acute respiratory distress syndrome*) care beneficiază de ventilație mecanică se recomandă ventilația mecanică pulmonară cu volume curente mici ($4-8$ ml/kg) în detrimentul volumelor mari (>8 ml/kg).

f) La pacientul adult cu formă severă de COVID-19 și ARDS care beneficiază de ventilație mecanică se recomandă presiuni platou (P_{plat}) de <30 cm H_2O .

g) La pacientul adult cu formă severă de COVID-19 și ARDS formă moderată până la severă și care beneficiază de ventilație mecanică se recomandă utilizarea strategiei unui PEEP mai mare versus un PEEP de valoare mică. Observații: în cazul utilizării unui PEEP mai mare medicul specialist trebuie să monitorizeze pacienții pentru a evita barotraumatismul.

h) În cazul utilizării manevrelor de recrutare, nu se recomandă recurgerea la recrutarea în trepte (PEEP crescând).

Administrarea corticosteroizilor, strategia conservatoare restrictivă pentru fluide, inhalarea de oxid nitric, administrarea de rutină a antibioticelor, a plasmei convalescente, a preparatelor antivirale, a interferonilor recombinanți (engl., *recombinant interferons*, rIFNs), precum și administrarea de clorochină, hidroxiclorochină și tocilizumab rămân controversate, la momentul publicării ghidului nefiind încă demonstrat prin studii beneficiul administrării acestora la pacientul cu formă medie și severă a infecției COVID-19.

3. „Enzima de conversie a angiotensinei 2 ca și receptor pentru SARS-CoV-2: mecanisme moleculare și țintă cu potențial terapeutic”[4].

De-a lungul ultimului an, în lupta cu infecția SARS-CoV-2, au fost testate o serie de medicamente, majoritatea dintre care nu și-au dovedit eficacitatea. Patobiologia infecției cu SARS-CoV-2 nefiind complet elucidată până în prezent. Articolul dezbate potențialul receptorului pentru enzima de conversie a angiotensinei 2 (engl. *angiotensin-converting enzyme 2*, ACE2) drept țintă terapeutică specifică.

Virusul SARS-CoV-2 a fost supus secvențierii, iar analiza filogenetică a detectat proveniența acestuia de la lilieci, gazda intermediară nefiind încă definitiv confirmată. Totodată, există multe similitudini între virusurile SARS-CoV-2 și SARS-CoV original, una dintre care este afinitatea și legarea puternică de ACE2 prin intermediul unei catene proteice, demonstrată atât în studii biochimice de interacțiune, cât și în rezultatul analizei structurale a cristalelor [5]. Pe modelul rodent, a fost demonstrată relația dintre populația crescută de receptori ACE2 și

b) If norepinephrine is available, is not recommended to use dopamine in adult patients with COVID-19 infection and shock.

c) In adult patients with COVID-19 infection, is suggested to start oxygen supplementation in case if the peripheral oxygen saturation (SpO_2) is $<92\%$, and is recommended to start oxygen supplementation if SpO_2 is $<90\%$.

d) In adult patients with COVID-19 infection and acute hypoxemic respiratory failure on oxygen therapy, is recommended to maintain the SpO_2 not higher than 96% .

e) In adult patients with severe forms of COVID-19 and ARDS, beneficiary of mechanical ventilation, is recommended to use low tidal volume (V_t) ventilation ($4-8$ ml/kg of predicted body weight), instead of higher V_t (>8 ml/kg).

f) For adult patients with COVID-19 and ARDS, beneficiary of mechanical ventilation, is recommended to maintain the target plateau pressures (P_{plat}) of <30 cm H_2O .

g) For adult patients with COVID-19 and moderate to severe ARDS, beneficiary of mechanical ventilation, is suggested to use a higher positive end expiratory pressure (PEEP) strategy, instead of a lower PEEP strategy. Remarks: in case of use of a higher PEEP strategy (i.e. $PEEP >10$ cm H_2O), patients should closely be monitored for barotrauma.

h) In case if recruitment manoeuvres are used, is not recommended to use staircase (incremental PEEP) recruitment manoeuvres.

Corticosteroids administration, fluid-restricted conservative strategy, nitric oxide inhalation, routine administration of antibiotics, convalescent plasma obtained from patients who have recovered from COVID-19 transfusion, antiviral drugs, recombinant interferons (rIFNs), and administration of chloroquine, hydroxychloroquine and tocilizumab remained controversial, at the time of publication of the guide, not being yet demonstrated by studies the benefit of their administration to the patient with moderate and severe form of COVID-19 infection.

3. “Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target”[4].

Over the past year, a number of pharmaceuticals already have been tested in an effort to fight against pandemic with SARS-CoV-2 infection, but most of them have not been shown to be effective. The underlying pathobiology of SARS-CoV-2 infection has not been fully elucidated up to this moment. The article discusses the potential of the angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) as a specific therapeutic target.

SARS-CoV-2 virus has been sequenced and a phylogenetic analysis found out that it has a bat origin, with a diversity of possible intermediate hosts, but with no definitive confirmation. At the same time, there are many similarities between the SARS-CoV type 2 virus and original SARS-CoV. One of them is the affinity and strong bind of the SARS-CoV spike protein unit to human ACE2, demonstrated by both biochemical interaction studies and crystal structure analysis [5]. In a mouse model, it was demonstrated the relationship between increased ACE2 population and severity of lesions. Therefore,

severitatea leziunilor. Prin urmare, ACE2 favorizează legarea, pătrunderea și replicarea virală intracelulară. În același timp, calea patogenetică a renin-angiotensinei, privită și prin prisma reducerii populației de receptori pentru ACE2, reprezintă un important mecanism protectiv, care este compromis ca urmare a leziunii pulmonare asociată infecției cu SARS-CoV-2.

ACE2 au fost detectați și într-o serie de alte țesuturi extrapulmonare: endoteliu, cord, rinichi și intestin. Astfel, poate fi explicat și sindromul disfuncției multiple de organe constat adesea la pacienții diagnosticați cu infecția COVID-19 pe de o parte, pe de altă parte, densitatea înaltă a receptorilor ACE2 în celulele endoteliului lumenului intestinal confirmă ipoteza transmiterii infecției date prin utilizarea în alimentație a produselor din piața Wuhan, considerată ca punct de izbucnire a focarului.

Odată dovedit faptul că ACE2 este receptorul pentru SARSCoV-2, grupul de autori propun sondarea a 4 direcții de bază în procesul de cercetare și elaborare a unui vaccin:

a) vaccinul ce ar avea ca țintă catena proteică ce asigură legarea SARS-CoV-2 de ACE2;

b) odată ce s-a demonstrat că expunerea inițială a catenei proteice la serin-proteaza transmembranară 2 (TMPRSS2, *engl. transmembrane protease serine 2*) este esențială pentru intrarea și răspândirea virusului SARS-CoV-2 prin interacțiunea cu receptorul ACE2, o altă pistă de luptă ar fi camostat mesilatul – inhibitorul TMPRSS2;

c) situs-urile propriu-zise de interacțiune dintre ACE2 și SARS-CoV au fost identificate până la nivel de atomi, la moment derulându-se studii similare și pentru ACE2 și SARS-CoV-2. Astfel, situs-urile ar putea fi țintite cu anticorpi sau molecule mai mici;

d) pe modelul rodent s-a constatat cum că virusul SARS-CoV reduce ACE2 (dar nu ACE) prin legarea catenei sale proteice, contribuind la leziuni pulmonare severe. Prin urmare, o cantitate excesivă de ACE2 s-ar putea lega competitiv cu SARS-CoV-2 atât pentru a neutraliza virusul, cât și pentru a menține funcționalitatea celulară a ACE2, care reglează prin feed-back negativ sistemul renin-angiotensină pentru a proteja plămânil de leziuni. Astfel, se cercetează ipoteza tratamentului cu o formă solubilă de ACE2 care ar putea reduce viteza intrării virusului în celulă și, ca urmare, răspândirea virală, dar și ar proteja plămânil de leziuni.

4. „Risc trombotic înalt la pacienții cu forme severe ale infecției cu SARS-CoV-2: studiu multicentric prospectiv de cohortă” [6].

Studiul prospectiv, multicentric, de cohortă, al lui Helms J. și a coautorilor [6] urmărește pacienți din 4 unități de Terapie Intensivă (Franța) (2 instituții medicale) și își propune să investigheze riscul trombotic în cazul pacienților cu ARDS ca formă severă a infecției cu SARS-CoV-2. În acest scop se înregistrează o serie de parametri comparativi între cele două loturi: ARDS de etiologie non-COVID-19 (lot retrospectiv 2013-2019) și ARDS asociată infecției COVID-19 (lot prospectiv 03-31 martie 2020). Pacienții cu ARDS asociată COVID-19 (n=77) au dezvoltat semnificativ mai multe complicații trombotice în comparație cu pacienții cu ARDS non-COVID-19 (n=145) (11,7

human ACE2 receptor mediates binding, viral entry and replication in the cells. At the same time, if analysed through the downregulation, the renin-angiotensin pathway represents an important protective mechanism which is compromised as a result of pulmonary lesion associated with SARS-CoV-2 infection.

ACE2 receptors has also been detected in a number of other extrapulmonary tissues: endothelial, heart, kidneys and intestines. That is how can be explained multiple organ dysfunction syndrome witnessed in COVID-19 patients on one hand, on the other hand high ACE2 receptor density inside human gut epithelium confirms the hypothesis of intestine as an entry site for SARS-CoV-2, hypothetically initiated by eating food from the Wuhan market, the supposed site of the outbreak.

Once proven that ACE2 is the receptor for SARSCoV-2, the group of authors proposes to test 4 basic directions in the process of research and development of a vaccine:

a) the vaccine based on spike subunit protein and on the fact that ACE2 is the SARSCoV-2 receptor;

b) it was demonstrated that initial spike protein exposure to transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) is essential for SARS-CoV-2 entrance and spread by interaction with ACE 2 receptor. So, the camostat mesylate – a serine protease inhibitor – may be another interesting chance;

c) the interaction sites between ACE2 receptors and SARS-CoV have been recently identified at the atomic level; similar studies are now conducted for interactions between ACE2 and SARS-CoV-2. Thus, this sites could be targeted with antibodies or smaller molecules;

d) On mice model it was reported that SARSCoV downregulates ACE2 protein (but not ACE) by binding to its spike protein and by this contributing to severe lung injury. Thus, in order to protect the lung from the injuries, an excessive quantity of ACE2 could competitive bind SARS-CoV-2 for both to neutralise the virus and to maintain cellular functionality of ACE2, which regulates by negative feed-back the renin-angiotensin system. So, it is considered the hypothesis of treatment with an ACE2 soluble form, which could reduce the speed of virus entrance into the cells and protect the lung from lesions.

4. “High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study” [6].

The multicenter prospective cohort study conducted by Helms J. and coauthors [6] follows patients from 4 French ICUs (2 medical institutions) and investigates the thrombotic risk in severe SARS-CoV-2 form patients with ARDS. There were registered a series of comparativ parameters between 2 trials: non-COVID-19 ARDS (retrospective trial 2013-2019) and ARDS associated to COVID-19 infection (prospective trial 03-31 march 2020). Patients with COVID-19 ARDS (n=77) developed significantly more thrombotic complications in comparison with non-COVID-19 ARDS patients (n=145) (11.7 vs. 2.1%, p<0.008), usually pulmonary embolism (n=25, 16.7%). Coagulation parameters were find to be different in this 2 study groups. Even though it were prescribed anticoagulation, a high

vs. 2,1%, $p < 0,008$), în mare parte reprezentată de embolismul pulmonar ($n=25$, 16,7%). De asemenea, parametrii de coagulare au fost diferiți în ambele grupuri de studiu. Cu toate că în schema de tratament al pacienților cu ARDS asociată COVID-19 a inclus și tratament anticoagulant, la un număr relativ mare de pacienți au fost înregistrate complicații trombotice potențial letale, sugerând necesitatea creșterii dozelor anticoagulantelor convenționale.

5. „Pneumonia COVID19: tratamente respiratorii diferite pentru fenotipuri diferite?” [7]

Grupul de lucru pentru Campania de Supraviețuire a Sepsisului (*engl., Surviving Sepsis Campaign*) a reactualizat recomandările, reiterând că „managementul pacienților cu infecția COVID-19 care beneficiază de suport ventilator, trebuie să fie similar cu cel al pacienților cu insuficiență respiratorie acută din ATI [2]. Cu toate că pneumonia asociată formelor severe de evoluție a maladiei COVID-19 întrunește criteriile definiției Berlin a ARDS [8], totuși, Gattinoni L. și autorii [7] înaintează ipoteza că această entitate nozologică ar putea fi mult mai specifică, dat fiind faptul că, în infecția cu SARS-CoV-2, hipoxemia severă se asociază în multe cazuri cu o complianță pulmonară normală. În timp ce în cadrul ARDS această combinație contradictorie nu se atestă aproape niciodată. Deși majoritatea cu o hipoxemie severă de etiologie unică (SARS-CoV-2), pacienții pot prezenta tablouri pulmonare diferite: de la o respirație normală (hipoxemia „ silențioasă”) până la una sever dispneică; receptivă la oxidul nitric sau total refractară; profund hipocapnică sau normo/hipercapnică; responsivă la ventilația în decubit ventral sau nu. În concluzie, aceeași boală se prezintă printr-o neuniformitate impresionantă a simptomatologiei respiratorii.

Astfel, în dependență de severitatea infecției, rezerva fiziologică și comorbidități, responsivitatea ventilatorie la hipoxemie, timpul scurs de la apariția primelor simptome până la adresarea după consult medical specializat se conturează două „fenotipuri” primare (Tabelul 2) [7]:

a) Tipul L, caracterizat prin elastanță scăzută (complianță crescută), raport ventilație-perfuzie jos, greutate pulmonară mică și grad de recrutabilitate redus.

b) Tipul H, caracterizat prin elastanță înaltă, sunt dreapta-stânga ridicat, greutate pulmonară mare și grad înalt de recrutabilitate.

Așadar, tipul L și tipul H de evoluție a formelor severe a infecției COVID-19 pot fi identificate la CT pulmonar sau indirect prin semne și simptome clinice (complianța și recrutabilitatea sistemului respirator). Primul pas al tratamentului este administrarea unei fracții mai mari de oxigen la inspir, și tipul L va răspunde bine la această terapie cu condiția că deocamdată este păstrat minut-volumul ventilator al pacientului. Identificarea tipului de evoluție a leziunii pulmonare este crucială, dat fiind faptul că tratamentul este ușor diferit. În cazul în care pacientul devine hipercapnic, tipul L poate fi ventilat cu volume inspiratorii mai mari (>6 ml/kg, până la 8-9 ml/kg), fără riscul de leziune pulmonară cauzată de ventilarea mecanică. Acest lucru se datorează unei complianțe pulmonare mai mari. Însă valoarea PEEP-va fi redusă (8-10 mmH₂O), dată fiind recrutabilitatea joasă și riscul unei instabilități hemodinamice. Din

number of patients with ARDS secondary to COVID-19 infection developed potentially lethal thrombotic complications, suggesting the necessity to increase the conventional anticoagulants doses.

5. “COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes?” [7]

Surviving Sepsis Campaign panel group of authors has updated recommendations, reiterating that “the management of patients with COVID-19 infection receiving ventilator support should be similar to that of patients with acute respiratory failure in ICU” [2]. Although pneumonia associated with severe forms of COVID-19 meets the criteria of the Berlin definition of ARDS [8], however, Gattinoni L. and the authors [7] hypothesize that this nosological entity could be much more specific, given the fact that in many cases of SARS-CoV-2 infection severe hypoxemia is associated with a normal lung compliance. While in ARDS this contradictory combination is almost never seen. Although most of patients have severe hypoxemia of same etiology (SARS-CoV-2), their lung conditions may be presented different: from normal breathing (“silent” hypoxemia) to severe dyspnea; receptive to nitric oxide or not at all; deeply hypocapnic or normo/ hypercapnic; responsive to prone ventilation or not. In conclusion, the same disease is presented by an impressive non-uniformity of respiratory symptoms.

Thus, depending on the severity of the infection, on the physiological reserve and comorbidities of certain patient, the ventilatory responsiveness to hypoxemia, the time elapsed from the the first symptoms appearance till the first medical consultation could be outlined two primary “phenotypes” (Table 2) [7]:

a) Type L, which is characterized by low elastance (i.e., high compliance), low lung weight, low ventilation-to-perfusion ratio and low degree of recruitability .

b) Type H, which is characterized by high elastance, high lung weight, high right-to-left shunt and high degree of recruitability.

Therefore, type L and type H of severe forms of COVID-19 evolution could be identified at pulmonary CT or indirectly by clinical signs and symptoms (compliance and recruitability degree of the lungs). The first step of treatment is to administer a higher fraction of inspired oxygen and, in case of type L, it will respond well to this therapy provided that the patient’s minute ventilation is maintained. Identifying the type of evolution of the lung lesion is crucial, because the treatment for each case is slightly different. If the patient becomes hypercapnic, type L could be ventilated with larger Vt (>6 ml/kg, up to 8-9 ml/kg), without the risk of ventilator associated lung injury. This is due to a higher lung compliance. But the PEEP should be reduced (8-10 mm H₂O) because of low recruitability and risk of hemodynamic failure. On the contrary, type H will be approached as a severe ARDS: high PEEP values (if hemodynamically tolerated), prone ventilation, extracorporeal lung support. Another important issue would be that early intubation of the trachea in case of type L pattern can convert it to type H [7].

Tabelul 2. Fenotipuri ale pneumoniei COVID-19.**Table 2.** COVID-19 pneumonia phenotypes.

Tipul L / L type	Tipul H / H type
<i>Elastanță redusă</i> Compliance normală sau apropiată de cea a normei indică prezența unei cantități normale de gaz în pulmoni [9]. <i>Low elastance</i> <i>The normal or nearly normal compliance indicates the presence of a normal amount of gas in the lung [9].</i>	<i>Elastanță înaltă</i> Reducerea volumului de gaz datorită edemului crescut explică creșterea recului pulmonar. <i>High elastance</i> <i>The reduction in gas volume due to increasing oedema explains the increase of lung elastance.</i>
<i>Raport ventilație/perfuzie redus</i> Din moment ce volumul aerului este aproape normal, hipoxemia poate fi explicată prin perturbarea reglării perfuziei și a vasoconstricției hipoxice. Drept urmare, la această etapă, presiunea în artera pulmonară ar trebui să fie aproape de cea normală. <i>Low ventilation-to-perfusion (VA/Q) ratio</i> <i>Since the gas volume is nearly normal, hypoxemia may be explained by impaired regulation of perfusion and by hypoxic vasoconstriction. As a result, at this stage, the pressure in pulmonary artery should be very close to the normal value.</i>	<i>Șunt dreapta-stânga înalt</i> Fapt datorat fracției de debit cardiac care perfuzează țesutul neaerat care se dezvoltă în regiunile pulmonare susceptibile din cauza edemului și a presiunii suprapuse. <i>High right-to-left shunt</i> <i>This is due to that fraction of cardiac output that is perfusing the non-aerated tissue, developed in the damaged lung regions due to the oedema and overlapping pressure.</i>
<i>Masă pulmonară redusă</i> La CT pulmonar sunt prezente doar opacități în „sticlă mată”, localizate cu predilecție subpleural și de-a lungul fisurilor pulmonare. În consecință, se înregistrează doar o creștere moderată a masei pulmonare. <i>Low lung weight</i> <i>On CT scan are present only "ground-glass" localized mostly subpleurally and along the lung fissures. As a result, it is registered only a moderately increased lung weight.</i>	<i>Masă pulmonară mare</i> Analiza cantitativă la CT pulmonară revelează o creștere semnificativă a greutății pulmonare (>1,5 kg), proporțională cu severitatea formei de ARDS [11]. <i>High lung weight</i> <i>Quantitative analysis of the CT scan revealed a significant increase in lung weight (>1.5 kg), proportional to severity of ARDS [11].</i>
<i>Grad redus de recrutabilitate pulmonară</i> Zonele de țesut neaerat sunt mici, în consecință, și recrutabilitatea este modestă [10]. <i>Low lung recruitability</i> <i>The zones of non-aerated tissue are very low. Consequently, the recruitability is modest [10].</i>	<i>Grad înalt de recrutabilitate pulmonară</i> Ca și în cazul unui ARDS sever, cantitatea crescută de țesut neaerat este asociată cu recrutabilitate crescută [10]. <i>High lung recruitability</i> <i>Like in severe ARDS, the increased amount of non-aerated tissue is associated with increased recruitability [10].</i>

contra, tipul H se va trata ca un ARDS sever: valori de PEEP înalte (în cazul în care este tolerat hemodinamic), ventilare în decubit ventral, suport pulmonar extracorporal. O altă atenționare importantă ar fi că intubarea precoce a traheei în caz de tipar L îl poate converti în tipul H [7].

6. "Examenul ultrasonografic al pulmonilor în cazul pneumoniei provocate de noul tip de coronavirus pandemic 2019-2020" [12].

Având în vedere că modificările pulmonare pot apărea la CT înaintea semnelor și simptomelor clinice, iar transportarea intraspitalicească a pacientului infectat cu COVID-19 cu hipoxemie și instabilitate hemodinamică reprezintă adesea o provocare pentru medicul ATI, grupul de autori a lui Peng Q. [12] propun screening-ul cu ajutorul ultrasonografiei pulmonare, care, reprezintă o metodă echivalentă CT-lui pulmonar și net superioară radiografiei toracice, realizată repetat la patul pacientului (Tabelul 3).

În același timp, autorii atenționează că una din limitările examenului ultrasonografic pulmonar este că acesta nu poate detecta leziunile pulmonare mai profunde, plămânul aerat blocând propagarea undelor. Astfel, pentru a fi vizibilă la examinarea ultrasonografică, afectarea trebuie să se extindă până la suprafața pleurală. CT toracic este indicat pentru detectarea pneumoniei care nu ajunge la suprafața pleurală.

6. "Findings of lung ultrasonography of novel corona virus pneumonia during the 2019–2020 epidemic" [12].

Because of the fact that pulmonary changes on CT often occur before appearance of clinical signs and symptoms, and in-hospital transportation of the COVID-19-infected patient with hypoxemia and hemodynamic instability is a real challenge for the ICU physician, Peng Q.'s group of authors [12] propose a screening method using pulmonary ultrasonography. This is a method equivalent to lung CT and clearly superior to chest radiography, which may be repeated as many times as needed at the patient's bed (Table 3).

At the same time, the authors warn that one of the limitations of lung ultrasound examination is that it cannot detect deeper lung lesions, because the aerated lung blocks the propagation of the waves. Thus, in order to be visible on ultrasound examination, the damage must extend to the pleural surface. Pulmonary CT is indicated for the detection of pneumonia that does not reach the pleural surface.

7. "Critical care crisis and some recommendations during the COVID-19 epidemic in China" [13].

The National Health Commission of China (Wuhan) shares its experience regarding the crisis in the healthcare system: the large avalanche of patients in need of medical care, with severe forms of COVID-19 infection inclusively, the lack of

Tablelul 3. Tabloul pulmonar imagistic în infecția cu SARS-CoV-2: CT vs. USG [12].**Table 3.** Chest CT vs. USG pulmonary characteristics of SARS-CoV-2 infection [12].

CT	USG
Îngroșarea pleurei. <i>Thickened pleura.</i>	Îngroșarea liniei pleurale. <i>Thickened pleural line.</i>
Opacitate în „sticlă mată” și efuziune pleurală. <i>“Ground glass” shadow and effusion.</i>	Linii B (multifocale, confluențe sau discrete). <i>B lines (multifocal, confluent or discrete).</i>
Opacitate de infiltrare pulmonară. <i>Shadow of pulmonary infiltration.</i>	Linii B confluențe. <i>Confluent B lines.</i>
Consolidare subpleurală. <i>Subpleural consolidation.</i>	Consolidări mici (centromerice). <i>Small (centomeric) consolidations.</i>
Consolidări translobare. <i>Translobar consolidation.</i>	Consolidări translobare și non-translobare. <i>Both non-translobar and translobar consolidation.</i>
Efuziunea pleurală este rară. <i>Rarely pleural effusion.</i>	Efuziunea pleurală este rară. <i>Rarely pleural effusion.</i>
Afectarea a mai mult de 2 lobi. <i>More than two lobes affected.</i>	Distribuție multilobară a abnormalităților. <i>Multilobar distribution of abnormalities.</i>
Stadiu timpuriu – imagini negative sau atipice, stadiu tardiv – opacități difuze în „sticlă mată” cu progresarea consolidării. <i>In early stage – negative or atypical in lung CT images, but with the progress of the disease – diffuse scattered or “ground glass” shadow, with progressive lung consolidation.</i>	Focalizarea liniilor B constituie caracteristica principală a fazei timpurii și a infecției moderate, iar sindromul interstițial alveolar este caracteristic pentru progresarea maladiei și pacientul în stare critică. Liniile A sunt decelate deja în stadiul de convalescență. Îngroșarea liniei pleurale cu linii B neuniforme se observă la pacienții cu fibroză pulmonară. <i>The main characteristic of the early stage and mild infection are focal B lines, while the alveolar interstitial syndrome is the main characteristic of the progressive stage and critically ill patient. Lines A usually are observed in the convalescence. Thickening of pleural line with non-uniform B lines could be revealed in patients with pulmonary fibrosis.</i>

7. „Criza din serviciul terapiei intensive și recomandări în timpul epidemiei COVID-19 din China” [13].

Comisia Națională pentru Sănătate din China (Wuhan) își împărtășește experiența cu referire la criza din sistemul de sănătate: avalanșa mare de pacienți care necesită îngrijiri medicale, inclusiv cu forme severe ale infecției cu COVID-19, insuficiența de aparataj pentru suport ventilator (atât non-invaziv, cât și invaziv), lipsa personalului medical pregătit în domeniu pe diverse segmente, insuficiența de paturi pentru internarea tuturor celor ce prezintă indicații pentru spitalizare. Modelarea matematică cu precizarea numărului așteptat de pacienți ar fi o soluție. Astfel, din alte zone ale țării pot fi mobilizate în timp util resursele umane și logistice necesare.

O altă provocare legată de virusul SARS-CoV-2 este și faptul că durata de la debutul primelor simptome până la instalarea insuficienței respiratorii este >7 zile, pacienții diagnosticați cu insuficiență respiratorie devenind hipoxemici cu mult înainte de apariția semnelor clinice („hipoxemie silențioasă”), 30-50% dintre pacienți prezentând comorbidități. În acest context, metodele tradiționale de screening al pacienților cu potențial de evoluție severă, gen qSOFA (engl., *quick sequential organ failure assessment*) sau NEWS (engl., *new early warning score*) sunt mai puțin eficiente. Grupul de autori recomandă identificarea biomarker-ilor specifici pentru formele cu evoluție severă, fapt ce ar da posibilitatea de a detecta și individualiza din start tratamentul acestor pacienți.

O preocupare aparte o constituie factorii de risc asociați cu mortalitatea relaționată cu infecția COVID-19. În lotul celor care nu au supraviețuit infecției cu SARS-CoV-2 s-au înregistrat mai frecvent: vârsta înaintată, apartenența de sex mascu-

ventilatory support equipment (both non-invasive and invasive), the lack of medical staff trained in various segments of the field, the insufficiency of beds for the hospitalization of all those who present indications for admission. Mathematical modeling with the prediction of the expected number of patients might be a solution. Thus, the necessary human and logistical resources could be mobilized in a timely manner from other areas of the country.

Another challenge related to the SARS-CoV-2 virus is that the duration from the onset of the first symptoms to the onset of respiratory failure is >7 days. This means that patients diagnosed with respiratory failure became hypoxemic long before clinical signs appear (“silent hypoxemia”) and 30-50% of patients have comorbidities. In this context, traditional screening methods for patients with potential for severe evolution, such as quick sequential organ failure assessment (qSOFA) or new early warning score (NEWS) are less effective. The group of authors recommend identification of specific biological markers for severe disease evolution, which would make possible to detect them and individualize their treatment from the very beginning.

An issue of particular concern represent the risk factors for COVID-19 related mortality. In the group of those who did not survive the SARS-CoV-2 infection were registered more frequently: advanced age, male gender, hypertension, diabetes, ischemic heart disease. Only 25% of the patients who did not survive the SARS-CoV-2 infection benefited from artificial pulmonary ventilation or oxygenation through the extracorporeal membrane. The causes are the lack of specialized medical staff, lack of equipment and apparatus, delayed intubation,

lin, hipertensiune arterială, diabetul zaharat, boala ischemică a cordului. Doar 25% din cei decedați au beneficiat de ventilație pulmonară artificială sau oxigenare prin membrană extracorporală, cauzele invocate fiind lipsa personalului medical specializat, lipsa echipamentelor și aparaturii, tergiversarea intubării, lipsa unei farmacoterapii eficiente, indisponibilitatea unui protocol internațional standardizat de management al ARDS-lui provocat de noul tip de coronavirus.

8. „Cum ar putea fi balansate infarctul acut al miocardului și infecția cu COVID-19: protocoalele Spitalului Clinic din Provincia Sichuan” [14].

Zeng J. și colegii prezintă protocoale de management al pacientului cu infarct acut al miocardului (IMA), atât cu elevarea segmentului ST (engl., *ST-segment elevated myocardial infarction*, STEMI), cât și non-STEMI, în contextul pandemiei COVID-19, când diagnosticarea și tratamentul urgent al IMA este vădit afectat. Astfel, se va respecta principiul de adresare la cea mai apropiată instituție medicală ce deține tehnologia de intervenție coronariană percutană primară (PCI), cu evitarea transportului public. Pacienții care prezintă IMA concomitent cu simptomatologie respiratorie (febră, tuse etc.) vor fi testați și izolați, cu inițierea tratamentului de reperfuție în caz de IMA STEMI, lipsa contraindicațiilor pentru tromboliză și încadrare în fereastra terapeutică. Din moment ce pacientul se va recupera după pneumonia suportată și va prezenta 2 teste negative consecutive, se va reevalua pentru PCI.

Pentru pacienții cu risc înalt și cu contraindicații pentru tromboliză, ar trebui să se analizeze riscul de infecție și beneficiul PCI. Iar odată ce se va pleda în favoarea PCI, se va lucra doar pe vasul obliterat.

Puțini pacienți cu IMA non-STEMI se prezintă cu instabilitate hemodinamică și/ sau aritmie cu potențial letal. Iată de ce, pentru pacienții cu IMA non-STEMI se va aștepta rezultatul testelor serologice. Pacienții confirmați pozitivi cu infecția COVID-19 vor fi izolați și tratați, iar după recuperare se va decide necesitatea unor intervenții invazive. Pacienții instabili hemodinamic, care nu pot aștepta rezultatele testelor pentru infecția cu SARS-CoV-2, vor beneficia de intervenții în condiții de izolare.

9. „Identificarea mecanismului potențial pentru leziunea renală acută asociată cu COVID-19: studiu bazat pe analiza unicelulară a transcriptomului” [15].

Evoluția infecției cu SARS-CoV-2 se poate complica cu leziune renală acută (LRA) în 0,5-7% cazuri în populația generală și între 2,9-23% dintre pacienții internați în serviciul terapiei intensive [16]. Pan X. și echipa pun în dezbatere dacă LRA constatată la pacienții cu forme severe ale infecției cu COVID-19 este indusă de efectul citopatic al virusului sau de către răspunsul inflamator sistemic de tip „furtuna citokinică” declanșat de SARS-CoV-2.

După Zhang H. și echipa sa [4], conform modelului similar cu cel al SARS-CoV, catena proteică a noului tip de coronavirus (SARS-CoV-2) se leagă de ACE2 (receptor al celulei gazdă), catena proteică fiind astfel activată și scindată de TMPRSS, permițând virusului să elibereze peptide pentru fuziunea membranelor [4]. Prin urmare, presupun Pan X. și echipa [15], co-

lack of effective pharmacotherapy, lack of a standardized international protocol of management of COVID-19 related ARDS.

8. “How to balance acute myocardial infarction and COVID-19: the protocols from Sichuan Provincial People’s Hospital” [14].

Zeng J. and colleagues present protocols of management for patients with acute myocardial infarction (AMI), both with ST-segment elevated myocardial infarction (STEMI) and non-ST-segment elevated myocardial infarction (non-STEMI), in the context of the COVID-19 pandemic, when the diagnosis and urgent treatment of AMI is clearly affected. Thus, it is preserved the principle of addressing to the nearest medical institution that owns the technology of primary percutaneous coronary intervention (PCI), avoiding public transport. Patients with AMI concomitantly with respiratory symptoms (fever, cough, etc.) should be tested and isolated, with the initiation of reperfusion treatment in case of STEMI AMI, in case if there are no contraindications for thrombolysis and they are within the reperfusion time window. Once the patient is recovered from the supported pneumonia and has 2 consecutive negative tests, he will be re-evaluated for PCI.

For the patients at high risk and with contraindications for thrombolysis, the risk of infection and the benefit of PCI should be considered. And once the argue is in favor of PCI, the procedure will only be performed for the obliterated vessel.

Very few patients with non-STEMI AMI presents with hemodynamic instability and/ or potential fatal arrhythmia. That is why, for non-STEMI AMI is indicated to wait for the results of serologic tests. Patients confirmed with SARS-CoV-2 infection should be isolated and treated, and then, after their recovery to decide regarding the necessity of invasive interventions. Hemodynamically unstable patients which can not wait for the results of the tests excluding SARS-CoV-2 infection will benefit from the isolated intervention surgery.

9. “Identification of a potential mechanism of acute kidney injury during the COVID-19 outbreak: a study based on single-cell transcriptome analysis” [15].

The evolution of SARS-CoV-2 infection can be complicated by acute kidney injury (AKI) in 0.5-7% of cases in the general population and between 2.9-23% of patients admitted to the intensive care unit [16]. Pan X. and colleagues are debating whether AKI observed in patients with severe forms of COVID-19 infection is induced by the cytopathic effect of the virus or by the systemic inflammatory response of the “cytokine storm” triggered by SARS-CoV-2.

According to Zhang H. and colleagues [4], similar to the model of SARS-CoV, the spike protein of the new type of coronavirus (SARS-CoV-2) binds to ACE2 (a host cell receptor), the spike protein chain being activated and cleaved by TMPRSS, creating conditions for the virus to release peptides for the fusion with membrane [4]. Therefore, Pan X. and the team [15] assumed that co-expression of ACE2 and TMPRSS are key factors for the penetration of SARS-CoV-2 into host cells and the improvement of host conditions for SARS-CoV-2.

Thus, after the analysis of renal cells (49582 samples, 15

expresia ACE2 și TMPRSS reprezintă un factor-cheie pentru pătrunderea SARS-CoV-2 în celulele gazdă și îmbunătățirea condițiilor gazdei pentru SARS-CoV-2.

Astfel, după analiza celulelor renale (49582 mostre, 15 ri-nichi) s-a detectat localizarea concomitentă a genelor ACE2 și TMPRSS, cu o co-expresie relativ ridicată, în podocite și celulele tubilor dreپți proximali – ambele candidate pentru celulă-gazdă ideală. Cu toate că nu s-a detectat nicio diferență semnificativă în expresia genelor TMPRSS, expresia receptorului ACE2 în podocite și celule dreپți proximali a fost mai pronunțată la donatorii occidentali comparativ cu donatorii asiatici, sugerând probabilitatea că populațiile occidentale ar avea un risc mai mare de a dezvolta LRA asociată cu COVID-19.

Studiul autorilor confirmă faptul că podocitele și celulele tubilor dreپți proximali reprezintă importante celule-gazdă pentru virus, în același timp, tot ele având rol crucial în filtrare, reabsorbție și excreție. Astfel, durata de timp de la detectarea virusului SARS-CoV-2 în probele de sânge și apariția LRA constituie în medie circa 7 zile [16].

10. „Forma severă a infecției cu SARS-CoV-2: abordări practice și strategii de management pentru medicii ATI” [17].

Articolul oferă o actualizare sintetizată a datelor disponibile cu referire la infecția cu SARS-CoV-2 până în momentul publicării: răspândire exponențială (număr bazal de reproducere 2,2), boală zoonotică cu rezervor necunoscut și mod de transmitere de la-persoană-la-persoană (picăturile, aerosolii, obiecte și suprafețe infectate); timpul de supraviețuire al SARS-CoV-2 pe suprafețele uscate nu depășește 4 ore, purtarea echipamentului individual de protecție este obligatorie (educarea și pregătirea personalului medical și auxiliar având un rol crucial); perioada medie de incubare – 5,2 zile (cu potențial de extindere și la 12,5 zile), diagnostic prin reacția de polimerizare în lanț (engl., *real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction*, rRT-PCR); izolarea pacienților suspecțai sau confirmați cu infecția COVID-19 este imperativă; din totalul de pacienți diagnosticați: forme severe – 14%, mortalitate – 2%. La momentul apariției articolului nu exista o farmacoterapie specifică contra virusului și niciun vaccin competent, însă pentru pacienții în stare critică au fost administrate o serie de medicamente antivirale (remdesivir, lopinavir-ritonavir, interferon Beta-1b) care nu și-au demonstrat ulterior eficacitatea.

În ideea de a reduce din magnitudinea leziunii pulmonare, corticosteroizii au fost prescriși frecvent pentru tratamentul pacienților cu forme severe, grație declanșării reacției de tip „furtună citokinică”, atât de către virusurile SARS-CoV și MERS-CoV (engl., *Middle East respiratory syndrome coronavirus*), cât și SARS-CoV-2 [9]. Cu toate acestea, beneficiul utilizării corticosteroizilor nu a fost demonstrat. Din contra, a fost incriminată întârzierea eliminării virusurilor, creșterea încărcăturii virale și a viremiei reprezentând un argument împotriva utilizării lor. În concluzie, corticosteroizii sistemici nu ar trebui administrați de rutină, ci mai degrabă în context clinic individualizat de evoluție a maladiei.

kidneys) it was detected concomitant localization of the ACE2 and TMPRSS genes, with a relatively high co-expression, in podocytes and proximal straight tube cells – both candidates for the ideal conditions host cell. Although no significant difference was detected in TMPRSS gene expression, ACE2 receptor expression in podocytes and proximal straight cells was more pronounced in Occidental donors compared to Asian donors, suggesting the likelihood that Occidental populations would have a higher risk of developing COVID-19 related AKI. The study confirms that the podocytes and cells of the proximal straight tubes are important host cells for the virus and, at the same time, they also have a crucial role in filtration, reabsorption and excretion. Thus, the time from detection of SARS-CoV-2 virus in blood samples and the onset of AKI varies on average about 7 days [16].

10. “Severe SARS-CoV-2 infections: practical considerations and management strategy for intensivists” [17].

The article provides a summarized update of available data on SARS-CoV-2 infection up to the time of its publication: exponential spread (basal reproduction number 2.2), zoonotic disease with unknown reservoir and mode of transmission from-person-to-person (drops, aerosols, infected objects and surfaces); the survival time of SARS-CoV-2 on dry surfaces does not exceed 4 hours, the wearing of personal protective equipment is mandatory (education and training of medical and auxiliary personnel having a crucial role in this regard); average incubation period – 5.2 days (with potential for extension up to 12.5 days), diagnosed by real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction (rRT-PCR); isolation of patients suspected or confirmed with COVID-19 infection is imperative; of the total number of diagnosed patients: severe forms – 14%, mortality – 2%. At the time of the publishing of the article, there was no specific pharmacotherapy against the virus and no competent vaccine yet, but a number of antiviral drugs (remdesivir, lopinavir-ritonavir, lopinavir-ritonavir, interferon Beta-1b) were administered to critically ill patients without demonstrated efficacy.

In order to reduce the magnitude of the lung injury, corticosteroids have been frequently prescribed for the treatment of patients with severe forms associated with “cytokine storm”, targeted by both SARS-CoV and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) and SARS-CoV-2 [9]. However, according to the article, the benefit of using corticosteroids has not been demonstrated. On the contrary, the delay in eliminating the viruses was incriminated, the increase in viral load and viremia being an argument against their use. In conclusion, systemic corticosteroids should not be administered routinely, but rather in an individualized clinical context of disease progression.

Conclusions

At the end of January 2020, the WHO declared a state of alert in public health about a new strain of virus that causes pneumonia – SARS-CoV-2. The virus binds to ACE2 (host cell receptor), the spike protein chain being activated and cleaved

Concluzii

La sfârșitul lunii ianuarie 2020 OMS declară stare de alertă în sănătate publică în legătură cu o nouă tulpină de virus ce cauzează pneumonie – SARS-CoV-2. Virusul se leagă de ACE2 (receptor al celulei gazdă), iar catena proteică odată fiind activată și scindată de TMPRSS, permite virusului să elibereze peptide pentru fuziunea membranelor.

Drept predictorii pentru o evoluție fatală a infecției au fost constatați: vârsta înaintată, prezența comorbidităților (hipertensiune arterială, diabet zaharat etc.), infecția secundară, elevarea indicatorilor inflamatori.

Fenotipic, pneumonia asociată formelor severe de COVID-19 poate lua 2 forme – tipul L și tipul H – care din punct de vedere al suportului ventilator se vor gestiona în mod diferit.

Datorită avalanșei mari de pacienți, sistemele de sănătate din lume s-au pomenit într-o veritabilă criză logistică, de echipamente, triaj și resurse umane. Comunitatea de cercetare științifică s-a autosesizat și a realizat cercetări, însă, până la momentul scrierii prezentului articol, deși testate, nu au fost demonstrate beneficiile unor tratamente farmacologice specifice. Studiile clinice continuă, derulându-se și în 2021, pentru a veni cu soluții pentru cele mai stringente dileme clinice.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interes, financiar și nonfinanciar, asociat cu subiectul acestei lucrări.

Contribuția autorilor

Ambii autori au contribuit în mod egal la realizarea manuscrisului. Ambii autori au citit și aprobat versiunea finală a manuscrisului.

Referințe / references

1. Mahase E. Coronavirus: covid-19 has killed more people than SARS and MERS combined, despite lower case fatality rate. *British Medical Journal*, 2020; 368: m641.
2. Ruan Q., Yang K., Wang W. *et al.* Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Medicine*, 2020; 46 (5): 846-848. (<https://rdcu.be/ceSB8>)
3. Alhazzani W., Møller M.H., Arabi M. Y. *et al.* Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Med*, 2020; 46: 854-887 (<https://rdcu.be/b5YGT>).
4. Zhang H., Penninger J.M., Li Y. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (4): 586-590 (<https://rdcu.be/ceSDz>).
5. Wan Y., Shang J., Graham R. *et al.* Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol*, 2020; 94 (7): e00127-20.
6. Helms J., Tacquard Ch., Severac F. *et al.* High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (6): 1089-1098.
7. Gattinoni L., Chiumello D., Caironi P. *et al.* COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? *Intensive Care Med*, 2020; 46 (6): 1099-1102 (<https://rdcu.be/b4KuE>).
8. Force ARDSIT, Ranieri V., Rubenfeld G., Thompson B. *et al.* Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition. *JAMA*, 2012; 307 (23): 2526-2533.

by TMPRSS, allowing the virus to release peptides for membrane fusion.

Advanced age, the presence of comorbidities (hypertension, diabetes, etc.), association of a secondary infection, elevated inflammatory indicators are recognised predictors for a potential fatal evolution.

Phenotypically, COVID-19 associated severe forms pneumonia can take 2 forms – L type and H type – which in terms of mechanical ventilator support will be managed differently.

Due to the large avalanche of patients, the world's health-care systems have found themselves in a challenging logistical crisis of equipment, triage and human resources. The scientific research community carried out many researches. Although tested, until the time of writing of the present literature review, the benefits of specific pharmacological treatments have not been demonstrated. Clinical trials continue, taking place in 2021, to come up with solutions to the most pressing clinical dilemmas.

Declaration of conflict of interest

The authors declare the lack of financial and non-financial conflict of interest associated with the subject of this paper.

Authors' contribution

Both authors contributed equally to the creation of the manuscript. Both authors read and approved the final version of the manuscript.

9. Gattinoni L., Pesenti A., Avalli L. *et al.* Pressure-volume curve of total respiratory system in acute respiratory failure. Computed tomographic scan study. *The American review of respiratory disease. Am Rev Respir Dis*, 1987; 136 (3): 730-736.
10. Gattinoni L., Caironi P., Cressoni M. *et al.* Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2006; 354 (17): 1775-1786.
11. Maiolo G., Collino F., Vasques F. *et al.* Reclassifying acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018; 197 (12): 1586-1595.
12. Peng Q., Wang X., Zhang L. *et al.* Findings of lung ultrasonography of novel corona virus pneumonia during the 2019-2020 epidemic. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (5): 849-850 (<https://rdcu.be/ceSE4>).
13. Xie J., Tong Z., Guan X. *et al.* Critical care crisis and some recommendations during the COVID-19 epidemic in China. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (5): 837-840 (<https://rdcu.be/ceSFd>).
14. Zeng J., Huang J. and Pan L. How to balance acute myocardial infarction and COVID-19: the protocols from Sichuan Provincial People's Hospital. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (6): 1111-1113 (<https://rdcu.be/ceSFI>).
15. Pan X., Xu D., Zhang H. *et al.* Identification of a potential mechanism of acute kidney injury during the COVID-19 outbreak: a study based on single-cell transcriptome analysis. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (6): 1114-1116 (<https://rdcu.be/ceSFM>).
16. Wang D., Hu B., Hu C. *et al.* Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 2020; 323 (11): 1061-1069.
17. Bouadma L., Lescure F., Lucet J. *et al.* Severe SARS-CoV-2 infections: practical considerations and management strategy for intensivists. *Intensive Care Med*, 2020; 46 (4): 579-582 (<https://rdcu.be/ceSF2>).



ARTICOL DE SINTEZĂ

Infecțiile septico-purulente cu *Staphylococcus* metilino-rezistent: articol de sinteză

Diana Buga^{1*}, Viorel Prisacari^{1†}

¹Laboratorul „Infecții intraspitalicești”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 01.11.2020

Data acceptării spre publicare: 10.12.2020

Autor corespondent:

Diana Buga, cercetător științific, doctorand
Laboratorul „Infecții intraspitalicești”
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004
e-mail: diana.buga@mail.ru

REVIEW ARTICLE

Septic-purulent infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*: review article

Diana Buga^{1*}, Viorel Prisacari^{1†}

¹Laboratory of nosocomial infection, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 01.11.2020

Accepted for publication on: 10.12.2020

Corresponding author:

Diana Buga, researcher, PhD student
Laboratory nosocomial infection
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: diana.buga@mail.ru

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

În Republica Moldova nu există un sistem organizat de supraveghere a antibioticorezistenței microbiene și de consum al preparatelor antimicrobiene, iar studiile privitor la incidența prin infecții septico-purulente cauzate de *Staphylococcus* metilino-rezistent sunt fragmentate.

Ipoteza de cercetare

Expunerea unei sinteze narative a literaturii referitoare la prezentarea cât mai amplă a problemei privind infecțiile cu *Staphylococcus* metilino-rezistent.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Articolul prezintă o sinteză a studiilor la nivel internațional privind epidemiologia, factorii de risc, gradului de sensibilitate/rezistență, impactul medical și socio-economic al infecțiilor cu *Staphylococcus* metilino-rezistent.

Rezumat

Introducere. Apariția tulpinilor de *Staphylococcus* metilino-rezistent reprezintă un fenomen actual în medicină. Infecțiile septico-purulente cauzate de tulpinile de *Staphylococcus* metilino-rezistent caracterizate prin rezistență înaltă la mai multe clase de antibiotice determină un impact negativ semnificativ asupra sănătății publice. Continuarea cercetărilor este necesară pentru cunoașterea factorilor de risc, a mecanismelor de transmitere și a epidemiologiei infecțiilor cu *Staphylococcus* metilino-rezistent, ce va contribui la implementarea măsurilor de supraveghere și control precum și la îmbunătățirea respectării recomandărilor date.

What is not known yet, about the topic

In the Republic of Moldova does not exist an organized system for monitoring microbial antibiotic resistance and consumption of antimicrobial preparations and studies on the incidence of septic-purulent infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus* are fragmented.

Research hypothesis

Exposition of a narrative synthesis of the literature regarding the widest possible presentation of the problem regarding infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*.

Article's added novelty on this scientific topic

The article presents a synthesis of international studies on epidemiology, risk factors, sensitivity / resistance, medical and socioeconomic impact of infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*.

Abstract

Introduction. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus* strains is a current phenomenon in medicine. Septic-purulent infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus* strains characterized by high resistance to several classes of antibiotics cause a significant negative impact on public health. Further research is needed to know the risk factors, transmission mechanisms and epidemiology of infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*, which will contribute to the implementation of surveillance and control measures and to improve compliance with the given recommendations.

Material și metode. Din bazele de date *PubMed*, au fost selectate articolele relevante care au arătat evoluția infecțiilor cu MRS de la primele cazuri și până în perioada contemporană. Pentru realizarea obiectivului trasat, a fost efectuată căutarea literaturii științifice de specialitate după cuvintele cheie: „*Staphylococcus* metilino-rezistent”, „*Staphylococcus* metilino-sensibil”, „rezistența la antibiotice”, „*Staphylococcus* coaguloso-pozitivi”, „*Staphylococcus* coaguloso-negativi”. A fost selectată și procesată informația despre epidemiologia, factorii de risc, gradului de sensibilitate/rezistență, impactul medical și socio-economic al infecțiilor cu *Staphylococcus* metilino-rezistent.

Rezultate. După prelucrarea informației identificate de motorul de căutare *Google Search*, din bazele de date *PubMed* conform criteriilor de căutare, au fost selectate 527 de articole privind infecțiile septico-purulente cu *Staphylococcus* metilino-rezistent. Bibliografia finală conține 53 de surse relevante, care au fost considerate reprezentative pentru materialele publicate la tema acestui articol de sinteză.

Concluzii. Infecțiile cu *Staphylococcus* metilino-rezistent prezintă o preocupare majoră la nivel global, determinată de creșterea anuală a tulpinilor de stafilococi metilino-rezistenți și de apariția unor tulpini rezistente la antibioticele anti-stafilococice de rezervă.

Cuvinte cheie: *Staphylococcus* metilino-rezistent, *Staphylococcus* metilino-sensibil, infecții septico-purulente.

Introducere

Printre agenții patogeni care cauzează infecțiile spitalicești, cocii Gram-pozitivi, inclusiv bacteriile ce aparțin genului *Staphylococcus* ocupă un rol important în structura etiologică, într-o mare măsură, acest lucru rezultă din capacitatea acestora de a acumula determinanții de rezistență la antibiotice [1].

Staphylococcus aureus metilino-rezistent (MRSA) a fost recunoscut încă din anii 1980 ca fiind un agent patogen principal nosocomial care a cauzat probleme atât în spitale cât și în alte instituții de îngrijire a sănătății din întreaga lume. Inițial, tulpinile de MRSA au fost înregistrate în spitalele europene și, ulterior, în alte instituții de asistență medicală, fiind raportate ca un agent al infecțiilor grave, de multe ori letale, izolat în special din departamentele cu mare risc, cum ar fi chirurgie, hematologie, terapie intensivă [2, 3].

OMS în primul raport asupra rezistenței bacteriene la antibiotice semnalează că aceasta a devenit o amenințare majoră pentru sănătatea publică la nivel global. Deoarece ultimele decenii au fost marcate de o creștere progresivă, rapidă a numărului de tulpini bacteriene rezistente implicate în patologia umană și de o rată redusă de introducere în terapie de noi antibiotice, în 2017, OMS stabilește cele mai importante categorii de germeni multirezistenți pentru care se impune introducerea de noi posibilități terapeutice, cu 3 niveluri de prioritate: critic, înalt și mediu, tulpinile de *Staphylococcus aureus* metilino-rezistent aparținând nivelului înalt [4].

Rezistența la metilina are un impact negativ asupra rezultatelor clinice și economice, în special în ceea ce privește

Material and methods. From the *PubMed* databases, were selected relevant articles that showed the evolution of MRS infections from the first cases and to the contemporary period. To achieve the stated objective, was searched the specialized scientific literature by the following keywords: „methicillin-resistant *Staphylococcus*”, „methicillin-sensitive *Staphylococcus*”, „antibiotic resistance”, „coagulase-positive *Staphylococcus*”, „coagulase-negative *Staphylococcus*”. Was selected and processed information on epidemiology, risk factors, sensitivity / resistance, medical and socioeconomic impact of infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*.

Results. After processing the information identified by the search engine *Google Search*, from the *PubMed* databases according to the search criteria, 527 articles were found on nosocomial infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*. The final bibliography contains 53 relevant sources, which were considered representative for the materials published on the topic of this synthesis article.

Conclusions. Infections with methicillin-resistant *Staphylococcus* are a major global concern, caused by the annual growth of methicillin-resistant staphylococcal strains and the emergence of strains resistant to reserve antistaphylococcal antibiotics.

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus*, methicillin-sensitive *Staphylococcus*, septic-purulent infections.

Introduction

Among the pathogens that cause hospital infections, Gram-positive cocci, including bacteria of the genus *Staphylococcus*, have an important role in the etiological structure, to a large extent, this results from their ability to accumulate determinants of antibiotic resistance [1].

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been recognized since the 1980s as a major nosocomial pathogen that has caused problems both in hospitals and other health care institutions around the world. Initially, strains MRSA were registered in European hospitals, and later in other healthcare institutions around the world, being reported as an agent of serious infections, often fatal infections, isolated especially from high-risk departments such as surgery, hematology, intensive care [2, 3].

The WHO in first report on bacterial resistance to antibiotics reports that it has become a major threat to global public health. As the last decades have been marked by a gradual, rapid increase in the number of resistant bacterial strains involved in human pathology and a low rate of introduction of new antibiotics into therapy, in 2017, the WHO establishes the most important categories of multidrug-resistant germs for which is required the introduction of new therapeutic possibilities, with 3 priority levels: critical, high and medium, the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains belonging to the high level [4].

Methicillin resistance has a negative impact on clinical and economic outcomes, especially in terms of increased morbidity

morbiditatea și mortalitatea crescută, durata lungă a spitalizării, cererea de intervenții suplimentare pentru a atenua impactul clinic, utilizarea crescută a antibioticelor și a altor metode de tratament, precum și necesitatea unor teste suplimentare de diagnostic [5, 6].

Situarea stafilococilor pe primele locuri în etiologia infecțiilor bacteriene, creșterea anuală a numărului de tulpini de stafilococi metilino-rezistenți (MRS) și apariția unor tulpini rezistente la antibioticele antistafilococice de rezervă, încadrează această patologie în rândul bolilor infecțioase emergente [7, 8, 9].

Material și metode

Pentru realizarea obiectivului trasat, a fost efectuată căutarea literaturii științifice de specialitate, identificate de motorul de căutare *Google Search* și din bazele de date *PubMed* după cuvintele cheie: „*Staphylococcus metilino-rezistent*”, „*Staphylococcus metilino-sensibil*”, „rezistența la antibiotice”, „*Staphylococcus coaguloso-pozitivi*”, „*Staphylococcus coaguloso-negativi*”. Pentru selectarea avansată a surselor bibliografice, au fost aplicate următoarele filtre: articole cu text integral, articole publicate ce conțin date privitor la primele cazuri de MRS precum și date din perioada contemporană. După examinarea titlurilor articolelor obținute au fost selectate doar lucrările originale de cercetare care conțineau informații relevante privind actualitatea problemei infecțiilor septico-purulente nosocomiale cu *Staphylococcus metilino-rezistent*. Adițional, au fost studiate listele de referințe bibliografice ale surselor identificate cu scopul de a găsi alte publicații potențial semnificative scopului trasat care nu au fost găsite în timpul căutării inițiale în bazele de date.

Au fost evaluate doar studiile ce îndeplinesc criteriile de includere, iar publicațiile, conținutul cărora nu reflecta tema abordată au fost excluse.

După o analiză minuțioasă a informației din publicațiile incluse în bibliografie a fost selectat doar materialul care pune în evidență principalele trăsături ale infecțiilor septico-purulente cu *Staphylococcus metilino-rezistent*, prezentând importanța epidemiologică, clinică și socio-economică la nivel mondial.

La necesitate, pentru precizarea unor noțiuni, au fost consultate surse adiționale de informație. Publicațiile duplicate, articole care nu au corespuns cu scopul lucrării și care nu au fost accesibile pentru vizionare, au fost excluse din lista publicațiilor generate de motorul de căutare.

Rezultate

În rezultatul prelucrării informației identificate de motorul de căutare *Google Search*, din bazele de date *PubMed* conform criteriilor de căutare, au fost găsite 527 de articole care abordează problema infecțiilor septico-purulente cu *Staphylococcus metilino-rezistent*. După analiza primară a titlurilor, 257 de articole au fost calificate eventual relevante pentru sinteza dată. După trecerea lor repetată în revistă, au fost selectate, în cele din urmă, 115 publicații relevante scopului trasat. În bibliografia finală a lucrării au intrat 53 publicații, care au fost

ity and mortality, long duration of hospitalization, request for additional interventions to mitigate the clinical impact, increased use of antibiotics and other treatment methods, as well as the need for additional diagnostic tests [5, 6].

The situation of staphylococci in the first places in the etiology of bacterial infections, the annual increase in the number of methicillin-resistant staphylococcal (MRS) strains and the emergence of strains resistant to reserve antistaphylococcal antibiotics, classifies this pathology among emerging infectious diseases [7, 8, 9].

Material and methods

In order to achieve the stated objective, was searched the specialized scientific literature by the following keywords: „methicillin-resistant *Staphylococcus*”, „methicillin-sensitive *Staphylococcus*”, „antibiotic resistance”, „coagulase-positive *Staphylococcus*”, „coagulase-negative *Staphylococcus*”. For the advanced selection of bibliographic sources, were applied the following filters: full-text articles, published articles containing data on the first cases of MRS as well as data from the contemporary period. After examining the titles of the obtained articles, only the original research papers were selected that contained relevant information on the topicality of the problem of septic-purulent infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*. Additionally, the bibliographic reference lists of the identified sources were studied to find other publications potentially significant to the intended purpose that were not found during the initial search in the databases.

Only studies that meet the inclusion criteria were evaluated, and publications whose content did not reflect the topic addressed were excluded.

After a thorough analysis of the information from the publications included in the bibliography, only the material was selected that highlights the main features of septic-purulent infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*, presenting epidemiological, clinical, and socio-economic importance worldwide.

If necessary, additional sources of information were consulted to clarify some notions. Duplicate publications, articles that did not correspond to the purpose of the paper and were not accessible for viewing, were excluded from the list of publications generated by the search engine.

Results

As a result of processing the information identified by the search engine *Google Search*, from the *PubMed* databases according to the search criteria, 527 articles were found that address the problem of septic-purulent infections with methicillin-resistant *Staphylococcus*. After the primary analysis of the titles, 257 articles were qualified as possibly relevant for the given synthesis. After their repeated review, were finally selected 115 publications relevant to the stated purpose. The final bibliography of the paper included 53 publications, which were considered representative of the materials published on the topic of this synthesis article.

considerate reprezentative pentru materialele publicate la tema acestui articol de sinteză.

Înainte de apariția antibioticelor, infecțiile cu *Staphylococcus aureus* erau considerate a fi o condamnare la moarte. Aceste infecții au devenit cu succes tratabile după descoperirea penicilinei de către Alexander Fleming, datorită susceptibilității uniforme a acestor bacterii la penicilină [10].

La numai un an de la implementarea primelor preparate de penicilină G în practica terapeutică, în 1941 au fost raportate identificări de izolate de *Staphylococcus aureus* rezistente la acest medicament miraculos. Tulpinile rezistente la penicilină au fost diseminate cu viteză atât în spitale, cât și în comunitate. Pentru a controla infecțiile cauzate de *Staphylococcus aureus* care produc beta-lactamaze, în anul 1960, au fost introduse peniciline semi-sintetice. Cu toate acestea, la scurt timp după introducerea lor, tulpinile au dezvoltat de asemenea, un mecanism de rezistență împotriva acestor agenți, în 1961 în Marea Britanie fiind raportate primele tulpini de *Staphylococcus aureus* rezistente la meticilină [11, 12, 13, 14].

De la primele cazuri de MRSA înregistrate și până astăzi, amploarea problemei a crescut dramatic, incidența infecțiilor cauzate de MRSA atingând proporții endemice în unele spitale. Variații considerabile în ceea ce privește prevalența *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină există între instituții și între zone geografice. În SUA, aproximativ 25% de tulpini de *S. aureus* sunt rezistente la meticilină, în timp ce în Canada rata prevalenței este mai mică de 5%. În Europa, în general, se observă, un gradient nord-sud, tulpinile de MRSA fiind rare în spitalele scandinave (<2%) și mult mai răspândite în spitalele din țările mediteraniene (>40%). În special, Suedia rămâne una dintre puținele țări cu o prevalență scăzută a infecțiilor cu MRSA. O proporție substanțială de cazuri de MRSA în Suedia fiind importate din străinătate, din cauza călătoriilor și a asistenței medicale între țări [2, 15, 16, 17, 18].

În România, situația privind ponderea tulpinilor de MRSA este foarte alarmantă, în anul 2015, nivelul MRSA în România a devenit cel mai ridicat din Uniunea Europeană / Spațiul Economic European (UE/EEA), MRSA reprezentând 60,4% din totalul tulpinilor de *Staphylococcus aureus* raportate; pentru al patrulea an consecutiv în România se înregistrează cel mai ridicat nivel al MRSA dintre statele europene participante la EARS Net și de 3,5 ori mai ridicat față de media ponderată pentru aceste state, în 2015 fiind singurul stat care depășește 50% [19, 20].

În Republica Moldova ponderea tulpinilor de *Staphylococcus* meticilino-rezistent constituie 36,32%, și diferă în funcție de instituțiile medico-sanitare din care au fost izolate, aceasta fiind în staționarele medicale multiprofil – 36,32%, maternități – 61,81%, mediul rural – 22,36% [21].

Deși în ultimii ani se indică o scădere a procentului de tulpini de *Staphylococcus* în UE/EEA rezistente la meticilină, de la media 19,6% înregistrată în anul 2014 – la 16,9% în 2017, MRSA rămâne un important agent patogen în UE/EEA, nivelurile de MRSA rămân încă a fi ridicate în mai multe țări, iar rezistența la alte grupuri antimicrobiene este în continuă creștere [22].

Before the advent of antibiotics, *Staphylococcus aureus* infections were considered a death sentence. These infections became successfully treatable after the discovery of penicillin by Alexander Fleming, due to the uniform susceptibility of these bacteria to penicillin [10].

Only one year after the implementation of the first penicillin G preparations in therapeutic practice, in 1941 have been reported isolates of *Staphylococcus aureus* resistant to this miraculous drug. Penicillin-resistant strains were rapidly spreading to both hospitals and the community. To control *Staphylococcus aureus* infections which produce beta-lactamase, in the 1960s were introduced semi-synthetic penicillins. However, in a short time after their introduction, the strains also developed a mechanism of resistance against these agents, in 1961 in the United Kingdom were reported the first methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* [11, 12, 13, 14].

From the first cases of MRSA registered until today, the scale of the problem has increased dramatically, the incidence of MRSA infections has been endemic in some hospitals. Considerable variations in the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exist between institutions and between geographical areas. In the USA, about 25% of *S. aureus* strains are resistant to methicillin, while in Canada the prevalence rate is less than 5%. In Europe, in general, is observed a north-south gradient, MRSA strains are few in Scandinavian hospitals (<2%) and much more widespread in hospitals in Mediterranean countries (>40%). Sweden is one of the few countries with a low prevalence of MRSA infections. A substantial proportion of MRSA cases in Sweden are imported from abroad due to travel and healthcare between countries [2, 15, 16, 17, 18].

In Romania, the situation regarding the share of MRSA strains is very alarming, in 2015, the level of MRSA in Romania became the highest of all the states of the European Union / European Economic Area (EU / EEA), MRSA representing 60.4% of the total reported *Staphylococcus aureus* strains; for the fourth consecutive year in Romania is registered the highest level of MRSA among the European states participating in EARS Net and 3.5 times higher than the weighted average for these states, in 2015 being the only state to exceed 50% [19, 20].

In the Republic of Moldova, the share of methicillin-resistant *Staphylococcus* strains is 36.32% and differs depending on the medical institutions from which they were isolated, in the multi-profile medical hospitals – 36.32%, maternity – 61.81%, rural – 22.36% [21].

Although in recent years there has been a decrease in the percentage of *Staphylococcus* strains in the EU / EEA resistant to methicillin, from an average of 19.6% in 2014 – to 16.9% in 2017, MRSA levels remain high in several countries, and resistance to other antimicrobial groups is constantly increasing [22].

Shortly after the appearance of MRSA, it was realized that the problem of methicillin resistance involves not only coagulase-positive *Staphylococcus* (CPS), but also coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS). As with other nosocomial pathogens, increased rates of antibiotic resistance have been shown

La scurt timp după apariția MRSA, s-a realizat că problema rezistenței la meticilină implică nu numai tulpinile de stafilococi coaguloso-pozitivi (CPS), dar, de asemenea, și tulpinile de stafilococi coaguloso-negativi (CNS). Ca și în cazul altor agenți patogeni nosocomiali, creșterea ratelor de rezistență la antibiotice s-a dovedit a fi o problemă și mai mare pentru CNS decât pentru *Staphylococcus aureus*, limitând opțiunile terapeutice [23].

Astăzi, CNS, ca oportuniști tipici, reprezintă unul dintre agenții patogeni nosocomiali majori, având un impact substanțial asupra vieții și sănătății omului. Incidența crescândă a infecțiilor cauzate de aceste bacterii poate fi atribuită afinității lor deosebite pentru materialele străine care sunt integrante medicinei moderne. Utilizarea din ce în ce mai mare a dispozitivelor protetice, cateterelor intravasculare și a altor tehnologii invazive la pacienții bolnavi, imunosupresați, au adus stafilococii coagulazo-negativi în fruntea agenților patogeni nosocomiali, ceea ce duce la o morbiditate considerabilă și la costuri medicale în exces [24, 25].

Capacitatea unor tulpini de stafilococi coagulazo-negativi de a se dezvolta pe suprafețele electronegative ale corpilor străini ca microcolonii formate din bacterii și glicocalix sub forma unui biofilm, constituie un factor-cheie în virulența acestei specii și are un impact enorm atât asupra patogenezei cât și asupra terapiei acestor infecții nosocomiale [26, 27].

CNS a fost cea mai frecventă cauză identificată a infecțiilor asociate asistenței medicale dobândite în unitățile de terapie intensivă în 11 state membre ale Uniunii Europene în 2015 [28] și cel de-al doilea organism cel mai comun izolat în infecțiile articulațiilor protetice ale șoldului și genunchiului în supravegherea infecțiilor locului chirurgical în Uniunea Europeană / Spațiul Economic European [29].

Intr-un studiu italian, CNS a reprezentat 41% din toate izolatele din culturi de sânge la pacienții din unitățile de terapie intensivă, dintre acestea, 64% fiind tulpini rezistente la meticilină și demonstrând rate ridicate de rezistență la multe alte antibiotice [30].

Apariția microorganismelor rezistente este un fenomen la nivel mondial, cu implicații grave asupra calității asistenței medicale și a eficienței serviciilor de sănătate. Printre factorii care au fost asociați cu infecția produsă de MRS au fost evidențiați: spitalizarea anterioară (în ultimele 12 luni), prezența intervențiilor chirurgicale anterioare și a altor proceduri invazive, alimentații enterale, internarea în unitățile de terapie intensivă, administrare de preparate antibacteriene în anamneză, frecvența tot mai mare a deficitelor imunitare (grupe de vârstă cu risc crescut, comorbidități), utilizarea de corpurilor străine și implante etc [31, 32, 33, 34, 35].

Ponderea tulpinilor de *Staphylococcus* meticilino-rezistent a variat în funcție de materialul patologic precum și profilul staționarului din care a fost izolat. O rezistență destul de înaltă la meticilină s-a dovedit a o avea tulpinile de stafilococi izolați din hemoculturi. Conform raportului EARSS (*European Antibiotic Resistance Surveillance System*) din anul 2014, cota tulpinilor MRSA izolate din hemoculturi a variat între 0,9% (Olanda) și 56,0% (România). Cele mai mici valori au înregis-

to be an even greater problem for CNS than for *Staphylococcus aureus*, limiting treatment options [23].

Today, CNS, as typical opportunists, is one of the major nosocomial pathogens, having a substantial impact on human life and health. The increasing incidence of infections caused by these bacteria can be attributed to their special affinity for foreign materials that are integral to modern medicine. The increasing use of prosthetic devices, intravascular catheters, and other invasive technologies in sick patients, immunosuppressed, has brought coagulase-negative staphylococci to the forefront of nosocomial pathogens, leading to considerable morbidity and excessive medical costs [24, 25].

The ability of coagulase-negative staphylococcal strains to grow on the electronegative surfaces of foreign bodies as microcolonies formed by bacteria and glycocalyx in the form of a biofilm is a key factor in the virulence of this species and has an enormous impact on both pathogenesis and therapy of these nosocomial infections [26, 27].

CNS was the most common identified cause of health-care associated infections acquired in intensive care units in 11 Member States of the European Union (EU) in 2015 [28] and the second most common isolated organism in prosthetic joint infections hip and knee in the surveillance of surgical site infections in the European Union / European Economic Area (EU / EEA) [29].

In an Italian study, CNS accounted for 41% of all blood culture isolates in patients in intensive care units, of which 64% were methicillin-resistant strains and demonstrated high rates of resistance to many other antibiotics [30].

The emergence of antibiotic-resistant microorganisms is a worldwide phenomenon, with serious implications for the quality of health care and the efficiency of health services. Among the factors that were associated with the infection caused by MRS were noticed: hospitalization in the past (in the last 12 months), the presence of past surgery and other invasive procedures, hospitalization in intensive care units, administration of antibacterial preparations in the past, increasing frequency of immune deficits (age groups at high risk of infections, comorbidities), use of foreign bodies and surgical implants etc [31, 32, 33, 34, 35].

The share of methicillin-resistant *Staphylococcus* strains varied depending on the pathological material as well as the profile of the stationary from which it was isolated. Staphylococcal strains isolated from blood cultures had a high resistance to methicillin. According to the EARSS (European Antibiotic Resistance Surveillance System) report from 2014, the share of MRSA strains isolated from blood cultures varied between 0.9% (Netherlands) and 56.0% (Romania). The lowest values were recorded by the Scandinavian countries, and the highest values were reported by the countries of southern Europe [36].

Among the medical units of different profile, intensive care units have an increased risk of disease due to septic-purulent bacterial nosocomial infections caused by methicillin-resistant staphylococcal strains. In the university hospitals in Europe participating in the SENTRY study, it is observed that the

trat țările Scandinave, iar cele mai mari valori au fost raportate de țările din sudul Europei [36].

Printre staționările medicale de diferit profil, unitățile de terapie intensivă au un risc crescut de îmbolnăvire prin infecții nosocomiale bacteriene septico-purulente produse de tulpinile de stafilococ meticilin-rezistent. În spitalele universitare din Europa participante la studiul SENTRY se observă că cea mai crescută rată a MRSA se atestă în unitățile de terapie intensivă, însă numai în procent de 38% [37]. În schimb, studiul EPIC, care a evaluat ponderea MRSA în 1417 unități de terapie intensivă din 17 țări vest-europene, a raportat o pondere de 60% [38].

Pe baza constatărilor din studiul de prevalență organizat în 2012, la care au participat peste 1000 de spitale din 30 de țări europene, Centrul European de Prevenire și Control al Bolilor estimează că rezistența la meticilină a tulpinilor de *Staphylococcus aureus* în unitățile de terapie intensivă atinge 41,2% cazuri [39].

Monitorizarea variațiilor de sensibilitate la antibiotice a stafilococului continuă să fie o preocupare permanentă pe glob, de maximă importanță pentru clinicieni, care au nevoie de o documentare cât mai actuală, pe diferite ecosisteme bacteriologice, a profilului de sensibilitate în continuă schimbare a stafilococului, pentru diminuarea riscului unor terapii de primoințenție inadecvate, cu consecința unor evoluții defavorabile și a unor costuri de spitalizare ridicate [40].

Opțiunile pentru tratarea infecției cu MRS sunt puține și, pe măsură ce apar tulpini noi, opțiunile sunt din ce în ce mai limitate. Vancomicina a fost considerată mult timp cel mai eficace medicament pentru tratamentul infecției cu MRSA. Terapia empirică pentru infecțiile stafilococice, în special a sepsisului nosocomial a dus la utilizarea frecventă a antibioticelor din clasa glicopeptidelor, îndeosebi a vancomicinei. În consecință, a fost stabilită o presiune selectivă care a dus la apariția tulpinilor de *S. aureus* și a altor specii de stafilococi cu o rezistență intermediară la vancomicină (VISA) sau, mai rău, rezistență deplină la acest antibiotic (VRSA) [41, 42, 43]. Prima tulpină de *S. aureus* cu susceptibilitate redusă la vancomicină (VISA) și teicoplanină a fost raportată din Japonia în 1997 [44] iar primul izolat clinic de *S. aureus* rezistent la vancomicină (VRSA) a fost raportat din Statele Unite în 2002 [45].

Creșterea infecțiilor sistemice cauzate de tulpinile de MRS rezistente la glicopeptide rămâne a fi o problemă destul de gravă, lăsând clinicianul cu foarte puține opțiuni terapeutice.

Mai nou, pentru tratarea infecțiilor cu MRSA au fost autorizate două noi antibiotice: linezolid și daptomicină. Ambele antibiotice s-au dovedit a fi foarte active împotriva tulpinilor MRSA și, din moment ce structura chimică și mecanismul lor de acțiune au fost noi, nu a fost anticipată apariția rezistenței naturale sau a rezistenței încrucișate. Cu toate acestea, s-au găsit mecanisme de rezistență care apar în mod natural la ambele antibiotice [46, 47], iar rapoartele de dezvoltare a rezistenței în timpul tratamentului cresc.

În pofida progreselor înregistrate în prevenirea și tratamentul infecțiilor nosocomiale, acestea continuă a fi o problemă importantă în toate domeniile medicale. Infecțiile nosocomiale,

highest rate of MRSA is attested in the intensive care units, but only in a percentage of 38% [37]. In contrast, the EPIC study, which assessed the share of MRSA in 1417 intensive care units in 17 Western European countries, reported a share of 60% [38].

Based on the findings of the prevalence study organized in 2012, attended by more than 1000 hospitals in 30 European countries, the European Center for Disease Prevention and Control estimates that methicillin resistance *Staphylococcus aureus* strains in intensive care units reaches 41.2% of cases [39].

Monitoring of staphylococcal antibiotic susceptibility variations continues to be a permanent concern worldwide, of utmost importance for clinicians, who need the most up-to-date documentation possible, on different bacteriological ecosystems, the constantly changing sensitivity of staphylococcus, to reduce the risk of incorrect therapies, with the consequence of unfavorable developments and high hospitalization costs [40].

The options for treating MRS infection are few and, as new strains appear, the options are increasingly limited. Vancomycin has long been considered the most effective drug for the treatment of MRSA infection. Empirical therapy for staphylococcal infections, especially nosocomial sepsis, has led to the frequent use of antibiotics in the class of glycopeptides, especially vancomycin. Consequently, selective pressure was established which led to the emergence of *S. aureus* strains and other staphylococcal species with intermediate resistance to vancomycin (VISA) or, worse, full resistance to this antibiotic (VRSA) [41, 42, 43]. The first strain of *S. aureus* with reduced susceptibility to vancomycin (VISA) and teicoplanin was reported from Japan in 1997 [44] and the first clinical isolate of vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) was reported in the United States in 2002 [45].

The increase in infections caused by glycopeptide resistant MRS strains is a serious problem, leaving the clinician with very few therapeutic options.

More recently, two new antibiotics have been authorized to treat MRSA infections: linezolid and daptomycin. Both antibiotics have been shown to be very active against MRSA strains and, since their chemical structure and mechanism of action were new, the emergence of natural resistance or cross-resistance was not anticipated. However, naturally occurring resistance mechanisms have been found in both antibiotics [46, 47], and reports of resistance development during treatment are increasing.

The progresses in the prevention and treatment of nosocomial infections, they continue to be an important issue in all medical fields. Nosocomial infections, including MRS infections, increase economic costs considerably by prolonging hospitalization, increasing incapacity for work, increased use of antibiotics and other treatment methods, and the need for additional diagnostic tests. Methicillin resistance has a negative impact on clinical and economic outcomes, especially in terms of increased morbidity and mortality and long-term hospitalization, as well as the need for additional interventions to mitigate the clinical impact [5, 6].

inclusiv infecțiile cu MRS cresc considerabil costurile economice, prin prelungirea spitalizării, creșterea perioadei de incapacitate de muncă, utilizarea crescută a antibioticelor și a altor metode de tratament, precum și necesitatea unor teste suplimentare de diagnostic. S-a dovedit că rezistența la metilina are un impact negativ asupra rezultatelor clinice și economice, în special în ceea ce privește morbiditatea și mortalitatea crescută și durata lungă a spitalizării, precum și cererea de intervenții suplimentare pentru a atenua impactul clinic [5, 6].

UE a estimat că anual infecțiile cu MRSA determină în plus 1 milion de zile de spitalizare și un cost suplimentar al spitalizării de 380 milioane EUR. Costurile infecțiilor cu MRS variază în funcție de gravitatea și tipul infecției, astfel, bacteremiile sunt mult mai costisitoare în comparație cu pneumoniile, care, la rândul său, pot fi mai costisitoare decât infecțiile chirurgicale [48, 49].

Engemann J. *et al.* (2003) au descoperit că, în rândul pacienților chirurgicali, cei cu infecții MRSA au fost spitalizați cu 5 zile mai mult decât cei cu infecții cu *S. aureus* metilino-sensibil (MSSA) [50]. Filice G. *et al.* (2010) au estimat că costurile medii pentru pacienții infectați cu MRSA au fost de 34657 USD, comparativ cu 15923 USD pentru pacienții infectați cu MSSA. Pacienții cu infecție cu MRSA au avut o mortalitate mai înaltă comparativ cu cei cu MSSA (23,6% față de 11,5%; $p < 0,001$) [51].

Pacienții cu MRS s-au dovedit a avea mai multe comorbidiități, mai multe complicații pe perioada internării, necesitând investigații suplimentare, internări de lungă durată în staționar, inclusiv în terapie intensivă, tratament mai complex și costisitor. Costurile mult mai ridicate pentru tratamentul infecțiilor cu *Staphylococcus* metilino-rezistent (MRS) comparativ cu cel al infecțiilor cu *Staphylococcus* metilino-sensibil (MSS), se datorează atât numărului mai mare de zile de tratament, cât și costurilor suplimentare, care includ costuri pentru screening, utilizarea echipamentelor de protecție personală și costurile antibioticelor și preparatelor utilizate în tratamentul și decolonizarea pacienților [52, 53].

Concluzii

Infecțiile cu *Staphylococcus* metilino-rezistent prezintă o preocupare majoră la nivel global, determinată de creșterea anuală a tulpinilor de stafilococi metilino-rezistenți și de apariția unor tulpini rezistente la antibioticele antistafilococice de rezervă. Rezistența la metilina a tulpinilor de *Staphylococcus* au un impact negativ asupra rezultatelor clinice și economice, în ceea ce privește morbiditatea și mortalitatea crescută și durata lungă a spitalizării, precum și cererea în intervenții suplimentare pentru atenuarea impactului clinic. Infecțiile cu MRS cresc considerabil costurile economice, prin prelungirea spitalizării, creșterea perioadei de incapacitate de muncă, utilizarea crescută a antibioticelor și a altor metode de tratament, precum și necesitatea în teste suplimentare de diagnostic.

Managementul de succes pe termen lung al infecțiilor cu MRS necesită o abordare extrem de coordonată, care include supravegherea constantă a dezvoltării rezistenței la antibiotici-

The EU estimates that MRSA infections result in an additional 1 million hospital days and an additional hospitalization cost of EUR 380 million. The costs of MRS infections varies depending on the severity and type of infection, so bacteremia is much more expensive compared to pneumonia, which in turn can be more expensive than surgical infections [48, 49].

Engemann J. *et al.* (2003) found that among surgical patients, those with MRSA infections were hospitalized 5 days longer than those with methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) infections [50]. Filice G. *et al.* (2010) estimated that median costs for patients infected with MRSA were \$34657, compared with \$15923 for patients infected with MSSA. Patients with MRSA infection were also more likely to die than were patients with MSSA infection (23.6% vs 11.5%; $p < 0.001$) [51].

Patients with MRS proved to have more comorbidities, more complications during hospitalization, requiring additional investigations, long-term hospitalizations, including intensive care, more complex and expensive treatment. Much higher costs for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRS) infections than for methicillin-sensitive *Staphylococcus* (MSS) infections are due to both the higher number of treatment days and additional costs, which include costs for screening, use of personal protective equipment, and costs of antibiotics and preparations used in the treatment and decolonization of patients [52, 53].

Conclusions

Methicillin-resistant *Staphylococcus* infections are a major global concern, caused by the annual growth of methicillin-resistant staphylococcal strains and the emergence of strains resistant to reserve antistaphylococcal antibiotics. Methicillin resistance of *Staphylococcus* strains has a negative impact on clinical and economic outcomes in terms of increased morbidity and mortality and long duration of hospitalization, as well as the demand for additional interventions to mitigate the clinical impact. MRS infections significantly increase economic costs, by prolonging hospitalization, increasing the period of incapacity for work, increased use of antibiotics and other methods of treatment, and the need for additional diagnostic tests.

Successful long-term management of MRS infections requires a highly coordinated approach, which includes constant monitoring of the development of antibiotic resistance of MRS strains as well as the development of new therapies and clear treatment guidelines.

Knowing the real incidence, epidemiological features through septic-purulent infections caused by MRS, determining the degree of antibiotic resistance, are essential elements in epidemiological surveillance and control of infections with MRS.

Authors' contribution

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

ce a tulpinilor de MRS precum și elaborarea de noi terapii și linii directe clare de tratament.

Cunoașterea incidenței reale, particularităților epidemiologice prin infecții septico-purulente produse de MRS, determinarea gradului de rezistență la antibiotice, prezintă elemente esențiale în supravegherea epidemiologică și controlul infecțiilor cu MRS.

Contribuția autorilor

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

Declarația conflictului de interes

Autorii declară lipsa conflictului de interese financiare sau non financiare.

Referințe / references

1. Tong S., Davis J., Eichenberger E., Holland T., Fowler V. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2015; 28 (3): 603-661.
2. Köck R., Becker K., Cookson B., Gemert-Pijnen J., Harbarth S., Kluytmans J. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro. Surveill.*, 2010; 15 (41): 19688.
3. McMaster J., Booth M., Smith A., Hamilton K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the intensive care unit: its effect on outcome and risk factors for acquisition. *J. Hosp. Infect.*, 2015; 90 (4): 327-332.
4. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. WHO (2017). Disponibil la adresa: WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf. Accesat pe: 3.05.2020.
5. Antonanzas F., Lozano C., Torres C. Economic features of antibiotic resistance: the case of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacoeconomics*, 2015; 33 (4): 285-325.
6. Wernitz M., Keck S., Swidsinski S., Schulz S., Veit S. Cost analysis of a hospital-wide selective screening programme for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriers in the context of diagnosis related groups (DRG) payment. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2005; 11 (6): 466-471.
7. Almaș A., Flonta M., Petrașcu M., Năstase V. Sensibilitatea la antibiotice a tulpinilor de *Staphylococcus aureus* izolate din infecții ale tegumentelor și părților moi. *Clujul Medical*, 2011; 84 (2): 173-7.
8. Prisacari V., Buga D., Berdeu I. Nosocomial infections with methicillin resistant *Staphylococcus*: epidemic situation at day, solutions. *Akademos*, 2017; 4 (47): 72-76.
9. Balan G., Burduniuc O., Sinișina I., Iasăbaș O., Bunesco I. Frecvența izolării tulpinilor de *Staphylococcus aureus* metilino-rezistente în Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*, 2017; 1: (53): 22-23.
10. Gaynes R. The discovery of penicillin – new insights after more than 75 years of clinical use. *Emerging Infectious Diseases*, 2017; 23 (5): 849-853.
11. Jevons MP. „Celbenin”-resistant staphylococci. *Br. Med. J.*, 1961; 1 (5219): 124-125.
12. Harkins C., Pichon B., Doumith M., Parkhill J. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. *Genome Biol.*, 2017; 18 (1): 130.
13. Sabath L., Finland M. Inactivation of methicillin, oxacillin and ancil-
lin by *Staphylococcus aureus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962; 111: 547-550.
14. Turner N., Sharma-Kuinkel B., Maskarinec S., Eichenberger E. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2019; 17 (4): 203-218.
15. Mairi A., Touati A., Lavigne J. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST80 Clone: a systematic review. *Toxins (Basel)*, 2020; 12 (2): 119.
16. Fluit A., Wielders C., Verhoef J., Schmitz F. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. *J. Clin. Microbiol.*, 2001; 39 (10): 3727-3732.
17. Lakhundi S., Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2018; 31 (4): e00020-18.
18. Stenhem M., Ortvist A., Ringberg H., Larsson L. *et al.* Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Sweden 2000-2003, increasing incidence and regional differences. *BMC Infect. Dis.*, 2006; 6:30.
19. European Centre for Disease Prevention and Control. Summary of the latest data on antibiotic consumption in the European Union. Stockholm: ECDC; 2016. ESAC-Net surveillance data November 2016. Disponibil la adresa: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/antibiotics-ESAC-Net%20Summary%202016_0.pdf]. Accesat la: 7.09.2020.
20. Popescu G., Șerban R., Niculcea A. *Consumul de antibiotice, Rezistența microbiană și Infecții Nosocomiale în România*. 2015; 29-33. Disponibil la adresa: [https://www.cnsbct.ro/index.php/analiza-date-supraveghere/infecții-nosocomiale-1/684-consumul-de-antibiotice-rezistența-microbiană-si-infecții-nosocomiale-in-romania-2015/file]. Accesat la: 15.09.2020.
21. Buga D., Prisacari V., Berdeu I., Balica I., Sinișina I., Manica L. Situația epidemiogenă prin infecții cu *Staphylococcus* metilino-rezistent în Republica Moldova. *Sănătate publică, Economie și Management în medicină*, 2019; 4 (82): 294:299.
22. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. Stockholm: ECDC; 2018. Disponibil la adresa: [https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2017]. Accesat la: 7.09.2020.

23. Brzychczy-Wloch M., Borszewska-Kornacka M., Gulczynska E., Wojkowska-Mach J., Sulik M., Grzebyk M. *et al.* Prevalence of antibiotic resistance in multi-drug resistant coagulase-negative staphylococci isolated from invasive infection in very low birth weight neonates in two Polish NICUs. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2013; 12:41.
24. Kitti T, Seng R., Thummeepak R., Boonlao C., Jindayok T, Sitthisak S. Biofilm formation of Methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* isolated from clinical samples in Northern Thailand. *J. Glob. Infect. Dis.*, 2019; 11 (3): 112-117.
25. Rogers K, Fey P, Rupp M. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 2009; 23 (1): 73-98.
26. Morgenstern M., Erichsen C., Hackl S., Mily J., Militz M., Friederichs J. *et al.* Antibiotic resistance of commensal *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* in an international cohort of surgeons: a prospective point-prevalence study. *PLoS One.*, 2016; 11 (2): e0148437.
27. Becker K, Heilmann C., Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2014; 27 (4): 870-926.
28. European Centre for Disease Prevention and Control. Multidrug-resistant *Staphylococcus epidermidis* – 8 November 2018. Stockholm: ECDC; 2018. Disponibil la adresa: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/15-10-2018-RRA_Staphylococcus%20epidermidis%2C%20Antimicrobial%20resistance-World_ZCS9CS.pdf]. Accesat la: 08.09.2020.
29. European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections: surgical site infections. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC, 2018. Disponibil la adresa: [http://ecdc.europa.eu/publications-data/healthcare-associated-infections-surgical-site-infections-annual-0]. Accesat la: 17.05.2020.
30. Nicoletti G., Bonfiglio G., Bartoloni A. *et al.* Distribution and antibiotic resistance of isolates from lower respiratory tract and blood cultures from patients in three Italian intensive care units: a 2-year comparison. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2000; 15 (4): 265-269.
31. Thampi N., Showler A., Burry L., Bai A., Steinberg M., Ricciuto D. *et al.* Multicenter study of health care cost of patients admitted to hospital with *Staphylococcus aureus* bacteremia: impact of length of stay and intensity of care. *Am. J. Infect. Control.*, 2015; 43 (7): 739-44.
32. Lawes T, Edwards B, Lopez-Lozano J, Gould I. Trends in *Staphylococcus aureus* bacteraemia and impacts of infection control practices including universal MRSA admission screening in a hospital in Scotland, 2006-2010: retrospective cohort study and time-series intervention analysis. *BMJ Open.*, 2012; 2 (3): e000797.
33. Engemann J., Carmeli Y., Cosgrove S., Fowler V., Bronstein M., Trivette S. *et al.* Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2003; 36: 592-8
34. Catry B, Latour K, Jans B, Vandendriessche S. *et al.* Risk factors for methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a multi-laboratory study. *PLoS One.*, 2014; 9 (2): e89579.
35. Arias-Ortiz P, Calderón L, Castillo J, Moreno J, Leal A. *et al.* Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: a multi-center matched case-control study. *Biomédica*, 2016; 36: 612-8.
36. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015. Disponibil la adresa: [http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf]. Accesat la: 22.05.20.
37. Fluit A., Wielders C., Verhoef J., Schmitz F. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. *J. Clin. Microbiol.*, 2001; 39 (10): 3727-3732.
38. Vincent J, Bihari D, Suter P, Bruining H. *et al.* The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA*, 1995; 274 (8): 639-644.
39. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2013. Disponibil la adresa: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/healthcare-associated-infections-antimicrobial-use-PPS.pdf]. Accesat la: 1.05.2020
40. Ray S., Das S., Suar M. Molecular mechanism of drug resistance. *Drug Resistance in Bacteria, Fungi, Malaria, and Cancer*, 2017; 47-110.
41. Holmes N, Tong S, Davis J, J van Hal SJ. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: vancomycin and beyond. *Semin. Respir. Crit. Care. Med.*, 2015; 36 (1): 17-30.
42. Amberpet R., Sistla S., Sugumar M., Nagasundaram N., Manoharan M., Parija S. Detection of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*: a preliminary report from south India. *Indian. J. Med. Res.*, 2019; 150 (2): 194-198.
43. Zhang S., Sun X., Chang W., Dai Y., Ma X.. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates. *PLoS One.*, 2015; 10: e0136082.
44. Hiramatsu K., Hanaki H., Ino T, Yabuta K., Oguri T, Tenover F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1997; 40 (1): 135-136.
45. Centers for Disease Control and Prevention: *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin – United States, 2002. *Morb. Mortal. Wkly. Rep. MMWR.*, 2002; 51: 565-567.
46. D'Costa V, McGrann K, Hughes D, Wright G. Sampling the antibiotic resistome. *Science*, 2006; 311 (5759): 374-377.
47. Long K, Poehlsaard J, Kehrenberg C, Schwarz S, Vester B. The Cfr rRNA methyltransferase confers resistance to Phenicol, Lincosamides, Oxazolidinones, Pleuromutilins, and Streptogramin A antibiotics. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 2006; 50 (7): 2500-2505.
48. European Centre for Disease Prevention and Control, European Medicines Agency. ECDC/EMA Joint Technical Report – the bacterial challenge: time to react. Stockholm: ECDC & EMA, 2009. Disponibil la adresa: [https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdc-emea-joint-technical-report-bacterial-challenge-time-react]. Accesat la: 1.05.2020
49. Rubio-Terrés C., Garau J, Grau S, Martinez-Martinez L. Cost of bacteraemia caused by methicillin-resistant vs. methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in Spain: a retrospective cohort study. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010; 16 (6): 722-8.
50. Engemann J., Carmeli Y., Cosgrove S., Fowler V., Bronstein M., Trivette S. *et al.* Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clinical Infectious Diseases*, 2003; 36 (5): 592-598.
51. Filice G., Nyman J., Lexau C., Lees C., Bockstedt L., Como-Sabetti K. *et al.* Excess costs and utilization associated with methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* infection. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 2010; 31 (4): 365-73.
52. Ben-David D., Novikov I., Mermel LA. Are there differences in hospital cost between patients with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and those with methicillin-susceptible *S. aureus* bloodstream infection? *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 2009; 30 (5): 453-60.
53. Gould I. Costs of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its control. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2006; 28 (5): 379-84.

RECENZIE DE CARTE

Reabilitarea psihosocială a persoanelor post accident vascular cerebral (monografie)

Autor: Aurelia Glavan, dr. șt. psihol., conf. univ.
Centrul Editorial "Univers Pedagogic"
Chișinău, 2020; 407 p.
ISBN 978-9975-48-182-3

Recent, a văzut lumina tiparului o nouă monografie, consacrată unei probleme deosebit de actuale atât la nivel mondial, cât și național – accidentul vascular cerebral (AVC). Această lucrare constituie o apariție editorială inedită în literatura de specialitate limitrofă – medicală, psihologică și de asistență socială, reliefând între aceste domenii relația legitimă și plină de aplicații practice, astfel interdisciplinartatea impunându-se tot mai pregnant ca o legitate esențială a cunoașterii științifice contemporane.

Cercetarea interdisciplinară, *Reabilitarea psihosocială a persoanelor post accident vascular cerebral*, autor Glavan Aurelia, vizează corelarea și integrarea într-un model logico-operațional unitar a diverselor unghiuri de abordare-interpretare ale unui domeniu al realității – accidentul vascular cerebral, și este un imperativ impus de însăși logica internă a evoluției cunoașterii. O știință închisă, izolată, oricât ar fi ea de rafinată, are o valoare instrumentală explicativă și aplicativă, incomparabil mai mică decât o știință deschisă, adică relaționată dinamic și dialectic cu altele, elaborate dintr-o altă perspectivă și pe altă cale. Poate că în niciun alt domeniu principiul integrării interdisciplinare nu se impune cu atâta stringență și nu-și dovedește extraordinara sa fertilitate ca în domeniul cunoașterii complexității reale a omului, a organizării sale structurale și funcționale și a optimizării modalităților de educație și terapie.

În lucrare, autoarea menționează că apariția reabilitologiei ca disciplină de hotar între științele neurologie, psihologie, pedagogie și științele sociale este rezultatul tocmai al traducerii în viață a exigențelor acestei orientări metodologice, respectiv, a principiului interdisciplinarității și al complementarității. Conform autoarei, complexitatea domeniului de reabilitare

BOOK REVIEW

Psychosocial rehabilitation of people after stroke (monograph)

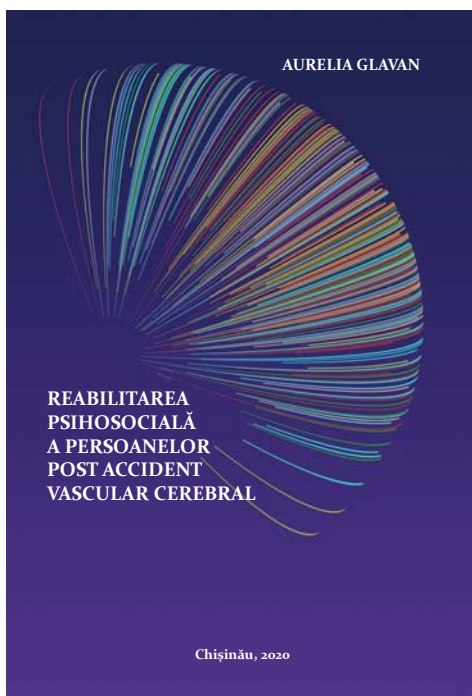
Author: Aurelia Glavan, PhD psychol., assoc. prof.
Editorial Center "Univers Pedagogic"
Chisinau, 2020; 407 p.
ISBN 978-9975-48-182-3

Recently, a new monograph was published, dedicated to a very current issue both globally and nationally – stroke. This paper is a unique editorial in the neighboring literature – medical, psychological and social work, highlighting the legitimate relationship between these areas and full of practical applications, so interdisciplinarity is becoming increasingly important as an essential legitimacy of contemporary scientific knowledge.

Interdisciplinary research, *Psychosocial rehabilitation of people after stroke*, author Glavan Aurelia, aims to correlate and integrate into a unitary logical-operational model the various angles of approach-interpretation of a field of reality – stroke, and is an imperative by the very internal logic of the evolution of knowledge. A closed, isolated science, no matter how refined, has an explanatory and applicative instrumental value, incomparably less than an open science, ie dynamically and dialectically related to others, elaborated from another perspective and in another way. Perhaps in no other field does the principle of interdisciplinary

integration impose itself so rigorously and does not prove its extraordinary fertility as in the field of knowing the real complexity of man, his structural and functional organization and optimizing the modalities of education and therapy.

In the book, the author mentions that the emergence of rehabilitation as a boundary discipline between neurology, psychology, pedagogy and social sciences is the result of the translation into life of the requirements of this methodological orientation, respectively, the principle of interdisciplinarity and complementarity. According to the author, the complexity of the rehabilitation field continues to be a moving target, because the field is dynamic, new models of therapeutic intervention are constantly appearing, and professionals have assumed



continuă să fie o țintă în mișcare, deoarece domeniul este dinamic, apar în permanență modele noi de intervenție terapeutică, iar profesioniștii și-au asumat rolul de a extinde constant domeniul, sondând noi arii de îngrijire a persoanelor cu status post AVC.

Lucrarea are la bază un suport teoretic trainic atât la domeniul psihologic cât și la domeniile adiacente și celor tangențiale subiectului examinat, având un caracter multilateral și pluridisciplinar, însumând cunoștințe ample, care țin de medicină, psihologie, educație, reabilitare socială, oferind, totodată, și date științifice valoroase din cele mai diverse domenii de cercetare, cu care se intercalează subiectul abordat cum sunt: biologia, fiziologia, anatomia, pedagogia. Autorul a încercat să pună în evidență și cele mai noi realizări din domeniul reabilitării persoanelor cu dizabilități – modelul bio-psiho-social, scopul final fiind adaptarea și incluziunea socială a acestui grup de persoane.

Arhitectura structurală destul de reușită a lucrării face posibilă parcurgerea de către cititor a problemei abordate de către autor. Toate informațiile sunt expuse într-o structură coerentă pe 403 pagini în cele 5 capitole ale monografiei. Conținutul monografiei se bazează pe un impresionant material bibliografic de actualitate, prezentat concis și logic, care cuprinde 497 de titluri: surse semnate de autori moldoveni, români, ruși, ucraineni, englezi, francezi, americani etc. Rezultatele cercetărilor reflectate în monografie poartă un caracter fundamental profund, dar în aceeași măsură și aplicativ, fiind îndreptate spre scoaterea în evidență și dezvoltarea domeniului reabilitării psihologice a persoanelor cu dizabilități post AVC.

În partea introductivă se expune un amplu istoric al cunoștințelor din domeniu, cu evidențierea contribuțiilor savanților internaționali și autohtoni pe baza unei bogate și variate documentări, autorul formulează foarte clar scopul și sarcinile lucrării, argumentează convingător importanța teoretică și practică a rezultatelor cercetării, inclusiv și proprii, care stau la baza acesteia.

Lucrarea este rațional structurată în capitole, în care se tratează cele mai importante aspecte teoretice – bio-psiho-sociale – ale reabilitării, precum și aplicațiile acestora în domeniile de neuroreabilitare menționate. Se prezintă, într-o ordine firească, capitolele.

Capitolul I, cu care debutează lucrarea (*Congruențe clinico-psiho-sociale ale reabilitării în accidentul vascular cerebral*), cuprinde o trecere în revistă a cercetătorilor străini și autohtoni preocupați de subiect, precum și o succintă analiză a studiilor realizate în domeniu. Acesta este structurat în cinci compartimente în funcție de tematică: de la problema generală a accidentului vascular cerebral până la abordarea posibilităților de reabilitare post accident vascular cerebral. În rezultatul analizei efectuate, autorul dă o apreciere obiectivă a gradului de cercetare științifică a subiectului în literatura de specialitate autohtonă și străină și trasează argumentat propriile direcții de cercetare pe care urmează să le realizeze în lucrare.

Capitolul II (*Paradigma reabilitării eficiente a persoanelor post accident vascular cerebral*) este consacrat conceptualizării procesului de eficientizare a reabilitării persoanelor cu status post AVC, reabilitarea fiind definită din perspectiva filosofică a fenomenului, a unor aspecte precum misiunea acesteia, sur-

the role of constantly expanding the field, probing new areas of care for people with status after stroke.

The work is based on a strong theoretical support both in the psychological field and in the fields adjacent and tangential to the subject examined, having a multilateral and multidisciplinary character, summing up extensive knowledge related to medicine, psychology, education, social rehabilitation, while offering and valuable scientific data from the most diverse fields of research, with which the approached subject is interspersed such as: biology, physiology, anatomy, pedagogy. The author tried to highlight the latest achievements in the field of rehabilitation of people with disabilities – the bio-psycho-social model, the ultimate goal being the adaptation and social inclusion of this group of people.

The rather successful structural architecture of the paper makes it possible for the reader to go through the problem approached by the author. All the information is presented in a coherent structure on 403 pages in the 5 chapters of the monograph. The content of the monograph is based on an impressive current bibliographic material, presented concisely and logically, which includes 497 titles: sources signed by Moldovan, Romanian, Russian, Ukrainian, English, French, American authors, etc. The results of the research reflected in the monograph have a deep fundamental character, but in the same measure and applicative, being directed towards highlighting and developing the field of psychological rehabilitation of people with post-stroke disabilities.

The *introductory part* presents an extensive history of knowledge in the field, highlighting the contributions of international and domestic scholars based on a rich and varied documentation, the author formulates very clearly the purpose and tasks of the paper, convincingly argues the theoretical and practical importance of research results, which underlie it.

The paper is rationally structured in chapters, which deal with the most important theoretical aspects – bio-psycho-social – of rehabilitation, as well as their applications in the areas of neurorehabilitation mentioned. The chapters are presented in a natural order.

Chapter I, with which the paper begins (*Clinical-psycho-social congruences of rehabilitation in stroke*), includes a review of foreign and local researchers concerned with the subject, as well as a brief analysis of studies in the field. It is structured in five compartments depending on the topic: from the general problem of stroke to addressing the possibilities of rehabilitation after stroke. As a result of the analysis performed, the author gives an objective assessment of the degree of scientific research of the subject in the local and foreign literature and outlines his own research directions to be performed in the paper.

Chapter II (*Paradigm of efficient rehabilitation of people after stroke*) is devoted to conceptualizing the process of streamlining the rehabilitation of people with post-stroke status, rehabilitation being defined from the philosophical perspective of the phenomenon, aspects such as its mission, sources, models, values, orientations specific practices, the essence being in the representation of the problem as an existential

sele, modelele, valorile, orientările practice specifice, esența fiind în reprezentarea problemei ca fenomen uman existențial prin vulnerabilitatea, reziliența situației de dificultate definite drept probleme socioumane și nu doar pur sociale. Ca urmare a fost elaborat un model complex care antrenează elemente ale unui sistem cu: scopuri și obiective, principii, acțiuni, resurse psihosociale, modalități de reglare, resurse umane și materiale etc.

Capitolele III (*Rolul factorilor psihosociali în evoluția accidentului vascular cerebral*), IV (*Profilul socio-demografic al accidentului vascular cerebral*) și V (*Particularități psihologice ale persoanelor post accident vascular cerebral*), reprezintă partea originală a lucrării, fiind descrise și prezentate rezultate ale cercetării. În aceste capitole, autoarea reușește, în urma unei evaluări psihologice ample, să descrie profilul persoanelor post AVC, atât cel demografic, cât și cel psihologic și social. Ca urmare a unui studiu psihologic amplu al acestor persoane, și anume identificarea statusului cognitiv, afectiv, de personalitate, social etc., autoarea reușește să intervină printr-un program psihoterapeutic complex, elaborat în cadrul cercetării efectuate, care, conform rezultatelor obținute, a contribuit esențial la eficientizarea procesului de reabilitare post AVC, la adaptarea socială a acestui grup de persoane, astfel ameliorându-le calitatea vieții.

Urmează *Încheierea*, cu o sinteză detaliată a rezultatelor cercetării și cu recomandările în vigoare.

Prezenta monografie promovează noi achiziții în domeniul reabilitării persoanelor post accident vascular cerebral prin intermediul neuroștiințelor, psihologiei, psihopedagogiei speciale, asistenței sociale. Autorul monografiei a parcurs un număr mare de articole din literatura de specialitate, noțiunile fiind analizate sintetic, dar și îmbogățite de cunoștințe proprii, acumulate prin aplicarea lor practică, iar studiile din cadrul acestui volum acoperă problematici de interes actual.

Pornind de la cele expuse și privind în ansamblu monografia, putem susține că autorul a reușit destul de bine să redea esența și necesitatea intervențiilor psihologice la persoanele post AVC, întru acomodarea socială și ameliorarea calității vieții. Prin întreg conținutul său, monografia „*Reabilitarea psihosocială a persoanelor post accident vascular cerebral*” reprezintă o lucrare de o actualitate și originalitate vădite, în care sunt incluse rezultatele cercetărilor științifice efectuate de autoarea Glavan Aurelia, coordonată de către regretatul doctor în medicină, doctorul habilitat în psihologie, profesorul universitar Nicolae Bucun și care însumează cele mai moderne metode, practici și materiale informative în domeniul reabilitării psihosociale a persoanelor cu status post AVC.

Cititorii, studenți, cadre didactice universitare, cercetători științifici și practicieni (psihologi, medici, reabilitologi, asistenți sociali) au ocazia de a-și lărgi câmpul cunoașterii și de a utiliza structurile informaționale în realizarea unor proiecte destinate ameliorării calității vieții persoanelor cu status post AVC.

Stanislav Groppa, dr. hab. șt. med.
profesor universitar, academician al AȘM
Prorector pentru activitatea de cercetare
USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

human phenomenon through vulnerability, the resilience of the situation of difficulty defined as socio-human problems and not only purely social. As a result, a complex model was developed that involves elements of a system with: goals and objectives, principles, actions, psychosocial resources, ways of regulation, human and material resources, etc.

Chapters III (*The role of psychosocial factors in the evolution of stroke*), IV (*Socio-demographic profile of stroke*) and V (*Psychological peculiarities of people after stroke*), represent the original part of the paper, being described and presented research results. In these chapters, the author manages, following a comprehensive psychological assessment, to describe the profile of people after stroke, both demographic and psychological and social. As a result of an extensive psychological study of these people, namely the identification of cognitive, affective, personality, social status, etc., the author manages to intervene through a complex psychotherapeutic program, developed within the research, which, according to the results obtained, contributed significantly to the efficiency of the post-stroke rehabilitation process, to the social adaptation of this group of people, thus improving their quality of life.

The *Afterwords* follows, with a detailed synthesis of the research results and with the recommendations in force.

This monograph promotes new acquisitions in the field of rehabilitation of people after stroke through neuroscience, psychology, special psychopedagogy, social assistance. The author of the monograph has covered a large number of articles in the literature, the notions being analyzed synthetically, but also enriched by their own knowledge, accumulated through their practical application, and the studies in this volume cover issues of current interest.

Starting from the above and looking at the monograph as a whole, we can say that the author managed quite well to reproduce the essence and need for psychological interventions in people after stroke, in order to socially accommodate and improve the quality of life. Throughout its content, the monograph „*Psychosocial rehabilitation of people after stroke*” is a work of obvious relevance and originality, which includes the results of scientific research conducted by the author Glavan Aurelia, coordinated by the late doctor of medicine, doctor habilitat in psychology, university professor Nicolae Bucun and which sums up the most modern methods, practices and informative materials in the field of psychosocial rehabilitation of people with post-stroke status.

Readers, students, university teachers, scientists and practitioners (psychologists, doctors, rehabilitologists, social workers) have the opportunity to broaden their field of knowledge and use information structures in projects designed to improve the quality of life of people with post-stroke status.

Stanislav Groppa, PhD
university professor, academician of the ASM
Vice-rector for research activity
Nicolae Testemițanu SUMPh from the Republic of Moldova

RECENZIE DE CARTE

Boala ficatului gras nonalcoolic: de la modificarea stilului de viață până la transplant hepatic (monografie)

Autor: Angela Peltec, dr. șt. med., conf. univ.
Editura Imprint star, (F.E.-P. „Tipografia centrala”)
Chișinău, 2019; 304 p.
ISBN 978-9975-3159-8-2

Prevalența bolii ficatului gras nonalcoolic (BFGNA) a crescut în multe țări odată cu răspândirea la nivel mondial al stilului de viață sedentar și a occidentalizării dietei. Acești pacienți prezintă frecvent diabet, dislipidemie, hipertensiune arterială și / sau obezitate. BFGNA se află, în prezent, la intersecție cu mai multe specialități: gastroenterologie, cardiologie, endocrinologie / boli metabolice și oncologie. Studiul BFGNA pare exhaustiv și dificil, dar progresele privind tehnicile de screening și metode de tratament nu sunt cele mai bune. Scopul final al terapiei BFGNA este extinderea supraviețuirii globale și îmbunătățirea calității vieții. În prezent, lipsesc indicatori care permit controlul adecvat al bolii. Terapiile vor necesita o ajustare atentă, în funcție de riscul de bază și stadiul BFGNA, iar cooperarea multidisciplinară dintre specialiști va fi esențială. Steatohepatita nonalcoolică (SHNA) este o indicație în creștere a transplantului hepatic și este de așteptat să fie indicația principală în anii următori. Steatohepatita nonalcoolică are tendința de recurență după transplant, dar impactul recurenței asupra alogrefelor și supraviețuirii pacienților nu este clar. În viitor, detectarea precoce a BFGNA va permite un tratament prompt, combinat cu medicamente de noi generații, care vor avea beneficii maxime și mai puține efecte adverse.

Monografia „Boala ficatului gras nonalcoolic: de la modificarea stilului de viață până la transplant hepatic”, autorul Angela Peltec, abordează o patologie care devine una dintre

BOOK REVIEW

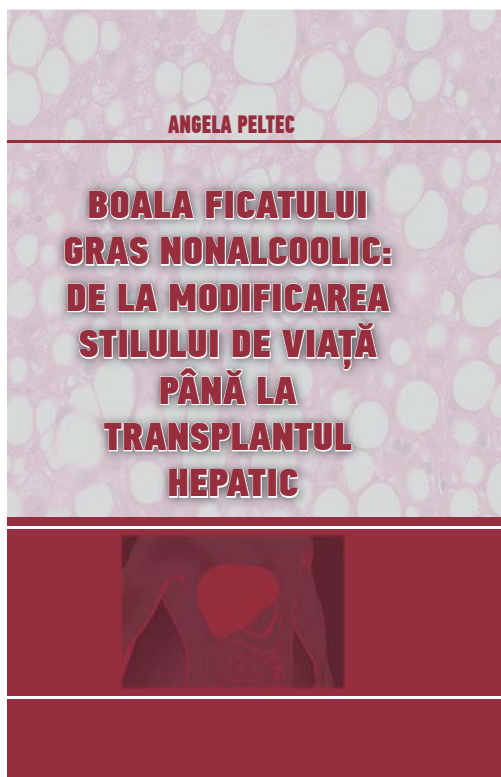
Nonalcoholic fatty liver disease: from the modification of lifestyle to the liver transplantation (monograph)

Author: Angela Peltec, PhD, assoc. prof.
Printing House: Imprint star (F.E.-P. „Tipografia centrala”)
Chisinau, 2019; 304 p.
ISBN 978-9975-3159-8-2

With the worldwide spread of sedentary lifestyle and diet westernization, the prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has increased in many countries. These patients frequently had diabetes, dyslipidemia, hypertension, and/or obesity. NAFLD currently stands at the crossroads of gastroenterology, cardiovascular disease, endocrinology / metabolism, and oncology. The path of NAFLD research appears long and diverse, but progress on improved screening techniques and therapeutic agents is ongoing. The ultimate goal in NAFLD therapy is the extension of overall survival and improvement of quality of life. Indicators of adequate disease control are currently lacking. Therapies will require careful adjustment according to underlying risk and NAFLD stage, and multi-disciplinary cooperation among caregivers will be key.

Nonalcoholic steato-hepatitis (NASH) is a growing indication for liver transplant and it is expected to be the leading indication in the years to come. Nonalcoholic steatohepatitis recurs after transplant but the impact of the recurrence on allograft and patient outcomes is unclear. In the future, earlier detection will enable prompt combination treatment with new-line drugs that have been optimized for maximum benefit and fewer adverse events.

The monograph “Nonalcoholic fatty liver disease: from the modification of lifestyle to the liver transplantation” by Angela Peltec addresses to one of important health challenges of the century at the global level. NAFLD as a major chronic liver dis-



importantele provocări la nivel global a secolului privind sănătatea. BFGNA este o boală cronică a ficatului care poate duce la ciroză hepatică, cancer și, în cele din urmă, la deces. Monografia subliniază necesitatea direcționării efortului echipelor multidisciplinare pentru oprirea răspândirii rapide a BFGNA

Capitolul I, „*Epidemiologia și istoricul natural al BFGNA*” reunește date despre factorii epidemiologici (demografici, etnici, genetici, epigenetici și nutriționali) și istoricul natural al bolii ficatului gras nonalcoolic, lămurind riscurile hepatice, cardiovasculare și de apariție a cancerului. Importanța acestor date se explică prin identificarea caracteristicilor specifice, circumstanțelor și factorilor care favorizează apariția și progresia BFGNA, tulburărilor cardiovasculare și cancerului hepatic. Autorul descrie în detaliu starea actuală a datelor epidemiologice globale atât în economiile dezvoltate, cât și în cele ce se află în curs de dezvoltare și evidențiază evoluția BFGNA în ultimele decenii.

În capitolul II, „*Patogeneza BFGNA*” este descris mecanismul patogenetic comun al BFGNA, factorii genetici și patogenici asociați cu microbiota intestinală. Sunt discutate tendințele contemporane conform cărora compoziția microbiomului poate fi modificată prin obiceiurile dietetice care duc la disbioza microbiomului intestinal, ce contribuie la acumularea de grăsime în ficat și la declanșarea cascadelor inflamatorii care promovează lezarea ficatului.

Capitolul III, „*Relația dintre patologia cardiovasculară și BFGNA*” conține date referitoare la patogeneza tulburărilor cardiovasculare din BFGNA. Autorul analizează diferențele în evoluția BFGNA cu sau fără sindrom metabolic; influența steatohepatitei nonalcoolice asupra profilului de risc pentru boli cardiovasculare și diabet zaharat; modul în care consumul de alcool se reflectă asupra riscului de evenimente cardiovasculare în sindromul metabolic și steatohepatita. În același timp, sunt descriși mai mulți biomarkeri (gama-glutamil-transpeptidaza, alanin-aminotransferaza, bilirubina, acidul uric și hemoglobina) care permit stratificarea pacienților cu risc pentru evenimente cardiovasculare în cazul BFGNA. De asemenea, au fost formulate principii de gestionare a riscului cardiovascular în BFGNA.

În capitolul IV, „*Hemoglobina, BFGNA și patologia cardiovasculară*”, autorul descrie, în detalii, schimbările importante care au avut loc în metabolismul fierului, ce influențează evoluția steatohepatitelor și modul în care nivelul hemoglobinei este corelat cu gradul fibrozei hepatice și riscul evenimentelor cardiovasculare în BFGNA. O atenție deosebită este consacrată rolului fierului în dezvoltarea steatozei și progresia steatohepatitei nonalcoolice. Autorul prezintă date proprii privind hemoglobina ca marker al creșterii riscului cardiovascular în BFGNA.

Capitolul V, „*Diabetul și BFGNA*”, raportează despre influențele reciproce ale acestor condiții patologice. Această parte prezintă datele complexe despre prevalența și incidența diabetului și BFGNA, factori genetici și de mediu care influențează apariția acestor tulburări. Datele proprii, în special, au acordat atenție riscului de dezvoltare a diabetului zaharat în cazul pacientului cu sindrom citolitic.

ease can lead to liver cirrhosis, cancer, and ultimately death. It highlights the necessity to concern effort across multi-disciplinary fields that permit clinicians to halt the rapid spread of NAFLD.

Chapter I, “*Epidemiology and natural history of NAFLD*” brings together data about the epidemiological factors caused the disease (demographical, ethnic, genetic, epigenetic and nutritional) and natural history with hepatic, cardiovascular and cancer risk factors. The importance of these issues is to identify specific characteristics, circumstances or factors favoring NAFLD and development of advanced liver disease, cardiovascular disorders and liver cancer. The author describes in detail the current global state of epidemiological data in both developed and developing economies, and highlights the progression of NAFLD over the last decades.

In Chapter II, “*Pathogenesis of NAFLD*” the common pathogenic mechanism of NAFLD, genetic factors and mechanism associated with gut microbiota are described. The contemporary trends that the microbiome composition can be modified by dietary habits leading to gut microbiome dysbiosis are discussed. Dysbiosis contribute to the accumulation of fat within the liver and triggering inflammatory cascades that promote liver damage.

Chapter III, “*Relationship between cardiovascular pathology and NAFLD*” contains data, including the author’s own, relating to pathogenesis of cardiovascular disorders in NAFLD. Author analyses whether NAFLD with or without metabolic syndrome have different appearance; is nonalcoholic steatohepatitis change the risk profile for cardiovascular disease and diabetes mellitus; how alcoholic consumption influence risk of cardiovascular events in metabolic syndrome and steatohepatitis. At the same time, several biomarkers (gamma-glutamyl-transpeptidase, alanine-aminotransferase, bilirubin, uric acid and hemoglobin) that permit the patient stratification for risk of development of cardiovascular event in case of NAFLD are described. Also, principles of management of cardiovascular risk in NAFLD were formulated.

In Chapter IV, “*Hemoglobin, NAFLD and cardiovascular pathology*”, the author describes in detail the important changes that have taken place in iron metabolism which influence progression of steatohepatitis and how level of hemoglobin influence the stage of liver fibrosis and risk of cardiovascular disease in NAFLD. Particular attention is devoted to the role of iron in the development of steatosis and the progression of nonalcoholic steatohepatitis. The author presents his own data about hemoglobin as a markers of cardiovascular risk in NAFLD.

In Chapter V, “*Diabetes and NAFLD*” reports on the reciprocal influences of these two pathological conditions. This part presents the complex data about prevalence and incidence of diabetes and NAFLD, genetic and environmental factors that influence appearance of these disorders. The own research, in particular, paid attention to risk of development of the diabetes mellitus in case of patient with cytolytic syndrome.

In Chapter VI and VII, “*Impact of sleep disturbance in development of NAFLD*” and “*Polycystic ovarian syndrome and*

Capitolele VI și VII, „*Impactul tulburărilor de somn asupra dezvoltării BFGNA*” și „*Sindromului ovarului polichistic și BFGNA*” reafirmă părerea că BFGNA este asociată cu tulburările de somn și sindromul ovarului polichistic. Aceste descoperiri demonstrează legătura dintre rezistența la insulină, obezitate și aceste patologii. Autorul prezintă o analiză cuprinzătoare și detaliată a asocierii dintre apneea din timpul somnului și BFGNA precum și mecanismele care leagă BFGNA și sindromul ovarului polichistic.

Capitolul VIII, „*Impactul BFGNA în transplantul hepatic*”, un capitol care intenționează să analizeze influența BFGNA în perioada pre și posttransplant. Datele proprii reflectă colaborarea dintre două echipe de transplant de ficat (din România și Republica Moldova), în special, în domeniul donării de la donator viu și influența steatozei pentru evoluția postoperatorie a donatorilor după hepatectomie dreaptă.

Capitolul IX, „*Intervenții nutriționale, exerciții fizice și tratamentul medicamentos în BFGNA*” este destinat managementul BFGNA de la modificarea stilului de viață până la terapia medicamentoasă. Aceste date demonstrează că terapiile vor necesita o ajustare atentă, în funcție de riscul de bază și stadiul BFGNA, iar cooperarea multidisciplinară între specialiști va fi esențială.

Contribuția personală a autorului la elucidarea mecanismelor fiziopatologice ale fierului și hemoglobinei în progresia steatohepatitei nonalcoolice, influența steatozei pentru evoluția postoperatorie a donatorilor vii a fost apreciată de forumurile științifice din țară și din străinătate. În concluzie, publicarea monografiei „*Boala ficatului gras nonalcoolic: de la modificarea stilului de viață până la transplantul hepatic*” oferă o contribuție originală în ceea ce privește evoluția bolii ficatului gras nonalcoolic, fiind un sprijin valoros pentru profesioniștii implicați în activitatea practică și didactică în domeniul prevenirii și controlului bolilor cronice.

Eugen Tcaciuc, dr. hab. șt. med., prof. univ.
Șef de disciplină
Disciplina de gastroenterologie
Departamentul de Medicină Intenă
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
„Nicolae Testemițanu”

NAFLD” reafirmă view that NAFLD associated with sleep disturbance and polycystic ovarian syndrome. These findings demonstrate the connection between insulin resistance, obesity and these disorders. The author presents a comprehensive and detailed analysis of association between sleep apnea and NAFLD and mechanisms that bind NAFLD with polycystic ovarian syndrome.

Chapter VIII, “*Impact of NAFLD in liver transplantation*” is a chapter that intended to analyse the influence of NAFLD in pretransplant and posttransplant period. The own data reflect the collaboration between two liver transplant teams (Romanian and Moldovan), in special, in domain of living donation and influence of steatosis for postoperative evolution of donors after right hepatectomy.

Chapter IX, “*Nutritional intervention, physical exercise and medical therapy in NAFLD*” is intended to describe the management of NAFLD from modification of lifestyle to medical therapy. This data demonstrates that therapies will require careful adjustment according to underlying risk and NAFLD stage, and multi-disciplinary cooperation among caregivers will be key point.

The personal contribution of the author to the elucidation of the pathophysiological mechanisms of iron and hemoglobin in progression of nonalcoholic steatohepatitis, the influence of steatosis for postoperative evolution of living donors were highly appreciated at the scientific forums in the country and abroad. In conclusion, the publication of the monograph “Non-alcoholic fatty liver disease – from the modification of lifestyle to the liver transplantation” offers an original contribution regarding the evolution of nonalcoholic fatty liver disease being a valuable support for professionals involved in the practical and didactic activity in the field of prevention and control of chronic diseases.

Eugen Tcaciuc, PhD
Professor in internal medicine
Chairperson, Discipline of gastroenterology
Department of Internal Medicine
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and
Pharmacy