

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
CZU: 616.611.-002-053.2

CIUNTU ANGELA

**GLOMERULONEFRITA PRIMARĂ LA COPII:
MECANISME ETIOPATOGENICE, CLINICA,
PROGNOSTIC**

322.01 – PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

**Autoreferatul
tezei de doctor habilitat în științe medicale**

Chișinău, 2017

Teza a fost elaborată în Departamentul Pediatrie al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Consultant științific:

REVENCO Ninel, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Referenți oficiali:

TAGADIUC Olga, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

NISTOR Nicolae, doctor în științe medicale, profesor universitar, România

HAIDARLÎ Ion, doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător

Componența Consiliului științific specializat:

STASII Ecaterina, președinte, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

ROTARI Adrian, secretar, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

CEBAN Emil, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

CURAJOS Boris, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

VIȘNEVSCHI Anatolie, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

GHINDA Serghiu, doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător

PALII Ina, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

GROSU Victoria, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar cercetător

Sustinerea va avea loc la 14 septembrie 2017, ora 14:00, în ședința Consiliului științific specializat DH 50.322.01-01 din cadrul IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (MD- 2004, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, bir. 205).

Teza de doctor habilitat în științe medicale și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și la pagina web a C.N.A.A. (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la data 11 august 2017.

Secretar științific

al Consiliului științific specializat:

doctor în științe medicale,
conferențiar universitar



ROTARI Adrian

Consultant științific:

doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar



REVENCO Ninel

Autor:

doctor în științe medicale,
conferențiar universitar



CIUNTU Angela

(© Ciuntu Angela, 2017)

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. Problema afecțiunilor renourinare la copii a depășit cu mult limitele de mod general, astfel că în virtutea semnificației sociale, ea constituie în planul practico-științific un subiect ce se află în continuare dezbateri, fiind și unul dintre cele mai complicate compartimente ale pediatriei. Conform datelor North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS) incidența glomerulonefritei (GN) la copii este în continuă creștere, constituind o pondere de 14,0% [26].

Cercetările efectuate la nivel global au raportat, că glomerulonefrita cronică (GNC) evoluează în 30-60% în boală renală cronică (BRC) [5, 32, 36]. După datele registrului ESPN/ERA-EDTA BRC terminală cauzată de GN în Europa constituie 15%, [15], în Japonia – 22%[16], Australia și Noua Zeelandă după datele registrului Dialysis and Transplant (ANZDATA) – 29% [22], Registrul UK – 18% [20], Registrul Italian – 5% [6], Registrul Belgian – 7% [23].

Studiul PodoNet Consortium efectuat pe un lot de 1655 copii din 67 centre nefrologice din 21 țări a demonstrat că GN ca factor cauzal al BRC constituie 5 – 29 % în cazul BRC terminale, dintre care 64 % copii au prezentat sindrom nefrotic steroid rezistent (SNSR) în primii 5 ani de viață, 6% – sindrom nefrotic congenital, iar 17 % copii au avut și modificări extrarenale. Astfel, cea mai frecventă cauză a SNSR este glomeruloscleroza focal segmentară (GSFS) – 56%, SN cu schimbări minimale în glomerule (SNSM) – 21% și glomerulonefrita mezangioproliferativă (GNMzP) – 12% [30].

Descrierea situației în domeniul de cercetare și indentificarea problemelor de cercetare.

Prevalența înaltă a glomerulonefritei ca factor cauzal ale BRC la copii, tendința spre recidivare, asocierea complicațiilor grave, dificultățile de diagnostic, lipsa metodelor selective optime și inofensive de tratament și/sau profilaxie constituie una din multiplele probleme actuale ale nefrologiei clinice contemporane [33]. În ultimele decenii majoritatea cercetătorilor au raportat, că rezultatele tratamentului pe termen lung al pacienților cu GN, rămâne incert, multe din problemele practice rămân în dezbateri, în special referitor la dereglările homeostaziei și rolul ei în evoluția bolii [28, 29]. Cercetările sporadice, informațiile contradictorii ne-au determinat să efectuăm un studiu multimodal în GN la copii.

În pofida progresului obținut în stabilirea mecanismelor patofiziologice ale GN rămân discutabile problemele de etiopatogenie, factorii de risc, activitatea procesului inflamator, măsurile de profilaxie a complicațiilor. Este demonstrat că 50% din recidive sunt declanșate de infecții virale ale tractului respirator superior, ca rezultat al eliberării de citokine [24, 31], iar infecțiile tractului urinar (ITU), diareea, peritonita reprezintă triggeri a recăderilor în sindromul nefrotic (SN) la copii [24]. Există cercetări cu referire la rolul ITU în recidiva SN, precum și cauză a răspunsului slab la terapia cu steroizi [4]. Printre factorii de risc implicați în progresia BRC terminale s-a raportat proteinuria, vârsta mică la debutul bolii, insuficiența renală acută, scleroza focală extinsă prezentă la biopsia renală. Factori de prognostic pe termen lung în sindromul

nefrotic idiopatic (SNI) are drept cauză prezența infecțiilor intercurrente și răspunsul la tratamentul cu steroizi [17, 27].

Cercetările efectuate de Studiul Internațional al Bolilor Renale la Copii (ISKDC) au arătat că 70%, 44% și 7% de copiii cu GSFS, GNMzP și SNSM au demonstrat rezistență primară la steroizi [18].

Studiile recente relevă la rolul diferitor factori (humorali și celulari) asupra proceselor de fibrogenază [8, 13]. Citokinele și factorii de creștere sunt mediatori, care în coroborare cu alți markeri, prin mecanisme paracrine și autocrine contribuie la progresarea leziunilor renale în GN [7, 14, 21]. Progresarea GN este determinată nu numai de mecanismele imune, dar și de cele neimune, dereglări ale homeostaziei, metabolismului, a cascadei de coagulare, etc., care contribuie la evoluția trenantă a GN, la asocierea complicațiilor, în special, a BRC [7]. Există studii sporadice privind corelațiile clinico-patologice și biochimice ale GN la copii [25, 34, 35].

Statisticele contemporane atestă, că în GN la copil sunt departe de a fi soluționate problemele de diagnostic complex al modificărilor homeostaziei, a gravității, activității procesului inflamator, de profilaxie a complicațiilor, etc.

În prezent nu există studii complexe ce ar permite elaborarea unui algoritm de diagnostic precoce pentru estimarea factorilor de risc nespecifici, markerilor fibrozei renale, progresării GN, cât și aprecierea rolului lor în evoluția GN în dependență de activitatea procesului patologic, de prognozare imediată și la distanță.

Scopul studiului: Evaluarea mecanismelor etiopatogenice prin estimarea particularităților fiziopatologice, clinico-evolutive, de progresare a diferitor variante ale glomerulonefritei pentru optimizarea diagnosticului clinic, prognosticului, și elaborarea algoritmilor diferențiate de diagnostic, tratament, profilaxie, reducerea recidivelor și riscului dezvoltării bolii renale cronice.

Obiectivele studiului:

1. Studiarea particularităților clinico-evolutive, factorilor de risc a diferitor variante ale glomerulonefritei primare la copii.
2. Estimarea nivelului moleculelor de semnalizare celulară (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, MIP- α , SDF-1 α , CD-40) și a rolului lor în patogenia glomerulonefritei la copii.
3. Stabilirea suportului markerilor biochimici de progresare a nefrosclerozei (VEGF, PDGF-BB, CTGF, FGF- β) în glomerulonefrită la copii.
4. Evaluarea rolului stresului oxidativ și a sistemului antioxidant în fiziopatologia glomerulonefritei la copii.
5. Aprecierea informativității diagnostice a enzimelor plasmatice, proteolitice, lizozomale în fiziopatologia glomerulonefritei la copii.
6. Studiul modificărilor histopatologice și corelarea cu modificările clinico-paraclinice, biochimice și determinarea variabilelor de prognostic nefavorabil precoce și riscului dezvoltării bolii renale cronice la copii cu glomerulonefrită.
7. Elaborarea schemei patogenice de lucru ale glomerulonefritei la copii în funcție de evoluția clinico - paraclinică, factorii de risc, modificările biochimice și histologice.

8. Elaborarea algoritmului de diagnostic, tratament diferențiat în aprecierea evoluției, variabilelor de risc ale înjuriei cronice renale în glomerulonefrită la copii.

Metodologia cercetării științifice. Studiul retrospectiv-prospectiv a fost realizat în Clinica Nefrologie a Departamentului Pediatrie a USMF „Nicolae Testemițanu” pe un lot de 289 copii cu GN primară. Au fost utilizate: metoda de anchetare, metode clinice, paraclinice, cât și special selectate (interleukine, chemokine, factori de creștere, metode de apreciere a sistemului pro-antioxidant și a sistemelor enzimactice în sânge și urină) și metode morfologice. Rezultatele obținute au fost supuse analizei statistice cu aplicarea programelor Statistica 7.0 și Excel și prezentate prin procedee tabelare și grafice.

Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute. A fost realizat un studiu complex clinico-paraclinic, prospectiv cu estimări biochimice, histologice la copii cu diferite variante ale GN în dinamica maladiei cu scopul elucidării mecanismelor etiopatogenice prin estimarea particularităților clinico-evolutive, de progresare ale diferitor variante ale maladiei. Studiul dat a furnizat noi dovezi suplimentare în principalele verigi patogenice ale GN și influența lor asupra etapelor clinico-evolutive ale GN. Studiul complex efectuat a relevat particularitățile clinico-evolutive ale glomerulonefritei primare (GNP) la copii. În premieră în Republica Moldova au fost apreciați biomarkerii serici și urinari în dependență de varianta clinică a maladiei.

A fost confirmat rolul chemokinelor (MCP-1, MIP- α) și citokinelor inflamatorii (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) – *markeri senzitivi ai răspunsului imun*, severității, activității procesului patologic renal. A fost demonstrată importanța diagnostică a *markerilor înjuriei tubulointerstițiale* – glutatión S-transferaza (GST) și a *fibrozei renale* (CTGF, FGF- β , VEGF, PDGF-BB) la pacienții cu GN în detectarea precoce a BRC.

A fost demonstrat rolul biomarkerilor *stresului oxidativ* (PPOA, AGE, isoprostanol-8, activitatea antioxidantă totală, glutatión peroxidaza, tiolii) în progresia GN.

S-a confirmat rolul factorilor nespecfici ai homeostazei enzimactice în serul sangvin și urină în patogenia, diagnosticul, tratamentul complicațiilor GNP la copii. S-a elaborat un program sigur și accesibil de explorări clinico-biochimice, histologice prin care s-a facilitat diagnosticul precoce și diferențial al GNP la copii. Au fost elucidate paralele clinico-evolutive ale diferitor variante ale GN în dependență de stadiu, activitatea procesului patologic în rinichi.

S-a stabilit cel mai informativ spectru de enzime în serul sangvin și urină în diagnosticul diferențial și evaluarea complicațiilor GN la copii. De asemenea, originalitatea științifică constă în găsirea unor corelații între valorile serice și urinare și specificul manifestărilor clinice, paraclinice, histologice la copii cu GN. Analiza matematică a factorilor de risc în baza calculelor integrative individualizate a permis aprecierea variabilelor responsabile de probabilitatea maladiei.

S-au adus dovezi coerente și originale privind aspectele patogenice ale leziunilor renale, rolul moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere în susținerea proceselor de înjurie renală și a biomarkerilor leziunii renale.

Rezultatele studiului oferă un potențial de înțelegere a aspectelor fiziopatologice ale GN și date noi privind rolul moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere în evoluția clinică, complinirea prognosticului maladiei.

Direcțiile noi de cercetare în știință și practică obținute în cadrul studiului actual constă în abordarea aspectelor patogenice ale GN prin aprecierea nivelurilor serice și urinare ale moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere, sistemului oxidant, antioxidant, oxidului nitric, arginazei, enzimelor proteolitice, plasmatiche, lizozomale, enzimelor ciclului glutationic, aprecierea rolului biomarkerilor noninvazivi precoci ai fibrozei renale, injuriei tubulointerstițiale, disfuncției endoteliale, răspunsului imun la copii cu GN.

Au fost stabilite criteriile principale de diagnostic diferențiat în diferite variante ale glomerulonefritei. Au fost elaborate metode originale de diagnostic timpuriu în glomerulonefrita primară la copii. A fost elucidat rolul major ale moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere, sistemului oxidant, antioxidant, stresului oxidativ în evoluția, progresia glomerulonefritei.

Datele obținute în cadrul cercetării științifice actuale constau în determinarea ponderii factorilor de risc implicați în progresia GN prin analizarea variabilelor folosind metoda regresiei logistice, cu scopul calculării individualizate a riscului de dezvoltare a bolii.

S-a abordat aspecte patogenice ale injuriei renale prin aprecierea nivelurilor moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere în susținerea proceselor de injurie renală, acestea fiind corelate cu varianta clinică, severitatea SN, specificul modificărilor paraclinice (proteinurie, hipoproteinemie, metabolismul lipidic crescut), histologice; implementarea metodelor de diagnostic precoce neinvaziv, ceea ce a permis precizarea simptomatologiei clinice timpurii și găsirea unor verigi patogenice importante în aprecierea și în formarea noilor viziuni privind optimizarea diagnosticului, prognosticului glomerulonefritei primare.

A fost creat un algoritm al diagnosticului diferențiat ale GN în funcție de varianta și activitatea bolii, conform utilizării markerilor serici și urinari. Pe parcursul studiului *a fost fundamentată științific o nouă platformă* de direcție în nefrologie.

Problema științifică importantă soluționată în teză. Problemele aplicative soluționate în cadrul studiului prezentat constă în elaborarea unei metodologii de format propriu pentru aprecierea variantelor clinice ale GN pentru care au fost definite abordări optime de diagnostic diferențial și de corecție medicală diferențiată, direcționate spre reducerea complicațiilor, recidivelor, restabilirea maximală a funcției renale și calității vieții viitorului adult.

Semnificația teoretică a lucrării constă în fundamentarea cunoștințelor noi privind rolul moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere, sistemului oxidant, antioxidant, enzimelor proteolitice, plasmatiche, lizozomale, enzimelor ciclului glutationic, adenilic în ser și urină la diferite etape clinico-evolutive ale GN la copii.

S-au obținut date noi despre rolul factorilor etiologici, corelațiile biochimice în ser și urină cu modificările paraclinice, precum și date despre contribuția examinărilor

paraclinice la etapele timpurii ale bolii în stabilirea diagnosticului. A fost confirmată valoarea predictivă a acestor factori în prognosticul la distanță, fiind un argument în favoarea elaborării strategiilor de prevenție a GN la etapele timpurii și tardive ale bolii.

A fost apreciat nivelul funcțional enzimatic la etapele procesului patologic care reflectă obiectiv gradul de afectare al structurilor celulare renale, topografia leziunilor, intensitatea procesului inflamator, complicațiilor supraadăugate.

A fost confirmat rolul markerilor enzimatici în serul sanguin și urină care permit completarea criteriilor prognostice de apreciere a gravității maladiei, dezvoltării precoce și evoluției complicațiilor, cât și diferențierea diagnostică a diferitor variante ale GNP la copil. Modificările funcțional-biochimice depistate pot servi drept bază pentru elaborarea unor algoritme de diagnostic în scopul restabilirii sistemelor alterate la etapele clinico-evolutive, precum și pentru prognozarea și prevenirea complicațiilor reno-urinare.

Datele studiului realizat au permis de a demonstra mecanismele fiziopatologice ale GN și relaționate cu gradul de severitate, ca și suport patogenetic cu rol în stabilirea prognosticului. Rezultatele obținute au permis completarea datelor privind fiziopatologia GN, date importante pentru optimizarea diagnosticului evolutiv și profilaxia complicațiilor.

Valoarea aplicativă a lucrării. Au fost structurate particularitățile diagnosticului etiologic, evolutive ale GN la copii. S-au elaborat algoritme de diagnostic privind aspectele etiopatogenice, optimizarea diagnosticului. S-au apreciat biomarkerii urinari și serici, semnificația lor patogenetică, clinică, diagnostică cât și prognostică. S-a demonstrat rolul biomarkerilor răspunsului imun (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, MIP-1 α , SDF-1 α , CD-40), fibrozei tubulointerstițiale precoce – glutatión -S-transferaza (GST), în diagnosticul și progresia GN cât și injuriei celulare: (rata filtrației glomerulare (RFG), proteinuria, NAG- β), disfuncției endoteliale (endotelina-1), biomarkerilor stresului oxidativ (PPOA, AGE, isoprostan-8), biomarkerilor de diferențiere diagnostică a sindromului nefrotic steroid-sensibil (SNSS) și SNSR (NAG- β , γ -GTP), biomarkerilor de prognostic (MCP-1, PPOA, isoprostanul-8, AGE), markerilor histologici în diagnosticul și prognozarea complicațiilor.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:

1. Cunoașterea aspectelor fiziopatologice complexe ale glomerulonefritei primare la copii ce reflectă influența factorilor de risc (vârsta, hematuria, hipertensiunea arterială, scăderea clearance-ului creatininei endogene, persistența proteinuriei, rezistența tardivă la steroizi în debut și pattern-ul histologic) asupra progresiei GN la copil.
2. Importanța diagnostică a unor biomarkeri în ser și urină în cunoașterea aspectelor patogenice, diagnosticul diferențiat, evolutiv și prognosticului copiilor cu diferite variante ale GN cu scopul prevenirii complicațiilor.
3. Evaluarea nivelului funcțional enzimatic în dinamica procesului patologic reflectă obiectiv gradul de alterare al structurilor celulare renale, topografia leziunilor, intensitatea procesului inflamator, complicațiilor.

4. Modificările histologice, cât și corelarea cu indicii biochimici urinari permit prognozarea evoluției, prognosticului bolii.
5. Tabloul clinic al GN se manifestă în funcție de sindroamele principale (sindrom nefritic, nefrotic, nefritic cronic cât și sindrom nefritic rapid progresiv), dereglările fiziopatologice, dar și de mecanismele imunologice, cât și cele secundare implicate.
6. Bilanțul unor parametri clinici, biochimici, histologici permit întregirea substanțială a criteriilor prognostice de apreciere a gravității maladiei, dezvoltării precoce și a evoluției complicațiilor, în estimarea diagnosticului evolutiv și prognosticului GN la copii.
7. Modificările funcțional-biochimice pot servi drept bază pentru elaborarea unor algoritmi de diagnostic, tratament la etapele clinico-evolutive, precum și pentru prognozarea complicațiilor.
8. Utilizarea în practica științifică a procedeeleor biochimice de diagnostic în ser și urină ca metode non invazive, reprezintă o opțiune semnificativă în ameliorarea diagnosticului, prognosticului glomerulonefritei primare la copii.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele studiului și aplicarea metodelor complexe de diagnostic și tratament au fost implementate în Clinica Nefrologie a IMSP IM și C, Secția nefrourologie SCMC „Valentin Ignatenco” și în procesul metodico-didactic al medicilor-rezidenți pediatri, ordinatori clinici la specialitatea nefrologie, medici de familie în procesul de educație continuă la Departamentul Pediatrie al USMF „Nicolae Testemițanu”. Au fost înregistrate 10 acte de implementare a rezultatelor științifice.

Aprobarea rezultatelor științifice. Materialele tezei au fost raportate în cadrul diferitor foruri științifice: Conferința Pediatriilor cu participare internațională consacrată jubileului de 40 ani de activitate a catedrei Pediatrie F.P.M. USMF „Nicolae Testemițanu” (Chișinău, 2003); Congresul V al igieniştilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova (Chișinău, 2003); Congresul VI al Fiziologilor din Republica Moldova cu participare internațională (Chișinău, 2005); Conferința a III-a Internațională de Medicină Perinatală (Chișinău, 2006); Conferința a XI-a științifică Internațională (Chișinău, 2008); The International Congress of Nephrology (Lion, 2008); Congresul V-lea al pediatriilor și neonatologilor din Republica Moldova cu participarea internațională (Chișinău, 2009); Congresul V de Urologie, Dializă și Transplant Renal din Republica Moldova cu participare internațională (Chișinău, 2011); Congresul III al Medicilor de Familie din Republica Moldova cu participare internațională, (Chișinău, 2012); IV Конгресс Педиатров стран СНГ «Ребенок и общество: проблемы здоровья, развития и питания» (Львов, 2012); The 4-th Congress of the Academy of Paediatric Societies (Istanbul, 2012); XXV-a Conferință Națională Zilele Pediatriei Iașene ”N.N.Trifan” (Iași, 2012); Maladii reumatice la copii: oportunități în diagnostic și tratament (Chișinău, 2012); VI-й Конгресс Педиатров и Неонатологов и V-й Конгресс Федерации Педиатров Стран СНГ (Кишинев, 2013); Межрегиональная научно-практическая конференция врачей-педиатров с международным участием «Проблемные вопросы диагностики и лечения детей с соматической патологией» (Харьков, 2013); The XIX-th Session of the Balkan

medical days and the second congress of emergency medicine of the Republic of Moldova (Chișinău, 2013); XII Российский Конгресс «Иновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2013); VI Конгресс Педиатров Стран СНГ «Ребенок и общество: проблемы здоровья, развития и питания» (Минск, 2014); Conferința Națională de Pediatrie. Urgențe în Pediatrie. Boli cronice în Pediatrie (București, 2014); The 5th Congress of the European Academy of Pediatric Societies (EAPS) (Barcelona, 2014); The Xth International Congress of Geneticists and Breeders (Chișinău, 2015); Conferința națională cu participare internațională “Actualități în pediatrie” consacrată celei de-a 70-a aniversări a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (Chisinau, 2015); al XII-lea Congres Național de Pediatrie cu participare Internațională (Timișoara, 2015); Congresul Național de Nefrologie (Iași, 2015); al VI-lea Congres de Urologie, Dializă și Transplant Renal din Republica Moldova cu participare internațională (Chișinău, 2015); Conferința Națională de Pediatrie (București, 2016); Conferința Națională de Nefrologie Interdisciplinară cu Participare Internațională” (București, 2016); IV Конгресс Ассоциации нефрологов новых независимых государств (ANNIS) «Мультидисциплинарность и дифференциация направлений современной нефрологии» (Минск, 2016).

Teza a fost discutată și aprobată la ședința Departamentului Pediatrie din 28.10.2016 (proces verbal nr. 4); ședința Seminarului științific extern ad-hoc din cadrul IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Drăganiuc” din 14.03.2017 (proces-verbal nr.1); ședința Seminarului științific de profil Pediatrie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” din 28.04.2017 (proces-verbal nr.2).

Publicații la tema tezei. Materialele tezei au fost publicate în 64 de lucrări științifice, inclusiv *monografii monoautor* – 1, *articole în reviste de circulație internațională* – 6, *articole în reviste naționale recenzate* – 18, *articole în culegeri științifice naționale* – 4, *comunicări rezumative în materialele congreselor internaționale* – 12, *teze la conferințe naționale* – 13, *protocoale clinice naționale* – 5, *capitole în manuale pentru învățământul universitar* – 2, *îndrumări metodice* – 3; 36 din publicațiile menționate sunt cu titlu de monoautor.

Volumul și structura tezei. Teza este expusă pe 275 pagini dactilografiate, procesate la calculator și include introducerea, 6 capitole, concluzii generale, recomandări practice, adnotări în limba rusă, română, engleză, lista abrevierilor, bibliografie din 394 titluri. Teza conține 93 tabele, 43 figuri, anexe.

Cuvinte-cheie: copii, glomerulonefrită primară, sindrom nefrotic, citokine, enzime lizozomale, plasmatic, proteolitice, stres oxidativ.

CONȚINUTUL TEZEI

În compartimentul **Introducere** este argumentată actualitatea și importanța problemei luate în cercetare, sunt descrise scopul și obiectivele cercetării, noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării, aprobarea rezultatelor și sumarul compartimentelor tezei.

I. GLOMERULONEFRITA PRIMARĂ LA COPII: MECANISME PATOGENICE, CLINICE, EVOLUTIVE

În capitol I sunt analizate publicațiile din literatura de specialitate care reflectă particularitățile GN la copii și este structurat în 4 subcapitole. Primul subcapitol cuprinde sinteza datelor din literatură referitor la prevalența GN în dependență de variantele clinice, histologice. Subcapitolul doi este consacrat rolului modificărilor histologice și corelațiile lor cu markerii urinari în GN. Caracteristicile histopatologice, inclusiv glomeruloscleroza, atrofia tubulară, fibroză interstițială și hiper celularitatea mezangială au fost identificați ca predictorii independenți ai BRC terminale la copii și adulți cu maladii glomerulare. În subcapitolul trei sunt analizate mecanismele de progresare și elucidați factorii de risc implicați în dezvoltarea GN, interacțiunile acestora cu diverse laturi patogenice și clinice. De asemenea, sunt analizați factorii care pot influența semnificativ evoluția GN, aspectele clinice, complicațiile și rolul în formarea prognosticului maladiei. În subcapitolul patru sunt analizate datele literaturii privind rolul predispozant al diferitor factori secundari sau neimuni, semnificația moleculelor de semnalizare celulară și a sistemelor enzimactice în ser și urină la copii cu GN. În subcapitolul 5 sunt formulate concluziile analizei situației din domeniu.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a studiului: grupul de cercetare, etapele și design-ul studiului

Studiu de tip prospectiv, nerandomizat a fost realizat în Clinica Nefrologie a Departamentului Pediatrie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” la copii cu GNP pe parcursul anilor 2002-2014.

Lotul general de cercetare a inclus 289 copii cu GNP cu vârsta cuprinsă între 2-17 ani și care au fost evaluați în mediu până la 60 (48 ± 12) luni. Cercetarea dată a fost realizată consecutiv în câteva etape.

La etapa I – Studiul retrospectiv; a fost aplicat un chestionar special elaborat pentru colectarea datelor anamnestice, istoricul familial.

La etapa II – Au fost formate grupuri de lucru prin examinarea copiilor cu vârsta cuprinsă între 2 și 17 ani, cărora li s-au aplicat teste conform chestionarului. În funcție de rezultatele chestionarului, copiii au fost divizați în două loturi: L_1 (lotul de cercetare) – 289 copii cu GNP, și L_0 (lotul de control) – 289 de copii „convențional sănătoși.” Copiii din lotul L_1 de cercetare au fost repartizați în funcție de varianta clinică: 156 copii cu glomerulonefrită acută (GNA), 80 copii – SN, 28 copii – GNC forma nefrotică, 25 copii – GNC forma mixtă. Pentru aprecierea diagnosticului evolutiv al GN, toate cele patru loturi au fost urmărite repetat la 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 de luni.

La etapa III s-a efectuat prelucrarea statistică a datelor din chestionarele completate.

Etapa IV a inclus analiza comparativă a datelor, evaluarea rezultatelor, formularea concluziilor și recomandărilor practice.

Cercetarea a fost concepută și efectuată din 4 studii.

Studiul I – studiul retrospectiv, care a relevat analiza datelor anamnestice; studiul prospectiv – analiza clinico-paraclinică de cohortă observațională evolutivă a copiilor cu GNP și celor „convențional sănătoși”.

Studiul II (clinico-imunoenzimatic) de tip prospectiv, nerandomizat, de cohortă a fost realizat în Clinica de Nefrologie a Departamentului Pediatrie și în Laboratorul Biochimie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” pe baza probelor biologice colectate conform principiilor contemporane de cercetare. Studiul a inclus copiii cu GNP care au fost examinați paraclinic complex, inclusiv, prin explorări special selectate imunoenzimatic și biochimice în perioada de acutizare și remisiune. Grupul de control a constituit 25 copii practic sănătoși. Parametrii imunoenzimatici au fost urmăriți în dinamică: inițial la internare și la intervale de 4, 6 săptămâni, 3 luni.

Studiul III – studiu caz-control pentru determinarea factorilor de risc, în progresarea injuriei renale. Lotul L₁ – copii cu GNP (289 copii) și Lotul L₀ (289 copii) – copii de vârstă respectivă, dar fără glomerulonefrită.

Studiul IV s-a bazat pe observațiile clinice-paraclinice și a întrunit evaluarea statistică și interpretarea rezultatelor obținute. Design-ul studiului este prezentat în figura 2.1.

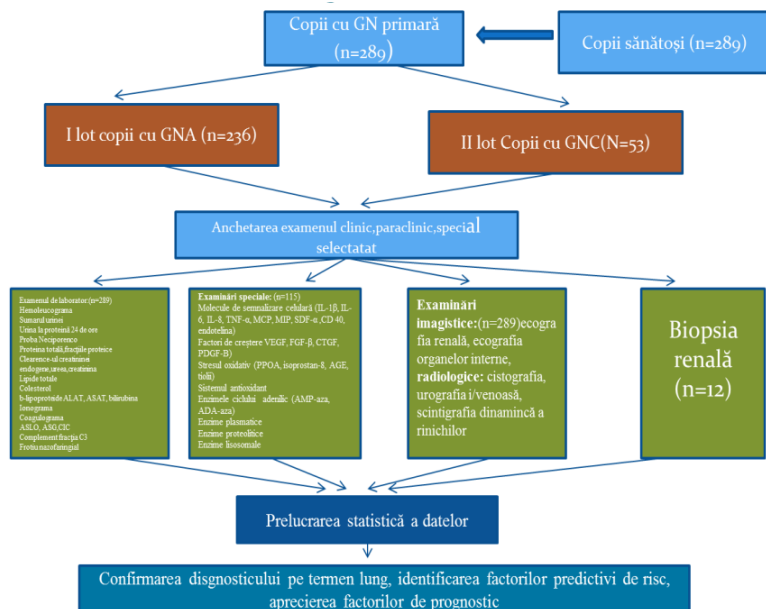


Figura 2.1. Design-ul general al studiului

Criterii de includere în studiu:

1. Copii cu vârsta 2-17 ani.
2. Copii cu glomerulonefrită acută, glomerulonefrită cronică, sindrom nefrotic primar.
3. Clearance-ul creatininei endogene >70 ml/min/1,73m.²
4. Pacienți înrolați în studiu în conformitate cu criteriile reglementate de documentul de consens – Clasificarea internațională și statistică a bolilor și problemelor de sănătate înrudite, revizia 10, modificarea australiană (ICD-10-AM), ediția a treia – 1 iulie 2002 (revizuirea a X- a, 1992) [3] și KDIGO 2012 [19].

Criterii de excludere din studiu:

1. Pacienți cu SN congenital.
2. Sindrom nefrotic secundar asociat cu sindroame genetice, aberații cromozomiale, maladii ale țesutului conjunctiv, vasculite.
3. Clearance-ul creatininei endogene <60 ml/min/1,73 m².
4. Comorbidități cardiovasculare, hepatice, metabolice.
5. Boli acute ale organelor interne în momentul începerii studiului.

După varianta maladiei în lotul de cercetare au predominat copiii cu GNA – 81,7%, iar cei cu GNC au constituit 18,3%. Au predominat copii cu GNA sindrom nefrotic – 66,1 %. Vârsta de debut la copii cu GN a fost de $8,0 \pm 0,28$ ani, iar durata bolii – $2,9 \pm 0,37$ ani. Timpul până la progresia bolii a constituit $5,8 \pm 0,93$ ani.

Tabelul 2.1. Numărul total și repartitia pacienților incluși în studiu

Forma nozologică	Pacienți investigați		Inclusiv			
			Fete		Băieți	
	absolut	%	absolut	%	absolut	%
GN acută	236	81,7	82	34,7	154	65,3
GN cronică	53	18,3	12	22,6	41	77,4
Total	289	100	94	32,5	195	67,5

2.2. Metodele de evaluare utilizate în studiu. Pentru confirmarea diagnosticului de GN au fost evaluate datele clinico-anamnestice, paraclinice, cât și tehnici special selectate. Metodele convenționale de diagnostic de laborator utilizate: hemoleucograma, creatinina, ureea, RFG, proteina totală, fracțiile proteice, bilirubina totală, ALAT, ASAT, colesterolul, trigliceridele, β -lipoproteidele, glucoza, amilaza, K, Na, Ca, P, coagulograma, ASL-O, ASG, CIC, Ig A, Ig M, Ig G, sumarul urinei, proba Neciporenko, urina la proteină timp de 24 h.

Mecanismele topo-anatomice, etiopatogenice au fost elucidate prin ecografia renală și abdominală, cistografia micțională, urografia intravenoasă, scintigrafia renală dinamică.

2.3. Explorările imunoenzimatic și biochimice utilizate în studiu. Materialul biologic pentru estimarea markerilor biochimici a fost sângele și urina. Au fost utilizate metode biochimice speciale pentru aprecierea: 1) nivelului moleculelor de semnalizare celulară (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , endotelina-1); 2) nivelului chemokinelor urinare

(MCP-1, MIP-1 α , SDF-1, CD-40); 3) factorilor de creștere (VEGF, FGF- β , CTGF, PDGF-B); 4) indicilor stresului oxidativ (PPOA, isoprostan-8, AGE, metabolii NO și a raportului NO₂/NO₃); 5) indicilor sistemului antioxidant (activitatea antioxidantă totală, glucoza-6-phosphat dehidrogenaza (G-6-P-DH), S-nitrosotiolii, peptidele histidinice); 6) nivelului acizilor uronici; 7) activității enzimelor ciclului glutationic (GR, GRO și GST, γ -GTP) și enzimelor ciclului adenilic (ADA-aza, AMP-aza); 8) activității pseudocolinesterazei (PCE), LDH; 9) evaluarea markerului afectării tubulare – β 2-microglobulinei; 10) activității enzimelor proteolitice (chimotripsina, leucinaminopeptidaza); 11) hidrolazelor lizozomice (arilsulfataza A și B, C, β -galactozidaza, β -glucozidaza, β -glucuronidaza, NAG- β , α -glicozidaza neutră); 12) nivelului oligoelementelor (Zn, Cu) [1, 2]. Explorările histologice au fost efectuate conform protocolului standard de proceduri morfopatologice, fiind luate în studiu bioplatele validate prin microscopia în material nativ după care bioplatele au fost fixate în *sol. formol neutru* de 4% timp de 12 ore, ulterior fiind procesate histologic utilizând histoprocesorul și rețeaua de colorație automatizată „DIAPATH” (Italia).

2.4. Metodele de evaluare statistică. Analiza datelor a fost realizată utilizând componenta Excel a suitei Microsoft Office și programele SPSS 22.0 (SPSS Inc) cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestor programe. Au fost utilizate următoarele metode: Media aritmetică, Dispersia, Eroarea-standard (ES), Frecvența relativă, Coeficientul de corelație, Testul Student, Testul χ^2 (chi pătrat) al lui Pearson, Testul ANOVA, Testul Mann-Whitney, Regresia logistică, Sensibilitatea, Specificitatea, Curba ROC [37].

3. PROFILUL CLINICO-PARACLINIC AL COPIILOR CU GLOMERULONEFRITĂ PRIMARĂ

3.1. Evaluarea parametrilor clinici și paraclinici ale copiilor cu glomerulonefrită acută

În perioada analizată în studiu au fost evaluate particularităților clinico-paraclinice, diagnosticul, prognosticul GNP în comparație cu copiii „practic sănătoși”. Una din primele sarcini a fost estimarea particularităților manifestărilor clinico-evolutive și a factorilor de risc la copiii cu GNP. La momentul internării pacienților în staționar: stare grav-medie au prezentat 118 (40,8%); stare generală gravă – 138 (47,8%); stare foarte gravă – 33 (11,4%) din totalul pacienților internați.

Conform datelor anamnestice la cei 289 de pacienți cu GN în antecedente au fost prezenți unul sau 2 factori cu acțiune nocivă pentru rinchi – infecții respiratorii virale acute (IRVA) – 70,2 %, angină – 15,9%, pneumonie – 9,3%, streptodermie – 3,5%, bronșită – 1,1% (figura 3.1).

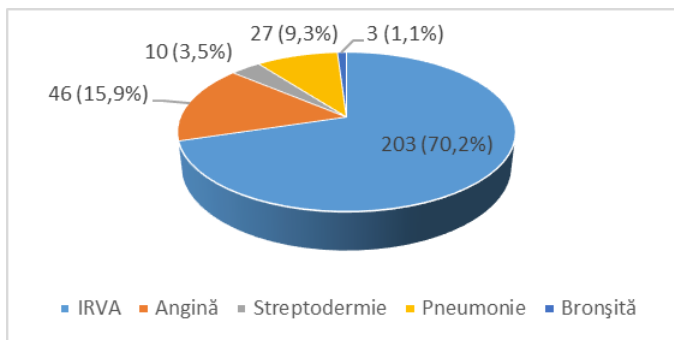


Figura 3.1. Maladiile asociate la copiii cu glomerulonefrită primară

Manifestările clinice la copii cu GN primară sunt prezentate în figura 3.2.

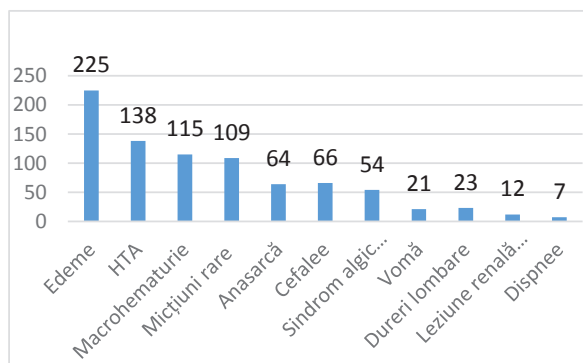


Figura 3.2. Manifestările clinice la copii cu glomerulonefrită primară

În hemoleucogramă la bolnavii cu GN s-a semnalat creșterea VSH sângelui până la $28,5 \pm 1,07$ mm/oră, Hb sângelui a constituit $115,5 \pm 1,22$ g/l, eritrocitele – $3,7 \pm 0,04 \times 10^9$ /l, leucocitele – $8,1 \pm 0,23 \times 10^9$. În sumarul urinei s-a determinat proteinurie până la $5,3 \pm 0,51$ g/l, iar proteina în urină timp de 24h a constituit $3,6 \pm 0,26$ g/l.

Manifestările clinice în GNA sindrom nefritic în perioada manifestărilor clinice au fost determinate de edeme de diferit grad localizate pe față, abdomen, gambe, hipertensiune arterială, macrohematurie, oligoanurie, vomă. Debutul maladiei a avut loc după 2-3 săptămâni de la episodul de IRVA în 107 ($68,6 \pm 3,7\%$) cazuri; după un

episod de angină – în 32 (20,5±1,7%) cazuri; pneumonie – 9 (5,8±1,5%); streptodermie – 8 (5,1±1,5%) cazuri.

Rezultatele studiului au evidențiat reducerea nivelului complementului seric C₃ în 78% cazuri, frotiul nazofaringian β -streptococc hemolitic pozitiv în 65 % cazuri. S-a atestat creșterea titrului ASL-0 până la 557,6±47,35 u/l, și ASG până la 826,0±63,0 u/l. RFG <90 ml/min/1,73 m² a fost atestată în 13,5% cazuri. În hemoleucogramă s-a semnalat creșterea a VSH sângelui până la 20,70±1,30 mm/oră, Hb sângelui a constituit – 110,7±1,50 g/l, eritrocitele –3,58±0,057 x10⁹/l, leucocitele –7,33±0,22x10⁹. Sumarul urinei a indicat proteinurie până la 1,0±0,09 g/l. Proteina în urină timp de 24h a constituit 1,8±0,08 g/l. Probele biologice ale urinei pun în evidență hematurie 45-100 c/v și >100 c/v în 12,8% și 51,3%, respectiv, iar hematuria 10-45 c/v a fost prezentă în 35,9% cazuri. Totodată, 21 pacienți (13,5%) au prezentat GNA sindrom nefritic cu retenția ureei. Probele biologice ale sângelui au atestat creșterea creatininei serice până la 0,104±0,009 mmol/l și a ureei sangvine până la 10,2±1,25 mmol/l. Analiza sumarului urinei a indicat prezența hematuriei până la 10-45x10⁶/l în 33,3±10,3% cazuri; hematurie 45-100 x10⁶/l – 38,10±10,6% cazuri; macrohematurie >100 x10⁶/l în 28,6±9,9% cazuri. A fost prezentă leucociturie cu valori de 10-45 c/v în 42,9±10,8% cazuri; leucociturie 45-100 c/v în 14,3±7,6% cazuri.

Debutul maladiei la copiii cu SN a fost precedat peste 2-3 săptămâni după suportarea unei IRVA la 57 (71,2±5,1%) cazuri; după angină la 11 (13,8±3,9%) cazuri, după pneumonie – 11(13,8±3,4%) cazuri; după streptodermie 1 (1,2±0,2%) cazuri.

Markerii biochimici în SN au relevat hipoproteinemie, creșterea indicilor metabolismului lipidic, a protrombinei și concentrației de fibrinogen în toate subgrupele studiate (tabelul 3.1).

Tabelul 3.1. Markerii biochimici în sânge la copiii cu SN

Parametrii biochimici	SN (n=80)	SNSS (n=49)	SNSD (n=15)	SNSR (n=16)
Proteina totală,g/l	52,9±0,91	53,3±1,27	53,5±1,99	51,1±1,49
Albumina,%	34,0±2,83	35,7±3,56	29,0±0,35	-
α -globuline, %	25,1±3,94	25,5±4,81	-	-
γ -globuline,%	12,4±1,88	10,7±1,12	-	-
Lipide totale,g/l	9,5±0,98	9,2±1,13	11,2±1,85	11,7±1,21
Cholesterol,mmol/l	8,5±0,35	7,4±0,34	9,6±0,62	10,1±0,95
β -lipoproteide, u.c.	99,4±2,75	95,1±3,64	105,2±3,98	107,2±6,88
Ureea, mmol/l	6,2±0,53	6,8±0,80	4,9±0,71	5,1±0,48
Creatinina, μ mol/l	60±4,0	64±6,0	50±4,0	54±3,7
Protrombina, %	92,5±0,93	93,0±1,096	91,3±2,94	92,5±1,71
Fibrinogen, g/l	5,4±0,53	4,6±0,38	6,3±1,40	6,7±1,88

În SNSS s-au semnalat corelații statistice semnificative între: colesterolul total și β -lipoproteide (r_{xy} =0,518, p <0,01); nivelul ureei și creatininei serice (r_{xy} =0,841, p <0,001); nivelul creatininei serice și eritrocite în urină (r_{xy} =0,451, p <0,05); nivelul

proteinei în urină și trigliceride ($r_{xy} = -0,433$, $p < 0,001$); PPOA ($r_{xy} = 0,432$, $p < 0,001$), γ -GTP ($r_{xy} = 0,621$, $p < 0,001$); endotelina-1 ($r_{xy} = 0,529$, $p < 0,001$), CTGF ($r_{xy} = 0,301$, $p < 0,05$), pe când în SNSR s-au atestat corelații statistice între nivelul proteinei totale și colesterol ($r_{xy} = -0,550$, $p < 0,001$); trigliceride ($r_{xy} = -0,635$, $p < 0,001$); PPOA ($r_{xy} = 0,440$, $p < 0,001$); γ -GTP ($r_{xy} = 0,318$, $p < 0,01$); NAG- β ($r_{xy} = 0,374$, $p < 0,01$), ceea ce sugerează implicarea directă a moleculelor de semnalizare celulară, a factorilor de creștere, stresului oxidativ, enzimelor plasmatice în mecanismele patologice de progresie a nefrosclerozei în GN.

Datele hemoleucogramei la copiii cu SN relevă creșterea VSH sângelui până la $38,5 \pm 2,83$ mm/oră în SNSS) și $35,5 \pm 2,59$ mm/oră în SNSR, până la $42,8 \pm 4,68$ mm/oră în sindromul nefrotic steroid-dependent (SNSD). Analiza sumarului urinei a semnalat proteinurie până la $4,7 \pm 0,6$ g/l în SNSS până la $6,1 \pm 2,09$ g/l în SNSD și $7,2 \pm 0,09$ g/l în SNSR. Ecografia renală evidențiază rinichi măriți în volum cu lărgirea zonei parenchimatoase, hiperechogenitate sporită, cât și prezența lichidului liber în cavitatea abdominală în 90 % cazuri.

3.2. Aprecierea statutului clinic și ale parametrilor paraclinici la copiii cu glomerulonefrită cronică

Rezultatele studiului demonstrează că în GNC forma nefrotică acutizarea bolii a survenit la 2-3 săptămâni după suportarea unei IRVA la 24 ($85,8 \pm 6,6$ %) pacienți; după angină la 2 ($7,1 \pm 1,9$ %) pacienți; după pneumonie – la 2 ($7,1 \pm 1,9$ %) pacienți. Manifestările clinice au fost determinate de edeme generalizate în regiunea feței, abdomenului, gambelor în 21 ($75,0 \pm 3,05$ %) cazuri, anasarcă – 7 ($25,0 \pm 1,78$ %), micțiuni rare 10 ($35,7 \pm 2,12$ %), sindrom algic abdominal – 3 ($10,7 \pm 1,17$ %) cazuri, dureri în regiunea lombară – 1 ($3,57 \pm 0,67$ %) cazuri.

În analiza biochimică a sângelui la copiii cu GNC formă nefrotică și GNC forma mixtă s-a determinat hipoproteinemie, majorarea indicilor metabolismului lipidic – lipidelor totale, colesterolului seric și β -lipoproteidelor.

În hemoleucogramă la copiii cu GNC formă nefrotică s-a semnalat creșterea VSH a sângelui până la $35,8 \pm 3,25$ mm/oră, Hb a constituit $128,0 \pm 3,13$ g/l, eritrocitele – $4,07 \pm 0,10 \times 10^{12}/l$, leucocitele – $8,54 \pm 0,74 \times 10^9/l$. Proteina în sumarul urinei a variat de la 4,2 până la 20,6 g/l, iar proteina în urină timp de 24 h a constituit 3,9 – 30,6 g/l.

Tabloul clinic în GNC forma mixtă a fost determinat de manifestările clinice ale SN în asociere cu hematurie și hipertensiune arterială. În GNC forma mixtă s-a semnalat creșterea VSH până la $37,2 \pm 3,38$ mm/oră, iar Hb sângelui a constituit $110,9 \pm 5,48$ g/l, eritrocitele sângelui – $3,40 \pm 0,16 \times 10^{12}/l$, leucocitele – $7,77 \pm 0,48 \times 10^9$ g/l. Analiza sumarului urinei a semnalat proteinurie care a variat de la 2,4 g/l până la 20,7 g/l. Proteina în urină timp de 24 h a constituit 1,1 g/l – 15,6 g/l. Analiza sedimentului urinar a indicat prezența hematuriei în 92,1 % cazuri și leucociturie în 14,8 % cazuri.

3.3. Factorii de risc în dezvoltarea injuriei renale la copiii cu glomerulonefrită

Importanța diagnosticului în GN a fost definitorie pentru stabilirea strategiei terapeutice de lungă durată și a programului terapeutic. Măsurile specifice constau din:

„dieta renală”, terapie cu diuretice, antihipertensive, antiagregante, anticoagulante, antibacteriale. Conform KDIGO (2012) tratamentul episodului inițial al SN a inclus administrarea prednizolonului per os zilnic în doză 2 mg/kg/24h timp de 4-6 săptămâni, apoi 1,5 mg într-o singură priză pe parcursul a 2-5 luni, cu scăderea treptată a dozei, iar în SNSR – imunosupresoare (Ciclophosphamid, Clorambucil, Ciclosporin A).

Programul terapeutic utilizat a contribuit la aceea că 75,5 % pacienți cu SNSS au prezentat remisiune completă la ultima supraveghere, comparativ cu 43,8 % în SNSR (tabelul 3.2).

Tabelul 3.2. Starea pacienților la ultima supraveghere

Variabile studiate	SNSS (n=49)	SNSR (n=16)	GNC forma nefrotică (n=28)	GNC forma mixtă (n=25)
Remisiune completă	37 (75,5%)	7 (43,8%)	25 (89,3%)	10 (40,0%)
Remisiune parțială	12 (24,5%)	3 (18,8%)	1 (3,6%)	7 (28,0%)
Fără efect		3 (18,8%)	1 (3,6%)	8 (32,0%)
BRC gr.II-IV		2 (12,5%)	1 (3,6%)	3 (12,0%)
BRC gr.V		1 (6,25%)	1 (3,6%)	3 (12,0%)
Trecere în forma cronică	12(24,5 %)	12 (75,5%)		
Dializă		1 (6,25%)	1 (3,6%)	3 (12,0%)
Deces		2 (12,5%)		

La pacienții cu SNSS boala a evoluat spre cronicizare în 24,5 % cazuri, iar la cei cu SNSR rata de cronicizare a fost de 3 ori mai înaltă – 75,5 % cazuri. În urma tratamentului cu steroizi și imunosupresoare pacienții cu GNC forma nefrotică au prezentat remisiune completă în 89,3 % cazuri, pe când cei cu forma mixtă – în numai 40% cazuri. Un număr de 32% pacienți cu GNC forma mixtă nu au răspuns la tratamentul cu steroizi și imunosupresoare din cauza multirezistenței la aceste preparate. Totodată, la 28,1 % pacienți boala a evoluat în BRC, iar în 21,9 % cazuri s-a efectuat hemodializă cronică.

A fost apreciată specificitatea și sensibilitatea pentru SNSR, calculate variabilele pentru lipsa remisiunii, lipsa eficacității la tratamentul efectuat, rezultatul biopsiei renale în stabilirea diagnosticului. Astfel, pentru SNSR AUC=0,634 (95% ÎI: 0,405-0,863), lipsa remisiunii AUC=0,880 (95% ÎI: 0,788-0,973), lipsa eficacității la tratamentul efectuat, AUC=0,682 (95% ÎI: 0,435-0,928), rezultatul biopsiei renale AUC=0,539 (95% ÎI: 0,298-0,780). A fost calculat riscul de dezvoltare a cronicizării prin metoda regresiei logistice (tabelul 3.3).

Rezultatele cercetărilor proprii au demonstrat că, doar doi factori influențează direct dezvoltarea cronicizării – vârsta până la 6 ani și rezistența la tratamentul cu steroizi.

Tabelul 3.3. Regresia logistică pentru riscul dezvoltării cronicizării la pacienții cu GNA

Variabile studiate	Coefficientul (β)	$\pm$ ES	Criteriul Wald (χ^2)	P
Vârsta <6 ani	3,146	1,452	4,692	0,030
Sexul	0,225	0,814	0,077	0,782
Colesterol	-1,270	0,827	2,357	0,125
Eritrocite în urină	-0,343	0,835	0,169	0,681
Proteină în urină	-0,349	0,780	0,200	0,655
Rezistența la steroizi	2,474	1,088	5,169	0,023
Lipsa remisiunii	-21,521	40192,970	0,000	1,000
IR în debut	45,483	43653,790	0,000	0,999
Constanta	-3,909	1,483	6,948	0,008

Analiza discriminantă a copiilor cu SNSS a demonstrat că cel mai mare aport în dezvoltarea BRC a revenit hematuriei (coeficientul de corelație canonică $K=0,396$, $p<0,001$) și hipertensiunii arteriale ($K=0,377$, $p<0,001$), pe când în SNSR a fost determinat de prezența hematuriei (coeficientul de corelație canonică $K=0,598$, $p<0,001$); hipertensiune arterială – ($K=0,590$, $p<0,001$) și varianta histologică ($K=0,545$, $p<0,003$).

4. PARTICULARITĂȚILE MODIFICĂRILOR MOLECULELOR DE SEMNALIZARE CELULARĂ ȘI ALE PROCESELOR DE OXIDARE CU RADICALI LIBERI LA COPIII CU GLOMERULONEFRITĂ PRIMARĂ

4.1. Estimarea nivelului moleculelor de semnalizare celulară (interleukinelor și chemokinelor) în urină la copiii cu glomerulonefrită

Datele despre nivelul interleukinelor urinare – IL-1 β și IL-6 în urină la copiii cu glomerulonefrită sunt expuse în tabelul 4.1. Rezultatele prezentate în tabel denotă prezența modificărilor nivelului IL-1 β mai pronunțate la pacienții cu GNC, comparativ cu cei din grupul cu GNA.

Totodată, s-au înregistrat valori medii mai mari ale concentrației IL-1 β la pacienții cu SNSR comparativ cu SNSS. În GNC forma nefrotică perioada acutizării, IL-1 β în urină a crescut de 2 ori, pe când în GNC forma mixtă – de 2,7 ori. În perioada remisiunii în GNC forma nefrotică și mixtă nivelul IL-1 β în urină s-a normalizat.

Din datele tabelului 4.1 reiese, că în GNA sindrom nefritic, în perioada manifestărilor clinice nivelul IL-6 în urină a crescut de 2,1 ori. De notat, că pacienții cu SNSR au prezentat valori medii ale IL-6 în urină mult mai mari, comparativ cu cei cu SNSS. În perioada remisiunii nivelul IL-6 practic se normalizează în GNA sindrom nefritic, dar crește pregnant de 6,4 ori în SNSS. Cel mai înalt nivel al IL-6 în urină s-a determinat în ambele forme ale GNC, perioada de acutizare, unde concentrația citokinei date a crescut de 4,9 - 5,5 ori.

Tabelul 4.1. Nivelul IL-1 β și IL-6 în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	IL-1 β (pg/mM creatinină)		IL-6 (pg/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA sindrom nefritic	15,9 $\pm$ 5,93	13,8 $\pm$ 1,60 $p_1 > 0,05$	19,6 $\pm$ 1,04***	12,8 $\pm$ 1,12* $p_1 < 0,05$
GNA SNSS	21,9 $\pm$ 1,57***	15,3 $\pm$ 0,84** $p_1 < 0,01$	28,7 $\pm$ 1,51***	60,4 $\pm$ 2,87*** $p_1 < 0,001$
GNA SNSR	31,6 $\pm$ 2,94*** $p_2 < 0,05$	-	39,7 $\pm$ 2,20*** $p_2 < 0,01$	-
GNC forma nefrotică	23,1 $\pm$ 4,73*	18,2 $\pm$ 2,53 $p_1 > 0,05$	46,6 $\pm$ 9,99***	30,3 $\pm$ 3,30*** $p_1 > 0,05$
GNC forma mixtă	30,7 $\pm$ 3,38***	12,4 $\pm$ 0,64 $p_1 < 0,001$	51,8 $\pm$ 8,19*** $p_3 > 0,05$	24,5 $\pm$ 2,11*** $p_1 < 0,01$; $p_3 > 0,05$
Control	11,4 $\pm$ 0,45		9,5 $\pm$ 0,41	

Notă: diferență statistic semnificativă în raport cu valorile grupului de control: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; p_1 –autenticitatea în comparație cu indicele respectiv înregistrat la etapa de acutizare; p_2 –autenticitatea la compararea SNSS cu SNSR; p_3 –autenticitatea la compararea GNC forma nefrotică cu GNC forma mixtă.

În perioada remisiunii concentrația IL-6 în urină în GNC rămâne crescută, ceea ce indică la instabilitatea remisieii.

Rezultatele obținute denotă că nvelul IL-8 și TNF- α în urină crește în toate grupele de pacienți (tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Nivelul IL-8 și TNF- α în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	IL-8 (pg/mM creatinină)		TNF- α (pg/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA sindrom nefritic	38,1 $\pm$ 4,7	28,3 $\pm$ 5,02 $p_1 > 0,05$	52,4 $\pm$ 3,8***	33,4 $\pm$ 4,4 $p_1 < 0,01$
GNA SNSS	130,7 $\pm$ 14,3***	86,0 $\pm$ 8,9*** $p_1 < 0,05$	95,8 $\pm$ 9,9***	59,9 $\pm$ 7,4** $p_1 < 0,05$
GNA SNSR	267,3 $\pm$ 21,9*** $p_2 < 0,001$	-	135,2 $\pm$ 7,8*** $p_2 < 0,01$	82,3 $\pm$ 10,3 $p_1 < 0,01$; $p_2 > 0,05$
GNC forma nefrotică	291,0 $\pm$ 25,7***	102,8 $\pm$ 5,5*** $p_1 < 0,001$	62,3 $\pm$ 5,7***	22,1 $\pm$ 0,8 $p_1 < 0,001$
Control	28,1 $\pm$ 3,71		33,3 $\pm$ 2,91	

Notă: vezi tabelul 4.1.

După cum se vede, în SNSR, perioada de debut, s-a înregistrat un nivel crescut al IL-8 în urină ce depășea de 9,5 ori, iar în SNSS – de 4,7 ori valorile de control. În perioada remisiunii nivelul IL-8 în urină rămâne majorat în toate variantele clinice ale GN. Nivelul TNF- α în urină, la fel, a crescut mai pronunțat în SNSR perioada de debut comparativ cu SNSS, iar în perioada remisiunii nivelul TNF- α , deși scade ușor, rămâne la valori majorate în aceste grupe de pacienți.

În GNC forma nefrotică în perioada de acutizare, de asemenea, s-au înregistrat valori crescute ale TNF- α ce depășeau aproape de 2 ori nivelul controlului. În perioada de remisiune indicele dat descrește.

Astfel, în studiul dat s-au determinat niveluri crescute ale interleukinelor urinare – IL-8 și TNF- α , moment semnificativ prin rolul lor major în mecanismul imunopatogenic al proteinuriei în SN.

În acest studiu am obținut nivele semnificativ sporite ale proteinei monocitare inflamatorii-1 α (MIP-1 α) în urină în toate grupele de pacienți în perioada acutizării, comparativ cu perioada remisiunii (tabelul 4.3).

Tabelul 4.3. Nivelul MIP-1 α și MCP-1 în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	MIP-1 α (pg/mM creatinină)		MCP-1 (ng/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA SNSS	0,5 $\pm$ 0,08	0,2 $\pm$ 0,017; $p_1 < 0,05$	108,0 $\pm$ 8,78**	121,9 $\pm$ 7,26**
GNA SNSR	1,3 $\pm$ 0,09 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,01$	0,3 $\pm$ 0,080 $p_1 < 0,01$	97,0 $\pm$ 7,63***	112,1 $\pm$ 6,88**
GNC forma nefrotică	2,4 $\pm$ 0,21	0,5 $\pm$ 0,059 $p_1 < 0,001$	170,3 $\pm$ 12,01***	93,2 $\pm$ 8,43** $p_1 < 0,01$
GNC forma mixtă	7,6 $\pm$ 2,72	-	430,8 $\pm$ 49,73	122,5 $\pm$ 15,97* $p_1 < 0,01$
Control	0,0		50,9 $\pm$ 3,79	

Notă: vezi tabelul 4.1.

Nivelul MIP-1 α în urină s-a majorat de 2,6 ori în SNSR, comparativ cu SNSS în perioada manifestărilor clinice. În lotul de pacienți cu GNC forma nefrotică în perioada acutizării concentrația MIP-1 α în urină depășea de 4,8 ori nivelul acestui indice înregistrat la pacienții cu SNSS și de 1,8 ori la pacienții cu SNSR.

La fel, s-a stabilit o creștere statistic autentică a nivelului proteinei monocitare chemoatractante-1 (MCP-1) în urină în toate grupele de pacienți, cele mai înalte valori fiind înregistrate la copiii cu GNC forma nefrotică și în GNC forma mixtă.

Concentrația MCP-1 în urină în SNSS și SNSR, atât în perioada manifestărilor clinice, cât și în perioada de remisiune depășea de 2,0 - 2,4 ori valorile grupului de control. Totodată, deosebirile valorilor medii ale MCP-1 în perioadele de acutizare și remisiune nu au atins pragul semnificației statistice, cu toate că acestea păreau să fie mai înalte în faza de remisiune comparativ cu perioada manifestărilor clinice. În perioada remisiunii în GNC concentrația MCP-1 în urină rămâne a fi sporită, ceea ce denotă persistența procesului cronic renal. Totodată, s-au semnalat corelații puternice între concentrațiile MCP-1 și FGF- β ($r_{xy} = 0,810$, $p < 0,001$), MCP-1 și isoprostan-8 ($r_{xy} = -0,565$, $p < 0,05$) în GNC formă nefrotică perioada de acutizare. În GNC formă mixtă, perioada de acutizare au fost stabilite corelații puternice între MIP-1 α și MCP-1 ($r_{xy} = -1,0$, $p < 0,001$); IL-1 β ($r_{xy} = -1,0$, $p < 0,001$); IL-6 ($r_{xy} = -1,0$, $p < 0,001$); VEGF ($r_{xy} = -1,0$, $p < 0,001$); FGF- β ($r_{xy} = -1,0$, $p < 0,001$); CTGF $r_{xy} = -(1,0$, $p < 0,001)$; isoprostan-8 ($r_{xy} = -$

1,0, $p < 0,001$); PPOA ($r_{xy} = -1,0$, $p < 0,001$) care demonstrează, implicarea chemokinelor în procesele de fibrozare renală.

Studiile din ultimii ani au adus tot mai multe dovezi despre rolul esențial al semnalizării SDF-1/CXCR4 în menținerea integrității microvasculare și păstrarea funcției renale în BRC. SDF-1 este un factor major implicat în reparația rinichilor prin recrutarea de celule implicate în regenerare, inclusiv celulele endoteliale precursorare și celulele stem progenitoare. Un loc important revine sistemului de receptori CD40-CD40 ligand, acesta fiind implicat în formarea răspunsurilor imunoinflamatorii, trombogeneză și boli autoimune.

Din datele tabelului 4.4 rezultă că, în perioada de debut, atât în SNSR, cât și în SNSS, are loc creșterea marcată a nivelului SDF-1 α ce depășea de 4,2-4,5 ori, iar a nivelului CD-40 de 2,4-3,3 ori în raport cu valorile înregistrate în grupul de control.

Tabelul 4.4. Nivelul SDF-1 α și CD-40 în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	SDF-1 α (ng/mM creatinină)		CD-40(ng/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA sindrom nefritic	0,70 $\pm$ 0,13	1,16 $\pm$ 0,10	57,1 $\pm$ 10,86	60,7 $\pm$ 1,41 $p_1 > 0,05$
GNA SNSS	3,13 $\pm$ 0,96***	1,04 $\pm$ 0,16 $p_1 > 0,05$	161,2 $\pm$ 43,33 **	70,0 $\pm$ 8,89 $p_1 < 0,01$
GNA SNSR	2,92 $\pm$ 0,62*** $p_2 > 0,05$	-	120,2 $\pm$ 34,24 ** $p_2 > 0,05$	78,1 $\pm$ 9,24 $p_1 > 0,05$
GNC forma nefrotică	1,22 $\pm$ 0,16**	0,35 $\pm$ 0,05 $p_1 < 0,01$	51,1 $\pm$ 5,21	27,0 $\pm$ 2,83 $p_1 < 0,01$
Control	0,69 $\pm$ 0,16		49,3 $\pm$ 35,39	

Notă: vezi tabelul 4.1.

În GNC forma nefrotică, perioada de acutizare s-a atestat o creștere de 1,8 ori a nivelului SDF-1 α în urină și o reducere practic de 2 ori în perioada remisiunii. În același timp au fost semnalate corelații puternice directe între SDF-1 α și CD-40 ($r_{xy} = 0,989$, $p < 0,001$); TNF- α ($r_{xy} = 0,940$, $p < 0,001$). În perioada de remisiune se înregistrează restabilirea parțială a indicelui dat, fapt ce demonstrează persistență procesului patologic renal.

Sistemul endotelinic se implică activ în mecanismele patogenice ale afecțiunilor renale, fapt ce ne-a determinat să efectuăm un studiu detaliat vizând particularitățile modificărilor endotelinei-1 (ET-1) în urină la copii cu diferite variante clinico-evolutive ale GN. Rezultatele obținute relevă creșterea de 1,6 ori a nivelului ET-1 în urină în SNSS în perioada manifestărilor clinice și de 1,8 ori în SNSR, comparativ cu grupul de control. În perioada remisiunii s-a înregistrat reducerea importantă a valorilor ET-1 în urină constatându-se, în același timp nu doar revenirea în cadru normal, dar și diminuarea acestui indice cu 8% - 20%, însă fără relevanță statistică. Totodată, cele mai înalte valori au fost înregistrate în GNC forma mixtă, unde a fost indentificată o

creștere marcată de 16,9 ori a concentrației ET-1 în urină în perioada acutizării, comparativ cu grupul de control. În perioada remisiunii are loc o diminuare notabilă aproape dublă a ET-1 la pacienții cu formă mixtă a GNC, dar care a rămas crescută depășind de 8,1 ori nivelul grupului martor, ceea ce sugerează că remisiunea este incompletă, iar tratamentul, doar parțial, contribuie la eliminarea dereglărilor în sistemul ET-1 [12]. În GNC forma mixtă, perioada de acutizare s-au semnalat corelații puternice între nivelul ET-1 și MIP-1 α ($r_{xy}=1,000$, $p<0,001$); MCP ($r_{xy}=0,791$, $p<0,01$).

Determinarea nivelului endotelinei în urină reprezintă un marker important cu rol cardinal în dezvoltarea proteinuriei, injuriei podocitelor, având un semn distinctiv în maladiile proteinurice, care precede dezvoltarea glomerulosclerozei, fibrozei și progresia BRC.

4.2. Valoarea diagnostică a factorilor de creștere în patogenia glomerulonefritei la copii

Datele despre dinamica factorilor de creștere - VEGF și FGF- β în urină la copiii cu GN sunt prezentate în tabelul 4.5.

Tabelul 4.5. Nivelul VEGF și FGF- β în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	VEGF (ng/mM creatinină)		FGF- β (ng/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA SNSS	51,8 $\pm$ 6,24	30,6 $\pm$ 1,02 $p_1<0,05$	25,0 $\pm$ 1,24**	16,4 $\pm$ 0,975 $p_1<0,001$
GNA SNSR	108,6 $\pm$ 6,43*** $p_2<0,01$	44,6 $\pm$ 9,90 $p_1<0,001$	43,8 $\pm$ 4,91*** $p_2<0,05$	24,5 $\pm$ 1,87 $p_1<0,01$; $p_2<0,01$
GNC f.nefrotică	90,2 $\pm$ 6,65***	59,3 $\pm$ 5,61** $p_1<0,01$	130,2 $\pm$ 13,23*** $p_3<0,001$	63,6 $\pm$ 5,21 $p_1<0,001$; $p_3<0,001$
GNC f.mixtă	155,7 $\pm$ 18,02*** $p_3<0,01$	71,0 $\pm$ 9,58** $p_1<0,001$	162,5 $\pm$ 9,73*** $p_3<0,001$	36,3 $\pm$ 4,17 $p_1<0,001$; $p_3<0,01$
Control	34,4 $\pm$ 2,32		17,6 $\pm$ 0,76	

Notă: vezi tabelul 4.1.

Nivelul VEGF în urină la copiii cu SNSS în perioada manifestărilor clinice a crescut de 1,5 ori, dar aceste modificări au fost fără relevanță statistică, pe când la pacienții cu SNSR s-a majorat semnificativ de 3,2 ori. În perioada remisiunii la pacienții cu SNSS și SNSR nivelul citokinei date nu diferă de valorile martorului. În GNC formă nefrotică în perioada acutizării maladiei concentrația VEGF a crescut de 2,6 ori, iar în GNC forma mixtă a fost indentificată o creștere semnificativă de 4,5 ori a nivelului VEGF în urină. În perioada remisiunii nivelul VEGF în urină continuă să fie majorat în ambele forme ale GNC deși a scăzut veridic în raport cu faza de acutizare [11].

Conform tabelului 4.5 nivelul FGF- β în urină crește în toate grupele de pacienți, mai pronunțat în variantele cronice, comparativ cu cele acute. De notat, că în SNSR nivelul FGF- β în urină a fost mai înalt, față de cel înregistrat în SNSS. În GNC forma mixtă, perioada de acutizare concentrația FGF- β în urină a crescut semnificativ de 9,2

ori, pe când în GNC forma nefrotică s-a majorat de 7,4 ori. În perioada remisiunii în ambele grupuri nivelul FGF- β în urină rămâne înalt, deși s-a redus de 2 ori și mai mult în raport cu perioada manifestărilor clinice.

Rezultatele prezentate în tabelul 4.6 relevă că nivelul CTGF în urină suferă modificări diferite în dependență de variantele clinice ale GN. Nivelul CTGF în urină s-a majorat de 2,6 ori în SNSR perioada de debut, și practic nu s-a modificat în grupul de pacienți cu SNSS.

Tabelul 4.6. Nivelul factorilor de creștere CTGF și PDGF-BB în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	CTGF (ng/mM creatinină)		PDGF-BB (ng/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA sindrom nefritic	-	-	21,4 $\pm$ 4,67	17,6 $\pm$ 1,32 $p_1 > 0,05$
GNA SNSS	109,8 $\pm$ 3,80	101,9 $\pm$ 3,09 $p_1 > 0,05$	60,6 $\pm$ 18,75**	25,1 $\pm$ 2,20* $p_1 < 0,01$
GNA SNSR	247,5 $\pm$ 50,73** $p_2 < 0,05$	115,7 $\pm$ 9,61 $p_1 < 0,05$	64,8 $\pm$ 11,65** $p_2 > 0,05$	40,2 $\pm$ 5,12** $p_1 > 0,05$
GNC forma nefrotică	202,3 $\pm$ 27,11***	176,5 $\pm$ 19,82 $p_1 > 0,05$	25,8 $\pm$ 1,97	15,2 $\pm$ 1,81 $p_1 < 0,05$
GNC forma mixtă	702,6 $\pm$ 71,36*** $p_3 < 0,001$	598,07 $\pm$ 39,19 $p_1 > 0,05; p_3 < 0,001$	-	-
Control	97,0 $\pm$ 2,69		17,4 $\pm$ 2,98	

Notă: vezi tabelul 4.1.

Cele mai pronunțate creșteri (de 7,2 ori) ale nivelului CTGF în urină s-au înregistrat în GNC forma mixtă perioada acutizării, pe când în GNC forma nefrotică s-a majorat de numai 2 ori comparativ cu grupul de control. În perioada remisiunii nivelul CTGF în urină rămâne înalt în GNC forma mixtă. În GNC forma nefrotică perioada acutizării s-au semnalat corelații puternice între CTGF în urină și IL-1 β ($r_{xy} = 0,807$, $p < 0,001$).

Nivelul PDGF-BB în urină a crescut de 3,5-3,7 ori în SNSS și SNSR perioada de debut, față de grupul de control (tabelul 4.6). În perioada remisiunii nivelul PDGF-BB în urină practic a atins nivelul de control în GNC forma nefrotică, și au rămas crescute în SNSS și SNSR, deși s-au diminuat în raport cu valorile înregistrate în acutizare.

Determinarea concentrației factorilor de creștere în urină, reprezintă markeri relevanți pentru determinarea severității procesului patologic, evaluarea modificărilor sclerotice în rinichi, precum și eficacității tratamentului.

4.3. Semnificația clinică a markerilor stresului oxidativ în evoluția clinică a glomerulonefritei la copii

Studiul parametrilor stresului oxidativ la pacienții cu diferite variante ale GN a fost apreciat prin estimarea nivelului de AGE, PPOA, isoprostan-8, metaboliți ai NO în ser și urină la diferite etape clinico-evolutive ale maladiei.

Conform tabelului 4.7 concentrația AGE în serul sangvin a crescut semnificativ în toate variantele clinice ale GNA și GNC în perioada de acutizare.

Tabelul 4.7. Concentrația markerilor stresului oxidativ în serul sangvin la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	AGE, $\mu\text{mol/l}$		PPOA, $\mu\text{mol/l}$	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA sindrom nefritic	338,2 $\pm$ 21,6***	147,5 $\pm$ 10,2 $p_1 < 0,001$	35,2 $\pm$ 4,3***	13,4 $\pm$ 0,9 $p_1 < 0,01$
GNA SNSS	414,9 $\pm$ 41,7***	202,4 $\pm$ 8,1 $p_1 < 0,001$	29,8 $\pm$ 1,1***	19,0 $\pm$ 3,3 $p_1 < 0,05$
GNA SNSR	299,6 $\pm$ 22,2***	-	46,6 $\pm$ 3,1*** $p_2 < 0,05$	-
GNC forma nefrotică	374,8 $\pm$ 63,6*	224,0 $\pm$ 21,2 $p_1 < 0,05$	54,5 $\pm$ 3,0***	23,9 $\pm$ 2,9*** $p_1 < 0,001$
Control	183,4 $\pm$ 15,6		12,8 $\pm$ 0,68	

Notă: vezi tabelul 4.1.

În SNSS perioada de debut concentrația AGE a crescut de 2,3 ori, pe când în SNSR s-a majorat de 1,6 ori. În GNC forma nefrotică perioada de acutizare concentrația AGE a crescut de 2 ori față de valorile înregistrate în grupul de control. În perioada de remisiune nivelul AGE în serul sangvin se reduce, dar nu atinge valorile grupului de control.

În GNC forma nefrotică s-au atestat corelații semnificative între nivelul AGE și PPOA ($r_{xy}=0,622$, $p<0,05$); s-nitrosotolioli ($r_{xy}=0,987$, $p<0,01$); MIP-1 α ($r_{xy}=0,892$, $p<0,01$); FGF- β ($r_{xy}=0,598$, $p<0,05$), pe când în GNC forma mixtă perioada de acutizare au fost notate corelații între nivelul AGE și MIP-1 α ($r_{xy}=-1,0$, $p<0,001$); CTGF ($r_{xy}=0,611$, $p<0,05$).

Cercetările efectuate demonstrează prezența dereglărilor profunde ale valorilor PPOA serice în toate grupele de pacienți. Astfel, în GNA sindrom nefritic perioada manifestărilor clinice concentrația PPOA în serul sangvin a crescut de 2,7 ori, dar reușește să se normalizeze în perioada de remisiune. Modificări exprimate ale concentrației PPOA serice (creșteri de 3,6 și, respectiv, de 2,3 ori) s-au semnalat în SNSR perioada de debut și în SNSS. Cele mai pronunțate creșteri ale PPOA în ser au fost înregistrate în GNC formă nefrotică perioada de acutizare, unde valorile indicelui au crescut de 4,2 ori, micșorându-se aproape de 2 ori în perioada de remisiune, dar nu au atins nivelul controlului.

Măsurarea F₂-izoprostanilor în țesuturi și fluidele biologice oferă o nouă abordare valoroasă pentru cuantificarea stresului oxidativ, precum și o bază biochimică pentru evaluarea intervenției terapeutice. Conform rezultatelor prezentate în tabelul 4.8, concentrația isoprostanului-8 (Iso-8) în urină s-a majorat în toate grupele de pacienți.

Tabelul 4.8. Concentrația markerilor stresului oxidativ în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupele de studiu	Isoprostan-8 (pM/mM creatinină)		PPOA (pM/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
GNA SNSS	56,7±3,83	43,5±4,06 $p_1 > 0,05$	31,3±2,80**	16,15±2,21 $p_1 < 0,01$
GNA SNSR	129,3±8,80*** $p_2 < 0,001$	65,9±4,85 $p_1 < 0,001$	46,3±2,78*** $p_2 < 0,01$	25,6±2,56** $p_1 < 0,001; p_2 < 0,05$
GNC formă nefrotică	214,2±14,86***	78,9±6,51 $p_1 < 0,001$	22,1±1,38***	12,4±0,84 $p_1 < 0,01$
GNC formă mixtă	131,7±13,15*** $p_3 < 0,01$	79,7±6,51 $p_1 < 0,01$	28,5±2,33*** $p_3 < 0,05$	21,7±3,07* $p_1 > 0,05; p_3 < 0,05$
Control	37,7±1,26		12,5±1,67	

Notă: vezi tabelul 4.1.

Totodată, s-au înregistrat valori medii ale Iso-8 mai mari în GNC, comparativ cu GNA. Concentrația Iso-8 în urină a fost mai mare în SNSR în perioada de debut, comparativ cu SNSS. În perioada remisiunii concentrația Iso-8 în urină rămâne crescută (aproape de 2 ori) în SNSR. S-a semnalat o creștere de 3,5 ori a concentrației Iso-8 în urină în GNC formă mixtă în perioada acutizării, pe când în GNC formă nefrotică acest indice s-a majorat de 5,7 ori. În perioada remisiunii, nivelul Iso-8 în urină în ambele grupuri, deși scade, rămâne crescut, aproape dublu față de valorile de control, ceea ce denotă persistența procesului patologic cronic renal. Iso-8 reprezintă un biomarker și mediator al stresului oxidativ la copii cu glomerulonefrită, are valoare diagnostică și prognostică fiind implicat în patogenia acestei maladii.

După cum rezultă din tabelul 4.8 concentrația PPOA în urină a fost mai mare în SNSR perioada de debut comparativ cu SNSS. În perioada remisiunii concentrația PPOA în urină rămâne majorată în SNSR și practic s-a normalizat la pacienții cu SNSS. În GNC formă mixtă în perioada acutizării concentrația PPOA în urină a crescut de 2,3 ori, pe când în GNC formă nefrotică a crescut de numai 1,8 ori comparativ cu grupul de control. În perioada remisiunii concentrația PPOA în urină practic s-a normalizat în GNC formă nefrotică, pe când în GNC formă mixtă, deși s-a redus, rămâne totuși crescută de 1,7 ori față de grupul de control. Determinarea concentrației PPOA în urină reprezintă un marker sigur de apreciere a gradului de injurie proteică mediată oxidativ la pacienții cu GN și care poate fi utilizat pentru estimarea eficacității strategiilor terapeutice cu scopul reducerii intensității stresului oxidativ [9].

Sistemul de oxidare cu radicali liberi a fost apreciat și prin estimarea nivelului metaboliților oxidului nitric – NO_2 și NO_3 în urină la copii cu diferite variante ale GN. Astfel, în GNA sindrom nefritic perioada manifestărilor clinice suma $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ în urină a crescut de 3,4 ori. Totodată, s-a înregistrat o creștere mai pronunțată a conținutului sumar al metaboliților oxidului nitric ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) în SNSS perioada de debut, comparativ cu SNSR. În perioada de remisiune în SNSS suma $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ în urină rămâne practic la același nivel înregistrat la etapa precedentă, pe când în SNSR a

crescut cu 80% comparativ cu etapa inițială de cercetare. Suma $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ în urină în GNC forma nefrotică perioada de acutizare s-a majorat neimportant, dar a crescut practic de 2 ori în perioada de remisiune. Nivelul NO_2 a crescut de 2,3 ori în SNSS perioada de debut, pe când în SNSR a crescut numai de 1,4 ori. În perioada de remisiune în ambele grupe nivelul NO_2 în urină s-a normalizat. S-a înregistrat o creștere a nivelului de NO_3 în urină în toate grupele de pacienți. Cele mai înalte valori ale NO_3 în urină s-au înregistrat în SNSS perioada de debut, unde acest indice a crescut de 3,7 ori, iar în SNSR a crescut de 2,4 ori. În SNSS perioada de remisiune concentrația NO_3 nu numai că a rămas la același nivel sporit, dar a și crescut nesemnificativ în raport cu etapa precedentă. Totodată, au fost înregistrate modificări pronunțate în SNSR, unde valorile NO_3 în remisiune au crescut notabil, atât în raport cu etapa precedentă (de acutizare), cât și cu valorile grupului de control. Raportul NO_3/NO_2 în urină a crescut de 3,0 ori în GNA sindrom nefritic perioada manifestărilor clinice. S-a înregistrat o creștere mai pronunțată (aproape dublu) a raportului NO_3/NO_2 în SNSR perioada de debut, pe când în SNSS a crescut doar de 1,8 ori. Perturbările înregistrate s-au accentuat și mai mult în perioada de remisiune, unde s-a semnalat o creștere aproape triplă a raportului NO_3/NO_2 în urină, atât în SNSR, cât și în SNSS, comparativ cu grupul de control.

Astfel, acumularea speciilor reactive ale oxigenului și a oxidului nitric în organism, stabilită în cercetările noastre, constituie un mecanism important în patogeneza leziunilor renale la copiii cu GN. Rezultatele studiului nostru au evidențiat semnificația diagnostică a determinării markerilor stresului oxidativ în diagnosticul și monitorizarea GN.

4.4. Importanța diagnostică a sistemului antioxidant în evoluția clinică a glomerulonefritei la copii

În GNA sindrom nefritic în perioada manifestărilor clinice activitatea antioxidantă totală (AAT) în serul sangvin a crescut de 2,7 ori; s-au semnalat corelații între AAT și S-nitrosotoli ($r_{xy}=0,528$, $p<0,001$); G-S-T ($r_{xy}=0,641$, $p<0,01$); LDH ($r_{xy}=0,528$, $p<0,01$); LAP ($r_{xy}=0,541$, $p<0,01$). Creșteri importante ale valorilor AAT în serul sangvin (până la $84,3 \pm 5,95 \mu\text{M/l}$) au fost înregistrate în SNSR perioada de debut, față de $28,1 \pm 4,03 \mu\text{M/l}$ în grupul de control. În GNC forma nefrotică perioada acutizării AAT în serul sangvin a crescut de 1,8 ori (până la $50,4 \pm 7,91 \mu\text{M/l}$) cu reducere în perioada remisiunii. În GNC formă mixtă perioada de acutizare s-a semnalat corelații negative, inverse foarte puternice între nivelul AAT și MIP-1 α ($r_{xy} = -1,0$, $p<0,001$). În perioada remisiunii valorile AAT rămân crescute, cu excepția GNA sindrom nefritic unde s-a semnalat normalizarea acestui indice.

Cele mai exprimate valori ale concentrației S-nitrosotoliilor în serul sangvin s-au semnalat în SNSR perioada de debut, unde valorile acestui indice au crescut de 3,7 ori (până la $2,6 \pm 0,25 \mu\text{mol/l}$), iar în SNSS a crescut de 3,3 ori (până la $2,3 \pm 0,13 \mu\text{mol/l}$) față de $0,70 \pm 0,11 \mu\text{mol/l}$ în grupul de control. În GNC forma nefrotică perioada de acutizare s-a notat o creștere practic de 3 ori (până la $2,02 \pm 0,08 \mu\text{mol/l}$) a concentrației S-nitrosotoliilor în serul sangvin și care continuă să fie majorate și în perioada de

remisiune. S-au semnalat corelații între concentrația S-nitrosotiolilor și MIP-1 α ($r_{xy}=-0.644$, $p<0,01$) în GNC forma nefrotică perioada de acutizare.

Analiza rezultatelor obținute, relevă o reducere a nivelului peptidelor histidinice (PHis) în urină până la 84% la pacienții cu GNA sindrom nefritic, și SNSR în perioada manifestărilor clinice. În perioada remisiunii nivelul PHis în urină se menține la valori reduse, cu excepția SNSR, unde se atestă creșterea lor.

Un rol important în protecția antioxidantă a celulelor și menținerea statutului redox celular, atât în condiții fiziologice, cât și în diverse patologii, îi revine glutatationului și enzimelor sistemului glutatationic.

Studiile efectuate au relevat creșteri statistice semnificative ale activității GR în serul sangvin în toate variantele clinice ale GN în perioada manifestărilor clinice. Activitatea GR a crescut de 3,5 ori (până la $336,5\pm 32,9$ nM/s.l) în SNSR perioada de debut, față de $97,01\pm 5,8$ nM/s.l în grupul de control. Creșteri statistice concludente ale GR s-au înregistrat și în GNC forma nefrotică, iar în perioada remisiunii valorile enzimei s-au normalizat.

Evaluarea antioxidantilor naturali enzimatici GRO și GST în serul sangvin a demonstrat prezența unei reduceri semnificative ale activității acestor enzime în toate grupele de pacienți. Cea mai pronunțată reducere a activității GRO în serul sangvin s-a semnalat în GNC forma nefrotică, perioada de acutizare, unde activitatea enzimei s-a redus până la $90,6\pm 4,5$ nM/s.l (cu - 61,0%) comparativ cu grupul de control ($232,4\pm 25,3$ nM/s.l). În SNSS și SNSR perioada de debut activitatea GRO în ser s-a redus cu - 38% și, respectiv, 34%. În perioada remisiunii nivelul GRO practic atinge nivelul martorului în GNA sindrom nefritic, pe când în alte grupuri rămâne să fie redusă. Cele mai exprimate modificări ale activității GST au fost consemnate în SNSS și SNSR perioada de debut, unde activitatea enzimei s-a redus cu - 51% și - 61%, comparativ cu valorile grupului de control. În perioada remisiunii s-a notat normalizarea activității GST în GNA sindrom nefritic.

Glucoza-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PDH) este implicată în calea fosfat pentoică, fiind responsabilă de aprovizionarea celulelor cu riboză, necesară pentru sinteza acizilor nucleici. De altă parte, G-6-PDH este principala sursă de NADPH pentru glutatation reductază – enzimă implicată în reciclarea glutatationului redus în țesuturi. Cele mai exprimate modificări ale G-6-PDH în serul sangvin au fost consemnate în GNA sindrom nefritic, SNSS și SNSR, perioada manifestărilor clinice, unde activitatea G-6-PDH a crescut de 1,5-2,3 ori, comparativ cu grupul de control. În perioada remisiunii nivelul G-6-PDH în serul sangvin practic atinge nivelul valorilor de control. Modificările depistate ale activității G-6-PDH pot fi privite drept manifestarea reacției adaptativ-compensatorii, orientate spre menținerea nivelului de NADPH redus, care joacă un rol cardinal în sistemul de protecție antioxidantă.

Astfel, enzimele ciclului glutatationic și ale sistemului de protecție antioxidantă servesc drept indicatori ai gradului de afectare tisulară renală și pot fi folosite pentru aprecierea activității procesului, eficienței tratamentului, prognozarea complicațiilor cât și a exodului bolii.

5. PARTICULARITĂȚILE MODIFICĂRILOR UNOR INDICI AI HOMEOSTAZIEI ENZIMATICE, BIOCHIMICE LA COPIII CU GLOMERULONEFRITĂ PRIMARĂ

5.1. Dinamica și activitatea enzimelor ciclului adenilic și arginazei în evoluția clinică a glomerulonefritei la copii

Starea funcțională a ciclului adenilic s-a studiat prin aprecierea activității adenozindezaminazei (ADA-azei) și adenilatdezaminazei (AMP-azei) în serul sangvin la copii cu GNP în dinamica maladiei. Studiile efectuate au relevat creșteri importante ale ADA-zei în serul sangvin în toate variantele clinice ale GNA în perioada manifestărilor clinice. Cele mai exprimate modificări ale activității ADA-zei în serul sangvin s-au semnalat în SNSR, unde activitatea enzimelor date a crescut de 4,2 ori.

Modificări statistic concludente s-au semnalat în SNSS și GNA sindrom nefritic comparativ cu valorile grupului de control. Activitatea ADA-zei în serul sangvin a crescut de 2,2-2,9 ori în GNC formă nefrotică și mixtă în perioada acutizării comparativ cu valorile de control. În perioada remisiunii activitatea ADA-zei în ambele forme ale GNC rămâne crescută, ceea ce denotă despre persistența procesului patologic în rinichi și reabilitarea incompletă a pacienților.

Conform datelor obținute la pacienții cu GNA sindrom nefritic nivelul funcțional al AMP-zei s-a majorat neînsemnat, dar a crescut de 1,5 ori în GNC forma mixtă în perioada acutizării. În perioada remisiunii activitatea AMP-zei practic a atins nivelul matorului.

Este de remarcat că activitatea arginazei în urină în diferite variante clinice ale GN, suferă modificări de orientare și intensitate diferită, fapt ce influențează asupra expresării iNOS – nitric oxid sintazei inductibile, care la rândul ei, este responsabilă de persistența procesului inflamator în rinichi. În SNSS și SNSR nivelul arginazei în urină s-a redus practic până la valorile grupului de control în perioada remisiunii.

În GNC forma nefrotică nivelul arginazei nu se modifică, pe când în GNC forma mixtă, perioada acutizării, nivelul arginazei în urină s-a majorat de 2,9 ori (până la $0,53 \pm 0,09$ nmol/s·mM creatinină), față de $0,18 \pm 0,04$ nmol/s·mM în grupul de control, iar în perioada remisiunii s-a redus practic de 1,5 ori (până la $0,34 \pm 0,04$ nmol/s·mM creatinină), dar nu a atins valorile grupului de control [10].

În GNC forma nefrotică perioada de acutizare s-a stabilit o corelație puternică directă între nivelul arginazei în urină și AAT ($r_{xy}=0,893$, $p<0,001$); AGE ($r_{xy}=0,977$, $p<0,01$); S-nitrosothioli ($r_{xy}=0,855$, $p<0,01$); PPOA ($r_{xy}=0,632$, $p<0,05$); MIP-1 α ($r_{xy}=0,883$, $p<0,001$); FGF- β ($r_{xy}=0,625$, $p<0,05$).

La fel, în GNC forma mixtă, perioada de acutizare, s-au înregistrat corelații puternice directe între nivelul arginazei în urină și AAT ($r_{xy}=0,642$, $p<0,05$); S-nitrosothioli ($r_{xy}=0,851$, $p<0,001$). Totodată, în GNC forma mixtă, perioada de acutizare, au fost semnalate corelații inverse foarte puternice între nivelul arginazei în urină și MIP- α ($r_{xy}=-1,000$, $p<0,001$).

5.2. Rolul modificărilor pseudocolinesterazei în evoluția clinică, prognozarea complicațiilor glomerulonefritei la copii

Studiile efectuate, demonstrează o creștere statistic concludentă a activității PCE în serul sangvin în toate variantele clinice ale GN. Cele mai pronunțate modificări ale activității PCE în ser au fost consemnate în SNSR în perioada manifestărilor clinice, când activitatea enzimei a crescut de 1,8 ori. O creștere autentică de 1,4 ori a nivelului PCE s-a consemnat în GNC forma nefrotică în perioada acutizării, cu reducere discretă cu (-18%) față de valorile inițiale în perioada remisiunii.

Studiul dat, a demonstrat o creștere de 2,8 ori (până la $18,03 \pm 2,45$ nM/s.mM creatinină) a activității PCE în urină în GNA sindrom nefritic perioada manifestărilor clinice, față de $6,5 \pm 0,53$ nM/s.mM creatinină în grupul de control. În SNSS perioada de debut activitatea PCE în urină a crescut de 4,1 ori (până la $26,9 \pm 3,33$ nM/s.mM creatinină), pe când în SNSR s-a majorat de 3,2 ori (până la $20,9 \pm 2,40$ nM/s.mM creatinină) comparativ cu valorile de control. În perioada remisiunii activitatea PCE în urină s-a redus discret față de valorile inițiale, dar rămâne a fi majorată comparativ cu grupul de control. În GNC forma nefrotică perioada de acutizare activitatea PCE în urină s-a majorat de 2,4 ori și s-a redus în perioada remisiunii. S-au semnalat corelații puternice între activitatea PCE și MIP-1 α ($r_{xy} = 1,0$, $p < 0,001$); VEGF ($r_{xy} = -0,823$, $p < 0,01$); FGF- β ($r_{xy} = -0,644$, $p < 0,05$); CTGF ($r_{xy} = -0,828$, $p < 0,01$).

Evaluarea activității PCE la copii cu GNA și GNC permite nu numai de a determina gradul de alterare tisulară renală, dar servește ca un indicator de apreciere a fazei procesului, prognozarea complicațiilor și exodului maladiei.

5.3. Importanța diagnostică a enzimelor plasmatiche, proteolitice, lizozomale în patogenia glomerulonefritei la copii

Rezultatele de evaluare a activității γ -GTP în urină, enzimă localizată în membranele plasmatiche ale epiteliului canaliculelor proximale ale nefronului, la copii cu glomerulonefrită primară sunt reflectate în tabelul 5.1.

Tabelul 5.1. Activitatea γ -GTP în urină la copii cu glomerulonefrită

Grupuri de studiu	γ -GTP, nM/s.mM creatinină			
	acutizare	%	remisiune	%
GNA sindrom nefritic	$2,8 \pm 0,49^{***}$	104,5	$3,60 \pm 2,44$; $p_1 > 0,05$	134,3
GNA SNSS	$14,6 \pm 6,97^{**}$	544,8	$4,87 \pm 3,95$; $p_1 > 0,05$	181,7
GNA SNSR	$4,4 \pm 2,50^*$; $p_2 > 0,05$	164,2	$12,65 \pm 0,23^*$; $p_1 < 0,01$	472,0
GNC forma nefrotică	$7,97 \pm 4,33^{***}$	297,4	$2,53 \pm 1,16$; $p_1 > 0,05$	94,4
GNC forma mixtă	$4,03 \pm 1,40^*$	150,4	$5,86 \pm 3,13$; $p_1 > 0,05$	218,7
Control	$2,68 \pm 1,78$	100,0	$2,68 \pm 1,78$	100,0

Notă: în raport cu valorile martorului: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$;

p_1 – autenticitatea în comparație cu indicele respectiv înregistrat în acutizare; p_2 – autenticitate la compararea SNSS cu SNSR

Analiza rezultatelor obținute a demonstrat o creștere a activității γ -GTP în urină în toate grupele de pacienți în perioada acutizării maladei. Astfel, s-a înregistrat o majorare semnificativă de 5,4 ori a activității γ -GTP în urină în SNSS, și de 1,6 ori în SNSR. În perioada remisiunii s-a semnalat o tendință de reducere a activității γ -GTP în urină, dar care însă rămânea înaltă, cu excepția SNSR, unde activitatea γ -GTP în urină a crescut veridic de 4,7 ori, față de valorile grupului de control. S-a stabilit o creștere de 3 ori a activității γ -GTP în GNC formă nefrotică, perioada acutizării, pe când în forma mixtă activitatea γ -GTP în urină a crescut numai de 1,5 ori ($p < 0,05$). În perioada de remisiune are loc normalizarea activității γ -GTP la copiii cu GNC forma nefrotică, cu excepția pacienților cu formă mixtă, unde nivelul γ -GTP în urină a crescut de 2,1 ori.

Au fost înregistrate corelații puternice între activitatea γ -GTP și PCE ($r_{xy} = 1,0$, $p < 0,001$); MIP - 1α ($r_{xy} = 1,0$, $p < 0,001$); VFGF ($r_{xy} = -0,758$, $p < 0,01$); FGF- β ($r_{xy} = -0,621$, $p < 0,05$); CTGF ($r_{xy} = -0,748$, $p < 0,01$).

Aprecierea enzimelor proteolitice în urină a inclus determinarea activității chimotripsinei și leucinaminopeptidazei (LAP). Cea mai înaltă activitate a chimotripsinei în urină s-a atestat în SNSS, perioada manifestărilor clinice, unde s-a înregistrat o creștere importantă de 2,2 ori (până la $0,86 \pm 0,16$ nM/s.mM creatinină, $p < 0,01$) și în GNA sindrom nefritic (creștere de 2,0 ori, până la $0,79 \pm 0,16$ nM/s.mM creatinină), față de $0,39 \pm 0,06$ nM/s.mM creatinină în grupul de control. În perioada remisiunii s-a constatat o creștere de 2,6 ori a chimotripsinei în urină în SNSR și o reducere cu 36,0 % în SNSS și cu 54,0 % în GNA sindrom nefritic, comparativ cu valorile normale. Modificările activității chimotripsinei în GNC forma mixtă perioada acutizării, deasemenea, se prezintă prin nivele crescute de 1,9 ori în raport cu martorul, cu o reducere până la valorile normale în perioada de remisiune.

Rezultatele obținute demonstrează creșterea activității LAP în toate variantele clinice ale GNA. Astfel, în SNSS și SNSR perioada manifestărilor clinice s-a semnalat o creștere a activității LAP în urină de 2,7 ori, iar în perioada remisiunii s-a constatat o reducere discretă a enzimuriei cu -16,0 % la pacienții cu SNSR. S-a notat o creștere de 1,9 ori a activității LAP în urină în GNC mixtă perioada acutizării și reducerea până la valorile normale în perioada remisiunii în GNC forma nefrotică.

Conform rezultatelor studiului concentrația β_2 -microglobulinei în urină a crescut de 2,8-2,7 ori în SNSS și SNSR în perioada manifestărilor clinice, comparativ cu grupul de control. În perioada remisiunii nivelul β_2 microglobulinei în urină s-a redus semnificativ comparativ cu valorile inițiale în ambele grupuri.

Studiul activității enzimei citoplasmatică LDH a semnalat o creștere de 2 ori în GNA sindrom nefritic. Activitatea LDH în urină a crescut de 4,5 ori în SNSS în perioada de debut, cu o regresie până la $2,21 \pm 0,36$ nM/mM creatinină în SNSR în raport cu valorile de control. În perioada remisiunii în SNSS, activitatea LDH în urină s-a redus practic de 2 ori, dar a crescut de 2,5 ori în SNSR, comparativ cu valorile de control. S-a semnalat o creștere de 2 ori a activității LDH în GNC forma nefrotică, perioada de acutizare și o reducere concludentă a activității LDH în perioada remisiunii față de valorile de control.

Rolul hidrolazelor lizozomice în fiziopatogenia GN a fost evaluat prin determinarea arilsulfatazei A și B, C, NAG- β , β -galactozidazei, β -glucozidazei, β -glucuronidazei în serul sangvin și urină în dinamica maladiei. Cercetările efectuate au demonstrat, că la copii cu GNA și GNC are loc creșterea nivelului enzimelor lizozomale studiate în urină. În GNC modificările activității enzimelor lizozomale – arilsulfatazei C, β -galactozidazei, fosfatazei acide au fost mai pronunțate comparativ cu GNA, ceea ce indică la leziuni mai pronunțate ale aparatului tubular al nefronului în GNC.

Determinarea activității enzimelor lizozomale în urină în dinamica procesului patologic poate servi drept criteriu precoce de diagnostic neinvaziv ale diferitor variante ale GN, permite prognozarea procesului activ, servește drept criteriu de apreciere a eficacității tratamentului.

Rezultatele obținute în urma evaluării activității α -glicozidazei neutre sunt redată în tabelul 5.2.

Tabelul 5.2. Nivelul α -glicozidazei neutre în urină la copiii cu glomerulonefrită

Grupuri de studiu	α -glicozidaza neutră, nM/s.mM creatinină			
	Acutizare	%	remisiune	%
GNA sindrom nefritic	0,91 $\pm$ 0,31*	284,4	0,54 $\pm$ 0,14 $p_1 > 0,05$	168,8
GNA SNSS	0,63 $\pm$ 0,07**	196,9	0,38 $\pm$ 0,06 $p_1 > 0,05$	118,8
GNA SNSR	0,83 $\pm$ 0,23** $p_2 > 0,05$	259,4	0,51 $\pm$ 0,07 $p_1 > 0,05$	159,4
Control	0,32 $\pm$ 0,04	100,0	0,32 $\pm$ 0,04	100,0

Notă: vezi tabelul 5.1.

Ele arată că activitatea α -glicozidazei neutre în urină crește semnificativ în toate variantele clinice ale GNA. Astfel, cele mai profunde schimbări s-au înregistrat în GNA sindrom nefritic, perioada manifestărilor clinice, unde activitatea α -glicozidazei în urină a crescut veridic de 2,8 ori. De notat că activitatea α -glicozidazei neutre în SNSS s-a majorat de 2 ori, pe când în SNSR de 2,6 ori, comparativ cu valorile de control.

În perioada remisiunii, nivelul α -glicozidazei neutre în urină scade în toate grupurile de pacienți, dar nu atinge nivelul grupului martor. În GNC forma nefrotică, perioada acutizării, am stabilit majorări concludente de 2,7 ori ale activității α -glicozidazei neutre în urină comparativ cu grupul martor, fiind atestate corelații de intensitate medie între concentrațiile urinare ale α -glicozidazei și FGF- β ($r_{xy}=0,588$, $p<0,05$); LDH ($r_{xy}=-0,555$, $p<0,05$); NO₂ ($r_{xy}=0,566$, $p<0,05$). În GNC forma mixtă, perioada de acutizare, au existat corelații foarte puternice inverse între concentrațiile urinare ale α -glicozidazei și MIP-1 α ($r_{xy}=-1,0$, $p<0,001$). În perioada remisiunii activitatea enzimei date s-a menținut majorată în toate grupele de pacienți, comparativ cu valorile inițiale.

Nivelul lizozimei în urină la pacienții cu GNA SN s-a majorat autentic, pe când la copiii cu GNC concentrația enzimă, dimpotrivă, manifestă o tendință de reducere.

Remarcăm că, în GNA sindrom nefritic în perioada manifestărilor clinice s-a înregistrat o reducere a concentrației lizozimei în urină cu 24,0% (până la $101,5 \pm 20,8$ ng/nm creatinină) față de ($134,2 \pm 31,7$ ng/mM creatinină) în grupul de control. Nivelul lizozimei a crescut de 2 ori în SNSS perioada manifestărilor clinice, comparativ cu valorile grupului de control. În perioada remisiunii nivelul lizozimuriei s-a redus practic în toate variantele GNA în raport cu valorile normale.

Rezultatele evaluării conținutului de microelemente în diferite variante ale GN a relevat modificări statistic concludente ale nivelului acestora la pacienții cu GN. Astfel, nivelul de Zn în serul sangvin s-a redus în toate variantele clinice ale GN, pe când conținutul de Cu a crescut comparativ cu valorile grupului de control. Modificări mai pronunțate ale nivelului Zn s-au înregistrat la pacienții cu SNSR perioada de debut, în cadrul căruia concentrația acestui element s-a redus de 3,4 ori (până la $4,5 \pm 0,38$ $\mu\text{mol/l}$), pe când în SNSS s-a redus de 2,8 ori (până la $5,4 \pm 0,80$ $\mu\text{mol/l}$) față de ($15,2 \pm 0,77$ $\mu\text{mol/l}$) în grupul de control. În perioada de remisiune nivelul Zn în serul sangvin a crescut comparativ cu valorile inițiale, dar a rămas totuși inferior valorilor matorului. Studiile efectuate au demonstrat creșterea nivelului de Cu în serul sangvin în toate variantele clinice ale GN în perioada de acutizare. Modificări statistic semnificative ale concentrației de Cu seric s-au înregistrat în SNSR, comparativ cu SNSS. Astfel, în SNSR în perioada de debut, nivelul de Cu în serul sangvin s-a majorat de 4,2 ori, pe când în SNSS a crescut de 2,8 ori în raport cu valorile grupului de control. În GNA sindrom nefritic perioada manifestărilor clinice nivelul Cu a crescut de 3,1 ori față de valorile controlului. În perioada remisiunii nivelul Cu practic se normalizează în toate variantele clinice ale GN.

6. MODIFICĂRILE HISTOLOGICE ȘI CARACTERISTICA UNOR CORELAȚII CLINICO-PARACLINICE, BIOCHIMICE ÎN EVOLUȚIA GLOMERULONEFRITEI LA COPII

6.1. Caracteristica clinico-paraclinică a modificărilor histopatologice la copii cu glomerulonefrită primară

Studiul histologic a inclus 12 pacienți cu glomerulonefrită primară, cu vârsta medie de $7,50 \pm 1,64$ ani și o durată a bolii de $2,03 \pm 0,50$ ani. Sexul masculin a constituit $58,3 \pm 14,2\%$, comparativ cu sexul feminin $41,70 \pm 14,2\%$. Pacienții cu vârstă de 0-5 ani au constituit ($41,7 \pm 14,2\%$), 5-10 ani – $33,3 \pm 13,6\%$ și 10-17 ani – $25,0 \pm 12,5\%$. Cele mai frecvente manifestări clinice au fost edemele – $100,0 \pm 0,08\%$, hematuria – $50,0 \pm 5,19\%$ și HTA – $41,7 \pm 5,12\%$ cazuri. Modificările paraclinice în GN au fost determinate de hipoproteinemie – $52,07 \pm 3,44$ g/l, hiperlipidemie – (colesterolul – $10,17 \pm 1,15$ mmol/l, β -lipoproteide – $110,75 \pm 7,02$ mmol/l), proteinurie timp 24 h – $5,68 \pm 1,83$ g/l.

6.2. Modificările histologice la copii cu glomerulonefrită

Printre modificările de gradăție minimă au fost aspectele de accentuare a componentei celulare cu aspecte de intumescență sau hipertrofie nucleară (figura 6.1.) precum și dezintegrarea periferică a ghemului vascular.

În ce privește modificările cu grad moderat specific doar acestui tip de glomerulopatii le-am desemnat condiționat. Acestea fiind manifestate într-un caz prin prezența aspectului fin a anselor capilare, dar comparativ cu norma erau mult mai subțiri, cu aspecte de hiper celularitate discretă, intumescență celulară și hipertrofie nucleară dispersă cu un aspect ușor de pseudolobulație, uneori interstițial, s-au atestat prezența unor proliferări endoteliale vasculare (figura 6.2).

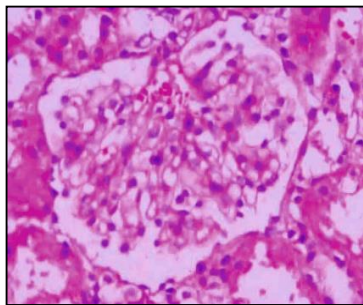


Figura 6.1. Glomerulopatie cu leziuni de gradăție minimă cu normocelularitate, aspect congestiv, dezintegrarea periferică
×200 Culoarea H&E

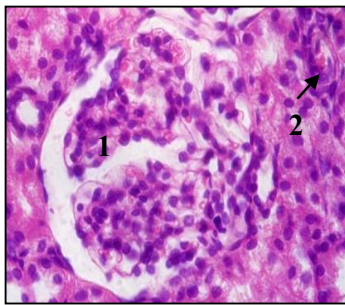


Figura 6.2. Glomerulopatie cu leziuni moderate. 1) aspect de pseudolobulație, cu hipertrofie nucleară, 2) proliferarea focală a endoteliului în rețeaua vasculară
×200 Culoarea H&E

În nefropatia glomerulară cu scleroză focală și segmentară (NGSFS) au predominat la nivel de glomerul modificări caracterizate printr-un aspect lezional heterogen și nu doar strict celor sclerozante-hialine sau cicatriciale. Pe lângă prezența reacțiilor sclerogene sau scleroză focal-segmentară s-au desemnat și glomeruli cu proliferări celulare endocapilare (endotelial-mezangiale), proliferări celulare epiteliale parietale ale capsulei și aspecte de semiluni epitelial-celulare cu diversă intensitate a componentei sclerozive ce frecvent sugerau tabloul histologic ale unei glomerulopatii rapid progresive.

Ca rezultat a proceselor proliferative a componentei celulare pe diverse arii atât din partea glomerulilor cât și ale capsulei frecvent s-au atestat prezența proceselor aderențiale în aspecte mici și în platouri glomerulo-capsulare, uneori asociate cu dilatări a vaselor aferente (figurile 6.3-6.4).

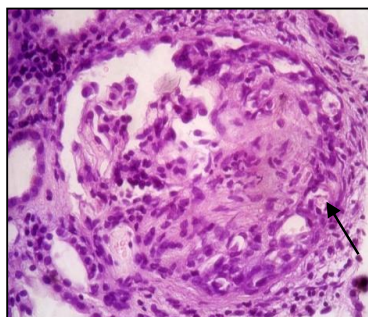


Figura 6.3. Glomerulopatie sclerozivă segmentară cu proliferarea elementelor celulare ale capsulei, formarea aderențelor glomerulo-capsulare $\times 200$. Colorația H&E

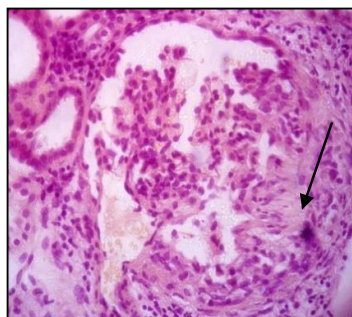


Figura 6.4. Glomerulopatie segmentară aderențială glomerulo-capsulară în platouri cu dilatarea vasului aferent $\times 200$. Colorația H&E

De asemenea, printre modificările lezionale s-au atestat prezența glomerulilor cu aspecte proliferative endotelial-mezenchimale cu hiperplazie moderată și prezența unor glomeruli cu particularități proliferative și sclerogene, aderențe glomerulo-capsulare. În rețeaua capilară uneori fiind observate unice limfocite, granulocite (figura 6.5).

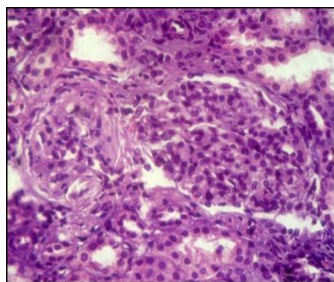


Figura 6.5. Glomerulopatie proliferativă endotelial mezangială în asocierie cu glomerul cu modificări sclerotice hipercelularitate endotelial- mezangială focală $\times 200$. Colorația H&E

Glomerulopatia cu „leziuni minime” (minimal change) sau NGLM s-a atestat în 5 (41,7% cazuri); glomerulopatia cu scleroză focal segmentară (GSFS) sau NGSFS a constituit ponderea majoră, fiind atestată în 6 (50% cazuri) și în (8,3% cazuri) s-a constatat prezența glomerulopatiei membrano-proliferative (GMP) sau nefropatia glomerulară mezangio-proliferativă (NGMzP).

Conform datelor comparative ale glomerulopatiilor atestate histomorfologic și estimate statistic prin metoda variațională, în funcție de afecțiunile stabilite clinico-morfologic (NGLM, NGSFS, NGMzP) și numărul de glomeruli afectați (NGA) detectați într-un biopat, s-au stabilit următoarele date statistice: *numărul* de glomeruli cu modificări lezionale în NGLM au constituit $0,3 \pm 0,06^*$; în NGSFS - $0,7 \pm 0,06$ și NGMzP - $0,8 \pm 0,15$ (* - $p < 0,01$) (figura 6.6).

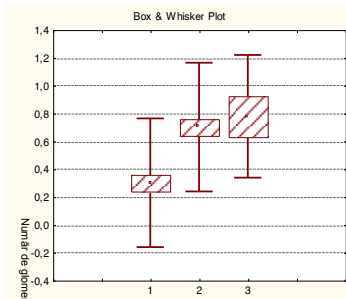


Figura 6.6. Date comparative ale numărului de glomeruli cu particularități histopatologice lezionale atestate, unde 1 – NGLM, 2 – NGFS, 3 – NGMzP.

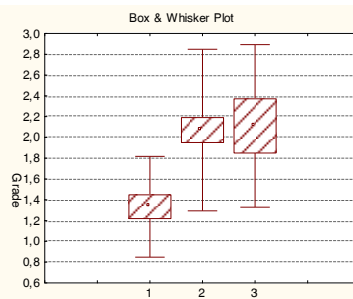


Figura 6.7. Date comparative ale gradului lezional histopatologic în glomerulopatii, unde 1 – NGLM, 2 – NGFS, 3 – NGMzP.

Evaluarea matematică, în funcție de *gradul* lezional apreciat histopatologic conform scării de apreciere elaborate în funcție de formele clinico-morfologice a stabilit, că modificările lezionale în NGLM au constituit $1,3 \pm 0,1^*$; comparativ cu NGSFS – $2,1 \pm 0,1$ și NGMzP – $2,1 \pm 0,3$ (* - $p < 0,01$) (figura 6.7).

6.3. Corelații histopatologice și biochimice în evoluția glomerulonefritei la copii

Pentru determinarea și interpretarea statistică a repartiției procentuale în cadrul lotului de studiu a indicilor evaluați precum și estimarea tendinței evoluției proceselor a fost utilizată analiza histogramelor de distribuție a glomerulilor afectați în baza gradului de afectare glomerulară și în funcție de forma clinico-morfologică.

S-a constatat, că în lotul cu NGLM incidența modificărilor lezionale de grad avansat au fost constituite doar din leziuni histopatologice de gradul 2 adică atestate ca moderate cu o frecvență de 33% din cazuri (figura 6.8).

Comparativ cu NGLM în formele clinico-morfologice ca NGSFS și NGMzP leziunile histopatologie glomerulare avansate a inclus predominarea preponderentă a modificărilor lezionale cu grad de severitate 2 și 3 ale afectărilor glomerulare, constituind 73% în NGSFS și 77% din cazuri în NGMzP. Ținând cont de valorile oscilante ale *NAG-β*, *MCP-1*, *IL-6* în urină și numărul divers al glomerulilor renali afectați în funcție de forma clinico-morfologică a glomerulopatiei (NGLM, NGSFS și NGMzP) s-a efectuat analiza corelațională între valorile acestor parametri, cu excepția NGMzP, care s-a manifestat doar la un singur pacient.

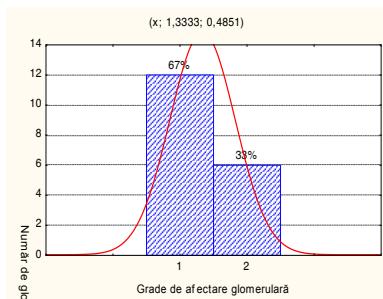


Figura 6.8. Histograma de distribuție a glomerulilor afectați în baza gradului de afectare glomerulară în NGLM, unde 1 – gradul 1, 2 – gradul 2, 3 – gradul 3.

În glomeruloscleroza focal segmentară analiza corelațională a gradului de dependență între nivelul *NAG-β*, *MCP-1*, *IL-6* în urină și *NGA* a stabilit corelații medii între nivelul *NAG-β* în urină și *NGA* ($r=0,47$), corelații puternice între nivelul *MCP-1* în urină și *NGA* ($r=0,61$) și între *IL-6* în urină și *NGA* ($r=0,60$).

În rezultatul analizei corelaționale a gradului de dependență între nivelul *NAG-β*, *MCP-1*, *IL-6* și *NGA* în NGLM și NGSFS s-a stabilit, că sporirea *NGA* va conduce la sporirea nivelului *NAG-β*, *MCP-1*, *IL-6* în urină.

Rezultatele cercetării proprii complexe cu utilizarea tehnicilor de diagnostic contemporane ne-au permis de a argumenta schema de lucru etiopatogenică a GN, cât și elaborarea algoritmului de diagnostic, tratament și elaborarea a 5 protocoale clinice naționale.

Algoritmul de diagnostic elaborat include 3 etape: I etapă – evaluarea manifestărilor clinice, a examenului paraclinic, investigațiilor instrumentale, imagistice; a II etapă – estimarea severității bolii, examenul biologic general, markerii biochimici special selectați, în contextul rezultatelor histologice; a III etapă – descifrarea fiziopatologiei și histomorfologiei GN. S-a efectuat bilanțul diagnostic complet, precizându-se natura etiopatogenică a bolii, modalitatea tratamentului, prognosticul, și supravegherea pacienților.

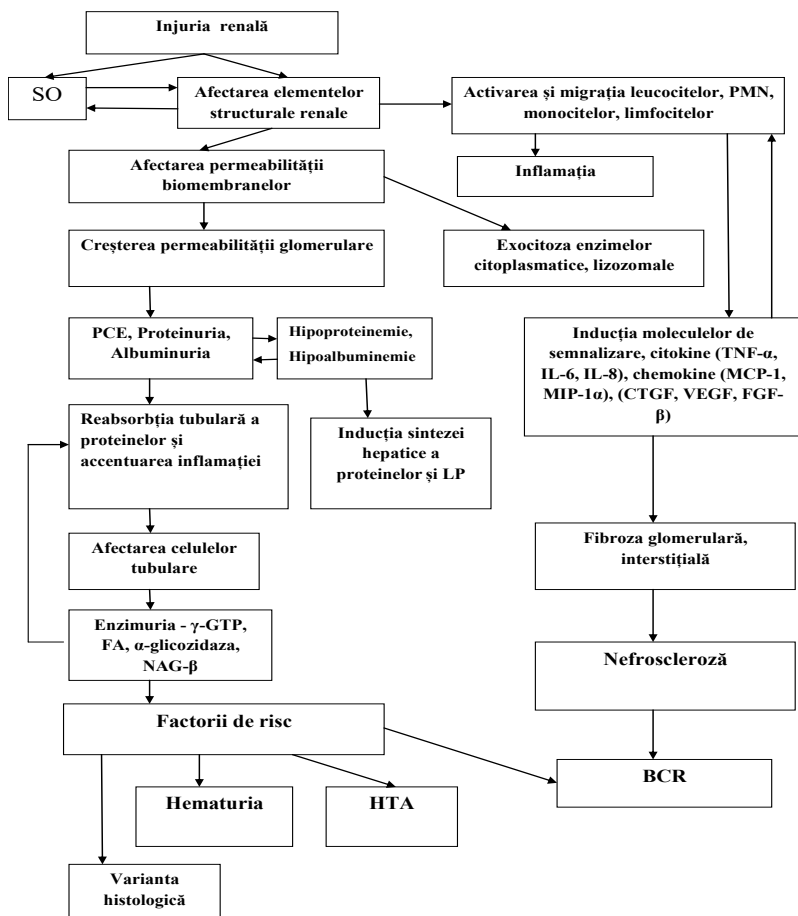


Figura 6.9. Schema patogenică a GN la copii

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

CONCLUZII GENERALE

1. Conform cercetărilor proprii am stabilit că variantele clinice, particularitățile fiziopatologice ale glomerulonefritei la copil, atipismul manifestărilor clinice, insuficiența mecanismelor adaptiv-compesatorii pe fundalul imaturității tisulare și imune sunt impedimente ce cauzează adresarea tardivă la medicul specialist nefrolog, ceea ce determină ponderea înaltă a complicațiilor, în special boala renală cronică terminală atestată în 21,9 % din cazuri.

2. Din studiul propriu am dedus că prin monitoringul informației examenului clinic, paraclinic, multimodal al glomerulonefritei primare a permis de a obiectiviza variantele clinico-paraclinice, etapele clinico-evolutive, caracterul complicațiilor glomerulonefritei. Estimarea markerilor biochimici, metabolici, bacteriologici, imagistici, histopatologici au permis de a argumenta geneza etiopatogenică, multifactorială, cât și prognosticul bolii. Analiza regresiei logistice a demonstrat, că coroborarea diferitor factori influențează direct dezvoltarea cronizării, în special, la copii cu vârsta de la 2-6 ani și rezistența tratamentului cu steroizi.

3. Prin metodologia unui examen diagnostic complex cu utilizarea testelor screening, estimărilor markerilor biochimici în ser și urină, am stabilit modificări majore ale concentrației interleukinelor, factorilor de creștere, enzimelor lizozomale, plasmatic, oligoelementelor, markerilor stresului oxidativ și a datelor histopatologice. Diagnosticul biochimic ne-a permis completarea criteriilor de diagnostic, diagnostic diferențial, de evaluare a complicațiilor, a gradului lezării țesutului renal și argumentarea unui program de tratament medical complex, micșorând prin aceasta riscul complicațiilor precoce și la distanță.

4. Rezultatele obținute la investigarea copiilor cu glomerulonefrită prin evaluarea nivelului moleculelor de semnalizare celulară (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, MIP-1 α , SDF-1 α , CD 40, endotelina-1) în urină au evidențiat o creștere a acestora în dependență de varianta clinică, activitatea procesului patologic renal. Activarea sistemelor umorale și celulare, generatoare de leziuni celulare, precum și cele ce contribuie la intensificarea și extinderea procesului inflamator au un rol decisiv în fiziopatologia glomerulonefritei la copil. Determinarea nivelului moleculelor de semnalizare celulară în urină reprezintă markeri importanți noninvazivi pentru aprecierea injuriei renale, diferențierea diagnostică a diferitor variante ale maladiei, monitorizarea evoluției și elaborarea strategiilor noi de tratament renoprotector în glomerulonefrită la copii.

5. În baza investigațiilor efectuate în SNSS am stabilit corelații statistice puternice între nivelul TNF- α în urină și IL-8 ($r_{xy}=0,454$, $p<0,001$); IL-6 ($r_{xy}=0,400$, $p<0,01$); proteina în urină ($r_{xy}= - 0,441$, $p<0,001$), iar în SNSR s-au atestat corelații între nivelul TNF- α și IL-8 ($r_{xy}=0,545$, $p<0,001$); între MCP-1 și VEGF ($r_{xy}=0,697$, $p<0,001$); între MCP-1 și endotelina-1 ($r_{xy}=0,816$, $p<0,001$); între MCP-1 și FGF- β ($r_{xy}=0,656$, $p<0,001$). În GNC formă nefrotică perioada de acutizare s-au semnalat

corelații statistic veridice directe între concentrațiile MCP-1 și FGF- β ($r_{xy}=0,810$, $p<0,001$), iar în GNC formă mixtă perioada de acutizare au fost stabilite corelații foarte puternice inverse între MIP-1 α și MCP-1 ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$); VEGF ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$); FGF- β ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$); CTGF ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$); isoprostan-8 ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$); IL-1 β ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$); și IL-6 ($r_{xy}= - 1,0$, $p<0,001$) care demonstrează valoarea lor ca biomarkeri importanți ai răspunsului imun, precum și a fibrozei renale.

6. Investigațiile funcțional biochimice au relevat nivele majore ale concentrației factorilor de creștere (VEGF, PDGF-BB, FGF- β , CTGF) în urină la copiii cu glomerulonefrită în funcție de activitatea procesului renal și sensibilitatea la steroizi. Evaluarea în dinamică a concentrației factorilor de creștere reprezintă markeri care reflectă obiectiv gradul de alterare ale membranelor celulare, intensitatea procesului inflamator, cât și gradul de progresare al glomerulosclerozei, fibrozei renale și tubulointerstițiale.

7. Metodologia și dinamismul cercetării axat pe un complex de metode contemporane ne-a permis determinarea rolului fiziopatologic al markerilor stresului oxidativ (AGE, PPOA, isoprostanului-8, metabolii NO, S-nitrosothiolilor, G-6-PDH) în ser și în urină. Studiul markerilor sistemului antioxidant a evidențiat reducerea GPO, G-S-T și creșterea GR, la copiii cu glomerulonefrită în funcție de gradul de activitate, varianta clinică și reprezintă biomarkeri noninvazivi pentru evaluarea gradului de stres oxidativ, prognozarea complicațiilor la distanță și monitorizarea eficienței strategiilor terapeutice menite să reducă intensitatea stresului oxidativ celular și să contribuie la prevenirea leziunii renale asociate.

8. La copiii cu glomerulonefrită are loc creșterea activității tuturor enzimelor lizozomale (arilsulfataza A și B, C, β -galactozidaza, β -glucozidaza, β -glucuronidaza, NAG- β , fosfataza acidă, lizozima), alfa-glucozidaza neutră, enzimelor plasmatice, proteolitice (chimotripsinei, LAP), β_2 -microglobulinei, oligoelementelor în ser și urină în perioada acutizării și reducerea în perioada de remisiune, fapt ce permite utilizarea lor în calitate de markeri neinvazivi de apreciere a gradului lezării elementelor structurale funcționale ale nefronului, concretizarea localizării procesului patologic cât și aprecierea prognosticului maladiei.

9. Studiul activității AMP-azei și ADA-zei în serul sangvin a relevat creșterea enzimelor date în funcție de varianta clinică, activitatea procesului renal, fapt, cea ce confirmă rolul enzimelor metabolismului nucleotidelor adenilice în mecanismele patogene ale glomerulonefritei la copii.

10. Rezultatele studiului histopatologic ne-au permis să constatăm că în 50,0% cazuri erau prezente modificări cu „leziuni minime”, în 41,7 % cazuri – glomerulopatii proliferative capilare și mezangial proliferative având aspecte difuze și focal-segmentare cu tendință spre cronicizare. Cu o frecvență nesemnificativă de 8,3% s-a atestat glomerulopatia proliferativă. Analiza corelațională a gradului de dependență între nivelul IL-6 în urină și numărul de glomeruli afectați (NGA) a relevat corelații foarte puternice între IL-6 și NGA ($r=0,85$) în nefropatia glomerulară cu leziuni

minime. În glomeruloscleroza focal segmentară analiza corelațională a gradului de dependență între nivelul *NAG-β*, *MCP-1*, *IL-6* în urină și *NGA* a stabilit corelații medii între nivelul *NAG-β* în urină și *NGA* ($r=0,47$), corelații puternice între nivelul *MCP-1* în urină și *NGA* ($r=0,61$) și între *IL-6* în urină și *NGA* ($r=0,60$).

11. Prin utilizarea de tehnici paraclinice de mare suptilitate, de comun cu manifestările clinice, am obiectivat unele particularități a evoluției glomerulonefritei și în baza lor am elaborat un algoritm de diagnostic și tratament, cât și o schemă patogenică de lucru în scopul restabilirii funcției și structurilor renale.

12. Problemele aplicative soluționate în cadrul studiului prezent constă în elaborarea unei metodologii de format propriu pentru aprecierea variantelor clinice ale glomerulonefritei, a modificărilor homeostaziei pentru care au fost definite abordări optime de diagnostic, diagnostic diferențial, de corecție medicală diferențiată, direcționate spre reducerea complicațiilor, recidivelor, restabilirea maximală a funcției renale și calității vieții viitorului adult.

RECOMANDĂRI PRACTICE:

I. La nivel național:

1. Elaborarea Registrului Național de Stat în glomerulonefrita primară la copii.
2. Susținerea proiectelor științifice în domeniul problemelor renale ale copilului, legate de glomerulonefrită, sindromul nefrotic, injuria cronică renală.

II. Pentru asistența medicală primară (medici de familie, pediatri în medicina primară):

1. La nivelul medicinei primare, utilizarea algoritmilor de evaluare a copiilor cu glomerulonefrită prin monitorizarea markerilor clinici (tensiunii arteriale, sumarul urinei), utilizarea markerilor funcționali (ureea, creatinina serică, clearance-ul creatininei endogene, albuminuria, proteinuria), pentru stabilirea diagnosticului de glomerulonefrită.

2. Pentru obiectivizarea diagnosticului și argumentarea eficacității tratamentului medical la diferite etape clinico-evolutive ale glomerulonefritei este necesară evaluarea în dinamică a markerilor biochimici în ser și urină (*NAG-β*, *GTP-γ*, *PCE*) în coroborare cu examinările paraclinice.

III. Pentru nefrologi -pediatri:

1. Pentru stabilirea diagnosticului histomorfologic și elaborarea tacticii de tratament pacienții cu sindrom nefrotic steroid rezistent, steroid dependent, frecvent recidivant necesită efectuarea biopsiei renale.

2. Copiii care au suportat glomerulonefrită trebuie să fie evaluați în cadrul unui program follow-up prin utilizarea markerilor clinici, funcționali renali în vederea determinării periodice a injuriei renale.

3. În cazul unor modificări anormale, copiii sunt incluși în grupuri pentru supraveghere pe termen lung, pentru evaluarea diagnosticului, evoluției (monitorizare clinică, paraclinică) (Algoritm de diagnostic al copiilor cu glomerulonefrită).

4. Pentru evaluarea injuriei renale se recomandă determinarea markerilor în ser și în urină:

- *Biomarkeri ai răspunsului imun:* (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α);
- *Biomarkeri în diagnosticul și progresia GN la copii: inflamație și fibroză-* VEGF, FGF- β , CTGF, PDGF-BB;
- *Biomarkeri ai fibrozei tubulointerstițiale precoce* – (GST);
- *Biomarkeri în diagnosticul și progresia GN precum și ai injuriei celulare:* RFG, proteinuria, NAG- β ;
- *Biomarkeri ai disfuncției endoteliale* – endotelina-1;
- *Biomarkeri ai stresului oxidativ* – PPOA, AGE, isoprostan-8;
- *Biomarkeri de diferențiere diagnostică* a SNSS și SNSR – NAG- β , γ -GTP;
- *Biomarkeri de prognostic* – MCP-1, PPOA, isoprostan-8, AGE;
- *Markeri histologici* ai SNSM, GSFS, GNMzP.

5. Copiii care au suportat un episod de glomerulonefrită primară necesită supraveghere pe un termen îndelungat, iar tratamentul de reabilitare pentru corecția modificărilor metabolice va dura un interval de timp considerabil.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O., ș.a. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică. Chișinău: Tipografia „Tehnica-Info”, 2012. 162 p.
2. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., ș. a. Investigații biochimice: Elaborare metodică. vol. II. Micrometode. Chișinău: Tipografia „Elena V. I.”, 2010. 97 p.
3. ACHI. Clasificarea statistică a bolilor și a problemelor de sănătate înrudite, revizia a zecea, modificările australiene (ICD-10-AM). In: Clasificarea Australiană a Intervențiilor de Sănătate (ACHI), 1 iulie 2010.
4. Afroz S., MA., Khan Hossain., Roy K.D., et al. Urinary Tract Infection (UTI) is associated with higher rate of relapse in children with nephrotic syndrome. In: DS (Child) H J., 2010, vol. 26, p. 82-86.
5. Ali el-T.M., Abdelraheem M.B., Mohamed R.M., et al. Chronic renal failure in Sudanese children: aetiology and outcomes. In: *Pediatr Nephrol.*, 2009, vol. 24, p. 349-353.
6. Ardissino G., Dacc V., Testa S., et al. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the ItalKid project. In: *ItalKid Project Pediatrics.*, 2003, vol.111, p. 382-387.
7. Arthur C. K., Chung Lui Y. Lan. Hemokines in Renal Injury. In: *JASN*, 2011, vol. 22, p. 5802-5809.
8. Camphanholle G., Ligresti G., Gharib S.A., Duffield J.S. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. Novel mechanisms of kidney fibrosis. In: *Am J Physiol Cell Physiol.*, 2013, vol. 304, nr. 7, p. 591-603.
9. Ciuntu A. Advanced oxidation protein products (AOPPs) in the development of glomerulonephritis in children. In: *International Research Journal.*, 2017, vol. 55, nr. 1, p. 178 -181.
10. Ciuntu A. Role of metabolites of nitric oxide and arginase in the pathogenesis of glomerulonephritis. In: *Current Health Sciences Journal (CHSJ).*, 2016, vol. 42, nr.3, p. 221-225.
11. Ciuntu A. Role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of nephrotic syndrome in children. In: *International Research Journal.*, 2016, vol. 10 nr. 52, p.110-112.

12. Ciuntu A. Urinary endothelin in children with glomerulonephritis: prospective, descriptive study. In: *Moldovan Journal of Health Sciences.*, 2016, vol. 9, p. 49 -55.
13. Eddy A.A. Overview of the cellular and molecular basis of kidney fibrosis. In: *Kidney Int Suppl.*, 2014, vol. 4, issue 1, 5, p. 28.
14. Edelstein C. L. În: *Biomarkers of Kidney Disease*, Chapter 10 – Biomarkers in Glomerular Disease, 2011, p. 367-383.
15. ESPN/ERA-EDTA registry annual report 2010. http://www.espn-reg.org/ESPN/ERA-EDTA_registry. European registry for children on renal replacement therapy. www.espn-reg.org/index.jsp
16. Hattori S., Yosioka K., Honda M., Ito H. Japanese Society for Pediatric Nephrology. The 1998 report of the Japanese National Registry data on pediatric end-stage renal disease patients. In: *Pediatr Nephrol.*, 2002, vol. 17, p. 456-461.
17. Inaba A., Hamasaki Y., Ishikura K., et al. Long-term outcome of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome in children. In: *Pediatr Nephrol.*, 2016, vol. 31, nr. 3, p. 425 -434.
18. International Study of Kidney Disease in Children Nephrotic syndrome in children: prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. In: *Kidney Int.*, 1978, vol.13, p.159-165.
19. Kidney Disease: Glomerulonephritis Work Group. Improving Global Outcomes (KDIGO). KDIGO clinical practice guideline for Glomerulonephritis. In: *Kidney Int Suppl.*, 2012, vol. 2, p. 139-274.
20. Lewis M.A., Shaw J., Sinha M.D., et al. UK Renal Registry 12th Annual Report (December 2009): chapter 14: demography of the UK paediatric renal replacement therapy population in 2008. In: *Nephron Clin Pract.*, 2010, vol. 115(S1), p. 279-288.
21. Marinaki S., Skalioti C., Siasos G., et al. The Importance of Novel Inflammatory Biomarkers in Renal Disease. In: *Curr Med Chem.*, 2015, vol. 22, nr. 23, p. 2786-2800.
22. McTaggart S., McDonald S., Henning P., Dent H. ANZDATA Registry report 2013, Paediatric report. South Australia: Adelaide, 2013.
23. Mong Hiep T.T., Ismaili K., Collart F., et al. Clinical characteristics and outcomes of children with stage 3–5 chronic kidney disease. In: *Pediatr Nephrol.*, 2010, vol. 25, p. 935-940.
24. Moorani K.N. Infections are common a cause of relapse in children with Nephrotic syndrome. In: *Pak Paed J.*, 2011, vol. 35, p. 213-219.
25. Nickavar A., Rahbar M. A. Clinicopathologic Study of Children with Idiopathic Focal Segmental Glomerulosclerosis. In: *Fetal Pediatr Pathol.*, 2016, vol. 35, nr. 3, p. 159 -166.
26. North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies (NAPRTCS). NAPRTCS Annual Reports. <https://web.emmes.com/study/ped/annlrept/ annlrept.html>, 2015.
27. Özlü S.G., Demircin G., Tökmeci N., et al. Long-term prognosis of idiopathic nephrotic syndrome in children. In: *Ren Fail.*, 2015, vol. 37, nr. 4, p. 672- 677.
28. Straatmann C., Ayoob R., Gbadegesin R., et al. Treatment outcome of late steroid-resistant nephrotic syndrome: a study by the Midwest Pediatric Nephrology Consortium. In: *Pediatr Nephrol.* 2013, vol. 28, nr. 8, p. 1235-1241.
29. Teeninga N., Kist-van Holthe J.E., van Rijswijk N., et al. Extending prednisolone treatment does not reduce relapses in childhood nephrotic syndrome. In: *J Am Soc Nephrol.*, 2013, vol. 24, nr.1, p. 149-159.
30. Trautmann A., Bodria M., Ozaltin F., et al. Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome in children: the PodoNet registry cohort. In: *Clin J Am Soc Nephrol.*, 2015, vol. 10, nr. 4, p. 592-600.
31. Uwaezuoke S. N. Steroid-sensitive nephrotic syndrome in children: triggers of relapse and

evolving hypotheses on pathogenesis. In: Ital J Pediatr., 2015, vol. 41, p.19.

32. Vachvanichsanong P., Dissaneewate P., McNeil E. Childhood chronic kidney disease in a developing country. In: Pediatr Nephrol., 2008, vol. 23, p. 1143-1147.

33. Vivarelli M., Massella L., Ruggiero B., Emma F. Minimal Change Disease. In: Clin J Am Soc Nephrol., 2017, vol. 12, nr. 2, p. 332-345.

34. Wu Y, Su T, Yang L, et al. Correlation between urinary biomarkers and pathological lesions in drug-induced tubulointerstitial nephritis. In: Zhonghua Nei Ke Za Zhi., 2010, vol. 49, nr.7, p. 568-571.

35. Yanhong Li., Jian Wang., Xueming Zhu., et al. Urinary protein markers predict the severity of renal histological lesions in children with mesangial proliferative glomerulonephritis. In: Nephrol., 2012, vol. 13, p. 29.

36. Zagury A., Oliveira AL., Montalvao JA., et al. Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome in children: long-term follow-up and risk factors for end-stage renal disease. In: J Bras Nefrol., 2013, vol. 35, nr. 3, p. 191-199.

37. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. В: Практическая медицина, Москва, 2011, с. 477.

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE LA TEMA TEZEI

• Monografie monoautor:

1. **Ciuntu A.** Sindromul nefrotic la copii. Aspecte clinico-paraclinice și tratament. Chișinău: Tipografia „Paradis Media”, 2016. 165 p., ISBN 978-9975-3096-0-8.

• Articole în reviste științifice din străinătate recunoscute:

2. **Ciuntu A.** Role of metabolites of nitric oxide and arginase in the pathogenesis of glomerulonephritis. În: Current Health Sciences Journal (CHSJ). Craiova, 2016, v. 42, nr. 3, p. 221-225. ISSN 2069-4032 online.

3. **Чунту А.** Фактор роста фибробластов-2 в моче у детей с гломерулонефритом. В: International Research Journal. Ecaterinburg, 2016, no. 8 (50), p. 143-146. ISSN 2303-9868 print, ISSN 2227-6017 online.

4. **Ciuntu A.** Role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of nephrotic syndrome in children. In: International Research Journal. Ecaterinburg, 2016, no.10 (52), p. 110-112. ISSN 2303-9868 print, ISSN 2227-6017 online.

5. **Ciuntu A.** Concentration of isoprostane-8 in the urine of children with glomerulonephritis. В: XX Международная научная конференция «Актуальные научные исследования в современном мире». Сборник научных трудов. Переяслав-Хмельницкий, 2016, №.12(20), с.105-109. ISSN 2524-0986.

6. **Ciuntu A.** Advanced oxidation protein products (AOPPs) in the development of glomerulonephritis in children. In: International Research Journal. Ecaterinburg, 2017, no.1(55), p. 178-181. ISSN 2303-9868 print, ISSN 2227-6017 online.

7. **Ciuntu A.** Modificările clinice și histologice la copii cu glomerulonefrită. В: XXIII Международная научная конференция «Актуальные научные исследования в современном мире». Сборник научных трудов. Переяслав-Хмельницкий, 2017, №3(23), с.19-23. ISSN 2524-0986.

• **Articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil:**

Categoria B:

8. **Ciuntu A.** Rolul enzimelor plasmatice în urină la copii cu glomerulonefrită primară. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2009, nr.1 (20), p. 178-184. ISSN 1857-0011.
9. **Ciuntu A.** Rolul enzimelor plasmatice în urină în fiziopatogenia glomerulonefritei acute și cronice la copil. Materialele Congresului III al Medicilor de Familie din Republica Moldova cu participare internațională 17-18.05.2012. În: Curierul medical. Chișinău, 2012, nr. 3(327), p. 125-128. ISSN 0130-1535.
10. **Ciuntu A.** Activitatea enzimelor proteolitice în urină la copiii cu glomerulonefrită. Al VI-lea Congres de Urologie, Dializă și Transplant Renal din Republica Moldova cu participare internațională. În: Arta Medica. Volum de rezumate. Chișinău, 2015, nr. 4 (57), p. 112-114. ISSN 1810-1852.
11. **Ciuntu A.** Proteina monocitară inflamatorie 1α în glomerulonefrită la copii. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2016, nr.1 (69), p. 99-102. ISSN 1810-1852.
12. **Ciuntu A.** Proteina-1 chemoattractantă monocitară -1 la copiii cu glomerulonefrită. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2016, nr.1 (69), p. 93-96. ISSN 1810-1852.
13. **Ciuntu A.** Producții finali de glicare avansată în evoluția clinică a glomerulonefritei la copii. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2016, nr.4 (72), p. 49-52. ISSN 1810-1852.
14. **Ciuntu A.** Importanța diagnostică a determinării nivelului zincului și cuprului seric la copii cu glomerulonefrită. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2016, nr.4 (72), p. 45-48. ISSN 1810-1852.

Categoria C:

15. **Ciuntu A.** Estimarea γ -glutamyltranspeptidazei în serul sanguin la copii cu glomerulonefrită. În: Anale științifice ale USMF "Nicolae Testemițanu". Chișinău, 2002, v. 3, p. 544-546.
16. Vasilos L., **Ciuntu A.** Importanța factorilor rezistenței nespecifice în patogenia glomerulonefritei la copil. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu.” Zilele Universității consacrate jubileului de 60 ani ai învățământului medical superior al Republicii Moldova. Chișinău, 2005, v.5, p. 370-372.
17. **Ciuntu A.** Variația clinico-evolutivă a enzimuriei în glomerulonefrita primară la copil. În: Analele științifice. Asociația Chirurgicalor Pediatri Universitari din Republica Moldova. Chișinău, 2005, p. 132-134. ISSN 1857-0631.
18. **Ciuntu A.** Hidrolazele lizozomice în fiziopatologia glomerulonefritei primare la copil. În: Analele științifice. Asociația Chirurgicalor Pediatri Universitari din Republica Moldova. Chișinău, 2007, v. VIII, p. 89 -92. ISSN 1857-0631.
19. **Ciuntu A.** Activitatea enzimelor proteolitice în sindromul nefrotic primar la copil. În: Analele Științifice. Asociația Chirurgicalor Pediatri Universitari din Republica Moldova. Chișinău, 2009, v. X, p. 83-86. ISSN 1857-0631.
20. **Ciuntu A.** Tratatamentul glomerulonefritei primare la copil. În: Analele științifice. Asociația Chirurgicalor Pediatri Universitari din Republica Moldova. Chișinău, 2010, v. XII, p. 59-61. ISSN 1857-0631.
21. **Ciuntu A.** Rolul pseudocolinesterazei în evoluția clinică a glomerulonefritei primare la copii. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu.” Zilele Universității consacrate celor 65 de ani ai învățământului medical superior din Republica Moldova. Probleme actuale ale sănătății mamei și copilului. Chișinău, 2010, v. 5, p. 305-309.

22. **Ciuntu A.** Rolul proteazelor eritrocitare în evoluția clinică și diagnosticul glomerulonefritei primare la copil. În: *Analele Științifice. Asociația Chirurșilor Pediatri Universitari din Republica Moldova*. Chișinău, 2011, v. XIV, p. 57-59. ISSN 1857-0631.

23. **Ciuntu A.** Rolul oxidului nitric în glomerulonefrită la copii. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu.” Probleme actuale ale sănătății mamei și copilului*. Chișinău, 2012, v. 5, p. 346-350.

24. Eremciuc R., **Ciuntu A.**, Macovei T. Implicațiile genetice în maladiile glomerulare la copii. În: *Anale Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu.” Probleme actuale ale sănătății mamei și copilului*. Chișinău, 2013, v. 5, p. 270-275.

25. **Ciuntu A.** Urinary endothelin in children with glomerulonephritis: prospective, descriptive study. În: *Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale sănătății din Moldova*. Chișinău, 2016, v. 9, p. 49-55. ISSN 2345-1467.

• **Materiale la forumurile științifice internaționale în republică:**

26. Mogoreanu P., **Ciuntu A.** Rolul modificărilor pseudocolinesterazei și carboxilesterazei în evoluția clinică a glomerulonefritei la copil. În: *Bioetica, filosofia, economia și medicina în strategia de asigurare a securității umane. Materialele Conferinței a XI-a științifice Internaționale*. Chișinău, 2006, p. 309-312.

27. **Ciuntu A.** Rolul sistemului tripsin-antitripsină în patogenia glomerulonefritei primare la copii. În: *Bioetica, filosofia, economia și medicina în strategia de asigurare a securității umane. Materialele Conferinței a XI-a științifice Internaționale*. Chișinău, 2006, p. 312-316.

• **Materiale la forumurile științifice naționale cu participare internațională:**

28. **Ciuntu A.**, Mogoreanu P. Enzimuria copilului sănătos și bolnav. În: *Materialele Conferinței Pediatriilor cu participare internațională consacrată jubileului de 40 ani de activitate a catedrei Pediatrie F.P.M. USMF „Nicolae Testemițanu.”* Chișinău, 2003, p. 92-97.

29. Василос Л., **Чунту А.** Энзимурия лейцинаминопептидазы в диагностике хронического пиелонефрита у детей. În: *Materialele Congresului VI al Fiziologilor din Republica Moldova cu participare internațională*. Chișinău, 2005, p. 121-122.

• **Teze la forumurile științifice internaționale (peste hotare):**

30. **Чунту А.** Состояние протеолитических ферментов у детей с первичным гломерулонефритом. В: IV Конгресс Педиатров Стран СНГ «Ребенок и общество: проблемы здоровья, развития и питания». Сборник тезисов. Львов, Украина, 2012, с. 371.

31. **Ciuntu A.**, Revenco N., Benesh S. Proteolytic enzymes in glomerulonephritis. In: *Archives of disease in childhood. Abstracts. The 4-th Congress of the European Academy of Paediatric Societies*. Istanbul, Turcia, 2012, A 344.

32. **Ciuntu A.**, Revenco N., Bernic J. Activity of chemotrypsin and leucinaminopeptidase in urine of the patients with glomerulonephritis. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. Chisinau, 2013, v. 48, no. 3, p. 84-85.

33. **Чунту А.**, Ревенко Н., Берник Ж. Альфа-нейтральная гликозидаза в моче у детей с гломерулонефритом. XII Российский Конгресс «Иновационные технологии в педиатрии и детской хирургии». В: *Сборник тезисов*. Москва, Россия, 2013, с. 142.

34. **Ciuntu A.**, Bernic J., Gavriluță V. ș. a. Nivelul NAG-β în urină la copii cu glomerulonefrită acută. Conferința Națională de Pediatrie. Urgențe în Pediatrie. Boli cronice în Pediatrie. În: *Volum de prezentări, postere și rezumate*. București, România, 2014, p. 124-125.

35. Revenco N., **Ciuntu A.**, Bernic J. Advanced oxidation protein products in children with nephrotic syndrome. In: *The 5th Congress of the European Academy of Paediatric Societies. Abstracts*. Barcelona, Spain, 2014, A.0698.

36. **Чунгу А.**, Берник Ж. Моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 в моче у детей с гломерулонефритом. В: VI Конгресс Педиатров Стран СНГ «Ребенок и общество: проблемы здоровья, развития и питания». Сборник тезисов. Минск, Беларусь, 2014, с.164.
 37. Revenco N., **Ciuntu A.** Enzimele plasmatice în urină la copii cu glomerulonefrită acută sindrom nefrotic. Al XII-lea Congres Național de Pediatrie cu participare internațională. În: Revista Societății Române de Chirurgie Pediatrică. Jurnalul Pediatricului. Volum de rezumate. Timișoara, România, 2015, v. XVIII, suppl. 2, p. 111. ISSN 2360-4557.
 38. **Ciuntu A.** Rolul citokinelor în patogenia sindromului nefrotic primar la copii. Congresul Național de Nefrologie. În: Volum de rezumate. Iași, România, 2015, p. 11.
 39. **Ciuntu A.** Nivelul factorului de creștere al endoteliului vascular la copiii cu sindrom nefrotic. Conferința Națională de Pediatrie "Progrese în Pediatrie." În: Volumul conferințelor, comunicărilor orale și posterelor. București, România, 2016, p. 115.
 40. **Ciuntu A.** Importanța diagnostică a isoprostanului-8 în urină la copii cu glomerulonefrită. Conferința Națională Interdisciplinară cu Participare Internațională "Cum diagnosticăm și cum tratăm bolile renourinare la copil." În: Volum de rezumate. București, România, 2016, p. 85-86.
 41. **Ciuntu A.** Rolul endotelinei-1 în patogenia sindromului nefrotic la copii. Conferința Națională Interdisciplinară cu Participare Internațională "Cum diagnosticăm și cum tratăm bolile renourinare la copil." În: Volum de rezumate. București, România, 2016, p. 86-87.
- **Teze la forumurile științifice internaționale în republică:**
42. **Ciuntu A.**, Ceban L., Ursachi L. The activity of γ -glutamyltranspeptidase in children with primary glomerulonephritis. În: Archives of the Balcan Medical Union. Chișinău. 2002, v. 37, supp. 2, p. 91.
 43. Vasilos L., **Ciuntu A.** Rolul proteazelor eritrocitare în diagnosticul precoce, evoluția clinică, prognozarea complicațiilor în glomerulonefrita acută și cronică. Materialele Conferinței a III-a Internaționale de medicină perinatală. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2006, nr. 3, p. 222. ISSN 1810-5289. Categoria C.
 44. **Ciuntu A.** Activitatea enzimelor lizosomale în urină la copii cu glomerulonefrită primară. În: The Xth International Congress of Geneticists and Breeders. Chișinău, 2015, p. 39.
 45. **Ciuntu A.** Nivelul zincului și cuprului seric la copii cu sindrom nefrotic. Conferința Națională cu participare internațională „NETINCARE - standarde europene și bune practici în ocrotirea sănătății mamei și copilului.” În: Volum de abstracte. Chișinău, 2016, p. 56.
- **Teze la forumurile științifice naționale cu participare internațională:**
46. **Ciuntu A.** Enzimele proteolitice la copii cu glomerulonefrita primară. În: Materialele Congresului al IX-lea Național cu participare internațională al Geneticienilor și Amelioratorilor. Chișinău, 2010, p. 44.
 47. **Ciuntu A.**, Țurea V., Rotaru V. ș. a. Activitatea N-Acetil-B-D-Glucosaminidazei la copii cu glomerulonefrită primară. Al V-lea Congres de Urologie, Dializă și Transplant Renal din Republica Moldova cu participare internațională. În: Arta Medica. Volum de rezumate. Chișinău, 2011, nr. 2(45), p. 140. ISSN 1810-5289. Categoria C.
 48. **Ciuntu A.** Aspecte clinico-diagnostice în hematurie la copil. În: Conferința Națională cu participare Internațională „Actualități în Pediatrie” consacrată celei de-a 70-a aniversări a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” În: Volum de prezentări, postere și rezumate. Chișinău, 2015, p.14.
 49. **Ciuntu A.** Nivelul chemokinelor urinare la copii cu glomerulonefrită. Conferința Națională de Pediatrie cu participare internațională. „Probleme și căi de soluționare în asistența medicală copiilor.” În: Volum de prezentări, postere și rezumate. Chișinău, 2016, p. 13-15.

50. **Ciuntu A.** Importanța diagnostică a factorului stromal derivat -1alfa (SDF-1α) în urină la copii cu glomerulonefrită. Conferința Națională de Pediatrie cu participare internațională. „Probleme și căi de soluționare în asistența medicală copiilor.” În: Volum de prezentări, postere și rezumate. Chișinău, 2016, p. 12-13.

51. **Ciuntu A.** Semnificația clinică a factorului conjunctiv tisular de creștere (CTGF) la copii cu glomerulonefrită. Conferința Națională de Pediatrie cu participare internațională „Probleme și căi de soluționare în asistența medicală copiilor.” În: Volum de prezentări, postere și rezumate. Chișinău, 2016, p. 16-18.

52. **Ciuntu A.** Rolul factorului de creștere derivat plachetar-B (PDGF-B) în patogenia glomerulonefritei la copii. Conferința Națională de Pediatrie cu participare internațională „Probleme și căi de soluționare în asistența medicală copiilor.” În: Volum de prezentări, postere și rezumate. Chișinău, 2016, p. 15-16.

- **Teze la forumurile științifice naționale:**

53. **Ciuntu A.**, Revenco N., Bernic J. Estimarea N-acetil-B-glucosaminidazei în urină la copii cu glomerulonefrită acută. Congresul VI al Pediatriilor și Neonatologilor din Republica Moldova. În: Buletin de Perinatologie. Volum de rezumate, Chișinău, 2013, nr. 2(58)-3(59), p. 214. ISSN 1810-5289.

54. Марталог П., Ротару В., Дорош Т., Балануца М., **Чунту А.**, Ченуша Ф. Некоторые аспекты течения гломерулонефрита у детей. Congresul VI al Pediatriilor și Neonatologilor din Republica Moldova. În: Buletin de Perinatologie. Volum de rezumate. Chișinău, 2013, nr.2(58)-3(59), c. 273. ISSN 1810-5289.

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICO-METODICE ȘI DIDACTICE

- **Manuale pentru învățământul universitar**

55. Rusnac T., **Ciuntu A.** Glomerulonefrita la copii. În: Maladiile nefro-urinare la copil sub red. prof. univ. Rusnac T. Chișinău, 2001, cap.VIII, p.126-144. ISBN 9975-78-110-1.

56. Beniș S., **Ciuntu A.** Nefrologie. În: Pediatrie, sub red. prof. univ. Revenco N. Chișinău: Tipografia ”Nova-Imprim”, 2014, cap. IX, p. 463-536. ISBN 978-9975-4224-5-1.

- **Îndrumări metodice**

57. Gudumac V., Niguleanu V., Bernic J., Rotaru L., Sali V., **Ciuntu A.** Explorarea urinei în laboratorul clinic. Chișinău, 2008. 74 p.

58. **Ciuntu A.**, Țurea V., Eșanu G. ș. a. În: Evaluarea paraclinică în pediatrie. Nefrologia. Îndrumar practic. Chișinău, 2009, p. 63-80.

59. **Ciuntu A.**, Revenco N., Bernic J. ș.a. Hematuria la copil. Chișinău, 2014. 33 p.

- **Protocoloale clinice:**

60. **Ciuntu A.**, Țurea V., Rotaru V. ș. a. Glomerulonefrita acută la copil. Protocol clinic național. Chișinău, 2010. 45 p.

61. **Ciuntu A.**, Țurea V., Beniș-Dumitraș S. ș. a. Glomerulonefrita cronică la copil. Protocol clinic național. Chișinău, 2014. 43 p.

62. Revenco N., Beniș-Dumitraș S., **Ciuntu A.** ș. a. Leziunea renală acută la copil. Protocol clinic național. Chișinău, 2014. 32 p.

63. Revenco N., Țurea V., Beniș S., **Ciuntu A.** ș. a. Boala cronică renală la copil. Protocol clinic național. Chișinău, 2015. 57 p.

64. **Ciuntu A.**, Țurea V., Bernic J. ș. a. Hematuria la copil. Protocol clinic național. Chișinău, 2017. 27 p.

ADNOTARE

Ciuntu Angela „**Glomerulonefrita primară la copii: mecanisme etiopatogenice, clinica, prognostic**”. Teză pentru obținerea gradului științific de doctor habilitat în științe medicale, Chișinău, 2017. Teza este expusă pe 275 pagini și constă din introducere, 6 capitole, concluzii generale și recomandări practice, 93 tabele, 43 figuri, anexe. Bibliografia include 394 surse. La tema tezei au fost publicate 64 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: glomerulonefrită, citokine, factori de creștere, enzime proteolitice, plasmatiche, lizosomale.

Domeniul de studiu: pediatrie.

Scopul studiului: Elucidarea mecanismelor etiopatogenice prin estimarea particularităților fiziopatologice, clinico-evolutive, de progresare a diferitor variante ale glomerulonefritei (GN) pentru optimizarea diagnosticului clinic, prognosticului și elaborarea algoritmilor diferențiate de diagnostic, tratament, profilaxie, pentru reducerea recidivelor și riscului dezvoltării bolii renale cronice (BRC).

Obiectivele studiului: Studiarea particularităților clinico-evolutive, factorilor de risc ai diferitor variante ale GN primare la copii; estimarea nivelului moleculelor de semnalizare celulară și aprecierea rolului lor; stabilirea markerilor biochimici de progresare a nefrosclerozei; indentificarea rolului stresului oxidativ și al sistemului antioxidant; evaluarea informativității diagnostice ale sistemelor enzimactice în sânge și urină; studiul modificărilor histopatologice și corelarea lor cu modificările clinico-paraclinice, biochimice și determinarea variabilelor de prognostic nefavorabil precoce și a riscului dezvoltării BRC; elaborarea schemei patogenice a GN; elaborarea algoritmului de diagnostic, tratament diferențiat în aprecierea evoluției, variabilelor de risc ale injuriei cronice renale în GN la copii.

Metodologia cercetării științifice: Studiul a fost realizat pe un lot de 289 copii cu GN primară. Au fost utilizate: metode clinice, paraclinice, metode special selectate (molecule de semnalizare celulară – citokine, chemokine, factori de creștere, de apreciere a sistemului pro-antioxidant, sistemelor enzimactice în sânge și urină ș. a.) și metode morfologice. Rezultatele obținute au fost supuse analizei statistice computerizate și prezentate prin procedee tabulare și grafice.

Noutatea și originalitatea științifică: A fost realizat un studiu complex clinico-paraclinic, histologic prospectiv cu estimări biochimice la copii cu diferite variante ale GN în dinamica maladiei. A fost studiat rolul moleculelor de semnalizare celulară, factorilor de creștere, sistemului pro-antioxidant, oligoelementelor, sistemelor enzimactice în sânge și urină la diferite etape clinico-evolutive ale GN la copii.

Problema științifică aplicativă de importanță majoră soluționată constă în elaborarea unei metodologii de format propriu pentru aprecierea variantelor clinice ale GN, unei scheme patogenice de lucru pentru care au fost definite abordări optime de diagnostic, diagnostic diferențial, de corecție medicală individualizată direcționate spre restabilirea maximală a funcției renale și calității vieții viitorului adult.

Semnificația teoretică: în premieră a fost apreciat rolul markerilor biochimici în ser și urină asupra mecanismelor patogenice ale GN, diagnosticului evolutiv și prognosticului bolii.

Valoarea aplicativă a lucrării: a fost structurată sindromologia și evoluția GN prin investigații biochimice în sânge și urină ce ar permite de a stabili factorii predictivi în progresarea GN, dar și ai prognosticului acesteia.

Implementarea rezultatelor științifice: În baza studiului prezent au fost implementate noi metode de diagnostic al pacienților cu GN primară în secția nefrologie a IMSP IM și C, IMSP SCM nr.1 "V.Ignatenco" și în procesul didactic al Departamentului Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu”, cu scop de ameliorare a asistenței medicale acordată copiilor cu glomerulonefrită.

РЕЗЮМЕ

Чунту Анжела. Первичный гломерулонефрит у детей: патогенетические механизмы, клиника, прогноз. Диссертация доктора хабилитат медицинских наук. Кишинев, 2017. Структура диссертации: введение, 6 глав, общие выводы и рекомендации, библиография включает 394 источников, 275 страниц основного текста, 93 таблиц, 43 рисунков, приложения. Результаты исследования опубликованы в 64 научных работах.

Ключевые слова: гломерулонефрит, дети, цитокины, факторы роста, протеолитические, плазматические, лизосомальные ферменты.

Область исследования: педиатрия. **Цель исследования:** выяснение этио-патогенетических механизмов путем оценки патофизиологических, клинико-эволютивных особенностей течения и прогрессирования различных вариантов гломерулонефрита (ГН) для оптимизации клинической диагностики, прогноза и разработки дифференцированных алгоритмов диагностики, лечения, профилактики и снижения рецидивов и осложнений (ХПН).

Задачи исследования: Изучить клинико-эволютивные особенности, факторы риска различных вариантов первичного ГН у детей; оценить уровень клеточных сигнальных молекул и их роль в патогенезе ГН у детей; определить биохимические маркеры прогрессирования нефросклероза при ГН; выяснить роль окислительного стресса и антиоксидантной системы; оценить диагностическую информативность ферментных систем крови и мочи; исследовать морфологические изменения и их корреляция с клинико-параклиническими, биохимическими изменениями и выявить показатели неблагоприятного прогноза и риска раннего развития ХПН; разработка патогенетической схемы развития ГН у детей; разработка алгоритма диагностики, дифференцированного лечения и оценки течения, показателей риска хронического поражения почек при ГН у детей.

Методология исследования: Исследование проводилось на 289 детей с первичным ГН. Были использованы: клинические и лабораторные методы, в том числе определение клеточных сигнальных молекул - цитокинов, хемокинов, факторов роста, оценка про-и антиоксидантной системы, исследование ферментов в крови и моче и морфологические методы. Полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу с использованием компьютерных программ.

Научная новизна и оригинальность: Было проведено комплексное клинико-параклиническое, гистологическое, биохимическое исследование у детей с различными вариантами ГН в динамике для последующей оценки этио-патогенетических аспектов болезни и улучшения ее лечения. Были изучены роль сигнальных молекул, факторов роста, про- и антиоксидантной системы, ферментных систем крови и мочи на различных этапах развития ГН у детей.

Решенная научная проблема: разработка методологии собственного формата для оценки клинических вариантов ГН для которых были определены оптимальные подходы для дифференциальной диагностики и индивидуализированной медикаментозной коррекции, направленные на максимальное восстановление функции почек и качества жизни пациента.

Теоретическая значимость: впервые была оценена роль биохимических маркеров крови и мочи в патогенетических механизмах развития ГН, а также для диагностики и прогнозирования эволюции заболевания.

Практическая значимость: Была структурирована синдромология и эволюция ГН посредством биохимических исследований в крови и моче, что позволило определить прогностические факторы прогрессирования и течения ГН.

Внедрение результатов: были внедрены в клиническую практику Центра Охраны Матери и Ребенка, нефрологическое отделение муниципальной клинической детской больницы им. В.Игнатенко, а также в учебном процессе Государственного Медицинского и Фармацевтического Университета им. Николае Тестемицану.

SUMMARY

Ciuntu Angela. Primary glomerulonephritis in children: pathogenic mechanism, clinics, prognosis, Ph.D. thesis in medicine. Chisinau, 2017. The book contains 275 pages of main text, it is divided into: introduction, 6 chapters, conclusions and recommendations, bibliography composed of 394 titles, 93 tables, 43 figures, and appendices. The results are published in 64 scientific papers.

Keywords: glomerulonephritis, cytokines, growth factors, proteolytic, plasmatic and lysosomal enzymes.

Purpose of the study: To elucidate the etiopathogenetic mechanisms by estimating the pathophysiological and clinical peculiarities of the progression of various forms of glomerulonephritis (GN). All these are aimed to optimize the clinical diagnosis, prognosis, and developing of differential diagnostic algorithms, treatment, prophylaxis to reduce recurrence and exacerbations (CKD).

Study objectives: to study the clinical-evolutionary peculiarities, the risk factors of various variants of primary GN in children; to estimate the level of cell signaling molecules and assessing their role; to establish the biochemical markers of progression of nephrosclerosis; to identify the role of oxidative stress and antioxidant system; to assess the diagnostic informativeness of enzyme systems in the blood and urine; to study the histopathological changes and their correlation with clinical and biochemical changes and to determinate the early unfavorable prognostic variables and the risk of CKD development; to elaborate the pathogenic scheme of GN; to elaborate the diagnostic algorithm, differential treatment in the assessment of the evolution, risk variables of chronic kidney injury in GN in children.

Methodology of scientific research: The study was conducted on 289 children with primary GN. Clinical, paraclinical and specially selected methods (cell signaling molecules - cytokines, chemokines, growth factors, pro-antioxidant system, enzymatic systems in the blood and urine, etc.) and morphological methods have been used. The obtained results were subjected to the statistical analysis and presented by tabular and graphical procedures.

Scientific novelty and originality: The work comes along with a range of complex clinical and laboratory studies, histology prospective study with biochemical estimation in different forms of GN in children. The role of cellular signaling molecules, growth factors, pro-antioxidant system, oligoelements, enzymatic systems in the blood and urine at different clinical and evolutionary stages of GN in children was established.

Scientific issue treated in this thesis is to develop a methodology for proper assessing of different clinical forms of glomerulonephritis. Here are emphasized optimal approaches of differential diagnosis and individualized medical correction, aimed to restore maximal renal function and quality of life of future adult.

Theoretical significance: For the first is appreciated the action of biochemical markers in serum and urine on pathogenetic mechanisms of GN, diagnosis and prognosis of disease evolution.

Practical significance: This research structures the syndromology and evolution of GN through biochemical investigations in serum and urine that would allow determining predictive factors in the progression of GN, along with its prognosis.

Implementation of results was achieved due to clinical activity of IM and C, Municipal clinical pediatric hospital "V.Ignatenco" and didactic activity of State Medical and Pharmaceutical University "Nicolae Testemitanu" of Republic of Moldova, with the aim of improving the healthcare of children with glomerulonephritis.

LISTA ABREVIERILOR

ADA-aza – adenozindezaminaza
AGE – produşii finali de glicare avansată
AMP-aza – adenzinmonofosfat-dezaminaza
AUC – Area Under Curve
BRC – boală renală cronică
CDF-1 – Factorul stromal derivat -1
CTGF – factorul de creştere a ţesutului conjunctiv
ET-1 – endotelina - 1
FGF- β – factorul de creştere fibroblastic-beta
G-6-PDH– glucoza-6-fosfat dehidrogenaza
GN – glomerulonefrită
GNA – glomerulonefrită acută
GNC – glomerulonefrită cronică
GNM – glomerulonefrita membranoasă
GNMP – glomerulonefrită membrano-proliferativă
GNMzP – glomerulonefrită mezangial proliferativă
GR – glutatation reductaza
GSFS – glomeruloscleroză focal-segmentară
GST – glutatiuon-S-transferaza
HTA – hipertensiune arterială
IL-1 β – interleukina 1 β
IL-6 – interleukina-6
IL-8 – interleukina-8
ITU – infecţia tractului urinar
LAP – leucinaminopeptidaza
MCP-1 – proteina chemoatractantă monocitară
MIP-1 α – proteina monocitară inflamatorie 1 α
NAG- β – N-acetyl- β -glucozaminidaza
NGA – numărul glomerulelor afectaţi
NGLM – nefropatie glomerulară „cu leziuni minime”
NGMzP – nefropatie glomerulară mezangio-proliferativă
NGSFS – nefropatie glomerulară cu scleroză focală şi segmentară
NO – oxid de azot
PCE – pseudocolinesteraza
PDGF-B – factorul de creştere derivat plachetar
PPOA – produşii proteici de oxidare avansată
RFG – rata filtraţiei glomerulare
SN – sindrom nefrotic
SNSD – sindrom nefrotic steroid-dependent
SNSM – sindrom nefrotic cu schimbări minimale
SNSR – sindrom nefrotic steroid-rezistent
SNSS – sindrom nefrotic steroid-sensibil
SO – stres oxidativ
SRO – specii reactive de oxigen
TNF- α – factorul necrozei tumorale α
VEGF – factorul de creştere vascular endotelial

CIUNTU ANGELA

**GLOMERULONEFRITA PRIMARĂ LA COPII:
MECANISME ETIOPATOGENICE, CLINICA, PROGNOSTIC**

322.01– PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

Autoreferatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

Aprobat spre tipar: 08.08.2017

Hîrtie offset. Tipar offset

Coli de tipar.:3,1

Formatul hîrtiei 60x84 1/16

Tiraj 100 ex.

Comanda nr.17/2496

Casa editorial-Poligrafică “Bons Offices”, mun. Chișinău, str. Feredeului 4/6