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

Cu titlu de manuscris
C.Z.U.: 616.28-008.1-07-085.2(043.2)

PARII Sergiu

EFICIENTIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI FARMACOTERAPIEI AFECȚIUNILOR ANALIZATORULUI AUDITIV

314.01 – Farmacologie, farmacologie clinică
321.16 – Otorinolaringologie

Teză de doctor habilitat în ştiinţe medicale

Consultant ştiinţific: **GONCIAR Veaceslav**,
dr. hab. şt. med., profesor universitar
Consultant ştiinţific: **CUROCICHIN Ghenadie**,
dr. hab. şt. med., profesor universitar
Autor: **PARII Sergiu**,
dr. şt. med., conferenţiar cercetător

CHIȘINĂU, 2021

© PARII Sergiu, 2021

CUPRINS

ADNOTARE (în limbile română, rusă și engleză) 5

LISTA ABREVIERILOR 8

INTRODUCERE 10

1. DIAGNOSTICUL, FARMACOTERAPIA ŞI UTILIZAREA RAŢIONALĂ A MEDICAMENTELOR ÎN AFECȚIUNILE URECHII 19

1.1. Particularitățile anatomo-funcționale și metodele de examinare ale analizatorului auditiv 19
1.2. Afecțiunile inflamatorii ale urechii și farmacoterapia topică combinată.....22
1.3. Particularitățile etiopatogenice ale surdității senzorineurale.....27
1.4. Diagnosticul audiologic primar al surdității la nou-născuți și sugari 30
1.5. Surditatea senzorineurală nonsindromică și diagnosticul genetic.....32
1.6. Peroxidarea lipidică și farmacoterapia antioxidantă otoprotectoare 36
1.7. Principii de farmacoterapie în surditatea senzorineurală.....39
1.8. Produse medicamentoase combinate autohtone cu potențial farmacologic în surditatea senzorineurală 44
1.9. Particularități ale principiilor de recuperare auditivă electroacustică – protezarea auditivă.....52
1.10. Perspective de creare și utilizare rațională a medicamentelor combinate.....53
1.11. Concluzii și discuții la capitolul 1.....55

2. MATERIALE ŞI METODE DE CERCETARE 57

2.1. Studii preclinice 59
2.1.1. Metode preclinice de determinare a otoprotecției medicamentoase 60
2.1.2. Determinarea inofensivității preparatelor otoprotectoare la toxicitatea acută.....61
2.1.3. Metode de cercetare a proprietăților antibacteriene 64
2.1.4. Metode de cercetare farmaceutică.....65
2.2. Studii clinice 66
2.2.1. Date generale.....66
2.2.2. Design-ul cercetărilor cu utilizarea preparatelor medicamentoase pe subiecți umani.....67
2.2.3. Metodele examenului audiologic 69
2.2.4. Metode de analiză genetică 72
2.3. Metode statistice de cercetare 76
2.4. Sinteza capitolului 2.....79

3. ELABORAREA PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBINATE CU POTENȚIALE EFECTE OTOPROTECTOARE 80

3.1. Elaborarea picăturilor auriculare CB-12 80
3.2. Elaborarea produsului Neamon-hepa (NH-01).....92
3.3. Sinteza capitolului 3 100

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

ADNOTARE

Parii Sergiu

„Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv”

Teza de doctor habilitat în ştiinţe medicale, Chişinău, 2021

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

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

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

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

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

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

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

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

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

АННОТАЦИЯ

Парий Сергей Борисович

„Повышение эффективности диагностики и фармакотерапии заболеваний слухового анализатора”

Диссертация доктора медицинских наук, Кишинев, 2019

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ANNOTATION

Sergiu Parii

„Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders"

PhD Thesis in Medical Sciences, Chisinau, 2021

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

LISTA ABREVIERILOR

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

PMC – produse medicamentoase combinate
PMMM – peptide cu masă moleculară medie şi mică
POL – peroxidare lipidică
PPOA – produşii proteici de oxidare avansată
PCR – reacție de polimerizare în lanț
RBC – eritrocite/globule roșii
RC – regulă de calcul al câştigului protezei auditive
RDW-CV – repartizarea eritrocitelor după volum, %
RDW-SD – devierea standard a repartizării eritrocitelor
RS – reflex stapedian
RSI – reflex stapedian ipsilateral
RSC – reflex stapedian controlateral
RWD (Red cell Distribution Width) - „aria" de repartizare a eritrocitelor
SM – surditate mixtă
SNC – sistem nervos central
SOD – superoxiddismutază
SSN – surditate senzorineurală, sinonime hipoacuzie (surditate) neurosenzorială
ST – surditate de transmisie
SDH – sorbitoldehidrogenază
SIDA – sindromul imunodeficienţei dobândite
SRO – specii reactive ale oxigenului
SRN – specii reactive ale azotului
UC – unităţi convenţionale
UE – ureche externă
UI – ureche internă
UM – ureche medie
WBC – leucocite/globule albe

Produse medicamentoase
CAF-01 – Flamena, emulsie
CB-12 – picături auriculare cu conținut de ciprofloxacină + ulei de busuioc
MI – Merion, suspensie
NH -01 – Neamon-hepa, capsule

INTRODUCERE

Actualitatea şi importanţa problemelor abordate. Problema surdităţii devine tot mai importantă atât în aspect medical, cât şi în aspect social, deoarece se observă o tendinţă de majorare a numărului de persoane care au deficienţă de auz. Actualmente, în lume sunt peste 1 miliard de persoane cu deficiență auditivă de diferită etiologie şi gravitate. Cu regret, acest număr este în creştere [171].

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

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

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

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

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

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

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

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

Terapia medicamentoasă personalizată utilizează indicatori biologici sau „biomarcheri", cum ar fi: secvenţe de ADN, prezenţa sau lipsa unor receptori de substanţe chimice, ca indicatori ai modului în care pacienţii ar trebui trataţi, dar şi pentru a estima probabilitatea ca intervenţia să producă efectele scontate sau cele nescontate [98]. În acest sens, menţionăm faptul că nu doar tehnologiile genomice sau alte *omics*-uri sunt esenţiale, ci şi factorii ecologici şi stilul de viaţă sunt parte integrantă a medicinii personalizate *(G.Curocichin, 2010, V.Ghicavâi și alții, 2017).*

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

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

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

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

Obiectivele cercetării:

1) cercetarea farmaceutică, evaluarea inofensivității și eficacității preclinice a unui produs medicamentos combinat, sub formă de picături auriculare, cu conținut de ciprofloxacină și ulei volatil de busuioc pentru tratamentul otitelor;

2) determinarea toxicității acute și subcronice a unor produse medicamentoase combinate cu administrare enterală în tratamentul surdității senzorineurale (SSN);

3) stabilirea eficacităţii farmacologice otoprotectoare preclinice a unor produse medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul SSN induse;

4) studierea spectrului polimorfismelor genetice, implicate în condiționarea SSN nonsindromice la hipoacuzici, și a nivelului de portaj la persoane fără patologie a analizatorului auditiv prin determinarea ponderii mutației 35delG a genei GJB2;

5) optimizarea diagnosticului molecular-genetic și a celui audiologic la bolnavii cu SSN, în vederea stratificării tratamentului și profilaxiei maladiei;

6) sporirea eficacităţii și operativității diagnostice prin elaborarea unei metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală;

7) studiul clinic de determinare a efectelor antioxidante ale produselor medicamentoase combinate NH-01 capsule și CAF-01 emulsie enterală;

8) stabilirea criteriilor de prognostic al eficacității recuperării auditive la bolnavii hipoacuzici și elaborarea unui algoritm de conduită a SSN.

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

Noutatea și originalitatea ştiinţifică.

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

Problema ştiinţifică importantă soluţionată. Cercetările experimentale şi cele clinice au stat la baza elaborării unui nou concept de utilizare a preparatelor medicamentoase combinate, cu

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

Rezultatele principiale pentru ştiinţă şi valoarea aplicativă

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

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

Metoda tehnologică de genotipare *TaqMan PCR* intensifică performanțele diagnosticării molecular-genetice ale deleției 35delG (rs80338939) în gena *GJB*2. În acest scop a fost elaborată și demonstrată eficiența unor noi metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și stabilite criteriile de prognostic al eficacității recuperării auditive la bolnavii cu hipoacuzie, luând în considerare factorii anamnestici și cei ai audiometriei tonale liminare și supraliminare.

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

Semnificaţia teoretică

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

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

Implementarea rezultatelor ştiinţifice

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

Capacitatea de protecţie. În cadrul tematicii de cercetare, au fost prezentate și brevetate metode și produse farmacologice și publicate articole ştiinţifice, bazate pe rezultatele obținute, inclusiv în revistele de specialitate. În context, am reglementat drepturile de proprietate intelectuală. Protejarea proprietăţii intelectuale a fost asigurată în conformitate cu legislaţia naţională în vigoare.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sumarul compartimentelor tezei

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

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

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

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

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

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

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

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

Concluziile generale reflectă rezultatele cercetărilor experimentale şi clinice şi sunt în concordanţă cu constatările referitoare la capitolele respective. Recomandările elaborate denotă implementarea rezultatelor studiului în medicină şi generează posibilităţi noi de continuare a cercetărilor ştiinţifice.

1. DIAGNOSTICUL, FARMACOTERAPIA ŞI UTILIZAREA RAŢIONALĂ A MEDICAMENTELOR ÎN AFECȚIUNILE URECHII

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

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

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

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

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

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

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

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

Omul comunică cu mediul extern prin trei elemente esenţiale: *stimulul* – o formă de energie care aparţine unui spaţiu exterior conştiinţei, *receptorul* – un element senzorial sensibil la stimulul care se introduce între obiectul fizic şi percepţie, *senzaţia* – un rezultat al acţiunii stimulului asupra receptorului şi apoi asupra prelucrării informaţiei furnizate de receptorul senzorial [1, 9].

Diapazonul dinamic al auzului urechii reprezintă diferenţa dintre sunetul de percepţie (0 dB HL) şi sunetul dureros (120 dB HL). Dacă această dinamică se micșorează, apar distorsiuni de percepție sonoră (recruitment). Discriminare frecvenţială – proprietatea urechii de a deosebi două sunete pure de acelaşi nivel, dar de frecvenţe diferite (frecvenţa de 1500 Hz este mai sensibilă la variaţiile frecvenţiale). Discriminare temporală – capacitatea urechii de a distinge diferenţa dintre două sunete în timp. Aceste trei proprietăţi se asociază în câmpul auditiv al auzului pentru a asigura o bandă omogenă pe toate frecvenţele spectrului sonor.

Senzaţia auditivă nu este măsurabilă obiectiv, iar evaluarea ei nu este posibilă decât plecând de la descrierea pe care o face subiectul care primeşte stimulul. În audiologie acţionează Legea Weber-Fechner: „Senzaţia creşte în progresie aritmetică atunci când excitaţia creşte în progresie geometrică" sau „Răspunsul este proporţional cu logaritmul excitaţiei" [1, 36, 87].

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1.2. Afecțiunile inflamatorii ale urechii și farmacoterapia topică combinată

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

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

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

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

„Preparatele medicamentoase combinate presupun asocierea într-un singur preparat a doi sau mai mulţi agenţi cu acţiune terapeutică diferită, acţionând asupra multor mecanisme ce intervin în declanşarea stării patologice". Medicamentele combinate sporesc efectul terapeutic prin acţiune sinergică, reduc efectele secundare rezultate din administrarea unor doze mai mici de substanţe active cu reacţii adverse diferite, intensifică toleranța medicaţiei şi complianţa tratamentului [62, 67].

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Produsul a fost supus cercetării farmaceutice şi farmacologice specifice unor produse medicamentoase noi, cu acţiune polivalentă pentru tratamentul otitelor externe şi otitelor medii.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1.3. Particularităţile etiopatogenice ale surdităţii senzorineurale

În funcţie de segmentul lezat al analizatorului acustic, se disting următoarele tipuri de surdităţi: de transmisie, de percepţie şi mixtă [67, 80].

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

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

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

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

Termenii *surditate* şi *hipoacuzie* sunt de asemenea sinonime. Dispariţia totală a auzului se numeşte *cofoză [80]*.

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

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

În structura deficienţelor auditive severe, 70-90% revin SSN. Cu regret, în prezent numărul afecţiunilor porţiunii cohleare a analizatorului auditiv sporește. Problema nominalizată este cauzată de: administrarea iraţională a substanţelor ototoxice, acţiunea ecologică nocivă a numeroşi factori, majorarea duratei medii de viaţă, maladiile cardiovasculare, endocrine, neuropsihice [31,

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1.5. Surditatea senzorineurală nonsindromică și diagnosticul genetic

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

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

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

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

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

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

Cea mai frecventă mutaţie a genei GJB2, depistată la populaţia europeană, este mutaţia 35delG, responsabilă de aproximativ 70% dintre toate mutaţiile acestei gene. Frecvenţa mutaţiei 35delG printre purtătorii sănătoşi la populaţia Europei este de 1 : 34 [234]. Din această cauză, mutaţiile acestei gene sunt responsabile de aproximativ jumătate din toate hipoacuziile genetice nonsindromice. Alte gene raportate, ca fiind importante pentru această entitate la populaţia vest-europeană, sunt: TMC1, OTOF şi CDH23 [48, 59, 78].

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

Consult genetic al surdităţii: determinarea factorilor favorizanţi, depistarea semnelor asociate, cazuri familiale, prognostic evolutiv, mod de transmitere, tablou clinic, examene complementare, istoric familial, teste genetice, prevenţie, indicaţie terapeutică, tratament [94].

Beneficiile testării genetice: identificarea cauzei surdităţii, stabilirea factorilor de risc pentru familie şi a sarcinilor următoare, managementul pacienţilor cu hipoacuzie [94, 216].

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

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

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

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

Medicina personalizată presupune cunoaşterea şi utilizarea unor noi mecanisme la nivel molecular şi a unor teste de diagnostic, ce permit adaptarea mai reușită a tratamentelor şi un management mai eficient al bolilor. În Occident, medicina personalizată devine unul dintre elementele de bază în ocrotirea sănătăţii: reducerea cheltuielilor, sporirea eficacităţii şi inofensivităţii terapiei medicamentoase, conformate la necesităţile fiecărui pacient în parte [11].

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

În cadrul terapiei medicamentoase personalizate, medicul otorinolaringolog ține cont de indicatorii biologici sau biomarcheri, cum ar fi secvenţele de ADN sau prezenţa ori lipsa unor receptori de substanţe chimice, ca indicatori ai modului în care pacienţii ar trebui trataţi, dar şi pentru a estima probabilitatea că intervenţia va avea efectele scontate sau cele nescontate. În acest context nu doar tehnologiile genomice sau alte *omics*-uri sunt esenţiale, ci şi factorii ecologici, şi modul de viaţă sunt parte integrantă a medicinei personalizate [65].

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

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

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

efectelor adverse la unii dintre pacienţii trataţi cu acelaşi medicament, de a stabili dozele optime pentru fiecare pacient în parte. Scopul personalizării este ca fiecare pacient să beneficieze de terapia cea mai eficace şi cu cât mai puţine efecte secundare [67].

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

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

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

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

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

Transmiterea prin ADN-ul mitocondrial (1-2%) este o formă rară (au loc mutaţii în genomul mitocondrial, care pot afecta producerea energiei prin sinteza de ATP şi fosforilarea oxidativă). ADN-ul mitocondrial se moşteneşte de la mamă. Descendenţi afectaţi – 100% (penetranta variabilă).

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

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

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

1.6. Peroxidarea lipidică și farmacoterapia antioxidantă otoprotectoare

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

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

În cursul acestor reacţii biochimice complexe, la nivel celular se pot forma, ca intermediare, numeroase specii chimice cu energie intensă, prin urmare instabile, care pot reacţiona cu diverşi componenţi celulari chimici, generând compuşi secundari sau chiar mutaţii, care pot cauza apariţia unei tumori la nivelul organului respectiv [98].

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

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

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

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

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

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

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

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

celulară. Este important să se ia în considerare faptul că, deși efectele sunt nefaste, nu toate modificările cauzate de speciile reactive sunt dăunătoare organismului. De exempu, la concentrații *in vivo* de la 10^{-8} până la 10^{-4} M, H2O2 determină proliferarea celulei, încetarea creșterii sau inițierea apoptozei, mecanismul de bază în afectarea celulelor ciliate ale organului Corti [127, 133].

Principalele mecanisme de apărare ale celulei faţă de aceste specii reactive implică sistemul antioxidant de apărare, format din factori enzimatici precum SOD, GPO, catalaza sau factori neenzimatici, cei mai importanţi fiind vitamina E (tocoferolul) care se găseşte predominant în membranele celulare, fiind lipofilă, precum şi vitamina C (acidul ascorbic), vitamină hidrosolubilă, care se află preponderent în citosol, vitamina P [152]. Cercetările recente relevă faptul că un nivel sporit, dar subletal de SRO, poate influenţa căile semnalizatoare intracelulare într-o gamă variată de celule neuronale, prin modularea expresiei genice, a creşterii şi diferenţierii celulare [108]. Unica enzimă substanțial antioxidantă din creier este catalaza, care are o capacitate limitată în detoxifierea H_2O_2, deoarece este localizată la nivelul microperoxizomilor [27, 39].

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

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

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

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

1.7. Principii de farmacoterapie în surditatea senzorineurală

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

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

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

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

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

ambele [90]. Multe substanţe chimice au potenţial ototoxic, inclusiv medicamentele luate abuziv, substanţele din mediu sau medicaţiile prescrise de specialişti.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Produsele medicamentoase combinate (PMC) presupun asocierea, într-un singur preparat comercial, a doi sau mai mulţi agenţi cu acţiune terapeutică diferită, în doză fixă [103, 104]. Sunt posibile patru căi de obţinere a medicamentelor combinate: asocierea compuşilor bine cunoscuţi, deja aprobaţi/utilizaţi în combinaţie; principiile deja renumite, incluse pentru prima dată în medicamentul combinat; asocierea unei sau mai multor entităţi chimice noi cu una sau mai multe substanţe bine cunoscute; combinarea a două sau mai multe entităţi chimice noi [69, 110].

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

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

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

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

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

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

Aproape 1/3 din produsele medicamentoase prezente pe piaţa farmaceutică reprezintă combinaţii fixe. Medicamentele combinate posedă numeroase avantaje. Astfel, eficienţa sporită a efectului terapeutic, prin acţiune aditivă sau sinergică, oferă o rată mai bună de răspuns la o parte mai mare din pacienţi. Reducerea efectelor secundare, rezultată din utilizarea unor doze mai mici de substanţe active cu reacţii adverse diferite, creşte tolerabilitatea medicaţiei şi complianţa pacienţilor la tratament. Atenuarea sau anularea mecanismelor de contrareglare declanşate de unele dintre componentele folosite, responsabile de limitarea răspunsului terapeutic la creşterea dozelor, constituie un alt avantaj al terapiei cu medicamente combinate. Asocierea agenţilor activi cu acţiuni complementare la nivelul organelor-ţintă poate fi de asemenea benefică [2, 7, 8, 9].

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

Astfel, drept oportune, pot fi considerate elaborarea și utilizarea remediilor polifuncţionale obţinute din preparate cu eficienţă clinică demonstrată, cu efecte polivalente.

1.8. Produse medicamentoase combinate autohtone cu potențial farmacologic în surditatea senzorineurală

Terapia şi reabilitarea complexă a pacienţilor cu maladii cronice sunt indispensabile de valorificarea compuşilor chimici ai bioelementelor sau suplimentele lor ce conţin vitamine, minerale, oligopeptide [145]. Numărul de surse cu proprietăţi polivalente, concomitent şi stimulente, este însă redus. Interacţiunile concurente ale microelementelor, nivelul scăzut de asimilare sunt printre cauzele eficienţei reduse a utilizării lor cu succes în ameliorarea diverselor situaţii clinice [62]. Pentru soluţionarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea produselor combinate polifuncţionale, cu eficienţă clinică şi inofensivitate demonstrată [69].

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Aminoacidul glicina (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor şi un reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos central. Acest aminoacid: reduce tensiunea psihoemoţională, sporeşte capacitatea de muncă intelectuală, manifestă acţiune neuroprotectoare, antistres și sedativă, ameliorează metabolismul cerebral, normalizează somnul, reduce acţiunea toxică a alcoolului, nu provoacă dependenţă [44].

Lecitina este o fosfolipidă şi participă la constituirea membranelor celulare la nivelul creierului şi al celulelor nervoase. În deficienţa lecitinei, scade eficienţa acetilcolinei în ţesutul nervos. Lecitina favorizează creşterea şi dezvoltarea organismului, sporeşte capacitatea de muncă fizică şi intelectuală, accelerează refacerea organismului după eforturi intense [45].

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

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

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

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

malizează procesele respiraţiei tisulare, îmbunătăţeşte activitatea funcţională a celulelor endoteliale, contribuind la o ameliorare semnificativă a microcirculaţiei şi parametrilor reologici.

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

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

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

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

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

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

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

BioR® este un preparat biologic complex, obţinut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* (elaborat la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, director academician Valeriu Rudic, în colaborare cu *„Ficotehfarm SRL”*). Conţine aminoacizi esenţiali şi non-esenţiali, inclusiv aminoacizi imunoactivi (valina, triptofanul, treonina, acidul aspartic, acidul glutamic, alanina, arginina, cisteina, glicina, serina, acidul gama-aminobutiric), polizaharide sulfatate, acizi graşi polinesaturaţi, inclusiv acidul gama-linolenic, macro- şi microelemente esenţiale. BioR posedă un spectru larg de acţiune: citoprotector, regenerant, hepatoprotector, antiinflamator, hipolipemiant, imunomodulator, antiviral. BioR manifestă acţiune antioxidantă şi de stabilizare a membranelor celulare şi lizozomale prin normalizarea metabolismului glutationului şi menţinerea la un nivel optim a echilibrului dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor şi cel antioxidant. Prezenţa, în componenţa lui, a aminoacizilor, a oligopeptidelor şi a microelementelor Mn, Fe, Zn, Cu, Se, Cr etc., stimulează procesele de regenerare a ţesuturilor şi influenţează pozitiv asupra imunităţii celulare şi humorale [43, 85].

BioR® stabilizează membranele celulare şi lizozomale, normalizează şi menţine la un nivel optim echilibrul dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor şi cel antioxidant, creşte potenţialul antioxidant al verigilor enzimatice şi neenzimatice: majorează nivelul superoxiddismutazei, al catalazei și al enzimelor glutationice, restabileşte conţinutul glutationului redus, tocoferolului, SH-grupelor etc. [85, 86].

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

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

Deşi incidenţa hepatitelor virale în Republica Moldova s-a diminuat considerabil, în bună parte datorită implementării Programelor Naţionale, în ultimii ani se atestă totuşi o creştere succesivă a letalităţii cauzate de ciroza hepatică, care depăşeşte de aproximativ trei ori indicii similari din ţările vecine [104].

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

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

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

Spironolactona reprezintă un produs medicamentos diuretic, ce economiseşte potasiul. Este un antagonist specific al aldosteronului, legându-se competitiv cu receptorii acestuia la nivelul tubilor contorţi distali. Stimulează excreţia ionilor de sodiu şi apă în schimbul celor de potasiu, de magneziu şi hidrogen. Are efecte diuretic şi antihipertensiv. Spironolactona este unul dintre cele mai eficiente diuretice ce menţin ionii de kaliu în celule [53].

Eficacitatea şi inofensivitatea produsului au fost demonstrate mai întâi prin experimente preclinice pe un lot de 56 de şoareci, cu determinarea toxicităţii subacute şi modelarea hepatitei toxice induse cu CCl_4 (tetraclorură de carbon) [104, 219].

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

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

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

unele proprietăţi total deosebite şi neaşteptate, în comparaţie cu trăsăturile aceleiaşi substanţe luate la nivel macroscopic [67].

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tipurile de SSN sunt entităţi patologice foarte frecvente, cu gravitate variabilă, de la un grad impreceptibil până la alterarea gravă a funcţiei auditive, cu consecinţe sociale marcate, după cum s-a menţionat anterior. Deoarece debutul este deseori insidios şi boala se asociază frecvent cu strategii compensatorii subite, hipoacuzia trece uneori neobservată de către medic şi pacient [119]. SSN este agravantă prin consecinţele sale: sunt cauzele principale ale surdităţii profunde şi cofozei, importanţa lor în invalidizare, în special a copiilor, nu se compară cu cele ale surdităţii de transmisie şi mixte; posibilităţile recuperării medicamentoase ale afecţiunilor neurosenzoriale sunt destul de rezervate; asistența medicală, electroacustică, surdopedagogică la pacienţii cu surditate de percepţie este costisitoare [63, 217]. Deficienţa de auz, mai ales formele severe şi profunde, modifică poziţia individului respectiv în societate, acesta pierde capacitatea de lucru, iar, în cazul unei surdităţi apărute în copilăria fragedă, – la surdomutitate, retard psihic [67, 120].

În structura deficienţelor de auz, la care se constată auz social neadecvat, 60-80% îi revine surdităţii neurosenzoriale. Problema nominalizată este cauzată de administrarea iraţională a substanţelor ototoxice, de acţiunea numeroşilor factori nocivi, de majorarea duratei medii de viaţă, de maladiile cardiovasculare și endocrine etc. De regulă, SSN este ireversibilă. În contextul structurii patologiei date a organului auditiv, o importanţă deosebită reprezintă recuperarea auditivă realizată la timp [4, 40].

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

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

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

Diagnosticul şi protezarea auditivă a pacienţilor cu SSN ar putea fi extinse de cunoaşterea severităţii surdităţii şi eficienţei protezării auditive. În acest scop, s-a propus perfectarea indexului de un pronostic, care a cuprins două aspecte: primul - condiţiile evoluţiei severităţii surdităţii, al doilea - factorii determinatori ai eficienţei protezării auditive.

1.10. Perspective de creare și utilizare rațională a medicamentelor combinate

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

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

şi a macromoleculelor în molecule cu masa medie sau, în măsura posibilităţilor, în micromolecule etc.” [58, 59, 60].

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

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

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

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

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

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

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

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

1.11. Concluzii și discuții la capitolul 1

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

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

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

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

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

2. MATERIALE ŞI METODE DE CERCETARE

Date generale

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

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

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

Studiul a fost realizat în patru etape:

Figura 2.1. Designul cercetării

Etapa I. Definirea problemei

1. Documentarea ştiinţifică în domeniu prin studierea literaturii ştiinţifice şi metodico-didactice pe tema ce vizează cercetarea.

2. Determinarea scopului şi a obiectivelor studiului.

3. Precizarea volumului loturilor de studiu.

4. Elaborarea planului de cercetare.

Etapa a II-a. Observarea statistică şi acumularea materialului

1. Elaborarea anchetelor şi instrumentelor de colectare a materialului de studiu.

2. Cercetările farmaceutice (preformulare, formulare, optimizare) și farmacologice experimentale (determinarea inofensivității și eficacității) pentru elaborarea produselor medicamentoase combinate otoprotectoare.

3. Înregistrarea caracteristicilor fenomenelor şi colectivităţilor studiate, utilizând procedeele de înregistrare totală sau parţială: extragerea informaţiei din documentaţia medicală, înregistrarea datelor în cadrul anchetelor prin sondaj, metode clinice generale și otorinolaringologice

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

Etapa a III-a. Evaluarea statistică a rezultatelor obţinute

Etapa a IV-a. Analiza rezultatelor obţinute şi argumentarea ştiinţifică a strategiilor

1. Evaluarea indicilor de bază caracteristici loturilor de studiu.

2. Elaborarea unui algoritm de cercetare farmacologică experimentală a eficacității ototoprotectoare la animale de laborator, precum și a unui algoritm de conduită a bolnavilor cu SSN.

2.1. Studii preclinice

Elaborarea produselor medicamentoase include două compartimente: preclinic (farmaceutic și farmacologic) și clinic. Experimentele farmacologice au fost efectuate pe șobolani albi, cu masa corporală de 150-250 g, și pe șoareci albi din crescătoria vivariului USMF „Nicolae Testemițanu", cu masa corporală de 18-25 g. Animalele, plasate solitar în cuști, au avut condiții standard de întreținere: temperatura mediului constantă – 21-22^{0}C, umiditatea relativă a aerului – 60%, regimul întuneric-lumină – 12:12 ore. Pentru obținerea aclimatizării, cu o săptămână înainte de efectuarea experimentului, animalele au fost plasate în camera de carantină. Regimul alimentar standard pentru animale de laborator, echilibrat în proteine, glucide, lipide, minerale şi vitamine, a fost administrat sub formă de granule şi apă *ad libitium*. Pentru utilizarea apei au fost stabilite autoapeducte. Animalele nu au primit hrană cu 12 ore înainte de iniţierea experimentului şi patru ore după administrarea preparatului studiat.

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

1. Flamena, emusie (CAF-01) – autorizat, ca medicament în Republica Moldova (RM). Elaborat în Federația Rusă. Cercetat farmacologic și farmaceutic în RM;

3. Merion, suspensie (MI) – autorizat în RM ca supliment alimentar; elaborat în RM;

4. Neamon-hepa, capsule (NH-01) – elaborat în cadrul CȘM;

5. CB-12, picături auriculare, – elaborat în cadrul CȘM.

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

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

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

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

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

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

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

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

2.1.1. Metode preclinice de determinare a otoprotecției medicamentoase

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

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

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

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

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

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

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

Pentru înregistrarea TEOEA au fost determinate intensitatea masurată în dB SPL a OEA și raportul semnal OEA/zgomot de fond la intensitățile 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 Hz, la intensitatea de 90 dB. Stimulul sonor era alcătuit din două sunete pure de frecvenţă F_1 şi F_2, numite frecvenţe primare. Au fost studiate produsele de distorsiune a otoemisiei acustice de tipul $2F_1 – F_2$, fiind respectat raportul F_1/F_2 în valoare de 1,22. PDOEA au fost măsurate la următoarele frecvențe și raport al intensităților stimulilor sonori la frecvențele f1 și f2: 1500 Hz – 59/53dB; 2100 Hz – 64/54 dB; 3300 Hz – 62/55 dB; 4200 Hz – 62/54 dB. Intensitatea stimulului sonor f1 – 70 dB, intensitatea stimulului sonor f2 – 60 dB.

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

2.1.2. Determinarea inofensivității preparatelor otoprotectoare la toxicitatea acută

2.1.2.1. Toxicitatea acută. Cercetările au fost efectuate conform recomandărilor metodice pentru studiul toxicităţii generale a substanţelor farmacologice. Concentrațiile farmaceutice, cu corespunderea dozelor respective de 50, 100, 300, 600, 1000 și, respectiv, 2000 mg/kg ale compusului, au fost pregătite în cadrul Laboratorului analiză, standardizare şi controlul medicamentalor al CȘM. Determinarea toxicităţii acute s-a efectuat în Laboratorul evaluare preclinică şi clinică a medicamentelor prin administrarea enterală şi intraperitoneală a Flamena, gel, CB-12, Flamena, emulsie, Merion, suspensie. Vârsta şi masa corporală a animalelor de laborator au fost selectate conform cerinţelor indicate în recomandările date. Animalele au fost obţinute din aceeaşi sursă, condiţiile de trai şi cele de alimentare au corespuns cerinţelor sanitare. Şobolanii şi şoarecii au fost cântăriţi şi repartizaţi în loturi omogene, a câte cinci-șase masculi şi cinci-șase femele, conform masei corporale. Substanţele cercetate au fost diluate în volume constante de soluţie fiziologică de 0,9% (câte 3-5 ml pentru fiecare şobolan la administrarea internă şi 0,2-3 ml pentru şoareci şi şobolani la injectarea intraperitoneală, conform recomandărilor). Preparatele studiate și cele de referință au fost administrate șobolanilor enteral prin gavaj, iar șoriceilor enteral prin gavaj și intraperitoneal. Produsele testate au fost administrate într-o singură priză.

Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile și cântărite în a 2-a, a 7-a, a 14-a zile (înainte de eutanasiere). În timpul observaţiilor am înregistrat: comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mişcărilor, reacţia la excitanţi fizici (lumină, zgomot), funcţia respiratorie, starea pielii şi a mucoaselor. De asemenea am înregistrat timpul apariţiei fenomenelor de intoxicaţie şi decesul animalelor. Vizual s-a determinat tabloul clinic al intoxicaţiei. Animalele decedate și cele muribunde din fiecare lot (după eutanasiere prin decapitare sau torsionare cervicală, conform cerințelor etice) au fost disecate în mod separat, pentru a efectua studiul organelor interne şi a confirma modificările obţinute în experienţă.

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

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

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

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

Examinări fiziologice: comportamentul, activitatea motorie spontană.

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

Metodele de cercetare a parametrilor biochimici

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

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

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

Determinarea activităţii enzimelor sistemului antioxidant. Studiul a inclus aprecierea activităţii următoarelor enzime ale sistemului antioxidant: superoxiddismutazei (SOD); catalazei (CAT); glutationreductazei (GR); 7-glutamiltranspeptidazei (y-GTP).

Activitatea SOD s-a apreciat conform metodei prezentate de Kostiuc V.A. şi al. [237] şi s-a exprimat în procente convenţionale de inhibiţie la gram de proteină.

Activitatea catalazei s-a efectuat după metoda elaborată de Koroliux M.A. şi al. [235], care se bazează pe proprietatea enzimei de a cataliza reacţia de scindare a peroxidului de hidrogen (H202), cu formarea oxigenului molecular (0_2) şi 1-120.

GR catalizează reacţia de reducere a glutationului oxidat în prezenţa NADPH2. Viteza oxidării coenzimei NADPH2 a fost determinată spectrofotometric la 340 nm. Activitatea enzimei a fost exprimată în nmol de NADPH2, oxidat timp de 1 sec. la 1 gram de ţesut (nmoUs•g) [204].

Activitatea y-GTP a fost determinată după procedeul prezentat de Kolb V.G. [227], în modificaţia V. Gudumac [49], care se bazează pe capacitatea enzimei de a transfera reziduul glutamilic al y-L-glutamil-p-nitroanilinei la acceptorul glicil-glicină. În urma acestei reacţii, se eliberează p-nitroanilina, a cărei concentraţie este direct proporţională cu activitatea enzimei. Activitatea enzimei s-a exprimat în nmol/sec. la 1 gram de ţesut (nmol/s•g).

2.1.3. Metode de cercetare a proprietăților antibacteriene

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

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

Inițial, uleiul volatil a fost dizolvat. În continuare, culturile investigate de microorganisme, crescute timp de 24 de ore pe agar peptonat înclinat, au fost spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu și diluate până la nivelul standardului optic de turbiditate cu obținerea inoculatelor, ce conțin 1 milion de corpi microbieni în 1 ml de mediu. Inoculatele obținute au fost diluate cu substanța cercetată în raport de 1:1. Culturile obținute le-am supus termostatării la temperatura de 37^0C (timp de 24, 48 de ore).

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

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

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

2.1.4. Metode de cercetare farmaceutică

Metodele cromatografice utilizate pentru analiza picăturilor auriculare

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

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

Metode fizico-chimice pentru aprecierea calității picăturilor auriculare

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

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

Determinarea densității

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

Densitatea se determină după formula (g/cm^3):

$$\rho = \frac{(m2-m)\cdot 0.99703}{m1-m} + 0.0012, \quad (102)$$

în care: ρ reprezintă densitatea la 20°C, g/cm^3; m – masa picnometrului gol, g; m1 – masa picnometrului, împreună cu apa distilată, g; m2 – masa picnometrului, împreună cu soluția de analizat, g; 0,99703 – densitatea apei la 20°C; 0,0012 – densitatea aerului la 20°C [19, 50].

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

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

2.2. Studii clinice

2.2.1. Date generale

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

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

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

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

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

Grupurile pacienților din cadrul studiilor clinice

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

Metode de diagnostic

Metode de laborator: hemoleucograma, analiza biochimică a sângelui.

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

Metode de diagnostic genetic - mutația 35delG - GJB2

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

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

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

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

Schema de tratament

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

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

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

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

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

Zilele de cercetare	Până la începerea tratamentului	Mijlocul perioadei de tratament (zece zile)	Sfârşitul tratamentului (30 zile)
Vizite (puncte de observare)	1	2	3
Controlul corespunderii pacienţilor criteriilor de includere/excludere (anamneza)	*		
Obţinerea acordului informativ în formă scrisă	*		
Repartizarea în grupul de studiu	*		
Examenul obiectiv	*	*	*
Examenul de laborator	*		*
Examenul instrumental	*	*	*
Înregistrarea acuzelor subiective	*	*	*
Aprecierea şi înregistrarea reacţilor adverse	*	*	*
Aprecierea eficacităţii	*	*	*
Aprecierea toleranţei	*	*	*

2.2.3. Metodele examenului audiologic

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.4. Metode de analiză genetică

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

Cercetarea a fost desfășurată pe următoarele loturi de studiu:

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

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

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

Lotul de pacienți cu hipoacuzie neurosenzorială nonsindromică

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

Lotul de referință de persoane sănătoase

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

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

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

avalaible from: http://www.who.int/chp/steps/instrument/STEPS_Instrument_V3.1.pdf. Chestionarele au fost depersonalizate, iar datele personale nu au fost accesibile pentru autori.

Design-ul cercetărilor molecular-genetice pe subiecți umani

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

1. Extragerea ADN

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

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

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

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

Coloana de purificare s-a îndepărtat, iar soluția de ADN obținută s-a depus pentru aplicări ulterioare sau stocată la -20°C.

2. Analiza calității ADN-ului extras

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

Cu ajutorul soft-ului NanoDrop Software, datele au fost colectate și stocate pe calculator. Am evaluat criterii de calitate precum concentrația extrasului și raportul A*260/A280*. Probele cu concentrația de cel puțin 2 ng/µl și cu valoarea purității ADN A*260/A280* = (1,7; 2,1) au fost considerate valabile pentru analizele ulterioare.

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

3. Metode molecular-genetice, TaqMan

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

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

Tabelul 2.2. Sonde utilizate pentru genotipare

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

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

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

Tabelul 2.3. Componentele din amestecul de reacție

Nr.	Componentele din amestecul de reacție	Volum
1.	Soluția 2X TaqMan Master Mix	2,5 µl
2	Soluția 20X TaqMan SNP Genotyping Assay	0,25 µl
3.	dH_2O	2,25 µl
4.	Volumul final	5 µl

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

Volumul (2X TaqMan Master Mix) = 2,5 µl x N + 10%, volumul (20X TaqMan SNP *Genotyping Assay*) = 0,25 µl x N + 10%, volumul (dH2O) = 2,25 µl x N + 10%, unde N este numărul de godeuri testate pentru un SNP.

TermoFisher/KAT-N

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

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

Tabelul 2.4. Etapele PCR în timp real

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

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

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

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

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

2.3. Metode statistice de cercetare

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

1) metoda Kurber: DL50= DL100 – suma AxB/ n [251],

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

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

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

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

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

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

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

Statistic, datele obţinute le-am prelucrat cu ajutorul pachetului de programe „Statistica for Windows, Release 6.0 StatSoft, Inc.”, unde s-au calculat următoarele criterii: σ – deviaţia standard, p – valoarea relativă medie, *t* – criteriul Student, M1 şi M2 – valorile medii aritmetice ale totalităţilor comparate, m1 şi m2 – erorile mediilor aritmetice ale totalităţilor comparate, ± m – deviaţia valorii relative medii.

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

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

unde:

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

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

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

Zα – valoarea tabelară. Dacă semnificaţia statistică este de 95,0%, atunci coeficientul Zα =1,96.

Z_β – valoarea tabelară. Dacă puterea statistică a comparaţiei este de 80,0%, atunci coeficientul Z_β = 0,84.

f = Proporţia subiecţilor care se aşteaptă să renunțe la studiu din motive diferite de efectul investigat q = 1/(1-f), f = 10,0% (0,1).

Introducând datele în formulă, am obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 0.84)^2 x 0.40\ x 0.60}{(0.65 - 0.65)^2} = 17$$

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

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

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

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

$$Fj = \sum_{i=1}^{n} A_{ji} . X_i + B_{j,}$$

unde:

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

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

n – numărul de componente, care corespund vectorului X,

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

B_j – constante libere.

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

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

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

$$n = Nt^2Pq, \quad N\Delta x^2+t^2Pq,$$

unde:

n – dimensiunile eşantionului reprezentativ,

N – totalitatea integrală,

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

P – probabilitatea apariţiei fenomenului, determinată ca: q = 1 – P ,

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

Δx – limita admisibilă a erorii, în cazul veridicităţii de 95%, egală cu 0,05 (5,0%).

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

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

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

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

2.4. Sinteza capitolului 2

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

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

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

3. ELABORAREA PRODUSELOR MEDICAMENTOASE COMBINATE CU POTENȚIALE EFECTE OTOPROTECTOARE

3.1. Elaborarea picăturilor auriculare CB-12

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

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

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

Procedee tehnologice de preparare a picăturilor auriculare

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

Prepararea picăturilor constă în următoarele etape:

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

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

- pregătirea materialului de ambalare și de acoperire;

- efectuarea calculelor necesare.

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

III. Filtrarea (utilizând filtrarea volumelor mici).

IV. Ambalarea și pregătirea pentru eliberare:

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

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

V. Evaluarea calității picăturilor:

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

VI. Caractere și controlul medicamentelor otologice lichide.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Elaborarea compoziției și tehnologiei de fabricare a picăturilor auriculare

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

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

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

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

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

Preformularea și elaborarea tehnologiei optime pentru picături auriculare cu conținut de ciprofloxacină și uleiuri eterice

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

Picături auriculare tip emulsie U/A

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

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

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

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

Procesul tehnologic de preparare a picăturilor auriculare cuprinde următoarele faze:

Pregătirea emulsiei primare

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

Pregătirea substanțelor medicamentoase

La balanța analitică, cântărim masele necesare ale substanțelor medicamentoase.

Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară

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

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

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

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

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

Procesul tehnologic de preparare a unguentului cuprinde următoarele faze:

Pregătirea emulsiei primare.

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

Pregătirea substanțelor medicamentoase.

La balanța analitică, cântărim masele necesare ale substanțelor medicamentoase.

Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară.

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

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

Ambalarea produsului finit.

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

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

Nipagină – 0,02 g

Apă purificată – până la 50 g

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

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

Procesul tehnologic de preparare a picăturilor auriculare cuprinde următoarele faze:

Pregătirea emulsiei primare.

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

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

Pregătirea substanțelor medicamentoase.

La balanța analitică, cântărim masele necesare ale substanțelor medicamentoase.

Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară.

La emulsia primară se adaugă porționat apa purificată (circa ½ din volumul ei) și excipienții 5,0 g de PEG 400 și 0,02 g nipagină, prealabil dizolvați într-o cantitate minimă de apă purificată din restul volumului. Se amestecă minuțios, apoi se adaugă 0,15 g ciprofloxacină, dizolvată în cantitate minimă de apă din restul volumului. Amestecăm bine, omogenizăm emulsia. Măsurăm pH-ul soluției. Emulsia obținută este transferată într-un pahar gradat de 50 ml și se completează până la cotă cu solventul.

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

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

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

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

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

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

Elaborarea metodelor de analiză pentru picăturile auriculare cu ciprofloxacină

FR X prevede controlul unor parametri specifici pentru soluțiile otice.

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

Caractere și control

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

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

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

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

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

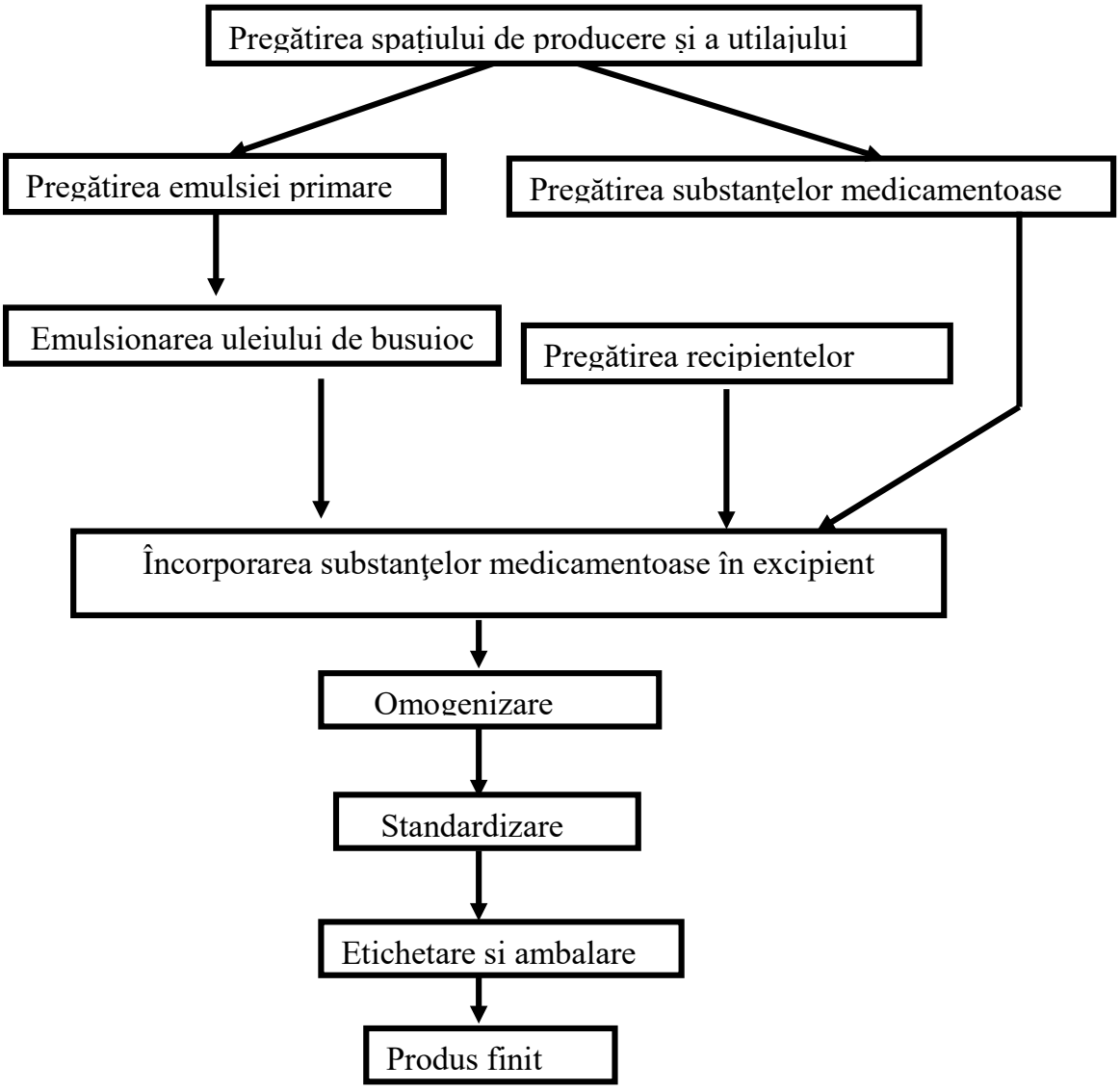


Fig. 3.1. Schema fluxului tehnologic de fabricare a picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacină și ulei de busuioc

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

Dozarea spectrofotometrică a ciprofloxacinei.

Pentru prepararea soluției etalon s-a utilizat ciprofloxacină standard, recristalizată consecutiv din apă bidistilată. Lucrând cu vesela de laborator curată și cu un gradient mic de temperatură la formarea germenilor de cristalizare (1^0C/min.), am reușit să obținem ciprofloxacină cu puritate 99,99%, prezentându-se după uscare ca o masă cristalină aciculară, cu punctul de topire de 270,4^0C. Puritatea s-a stabilit prin cromatografie de lichide de înaltă presiune. Tehnica de lucru a fost elaborată, ținând cont de studiul comportamentului spectral al substanței standard.

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

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

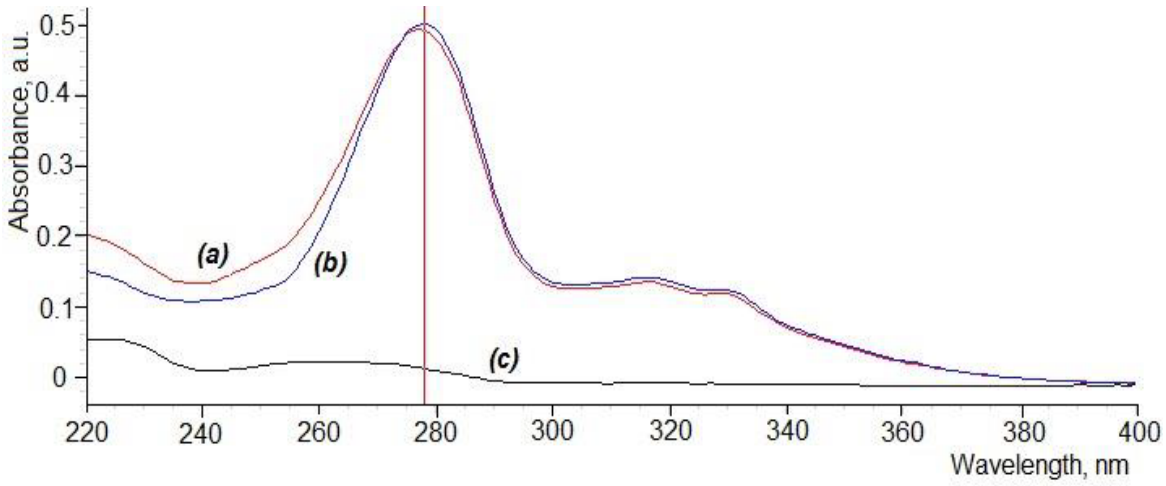


Fig. 3.2. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluției standard de clorhidrat de ciprofloxacină 4,0 µg / ml (a), soluție probă (b) și placebo (c)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tabelul 3.1. Randamentul de regăsire ca o condiție de admisibilitate

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

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

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

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

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

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

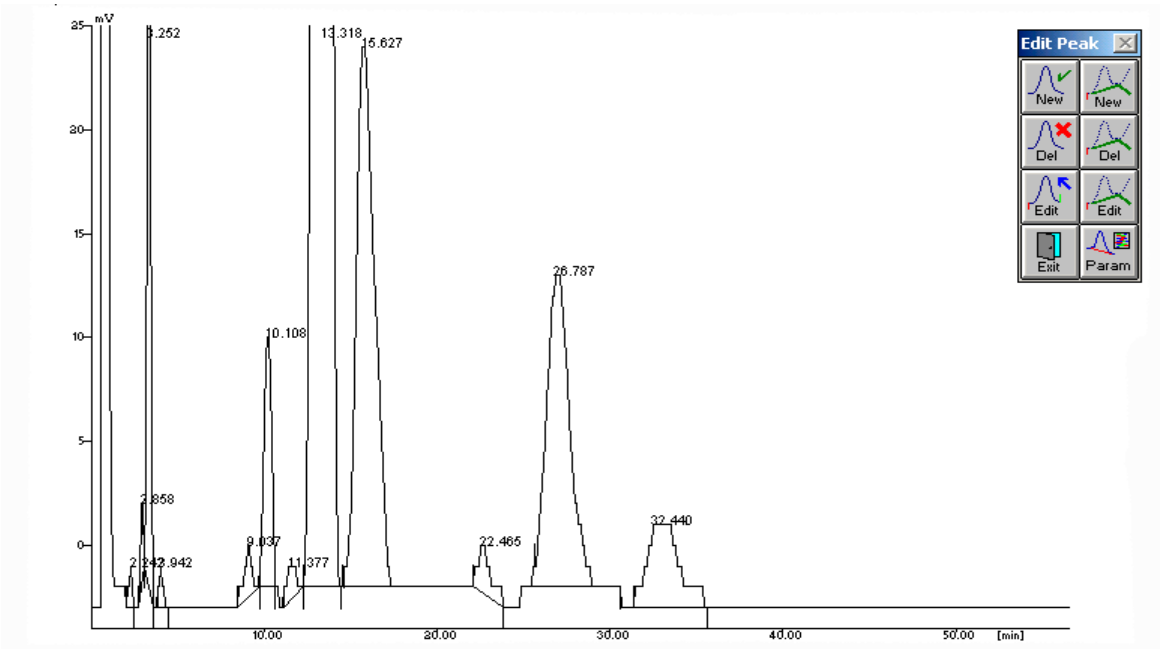


Fig. 3.3. Cromatograma soluției analizate pentru *Ocimum basilicum*

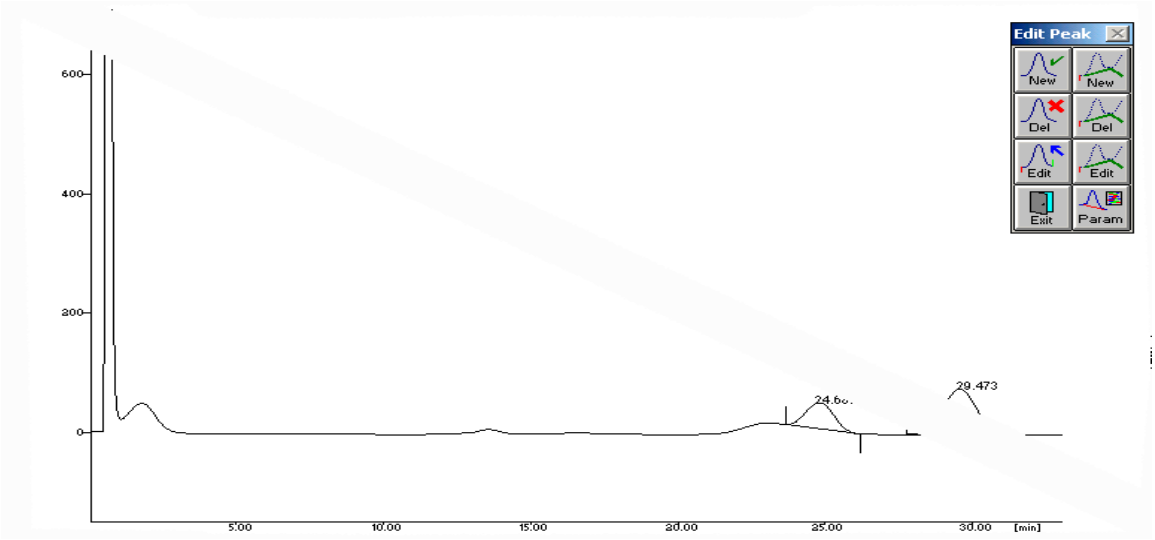


Fig. 3.4. Cromatograma standardului de linalool

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

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

Cantitatea de ulei injectat, mkl	Conținut %	Date statistice
3	0,0893	X = 0,08815 S^2 = 0,0146 S = 0.1208 Sx = 0,0697 Eλ = 0,29971 A = 0,08815 ± 0,29971
3	0,0875	
3	0,0876	

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

E: Condiționare și control

E_1. Picăturile pentru ureche sunt condiționate în recipiente bine închise, de capacitate cuprinsă în 25 ml, produse din material plastic și prevăzute cu un dop picurător. Flaconul cu soluție se etichetează corespunzător, utilizându-se și diferite etichete adiționale. De exemplu: „A se păstra la loc răcoros", „A se păstra ferit de lumină" etc.

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

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

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

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

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

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

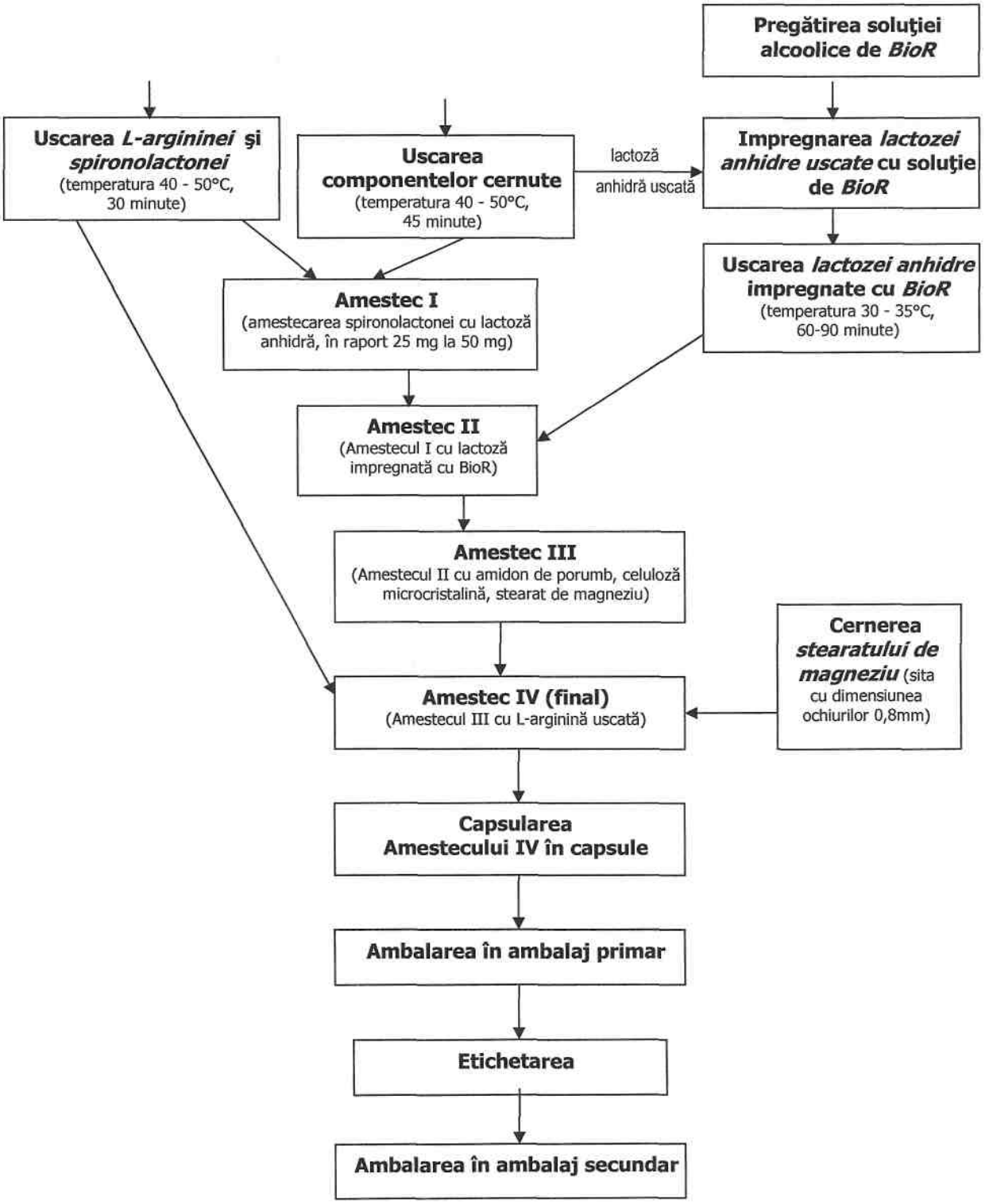


Fig. 3.5. Procesul de fabricare a Neamon-hepa (NH-01)

Formularea conținutului capsulelor.

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

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

Etapele procesului de preparare (fig. 3.5).

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

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

3. La o parte de lactoză anhidră (circa 200 mg) se adaugă treptat soluția alcoolică de BioR și se lasă la loc deschis până la evaporarea totală a solventului. Operația se repetă de câteva ori, până toată cantitatea de soluție este absorbită de lactoză. Amestecul obținut se trece în dulapul de uscare și se usucă timp de 60 – 90 de minute la temperatura de 30-35^{0}C. Amestecul trebuie să posede o pulverulență bună, fără conglomerate.

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

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

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

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

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

Tabelul 3.3. Compoziția produsului farmaceutic NH-01

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

Etapele procesului de preparare sunt prezentate în figura 3.5.

Elaborarea metodelor de analiză și standardizare pentru produsul Neamon-Hepa

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

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

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

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

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

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

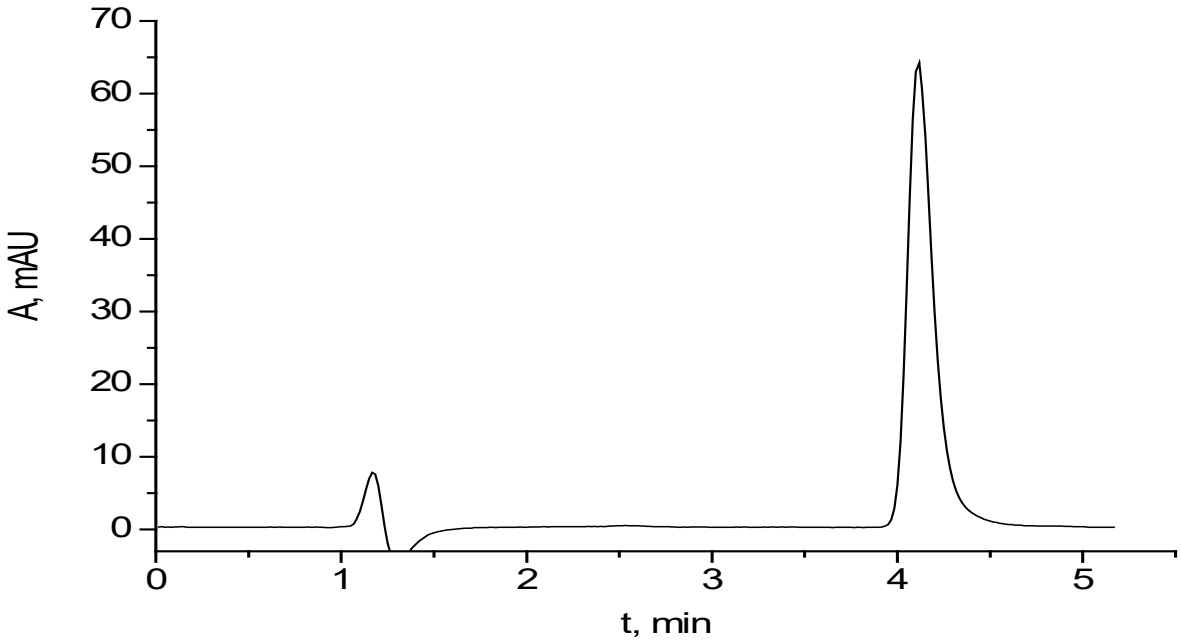


Fig. 3.6. Cromatograma soluției de spironolactonă, 20 mg/l

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

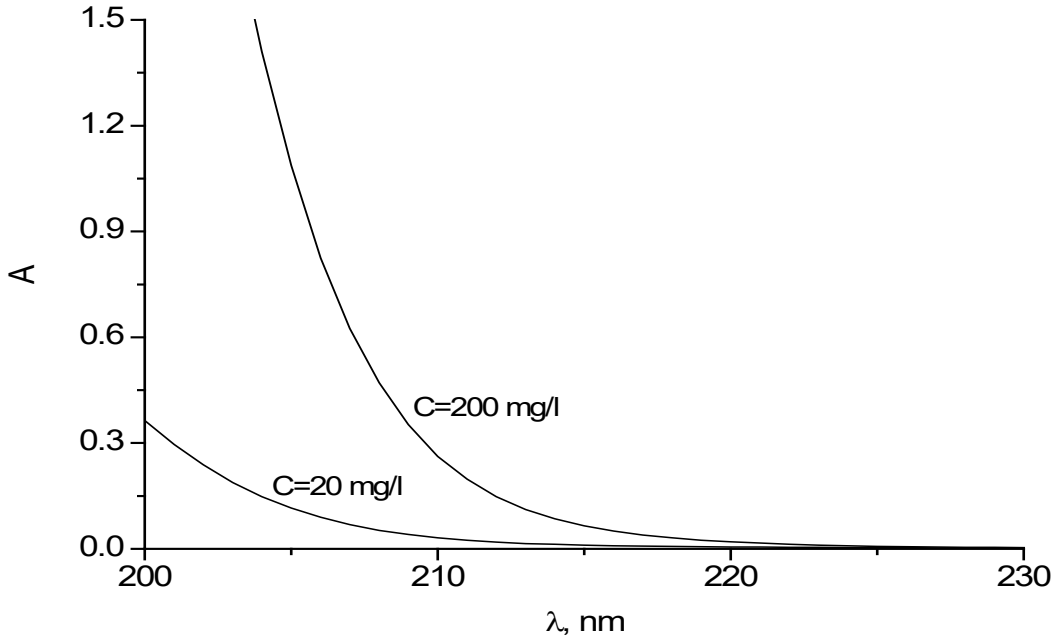


Fig. 3.7. Spectru de absorbție în UV a soluției apoase clorhidrat de L-arginină

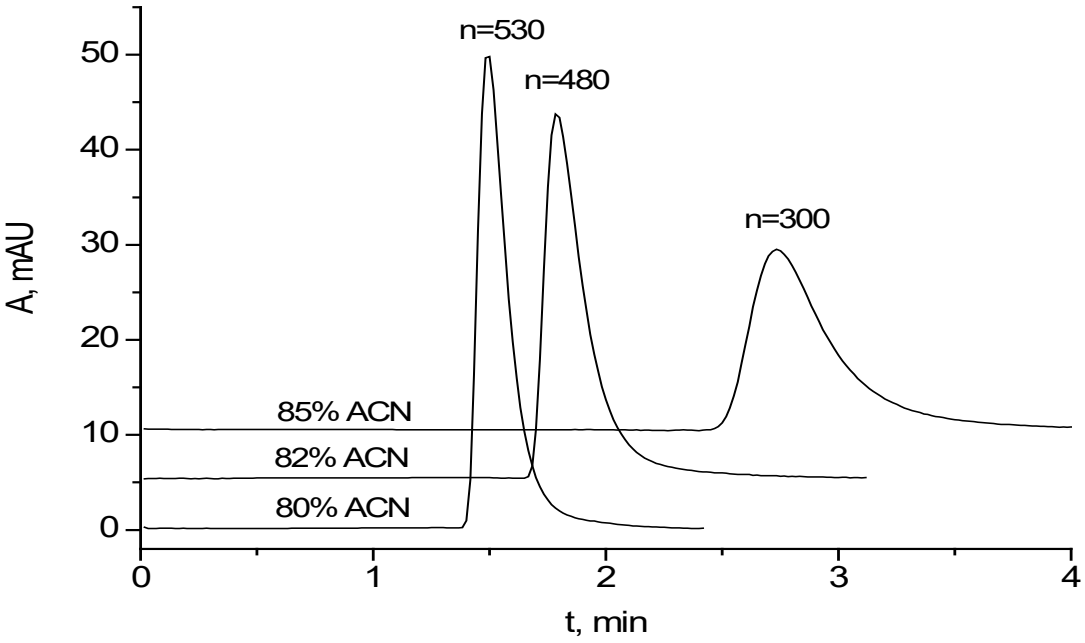


Fig. 3.8. Forma picului L-argininei și eficiența sistemului cromatografic în funcție de concentrația acetonitrilului în faza mobilă

Condiții cromatografice: coloana Extrasil CN, 3 μm, 4 x 75 mm; faza mobilă: acetonitril – tampon fosfat (0,01M H3PO4 + 0,01M KH2PO4), debit 1,5 ml/min.; detecție în UV, 210 nm.

Determinarea acidului glutamic

Principiul metodei constă în faptul că glutamatdehidrogenaza catalizează reacția:

L-glutamat + NAD^+ ↔ α-cetoglutarat +NAD-H2 + $NH4^+$

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

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

La 3 ml soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină) pH 9,0, se adaugă 0,2 ml NAD, 0,2 ml probă (acid glutamic) și 0,05 ml glutamatdehidrogenază (3 UA/mg) în 0,15 M sol. K2SO4. Se măsoară absorbanţa la 340 nm (E1) imediat după adăugarea enzimei și după 60 min. de incubare la 30oC (E2). Se determină diferența dintre E2 și E1.

Proba oarbă se prepară în mod analog, doar că, în loc de acid glutamic, se adaugă 0,2 ml H2O. La 3 ml soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină, pH 9), se adaugă 0,2 ml NAD, 0,2 ml H2O.

Mersul determinării. La 0,25 ml 0,5M soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină), cu pH-ul 9, s-au adăugat 0,02 ml NAD, 0,02 ml probă diluată și 0,010 ml glutamatdehidrogenază (1,5 UA/mg) în 0,15 M sol. K2SO4 și s-a agitat. Am citit absorbanţa la 340 nm (E1) imediat după adăugarea enzimei și după 60 min. incubare la 30oC (E2). S-a determinat diferența E2-E1. Proba oarbă s-a preparat în mod analog, doar că, în loc de acid glutamic, s-a adăugat 0,02 ml H2O: La 3 ml 0,5M soluție tampon de glicină/hidrazină (0,5M glicină, 0,4M hidrazină), cu pH-ul 9, s-au adăugat 0,02 ml NAD și 0,02 ml H2O. Această metodă de asemenea a fost inclusă în ***Monografia farmacopeică Neamon-hepa.*** În continuare sunt redați alți parametri de calitate, incluși în aceeași ***Monografie farmacopeică Neamon-hepa***.

Masa medie și devieri de la masa medie ale capsulelor intacte

Determinarea se efectuează conform prevederilor Farmacopeii Europene.

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

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

Masa medie și devieri de la masa medie ale conținutului capsulelor

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

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

Dizolvare

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

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

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

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

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

3.3. Sinteza capitolului 3

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

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

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

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

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

4.1.1. Determinarea toxicității acute a produsului CB-12

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

Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile. În timpul observațiilor au fost înregistrate: comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. De asemenea au fost înregistrate timpul apariției fenomenelor de intoxicație și decesul animalelor. Vizual, am determinat tabloul clinic al intoxicației.

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

Rezultate

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Administrarea produsului CB-12 în doze de 300, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 24 de ore (300 mg/kg) și în decurs de 24-48 de ore, la administrarea produsului CB-12 în doza de 2000 mg/kg). La două animale am remarcat diaree, care s-a normalizat pe parcursul a 24 de ore.

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

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

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

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

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

Datele autopsiei (necropsiei)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.1.2. Determinarea inofensivității CB-12 asupra analizatorului auditiv

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

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

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

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

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

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

Evaluarea auzului – înainte de experiment și după tratament.

- Otoscopie – AD (urechea dreapta), AS (urechea stângă)
- Reflexul Preyer la zgomot de 80 dB *(deciBell)*
- Înregistrarea otoemisiilor acustice tranzitorii (TOEA) și a otoemisiilor acustice pe produs de distorsiune (PDOEA) - (determinarea funcției urechii interne) [2, 4, 7].

Rezultate

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

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

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

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

Tabelul 4.5. Inofensivitatea ototoxică a produsului CB-12

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bacterii aerobe gram-negative - Neisseria. Ciprofloxacina este activă *in vitro* împotriva *Neisseria meningitidis* și împotriva majorității tulpinilor producătoare de *N. gonorrhoeae*. MIC90 de ciprofloxacină este de 0,004-0,06 mcg/mL pentru *N. meningitidis* și de 0,002-0,05 mcg/mL pentru cele mai multe producătoare de *N. gonorrhoeae.*

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

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

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

Astfel putem constata:

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

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

4.2. Evaluarea inofensivității produsului NH-01

4.2.1. Determinarea toxicității acute a produsului NH-01

Rezultatele investigațiilor pe șoareci

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.3.1. Determinarea toxicității acute a produsului CAF-01

Rezultatele administrării CAF-01 la șoareci

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

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

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

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

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

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

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

Rezultatele administrării la șobolani

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

Administrarea produsului CAF-01 în doze de 300, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg). La două animale am constatat diaree, care au revenit la normal pe parcursul a 24 de ore.

În primele trei zile după administrarea preparatelor studiate în doze de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost remarcate: somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după una-două zile.

În baza rezultatelor preclinice (tabelul 4.12), la șobolani a fost estimat $LD_{50} > 5000$ mg/kg.

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

La necropsie, modificări patologice vizibile la examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel martor, la ambele metode de administrare, nu au fost constatate [67, 77].

Tabelul 4.12. Mortalitatea în cadrul toxicității acute la șobolani

Doza, mg/kg	Numărul total de animale animalelor	Numărul deceselor
Lotul-martor	6	-
CAF-01 50 mg/kg	6	-
CAF-01 300 mg/kg	6	-
CAF-01 600 mg/kg	6	-
CAF-01 2000 mg/kg	6	-

Potrivit rezultatelor experimentale, CAF-01, administrată unimomentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani), practic nu manifestă efecte toxice. La șoareci, administrarea intragastrală și cea intraperitoneală nu au provocat nici decesul animalelor și nici modificări macroscopice ale organelor interne. La șobolani, în urma investigațiilor efectuate conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD),* s-a constatat că CAF-01 posedă toxicitate redusă: clasa de toxicitate 5 și LD_{50} estimat > 5000 mg/kg.

Rezultatele cercetării pot servi ca premisă pentru evaluarea toxicității subacute și a celei cronice ale produsului medicamentos combinat CAF-01.

4.3.2. Determinarea toxicității subcronice a produsului CAF-01 (Flamena, emulsie)

Influența preparatului asupra supraviețuirii și masei corporale. Pe parcursul studiului nu s-au constatat decese, modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor și cele experimentale. Șobolanii erau în mișcare activă, consumau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții – păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpare, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

De asemenea, în timpul desfășurării experimentului, nu s-a constatat decesul animalelor de laborator, ceea ce indică cumularea redusă a preparatului testat și tendința de dezvoltare a obișnuinței farmacologice în dozele cercetate.

Rezultatele studierii dinamicii a masei corporale a șobolanilor privind influența CAF-01, administrată timp de 30 de zile, sunt expuse în tabelul 4.13.

Potrivit datelor obținute, masa animalelor a crescut nesemnificativ, uniform pe toată perioada studiului, precum în lotul-martor, așa și în lotul, căruia i s-a administrat doza de 100 mg/kg. În lotul care a administrat doza de 1000 mg/kg, nu s-a constatat creșterea masei corporale. Nicio diferențiere ce ține de nivelul de dozare nu s-a remarcat. Însă nu în toate loturile creșterea ponderală era veridică față de masa inițială.

După decapitare și prepararea organelor, s-a efectuat cântărirea lor, cu stabilirea următoarelor rezultate: la animalele din lotul în care s-a administrat CAF-01 100 mg/kg, în comparație cu cele din lotul-martor, după 30 de zile, s-a constatat o micșorare a masei rinichilor și a splinei ($p < 0,01$). În lotul CAF-01 1000 mg/kg, în comparație cu lotul-martor, după 30 de zile, s-a remarcat o micșorare a masei rinichilor, a splinei ($p < 0,01$) și a cordului ($p < 0,05$) (tabelul 4.14).

Referitor la indicele raportului masa ficatului/masa corpului, putem stabili o tendință de creștere a indicelui respectiv în loturile experimentale, îndeosebi în cele cu doza de 1000 mg/kg, și mai puțin în cele cu doza de 100 mg/kg, dar aceste devieri s-au dovedit a fi fără relevanță statistică (tabelul 4.14). Deci în urma administrării produsului medicamentos, am sesizat o majorare nesemnificativă a masei ficatului.

Rezultatele investigațiilor hematologice

Rezultatele investigațiilor hematologice au demonstrat faptul că administrarea produsului medicamentos testat nu modifică indicii eritrocitari. Nivelul eritrocitelor, hemoglobinei, hematocritului nu s-a modificat. Potrivit rezultatelor obținute, la administrarea CAF-01 1000 și, respectiv, 100 mg/kg, numărul leucocitelor se micșorează autentic față de valorile lotului-martor (tabelul 4.15).

În loturile supuse acțiunii CAF-01, în ambele doze, s-a înregistrat o limfopenie evidentă, manifestată prin micșorarea veridică a numărului absolut de limfocite. Influența produsului medicamentos CAF-01 asupra formulei leucocitare este prezentată în tabelul 4.16. Cercetările efectuate indică o diminuare veridică a nivelului neutrofilelor segmentate și o intensificare relativă a nivelului limfocitelor la administrarea produsului CAF-01 la 1000 mg/kg și, respectiv, 57,5 ± 1,78%, față de valorile lotului-martor 47,3 ± 1,75% ($p < 0,01$).

Așadar, după o lună de administrare, substanța cercetată poate provoca leucopenie și limfopenie dozo-dependentă (mai evident la doza de 1000 mg/kg), cu o diminuare neesențială a nivelului neutrofilelor segmentate și o intensificare relativă a nivelului limfocitelor, în comparație cu valorile din lotul-martor.

Rezultatele investigațiilor biochimice

În tabelele 4.17-4.22 sunt prezentate datele referitoare la influența CAF-01 asupra indicilor biochimici de bază ai sângelui șobolanilor albi, la studierea toxicității subacute. În loturile experimentale și cele de referință s-au determinat numeroși parametri, ce caracterizează metabolismele glucidic, proteic și lipidic, funcțiile ficatului, precum și indicii de bază ai stresului oxidativ și ai sistemului de protecție antioxidantă.

La administrarea CAF-01, modificări relevante ale indicilor proteinei totale la animalele din loturile de experiență, în raport cu cele din lotul-martor, nu au fost înregistrate. În același timp, se constata o majorare statistic semnificativă a activității ureei, albuminei și creatininei la ambele doze cercetate (tabelul 4.17). Rezultatele respective sunt caracteristice pentru modificările metabolismului azotic ale preparatului studiat în doze toxice.

Influența preparatului CAF-01 asupra stării funcționale a ficatului a fost evaluată prin studierea activității transaminazelor AlAT, AsAT și a fosfatazei alcaline (FA). Din datele prezentate în tabelul 4.18 reiese că produsul cercetat în dozele de 100 şi 1000 mg/kg determină o atenuare statistic semnificativă dozodependentă a activității AsAT ($p < 0,05$ la doza de 100 mg/kg și $p < 0,01$ la 1000 mg/kg), iar activitatea AlAT și FA nu se modifică. Deci preparatul CAF-01 nu manifestă efecte hepatotoxice. Fiind administrat în dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg timp de 30 de zile, CAF-01 nu provoacă modificări cu semnificație statistică ale nivelului glicemiei, colesterolului total și trigliceridelor serice (tabelul 4.19). Produsul cercetat nu modifică esențial concentrația de calciu și fosfor (tabelul 4.20). Totodată, menționăm faptul că valorile medii ale acestui indice nu depășesc limita de sus a normei de referință pentru calciu, care oscilează între 2,25 și 2,75 mmol/l. Astfel, administrarea în dozele cercetate timp de 30 de zile nu provoacă nici tulburări ale metabolismelor proteic, glucidic, lipidic și mineral, nici dereglări în funcțiile ficatului.

Potrivit datelor expuse în tabelul 4.21, rezultă că administrarea produsului CAF-01 șobolanilor albi timp de 30 de zile nu influențează principalii indici ai stresului oxidativ – AGEs, PPOA și AIM, cu excepția PPOA care crește la administrarea dozei de 100 mg/kg. Rezultatele investigațiilor expuse în tabelul 4.22 demonstrează faptul că CAF-01 nu modifică AAT-ABTS, ci reduce veridic AAT-CUPRAC (771,8 ± 20,51 – lotul-martor, CAF-01 100 mg/kg - 396,4 ± 50,51 și 418,5 ± 46,30 nM/L - CAF-01 1000 mg/kg, $p < 0,001$), ceea ce ar putea fi legat de reducerea rezervelor de antioxidanți (AO) hidrosolubili. Paralel, se înregistrează creșterea statistic veridică a nivelului SH-grupe în proteinele și albuminele serice, mai pronunțată la administrarea CAF-01 în doza de 100 mg/kg, fapt ce potențează sistemul antioxidant prin reducerea deficitului de AO hidrosolubili. Astfel, administrarea CAF-01 în dozele cercetate timp de 30 de zile nu manifestă acțiune toxică asupra metabolismelor proteic, lipidic și mineral, nu dereglează funcțiile ficatului la șobolanii albi. Substanțele medicamentoase testate influențează pozitiv echilibrul dintre sistemele pro- și antioxidante. În același timp, este cunoscută importanța disfuncțiilor ce au loc în sistemele respective pentru etiologia SSN [67, 78].

REZULTATELE INVESTIGAŢIILOR FARMACOLOGICE

Tabelul 4.13. Influența CAF-01 asupra dinamicii masei corporale

Lotul de studiu	Masa în prima zi (g) M±m	Masa în a 30-a zi (g) M±m
Lot martor	226,9 ± 10,13 (100%)	235,6 ± 10,63 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	232,5 ± 7,50* (118,9%)	231,9 ± 6,88* (112,7%)
CAF-01 100 mg/kg	230,0 ± 8,24* (116,8%)	223,1 ± 8,01 (108,5%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, $p<0,05$.

Tabelul 4.14. Influența CAF-01 asupra indicilor de masă a organelor (raportul masa organului/masa corpului)

Lotul de studiu	Cordul (g) M±m	Ficatul (g) M±m	Pulmonii (g) M±m	Rinichii (g) M±m	Splina (g) M±m
Lot martor	1,36 ±0,09 (100%)	8,67±0,38 (100%)	2,12±0,09 (100%)	1,07±0,06 (100%)	0,92±0,06 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	0,99 ±0,06* (72,8%)	7,06±0,48* (81,4%)	1,78±0,09* (84%)	0,83±0,01** (77,6%)	0,72±0,03** (78,3%)
CAF-01 100 mg/kg	1,06 ±0,03* (77,9%)	8,87±0,27 (102,3%)	1,82±0,13 (85,9%)	0,99±0,01 (92,5%)	0,70±0,04** (76,1%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, $p<0,05$; ** – $p<0,01$.

REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR HEMATOLOGICE

Tabelul 4.15. Influența CAF-01 asupra indicilor sângelui periferic

Lotul de studiu	Eritrocite, $x10^{12}$ M±m	Hemoglobină, g/L M±m	Hematocrit, l/L M±m	Leucocite, $x10^9$ M±m	Limfocite $x10^9$ M±m
Lot martor	8,18±0,36 (100%)	171,6±10,68 (100%)	0,47±0,02 (100%)	9,25±0,19 (100%)	4,60±0,12 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	8,28±0,52 (101%)	176,5±10,87 (103%)	0,49±0,03 (104%)	6,73±0,41*** (73%)	3,61±0,25 ** (78%)
CAF-01 100 mg/kg	8,28±0,16 (101,2%)	164,3±3,41 (96%)	0,49±0,01 (103%)	5,70±0,27*** (62%)	3,81±0,16 ** (83%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p<0,05; ** – p<0,01;

Tabelul 4.16. Influența CAF-01 asupra formulei leucocitare

Lotul de studiu	Nesegmentate, % M±m	Segmentate, % M±m	Eozinofile 10^3/mL M±m	Bazofile, % M±m	Limfocite, % M±m	Monocite, % M±m
Lot martor	3,63±0,46 (100%)	37,4±2,11 (100%)	4,71±0,61 (100%)	1,00±0,00 (100%)	47,3±1,75 (100%)	7,38±1,07 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	4,00±0,72 (110%)	31,4±1,71 (84%)	0,00±0,00 (0%)	0,00±0,00 (0%)***	57,5±1,78 (122%)**	7,63±0,78 (103%)
CAF-01 100 mg/kg	4,63±0,75 (127%)	33,4±2,76 (89%)	3,17±0,70 (67%)	0,00±0,00 (0%)	51,6±2,61 (109%)	7,75±0,84 (105%)

** – p<0,01; *** – p<0,001.

REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR BIOCHIMICE

Tabelul 4.17. Influența CAF-01 asupra indicilor metabolismelor proteic și azotic

Lotul de studiu	Prot. tot., g/L M±m	Albumina, g/L M±m	Ureea, mM/L M±m	Creatinina, µM/L M±m
Lot martor	64,1±0,76 (100%)	31,1±0,59 (100%)	4,67±0,26 (100%)	62±3,79 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	62,1±1,18 (97%)	33,9±0,69** (109%)	5,49±0,23** (118%)	64,2±3,28*** (104%)
CAF-01 100 mg/kg	63,3±1,33 (99%)	34,3±0,55*** (110%)	5,46±0,21*** (117%)	67,5±2,78*** (109%)

** – p<0,01; *** – p<0,001

Tabelul 4.18. Influența CAF-01 asupra nivelului transaminazelor AlAT și AsAT și fosfatazei alcaline în serul sangvin

Lotul de studiu	AlAT, u/L M±m	AsAT, u/L M±m	Fosfataza alcalină, u/L M±m
Lot martor	22,1±0,68 (100%)	30,4±0,90 (100%)	206,5±11,24 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	15,8±0,61 (71%)	25±1,13** (82%)	208,5±11,41 (101%)
CAF-01 100 mg/kg	15,6±0,82 (70%)	25,6±1,63* (84%)	180,8±11,33 (88%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p<0,05; ** – p<0,01.

Tabelul 4.19. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai metabolismelor glucidic și lipidic

Lotul de studiu	Glucoză, mM/L M±m	Colesterol, mM/L M±m	Trigliceride, mM/L M±m
Lot martor	4,85±0,14 (100%)	4,71±0,07 (100%)	1,57±0,01 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	4,96±0,13 (102 %)	4,92±0,07 (104%)	1,64±0,02** (104%)
CAF-01 100 mg/kg	4,95±0,10 (102%)	5,09±0,13* (108%)	1,59±0,01 (101%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p<0,05; ** – p<0,01.

Tabelul 4.20. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai metabolismului mineral

Lotul de studiu	Calciu, mM/L M±m	Fosfor, mM/L M±m
Lot martor	2,41±0,03 (100%)	1,67±0,05 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	2,23±0,08 (93%)	1,70±0,07 (102%)
CAF-01 100 mg/kg	2,29±0,03** (95%)	1,79±0,06 (107%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p<0,05; ** – p<0,01.

Tabelul 4.21. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai stresului oxidativ

Lotul de studiu	AGEs, µg/ml M±m	PPOA, µM/L M±m	AIM, mM/L M±m
Lot martor	1435,8±23,76 (100%)	21,2±1,60 (100%)	0,54±0,01 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	1490,2±93,43 (104%)	24,2±1,70 (114%)	0,54±0,01 (100%)
CAF-01 100 mg/kg	1447,4±34,53 (101%)	29,9±3,41** (141%)	0,53±0,01 (98%)

AGEs – produșii finali de glicare avansată; PPOA – produșii proteici de oxidare avansată; AIM – albumina ischemic modificată.

** – p<0,01.

Tabelul 4.22. Influența CAF-01 asupra principalilor indici ai sistemului antioxidant și asupra nivelului SH-grupe în proteinele și albuminele serice

Lotul de studiu	AAT-ABTS, mM/L M±m	AAT-CUPRAC, nM/L M±m	SH-grupe în prot., µM/g. prot. M±m	SH-grupe în albumine, µM/g.album. M±m
Lot martor	3,58±0,07 (100%)	771,8±20,51 (100%)	7,59±0,56 (100%)	3,67±0,28 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	3,63±0,07 (101%)	418,5±46,30*** (54%)	8,37±0,70 (110%)	4,59±0,39 (125%)
CAF-01 100 mg/kg	3,65±0,08 (102%)	396,4±50,51*** (51%)	9,67±0,73* (127%)	5,33±0,48** (145%)

* – diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p<0,05;

** – p<0,01; *** – p<0,001

REZULTATELE INVESTIGAŢIILOR FARMACOLOGICE

Tabelul 4.13. Influența CAF-01 asupra dinamicii masei corporale

Lotul de studiu	Masa în prima zi (g), M ± m	Masa în a 30-a zi (g), M ± m
Lotul-martor	226,9 ± 10,13 (100%)	235,6 ± 10,63 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	232,5 ± 7,50* (118,9%)	231,9 ± 6,88* (112,7%)
CAF-01 100 mg/kg	230,0 ± 8,24* (116,8%)	223,1 ± 8,01 (108,5%)

* Diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p < 0,05.

Tabelul 4.14. Influența CAF-01 asupra indicilor de masă ai organelor (raportul masa organului/masa corpului)

Lotul de studiu	Cordul (g), M ± m	Ficatul (g), M ± m	Pulmonii (g), M ± m	Rinichii (g), M ± m	Splina (g), M ± m
Lotul-martor	1,36 ± 0,09 (100%)	8,67 ± 0,38 (100%)	2,12 ± 0,09 (100%)	1,07 ± 0,06 (100%)	0,92 ± 0,06 (100%)
CAF-01 1000 mg/kg	0,99 ± 0,06* (72,8%)	7,06 ± 0,48* (81,4%)	1,78 ± 0,09* (84%)	0,83 ± 0,01** (77,6%)	0,72 ± 0,03** (78,3%)
CAF-01 100 mg/kg	1,06 ± 0,03* (77,9%)	8,87 ± 0,27 (102,3%)	1,82 ± 0,13 (85,9%)	0,99 ± 0,01 (92,5%)	0,70 ± 0,04** (76,1%)

* Diferență statistic semnificativă față de lotul-martor, p < 0,05; ** – p < 0,01.

Rezultatele cercetării patomorfologice

Rezultatele cercetării histologice asupra organelor de necesitate vitală a CAF-01

Obiectele au fost fixate în soluție de formalină de 10% și în parafină. Secțiunile organelor interne au fost colorate cu hematoxilină-eozină, după Van Gison.

La examinarea preparatelor histologice a organelor studiate ale animalelor din lotul-martor și celor tratate cu produsele testate în doză de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg, diferențe nu s-au remarcat.

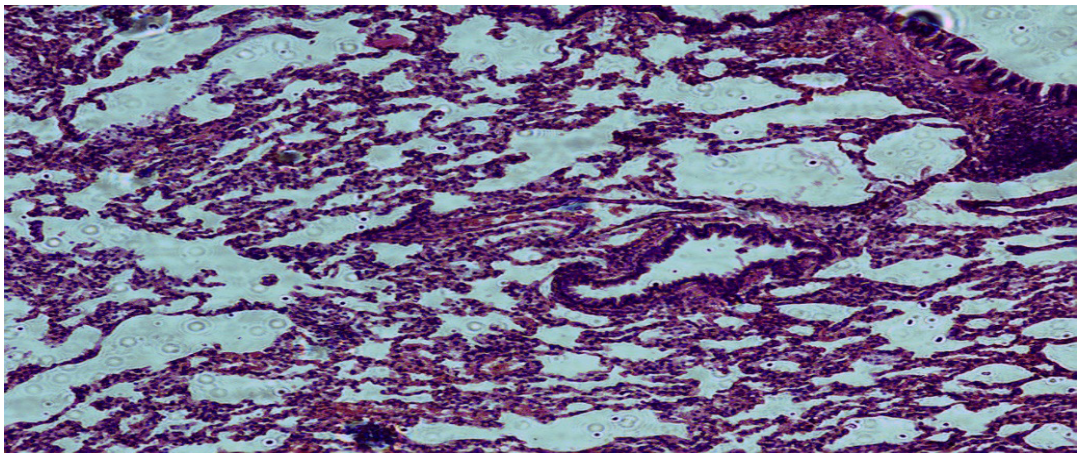


Fig. 4.1. *Șobolani CAF-01-1000 mg/kg 14. Pulmonii. a) sectoare de emfizem cu dilatarea alveolelor, b) exfolierea epiteliului ciliar, c) congestie vasculară acută. H-E x 90. CAF-01*

a) sectoare de emfizem cu dilatarea alveolelor, b) bronhiile mari - fără modificări, nucleele celulelor bine conturate, epiteliul ciliar exfoliat, c) congestie venoasă acută, d) nucleele epiteliului alveolar sunt clar delimitate, citoplasma – oxifilă. Epiteliul bronhiilor intrapulmonare – fără schimbări. Modificări inflamatorii acute în țesutul pulmonar nu s-au depistat.

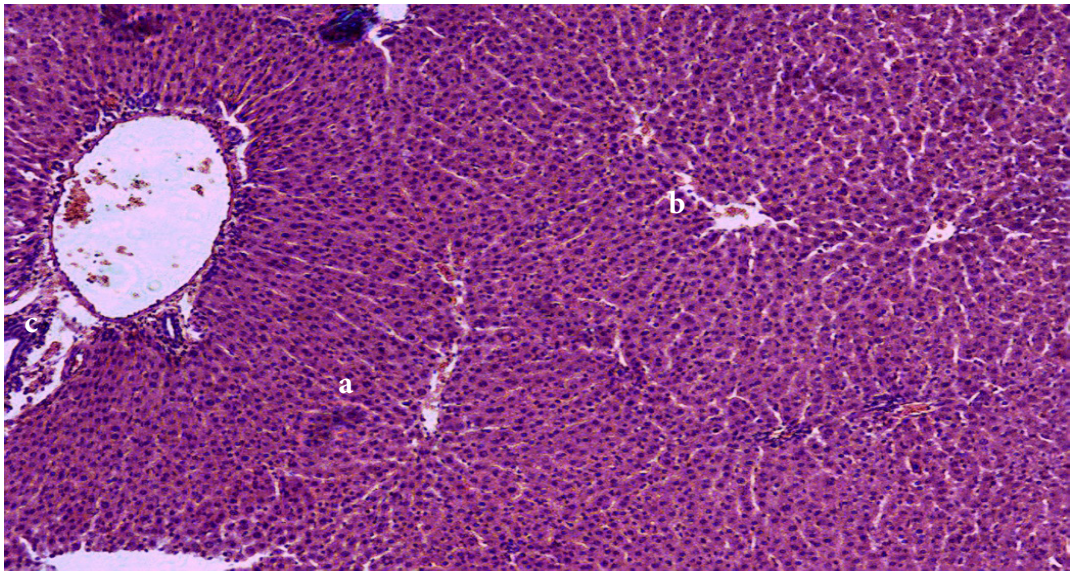


Fig. 4.2. *Șobolani CAF-02-100 mg. Ficatul cu. a) tumescența citoplasmei cu formare de granule în zonele perilobulare, b) dilatarea spațiilor Disse, c) edem pericentrolobular. H-Ex90 CAF-02*

Structura trabeculară a ficatului în secțiune, obținută din diferite obiecte a lobilor ficatului, modificări nu prezenta *(fig. 4.2)*. Limitele hepatocitelor bine determinate (a), citoplasma granulară, slab oxifilă. Dereglări ale proprietăților tinctoriale ale citoplasmei nu s-au observat. Nucleele conțin nucleotide bine conturate și cu suficientă cromatină. Membrana nucleară este subțire. Sinusoidele hepatice - pline cu sânge (b) și edemațiate preponderent pericentrolobular (c).

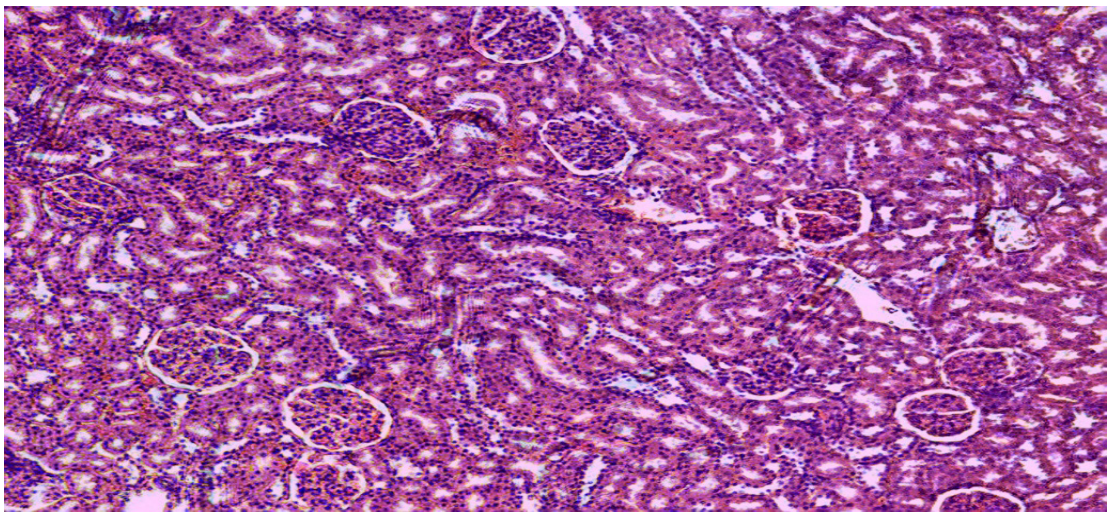


Fig. 4.3. *Șobolani CAF-01-1000 mg. Rinichi. a) intumescența citoplasmei celulelor epiteliale cu exfoliere, oxifilă, b) dilatarea tubilor renali contorți și glomerulelor dintre capsulă și capilarele glomerulare. H-E x 140 CAF-01*

Capilarele glomerulare și **țesutului** interstițial al rinichilor sunt congestionate *(fig. 4.3.),* citoplasma epiteliului tubilor proximali a rinichilor - oxifilă (a), limitele celulelor se disting bine, nucleele nefroepiteliului sunt deschise și clare, tubii renali contorți sunt dilatați cu conținut coloid (b).

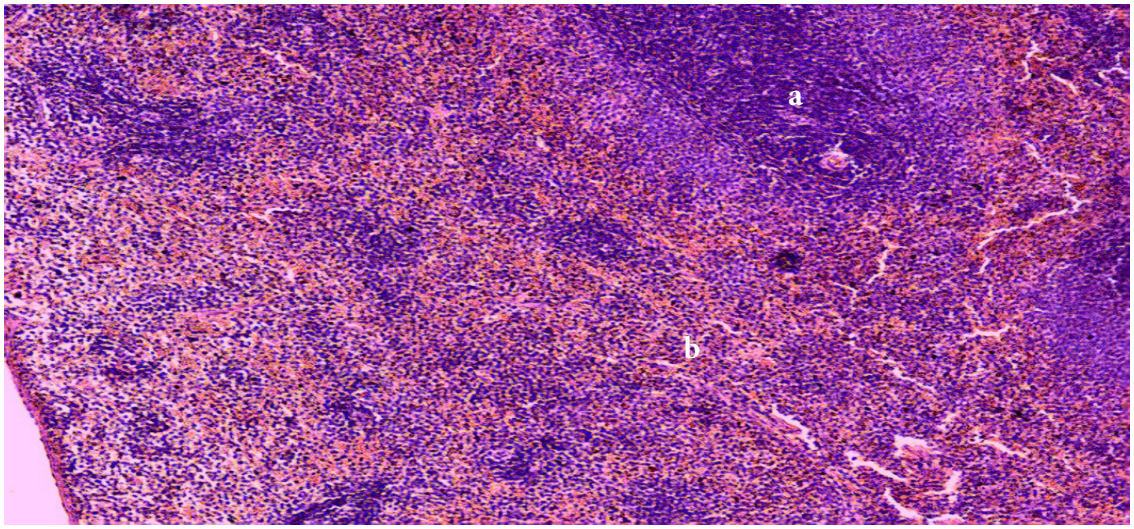


Fig. 4.4. *Șobolani CAF-02-1000 mg. Splina: a) foliculi limfoizi cu nuclee bine conturate, hipercrome, b) structura pulpei roșii – păstrată. H-E x 140 CAF-02*

Elementele limforeticulare ale splinei *(fig. 4.4.)* - cu nuclee clar delimitate (a), distrugere sau atrofie de foliculi nu se determină. În pulpa roșie a splinei (b) se observă focare de hematopoieză cu megacariocite unice.

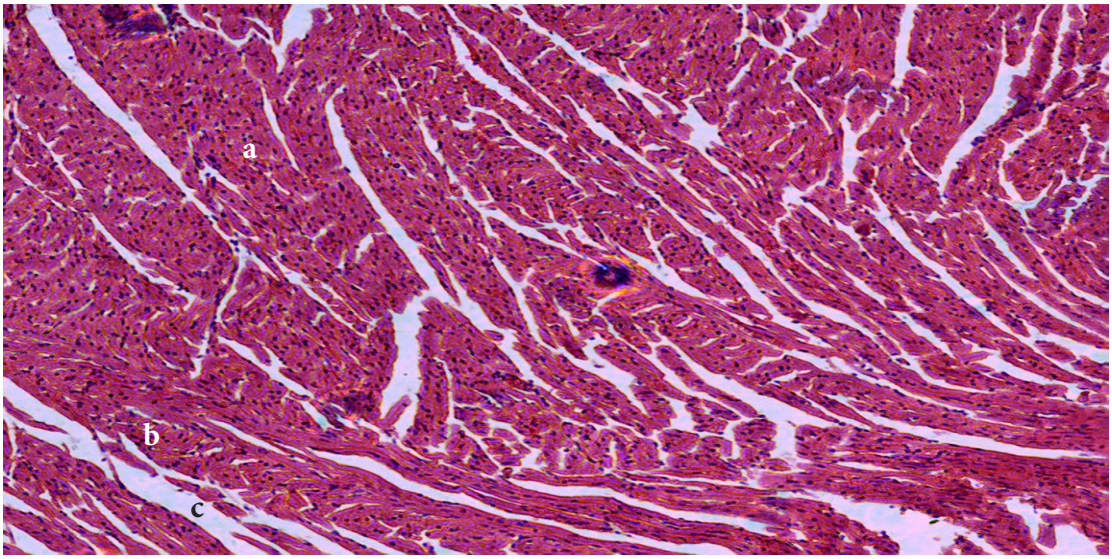


Fig. 4.5. *Șobolani CAF01-100 mg. Cordul cu: a) nucleele cardiomiocitelor sunt conturate, hipercrome; b) striațiile cardiomiocitelor sunt păstrate; c) edem interfibrilar. H-E x 90*

La investigația histologică *(fig. 4.5)* în structura cardiomiocitelor, cordul prezintă: nuclee conturate, hipercrome (a), striațiile cardiomiocitelor păstrate (b) și un edem neînsemnat interfibrilar difuz (c).

Astfel, conform rezultatelor studiului histologic, administrarea intravenoasă zilnică a preparatelor testate în doze de 100 și 1000 mg/kg timp de 30 de zile și a loturilor-martor la șobolani de ambele sexe nu cauzează iritații, inflamarea sau distrugerea țesutului în locul injectării și nu este însoțită de dezvoltarea modificărilor degenerative și distructive, precum și de focare sclerotice în celulele parenchimatoase și stroma organelor interne.

Modificări patomorfologice vizibile ale creierului, inimii, traheii, bronhiilor, plămânilor, esofagului și intestinelor, ficatului, pancreasului, splinei, rinichilor, vezicii urinare, ovarelor, la administrarea animalelor a substanței cercetate și la cele din lotul-martor nu au fost constatate. La examinarea cavităților toracică și abdominală, nu s-a depistat exsudat, nici modificări în amplasarea organelor interne nu s-au observat. Foițele parietală și viscerală ale pleurei și peritoneului – subțiri, lucioase și netede.

Rezultatele studiului efectuat au demonstrat: CAF-01 este practic netoxică și nu posedă proprietăți cumulative. Administrarea îndelungată a produsului medicamentos elaborat nu cauzează dezvoltarea proceselor toxice în organismul animalelor.

4.4. Determinarea inofensivității produsului Merion (MI)

4.4.1. Determinarea toxicității acute a produsului Merion

Rezultatele investigațiilor pe șoareci

Administrarea enterală

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

Monitorizarea procesului de alimentare și consumare a apei nu a evidențiat modificări statistic semnificative între loturile cercetate și cel martor. În a doua zi a studiului s-a remarcat o oarecare pierdere a greutății corporale la animalele din toate loturile, inclusiv din cel martor.

La administrarea substanței de referință și a dozei de 100 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile nu s-au constatat nici modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea MI în doze de 300, 1000 și 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea inițială pe parcursul primelor patru ore (300 mg/kg) și 24 de ore (pentru 1000, 2000 mg). La câte o femelă, căreia i s-au administrat doze de 1000 și 2000 mg/kg, s-a remarcat o diminuare a activității motorii, cu reacție redusă, apoi din ce în ce mai slabă la stimulii exogeni, cu dezvoltarea unei stări terminale *(gasping)* și decesul animalelor în decurs de 24 de ore la doza de 2000 mg/kg și 48 de ore la doza de 1000 mg/kg (tabelul 4.23). Ocazional, am sesizat convulsii.

LD_{50} conform metodei TG 423: *Acute Toxic Class Method* a fost estimată la 2500 mg/kg - practic netoxică (tabelul 4.24).

Din cauza imposibilității determinării LD_{100}, nu a fost posibilă determinarea LD_{50} după metoda Kerber [74].

Administrarea intraperitoneală

La administrarea dozei de referință, precum și a dozei de 100 mg/kg și supravegherea timp de șapte zile, ocazional, s-a constatat hipodinamie, cu revenirea la starea inițială pe parcursul a 24 de ore. La administrarea dozelor de 300, 600 și 1000 mg/kg, la toate animalele s-au remarcat: hipodinamie, diminuare a activității motorii, cu reacție redusă la stimulii exogeni și revenirea la starea normală pe parcursul a 24-48 de ore. La trei masculi, cărora li s-a administrat doza de 300 mg/kg, la patru – doza de 600 mg/kg și la toate animalele - doza de 1000 mg/kg, hipodinamia și reacția redusă la stimulii exogeni au evaluat cu dezvoltarea unei stări terminale și decesul pe parcursul a 24 de ore (tabelul 4.25). Convulsii s-au constatat ocazional.

Conform clasificării propuse de OECD, pentru administrarea intraperitoneală, MI a fost plasat în categoria 5, fiind catalogat ca preparat cu toxicitate redusă (tabelul 4.26).

Determinarea LD_{100} la doza de 1000 mg/kg ne-a dat posibilitatea de a stabili LD_{50} după metoda Kurber, care a constituit 525 mg/kg și de asemenea denotă un nivel minim de toxicitate a preparatului studiat (tabelul 4.27). Analiza datelor nu a evidențiat diferențe semnificative în dinamica de greutate corporală între animalele din lotul de studiu și cel martor. S-a observat o creștere ceva mai mare în greutate la animalele din lotul-martor, comparativ cu cele experimentale. Explorarea nu purta un caracter statistic semnificativ, ci unul de tendință.

La necropsie, la examinarea organelor interne precum: limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele, în loturile experimentale și cele martor, la ambele metode de administrare, modificări patologice vizibile nu au fost constatate.

Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că LD_0 pentru administrarea enterală este de 300 mg/kg, iar pentru cea parenterală – 100 mg/kg.

Procentajul maxim de letalitate LD_{17} pentru administrarea enterală a fost stabilit la dozele de 1000 și 2000 mg/kg. Astfel, matematic, s-a calculat posibilul LD_{25} = 1471 mg/kg, dozele LD_{50}, LD_{84}, LD_{100} nefiind stabilite pe parcursul experimentului. LD_{50} a fost estimată după metoda TG 423 la doza 2500 mg/kg.

Procentajul maxim de letalitate LD_{100} pentru administrarea parenterală a fost stabilit la doza 1000 mg/kg. După metoda Kerber, LD_{50} a fost stabilit la doza de 525 mg/kg. Astfel, matematic, s-a evaluat posibilul LD_{25} = 263 mg/kg și LD_{84} la doza de 840 mg/kg.

Rezultatele studiului denotă o toxicitate acută redusă atât la administrarea enterală, cât și la cea parenterală. Aceasta poate servi ca premisă pentru continuarea studiilor preclinice de determinare a toxicității cronice și a eficacității, cu planificarea ulterioară a studiilor clinice pentru produsul MI. În urma cercetărilor farmaceutice, a fost elaborat un nou produs combinat cu acțiune polivalentă. Pentru prima dată se propune, sub formă de suspensie, combinația dintre vitamine, microelemente și nanoparticule de Zn [67, 74].

Tabelul 4.23. Mortalitatea la determinarea toxicității acute a MI la administrarea enterală

Doza	femele		
	N animale	deces	% deces
Lot martor	6	-	0
100 mg/kg	6	-	0
300 mg/kg	6	-	0
1000 mg/ kg	6	1	17
2000 mg/kg	6	1	17

Tabelul 4.24. Determinarea clasei de toxicitate a MI conform TG 423: Acute Toxic Class Method (OECD) pentru administrarea enterală

Denumirea	Clasa de toxicitate	DL50/LD50 estimat mg/kg
MI	5 (practic netoxică)	2000 - 5000 = 2500

Tabelul 4.25. Mortalitatea la determinarea toxicității acute a MI la administrarea intraperitoneală

Doza	masculi		
	N animale	deces	% deces
Lot martor	6	-	0
100 mg/kg	6	-	0
300 mg/kg	6	3	0
600 mg/ kg	6	4	0
1000 mg/kg	6	6	17

Tabelul 4.26. Determinarea clasei de toxicitate a MI conform clasificării OECD pentru administrarea intraperitoneală

Denumirea	Clasa de toxicitate	DL50/LD50 estimat mg/kg
MI	5 (practic netoxică/slab toxică)	501-1250

Tabelul 4.27. Toxicitatea acută a MI la administrarea intraperitoneală la șoricei după metoda Kerber

Doza	100 mg/kg	300 mg/ kg	600 mg/kg	1000 mg/kg
Nr. de animale din lot	6	6	6	6
Nr. de animale decedate	0	3	4	6
A (diferența dintre două doze succesive)	200	300	400	-
B (media numărului de animale decedate dintre două doze succesive)	1,5	2,5	4,5	-
AxB	300	750	1800	-

Suma A x B = 2850

DL 50 = DL 100 – suma AxB/ n DL50 = 1000 mg/kg – 475 mg/kg = 525 mg/kg (LD50% după Kerber)

Rezultatele investigațiilor pe șobolani

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

Administrarea produsului MI în doze de 300 și 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 24 de ore (300 mg/kg) și 24-48 de ore (pentru 2000 mg). La două animale s-a remarcat diaree, care au revenit la normal pe parcursul a 24 de ore.

În primele trei zile după administrarea preparatelor studiate în doze de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost observate: somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după una-două zile.

În baza rezultatelor preclinice, la șobolani a fost estimat LD_{50} (tabelul 4.28).

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

La necropsie, modificări patologice vizibile la examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel martor, la ambele metode de administrare, nu au fost sesizate [49].

Tabelul 4.28. Toxicitatea acută a produsului MI la șobolani

Doza Mg/k	Numărul animalelor	Numărul deceselor
Lotul-martor	6	-
MI 50 mg/kg	6	-
MI 300 mg/kg	6	1
MI 600 mg/kg	6	1
MI 2000 mg/kg	6	2

4.4.2. Determinarea toxicității subcronice a produsului medicamentos

Merion (MI)

Influența preparatului asupra supraviețuirii și masei corporale. Pe parcursul studiului nu s-au constatat decese, modificări în comportamentul și în activitatea motorie spontană a animalelor din lotul-martor și cele experimentale. Șobolanii erau în mișcare activă, consumau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții – păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpare, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

De asemenea, în timpul desfășurării experimentului, nu s-a constatat decesul animalelor de laborator, ceea ce indică cumularea redusă a preparatului cercetat și tendința de dezvoltare a obișnuinței în dozele cercetate.

Rezultatele studierii dinamicii masei corporale a șobolanilor privind influența MI, administrată timp de 30 de zile, sunt expuse în tabelul 4.29. Potrivit datelor obținute, masa animalelor a rămas neschimbată la animalele din lotul- martor, uniform pe toată perioada studiului. În ambele loturi, cărora li s-a administrat produsul MI, s-a constatat micșorarea masei corporale în ziua sacrificării, comparativ cu prima zi de experiment ($p < 0,01$ pentru MI 100 mg/kg și $p < 0,05$ pentru

MI1000 mg/kg). Nicio diferențiere ce ține de nivelul de dozare nu s-a remarcat. Însă nu în toate loturile creșterea ponderală era veridică față de masa inițială.

După decapitare și prepararea organelor, s-a efectuat cântărirea lor, cu stabilirea următoarelor rezultate: la animalele, cărora li s-a administrat MI 100 mg/kg și MI 1000 mg/kg, în comparație cu cele din lotul-martor, după 30 de zile s-a remarcat o majorare dozo-dependentă a masei rinichilor 2,06 ± 0,24 (MI 1000 mg/kg), 2,02 ± 0,23 (MI 100 mg/kg) și 1,85 ± 0,09 – lotul-martor ($p < 0,05$). În lotul MI 1000 mg/kg, în comparație cu lotul-martor, după 30 de zile s-a observat o majorare a masei pulmonilor 3,33 ± 1,85 g, comparativ cu 2,70 ± 1,27 g în lotul-martor ($p < 0,05$).

Referitor la indicele raportului masa ficatului/masa corpului, putem constata că indicele respectiv nu diferă la animalele tratate cu MI de cele netratate. O ușoară tendință de creștere a indicelui respectiv, dar nesemnificativă statistic, s-a remarcat la MI 1000 mg/kg. Rezultatele datelor referitoare la masa organelor sunt indicate în tabelul 4.30.

Rezultatele investigațiilor hematologice

Rezultatele investigațiilor hematologice au demonstrat că administrarea produsului medicamentos testat nu modifică indicii eritrocitari. Nivelul eritrocitelor, hemoglobinei, hematocritului nu s-a modificat. Analiza rezultatelor obținute demonstrează că, la administrarea MI în dozele de 100 și 1000 mg/kg, numărul leucocitelor scade față de valorile lotului-martor, dar datele nu sunt statistic semnificative (tabelul 4.31).

Totodată, se observă o trombocitopenie statistic neconcludentă la administrarea MI 1000 mg/kg, cu 22% inferior față de lotul-martor, $p < 0,05$ (tabelul 4.32).

În loturile MI 100 și MI 1000 mg/kg se constată tendința de micșorare, comparativ cu lotul-martor, a indicilor RDW-SD, RDW-CV, PDW, MPV, fapt ce indică acțiunea nefavorabilă a produsului în doze majorate asupra volumului și repartizării eritrocitelor și devierii lor standarde (tabelul 4.33).

Produsul studiat nu manifesta anumite efecte nefavorabile asupra formulei trombocitare (tabelul 4.34).

În loturile supuse acțiunii MI în ambele doze, s-a înregistrat o limfopenie, manifestată prin reducerea numărului absolut de limfocite.

Influența produsului medicamentos MI asupra formulei leucocitare este prezentată în tabelele 4.35-4.36. Cercetările efectuate indică o majorare a nivelului neutrofilelor segmentate și o micșorare statistic relativă a nivelului neutrofilelor nesegmentate la administrarea produsului MI, față de valorile lotului-martor: la 100 mg/kg – $p < 0,01$, iar la 1000 mg/kg – $p < 0,05$.

Rezultatele investigațiilor biochimice

În tabelele 4.37-4.43 sunt prezentate datele despre influența MI asupra indicilor biochimici de bază ai sângelui șobolanilor la studierea toxicității subacute. În loturile experimentale și în cele de referință s-au determinat numeroși parametri, ce caracterizează metabolismele glucidic, proteic

și lipidic, funcțiile ficatului, precum și indicii de bază ai stresului oxidativ și ai sistemului de protecție antioxidantă.

La administrarea produsului MI în ambele doze cercetate, modificări relevante ale indicilor metabolismelor proteic și azotic la animalele din loturile de experiență, în raport cu cele din lotul-martor, nu au fost înregistrate. Produsul studiat nu manifesta acțiune negativă asupra unor astfel de indici ai metabolismului proteic precum proteina totală și creatinina, excepție fiind majorarea până la 7,69 ± 1,84 mM/L, în comparație cu 6,05 ± 1,69 mM/L la lotul-martor, $p < 0,05$ (tabelul 4.37).

Influența preparatului MI asupra stării funcționale a ficatului a fost evaluată prin studierea activității transaminazelor AlAT, AsAT și a fosfatazei alcaline (FA). Din datele prezentate în tabelul 4.38 reiese că produsul cercetat în dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg determină o reducere nesemnificativă a activității AlAT, AsAT și o tendință de sporire a activității FA, dar fără relevanță statistică. În schimb provoacă modificări neunivoce ale funcționalității PCE, enzimă sintetizată în celulele parenchimale hepatice și care reflectă funcția proteosintetică a ficatului: în doza de 100 mg/kg - tendința de diminuare, iar în doza de 1000 mg/kg – sporirea dublă a activității enzimei date cu 96% superioară față de lotul-martor ($p < 0,001$). Deci preparatul MI nu manifestă efecte hepatotoxice considerabile.

Produsul studiat, fiind administrat în dozele de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg timp de 30 de zile, nu provoacă modificări cu semnificație statistică ale nivelului glicemiei, colesterolului și trigliceridelor serice (tabelul 4.39).

În cadrul cercetărilor metabolismului mineral, am stabilit că MI 100 și 1000 mg/kg nu modifică nivelul calcemiei, în schimb determină tendința de creștere a nivelului fosforului seric, în comparație cu lotul-martor, dar fără relevanță statistică (tabelul 4.40). Astfel, administrarea produsului MI în ambele doze cercetate timp de 30 de zile nu provoacă nici tulburări ale metabolismelor proteic, glucidic, lipidic și mineral și nici dereglări în funcțiile ficatului.

Prin urmare, conform datelor expuse în tabelul 4.41, rezultă că administrarea produsului studiat șobolanilor albi timp de 30 de zile influențează în mod diferit principalii indici ai stresului oxidativ: MI 100 mg/kg – manifestă proprietatea de a reduce statistic semnificativ valorile DAM, respectiv: 11,9 și 7,4 mM/l ($p < 0,001$) și PPOA și AIM, dar fără semnificație statistică și tendință de a crește nivelul AGE ($p > 0,05$). MI 1000 manifestă proprietatea de a reduce valorile DAM și AIM și de a majora neconcludent valorile PPOA și AGE.

Rezultatele investigațiilor expuse în tabelul 4.42 demonstrează: MI nu modifică AAT-ABTS, ci majorează veridic AAT-CUPRAC, ceea ce ar putea fi legat de sporirea rezervelor de antioxidanți (AO) hidrosolubili. Paralel, se înregistrează creșterea nivelului SOD, SH-grupelor proteinelor serice (4,32 ± 0,93 μM/g prot. la MI 100 mg/kg, comparativ cu 6,81 ± 1,34 μM/g prot. – lotul-martor – $p < 0,001$), mai pronunțată deci fiind la administrarea emulsiei MI în doza de 100 mg/kg, fapt ce potențează sistemul antioxidant prin reducerea deficitului de AO hidrosolubili (tabelul 4.43).

Modificări patomorfologice vizibile ale creierului, inimii, traheii, bronhiilor, plămânilor, esofagului și intestinelor, ficatului, pancreasului, splinei, rinichilor, vezicii urinare, ovarelor, la administrarea animalelor a substanței cercetate, precum și a celor din lotul-martor, nu au fost constatate. La examinarea cavităților toracică și abdominală, nu s-a depistat exsudat. De asemenea nu s-au observat nici modificări în amplasarea organelor interne. Foițele parietală și viscerală ale pleurei și peritoneului – subțiri, lucioase și netede.

Tabelul 4.29. Influența MI asupra dinamicii masei corporale

Loturile de studiu	Masa 1 zi (g)	Masa 30 zi (g)
martor	171,9±3,72 (100%) M±m	171,3±10,26 (100%) M±m
MI-100 mg/kg	235,6±8,21*** (137%)	197,50±19,82** (115%)
MI- 1000 mg/kg	203,8±9,91*** (118%)	191,25±22,95* (112%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.30. Influența MI asupra dinamicii indicelui masa organ/masa corp

Loturile de studiu	Masa cord M±m	Masa ficat M±m	Masa pulmoni M±m	Masa rinichi M±m	Masa splina M±m
martor	1,49±0,16 (100%)	6,59±1,03 (100%)	2,70±1,27 (100%)	1,85±0,09 (100%)	1,29±0,17 (100%)
MI-100 mg/kg	1,67±0,37 (112%)	7,37±0,91 (112%)	2,73±1,35 (101%)	2,02±0,23* (109%)	1,17±0,29 (91%)
MI- 1000 mg/kg	1,56±0,16 (105%)	7,16±0,55 (109%)	3,33±1,85* (123%)	2,06±0,24* (111%)	1,30±0,14 (101%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelele statistice la cantitatea de celule și formula leucocitară

Tabelul 4.31. Rezultatele WBC, RBC, HGB, HLT a produsului MI

Loturile de studiu	WBC $*10^9$/L M±m	RBC $*10^{12}$/L M±m	HGB g/l M±m	HCT % M±m
martor	5,91±1,47 (100%)	7,44±0,90 (100%)	143,25±18,11 (100%)	19,43±2,20 (100%)
MI-100 mg/kg	5,04±0,87 (85%)	7,31±0,92 (98%)	137,50±14,25 (96%)	21,53±6,71 (111%)
MI- 1000 mg/kg	4,7±1,53 (80%)	7,83±0,47 (105%)	144,50±9,37 (101%)	19,54±1,76 (101%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.32. Rezultatele MCV, MCH, MCHC, PLT a produsului MI

Loturile de studiu	**MCV fL** M±m	**MCH pg** M±m	**MCHC g/dL** M±m	**PLT *10^9/L** M±m
martor	52,25±0,90 (100%)	19,24±0,73 (100%)	36,83±1,21 (100%)	499,25±176,54 (100%)
MI-100 mg/kg	50,39±2,33 (96%)	18,45±0,71 (95.9%)	36,61±1,48 (99%)	562,50±146,53 (113%)
MI- 1000 mg/kg	49,81±3,03 (95%)	18,51±0,83 (96%)	37,06±1,04 (101%)	391,50±109,66* (78%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.33. Rezultatele RDV-SD, RDV-CV, PDW, MPV a produsului MI

Loturile de studiu	RDW - SD fL M±m	RDW-CV % M±m	PDW fL M±m	MPV fL M±m
martor	26,93±1,59 (100%)	14,95±0,79 (100%)	5,90±0,24 (100%)	6,31±0,17 (100%)
MI-100 mg/kg	21,31±2,77*** (79%)	13,16±0,94** (88%)	5,61±0,19* (95%)	6,10±0,20* (97%)
MI- 1000 mg/kg	23,08±1,03*** (86%)	13,49±0,97** (90%)	5,94±0,31# (101%)	6,24±0,18 (99%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.34. Rezultatele P-LCR, PCT a produsului MI

Loturile de studiu	P-LCR % M±m	PCT % M±m
martor	3,79±1,26 (100%)	0,17±0,03 (100%)
MI-100 mg/kg	2,79±0,73 (74%)	0,18±0,05 (106%)
MI- 1000 mg/kg	3,16±0,68 (84%)	0,13±0,04 (76%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabele statistice pentru formula leucocitară

Tabelul 4.35. Formula leucocitară a produsului MI

Loturile de studiu	Segmentate % M±m	Limfocite % M±m	Monocite % M±m
martor	34,51±3,75 (100%)	53,69±6,23 (100%)	4,66±3,15 (100%)
MI-100 mg/kg	47,83±8,16 (139%)	42,75±7,10 (80%)	4,40±1,96 (94%)
MI- 1000 mg/kg	40,84±3,27 (118%)	47,56±4,69 (89%)	4,33±0,90 (93%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.36. Cantitatea eozinofile, bazofile și nesegmentate a produsului MI

Loturile de studiu	Eozinofile % M±m	Bazofile % M±m	Nesegmentate % M±m
martor	4,79±1,35 (100%)	0,99±0,42 (100%)	1,36±0,50 (100%)
MI-100 mg/kg	4,73±1,12 (99%)	0,79±0,27 (80%)	0,68±0,28** (50%)
MI- 1000 mg/kg	5,95±2,55 (124%)	1,26±0,64 (127%)	0,90±0,65* (66%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.37. Indicii metabolismului proteic

Loturile de studiu	Proteina totală, g/l	Creatinina, µM/L	Ureea, mM/L
martor	68,50±10,00 (100%) M±m	88,50±10,00 (100%) M±m	6,05±1,69 (100%) M±m
MI-100 mg/kg	70,82±12,64 (107%)	94,82±12,64 (107%)	7,69±1,84* (127%)
MI- 1000 mg/kg	64,56±12,53 (96%)	99,56±12,53 (113%)	7,39±2,38 (122%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.38. Activitatea enzimelor serice

Loturile de studiu	ALAT, U/l M±m	ASAT, U/L M±m	Fosfataza alcalina, u/L M±m	PCE, µm/s.L M±m
martor	68,50±10,00 (100%)	88,50±10,00 (100%)	75,98±25,89 (100%)	82,02±8,15 (100%)
MI-100 mg/kg	70,82±12,64 (107%)	94,82±12,64 (107%)	91,07±18,06 (120%)	69,55±22,07 (85%)
MI- 1000 mg/kg	64,56±12,53 (96%)	99,56±12,53 (113%)	84,16±32,04 (111%)	161,06±62,68*** (196%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.39. Indicii metabolismului glucidic și lipidic

Loturile de studiu	Glucoza, mM/L M±m	Colesterol, mM/L M±m	Trigliceride, mM/L M±m
martor	4,63±1,10 (100%)	4,37±0,12 (100%)	1,22±0,11 (100%)
MI-100 mg/kg	4,38±0,87 (95%)	4,41±0,16 (101%)	1,19±0,06 (98%)
MI- 1000 mg/kg	4,38±0,76 (95%)	4,61±0,24 (105%)	1,34±0,12 (110%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.40. Indicii metabolismului mineral

Loturile de studiu	Calciu, mM/L M±m	Fosfor, mM/L M±m
martor	2,37±0,22 (100%)	1,08±0,08 (100%)
MI-100 mg/kg	2,34±0,22 (99%)	1,34±0,19 (124%)
MI- 1000 mg/kg	2,40±0,15 (103%)	1,13±0,09 (105%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.41. Indicii peroxidării lipidice

Loturile de studiu	DAM, µM/L M±m	PPOA, µM/L M±m	AGE, µg/ml 330/390 M±m	AGE, µg/ml 370/440 M±m	AIM, mM/L M±m
martor	11,59±1,67 (100%)	47,95±14,12 (100%)	401,92±126,37 (100%)	120,77±47,69 (100%)	0,65±0,02 (100%)
MI-100 mg/kg	7,40±1,85*** (64%)	42,10±13,39 (88%)	469,59±81,09 (117%)	144,90±41,03 (120%)	0,61±0,07 (94%)
MI- 1000 mg/kg	10,78±3,21 (93%)	55,59±17,62 (116%)	491,01±74,69 (122%)	99,00±29,87 (82%)	0,59±0,05* (91%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.42. Indicii sistemului antioxidant (partea 1)

Loturile de studiu	SOD, u/c M±m	AAT cu ABTS, µM/L M±m	AAT cuprac, mM/L M±m
martor	1509,96±105,08 (100%)	0,62±0,02 (100%)	0,68±0,23 (100%)
MI-100 mg/kg	1646,87±104,33 (109%)	0,63±0,01 (102%)	0,97±0,22 (143%)
MI- 1000 mg/kg	1538,34±188,22 (105%)	0,62±0,01 (100%)	1,61±0,98* (237%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

Tabelul 4.43. Indicii sistemului antioxidant (partea 2)

Loturile de studiu	CP, mg/L M±m	SH-grupe, µM/g.prot M±m	γ-GTP, u/L M±m
martor	275,83±58,63 (100%)	6,81±1,34 (100%)	2,07±0,73 (100%)
MI-100 mg/kg	286,89±50,22 (104%)	4,32±0,93*** (63%)	2,87±1,02 (139%)
MI- 1000 mg/kg	354,80±123,13 (129%)	5,40±1,35 (79%)	2,68±1,24 (130%)

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

La examinarea preparatelor histologice ale organelor studiate ale animalelor din lotul-martor și celor tratate cu produsele testate în doză de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg, diferențe nu s-au remarcat.

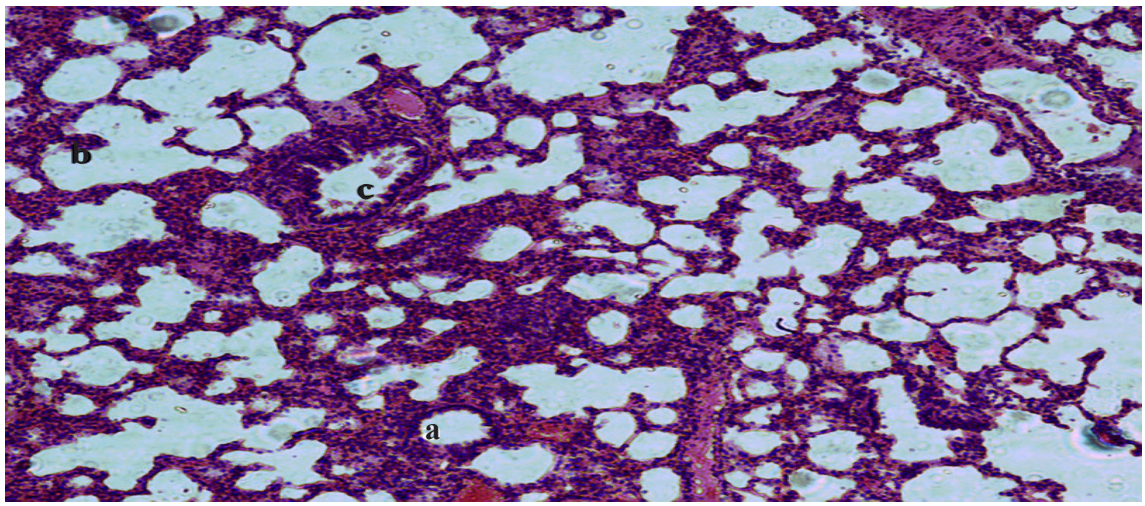


Fig. 4.6. *Șobolani MI-1000 mg kg. Epiteliul ciliat din peretele bronhiilor este păstrat (a), emfizem ușor cu dilatarea alveolelor (b), bronhii de calibru mic cu lumenul dilatat, conturat celular (c). H-E x 90*

Epiteliul ciliat al traheii (fig. 4.6): a) este păstrat, b) emfizem ușor cu dilatarea alveolelor, c) bronhii de calibru mic cu lumenul dilatat, conturat celular

Epiteliul bronhiilor intrapulmonare - fără schimbări. Modificări inflamatorii acute în țesutul pulmonar nu s-au depistat.

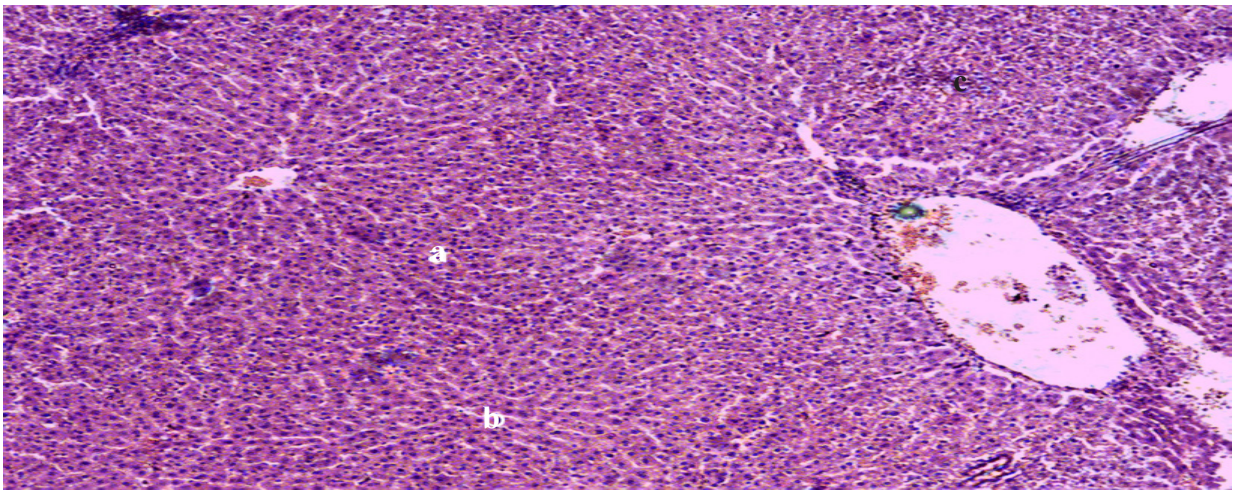


Fig. 4.7. *Șobolani MI -100 mg. Ficatul cu: a) tumescența citoplasmei cu formare de granule în zonele perilobulare, b) dilatarea spațiilor Disse, c) edem pericentrolobular. H-E x 90*

Structura trabeculară a ficatului în secțiune, obținută din diferite obiecte ale lobilor ficatului, modificări nu prezenta (fig. 4.7). Limitele hepatocitelor bine determinate (a), citoplasma granulară, slab oxifilă. Dereglări ale proprietăților tinctoriale ale citoplasmei nu s-au observat. Nu-

cleele conțin nucleotide bine conturate și cu suficientă cromatină. Membrana nucleară este subțire. Sinusoidele hepatice - pline cu sânge (b) și edemațiate preponderent pericentrolobular (c).

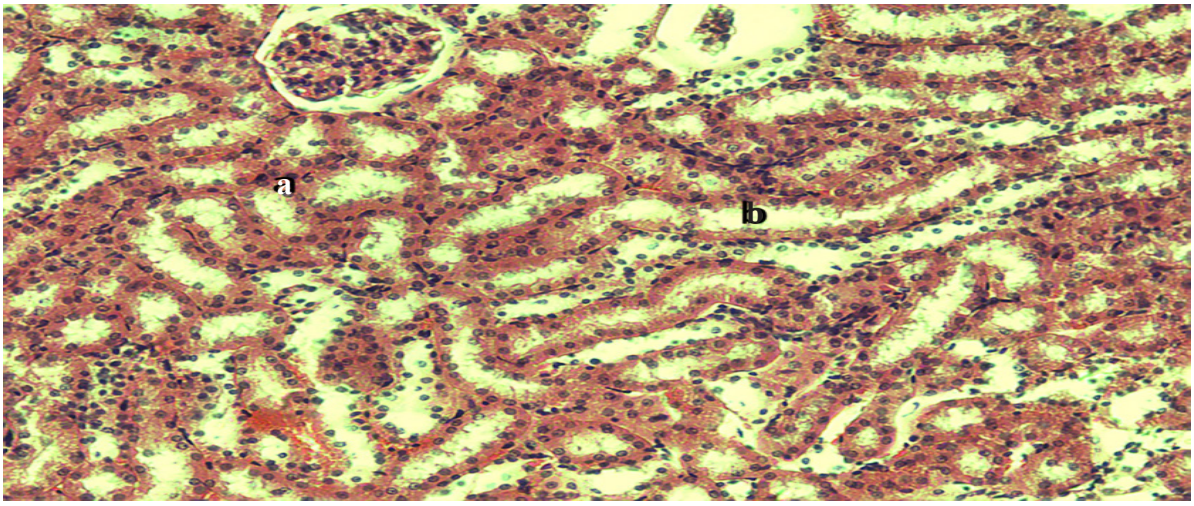


Fig. 4.8. *Șobolani MI-1000 mg. Rinichii: a) intumescența citoplasmei celulelor epiteliale cu exfoliere, oxifilă*

Capilarele glomerulare și țesutul interstițial al rinichilor sunt congestionate (fig. 4.8), intumescența citoplasmei celulelor epiteliale cu exfoliere, oxifilă (a), dilatarea tubilor renali contorți și glomerulelor dintre capsulă și capilarele glomerulare (b).

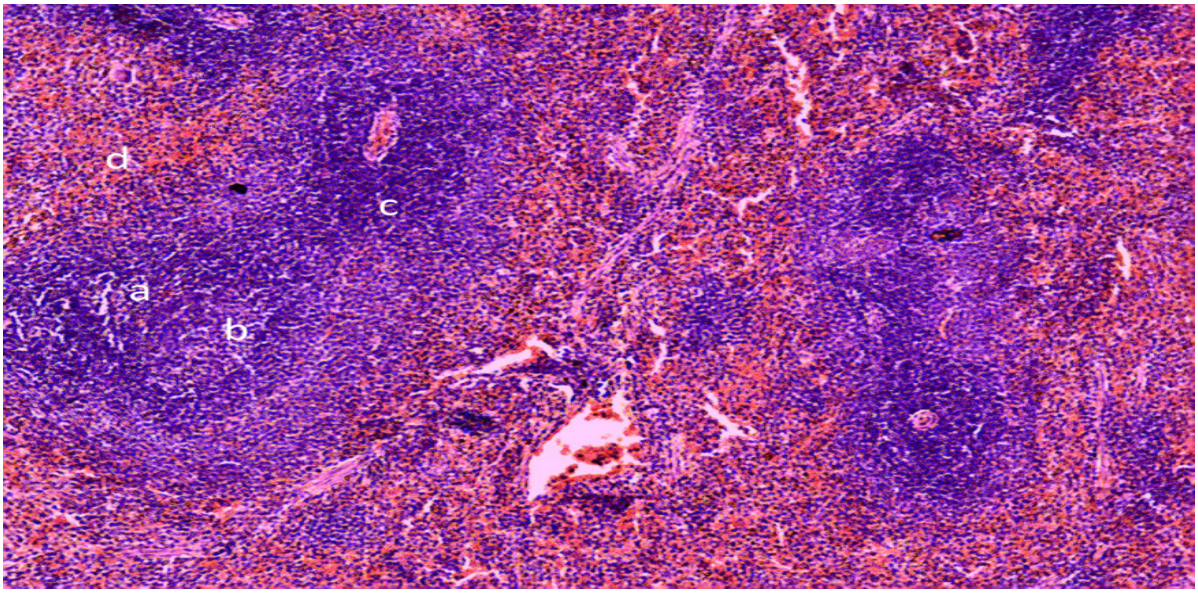


Fig. 4.9. *Șobolani MI-1000 mg. Splina: a) foliculi limfoizi cu nuclee bine conturate, hipercrome, b) structura pulpei roșii – păstrată. H-E x 140*

Elementele limforeticulare ale splinei (fig. 4.9.): cu nuclee clar delimitate (a), distrugere sau atrofie de foliculi nu este. În pulpa roșie a splinei (b), se observă focare de hematopoieză cu megacariocite unice.

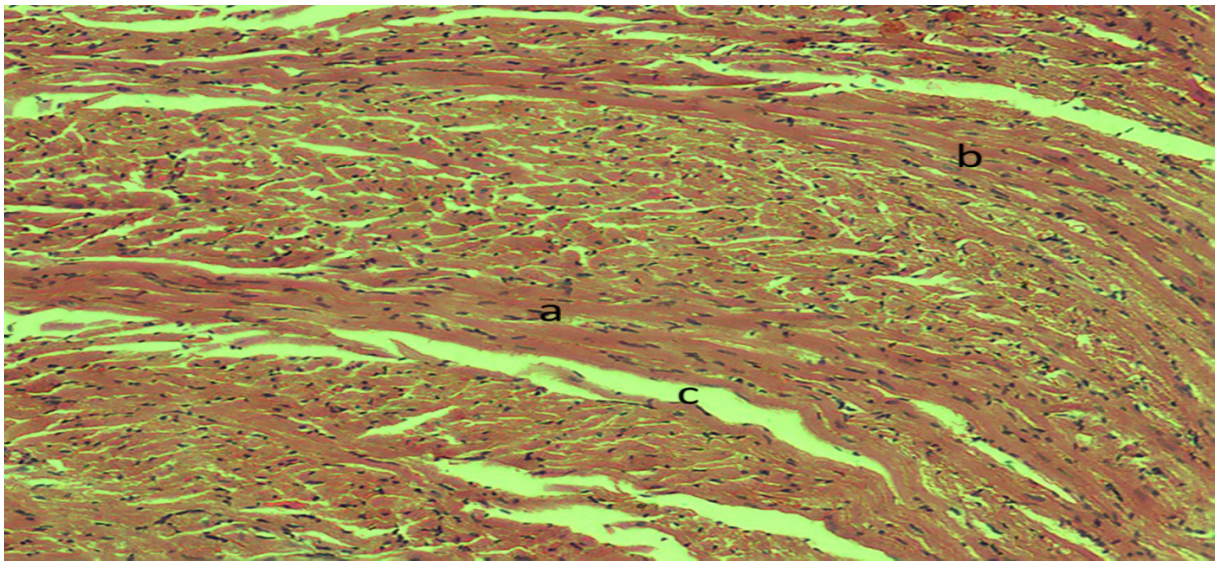


Fig. 4.10. *Șobolani MI-100 mg. Cordul cu: a) nucleele cardiomiocitelor sunt conturate, hipercrome, b) striațiile cardiomiocitelor sunt păstrate, c) edem interfibrilar. H-E x 90*

Cordul, la investigația histologică (fig. 4.10), prezintă în structura cardiomiocitelor: nuclee conturate, hipercrome (a), striațiile cardiomiocitelor – păstrate (b) și un edem neînsemnat interfibrilar difuz (c). Astfel, conform rezultatelor studiului histologic, administrarea zilnică a preparatului MI, în doze de 100 și 1000 mg/kg, timp de 30 de zile, nu este însoțită de dezvoltarea modificărilor degenerative și distructive, de modificări focare sclerotice în celulele parenchimatoase și stroma organelor interne.

4.5. Studii preclinice de determinare a eficacității otoprotectoare a produselor medicamentoase combinate în SSN

Numeroase surse indică modelarea SSN la animalele de laborator, controlul reflexelor fiziologice la stimulii sonori și audiometria computerizată (OEA, PEA), în scopul studierii funcției analizatorului auditiv în diferite stări patologice [14, 67].

Un rol important în prevenirea consecințelor SSN le revine metodelor profilactice, în special farmacoterapiei otoprotectoare. În acest scop, până la efectuarea studiilor clinice, este necesară efectuarea studiilor preclinice, cu implicarea animalelor de laborator.

În literatura de specialitate sunt prezentate mai multe metode de inducere a SSN medicamentoase la animalele de laborator (antibacteriene ototoxice – neomicina, canamicina, gentamicina, streptomicina; antineoplazice – cisplastina etc.). Produsele respective pot fi administrate: intravenos, intramuscular, intraperitoneal, în bula otică [67, 182].

Studiile preclinice pe animale de laborator au fost efectuate la USMF „Nicolae Testemiţanu”. Anterior, a fost demonstrată eficacitatea produsului CAF-01 în SSN indusă prin gentamicină la șobolani. Rezultatele au fost confirmate prin îmbunătățirea indicilor OEA și a reflexului Preyer la animalele, cărora li s-a administrat CAF-01 [67].

Scopul studiilor preclinice: determinarea efectelor farmacologice otoprotectoare pentru produsele CAF-01, MI și NH (Flamena, emulsie, Merion și Neamon-hepa). Cercetarea a fost efectuată pe 32 de șobolani albi, repartizați în patru loturi a câte opt indivizi: 1 – lotul-martor (animale sănătoase); lotul 2 - cu SSN indusă (li s-a administrat sol. 0,9% NaCl, i/g, 3 ml, 14 zile); lotul 3 - cu SSN indusă și Flamena +Merion, 3 ml, 14 zile: șapte zile până la ototoxicitate și șapte zile după; lotul 4 - cu SSN indusă și Neamon-hepa, 3 ml, 14 zile: șapte zile până la ototoxicitate și șapte zile după.

4.5.1. Rezultate morfologice

Morfologic, a fost demonstrată provocarea SSN prin administrarea soluției de gentamicină. La administrarea animalelor a gentamicinei, se constată structurile anatomice ale urechii interne și organului Corti neafectate (figurile 4.11 și 4.12). La animalele, cărora li s-a administrat gentamicină, morfologic a fost constatată SSN: organul Corti, stria vasculară prezintă elemente de distrofie, apoptoză și necroză (figurile 4.13 și 4.14).

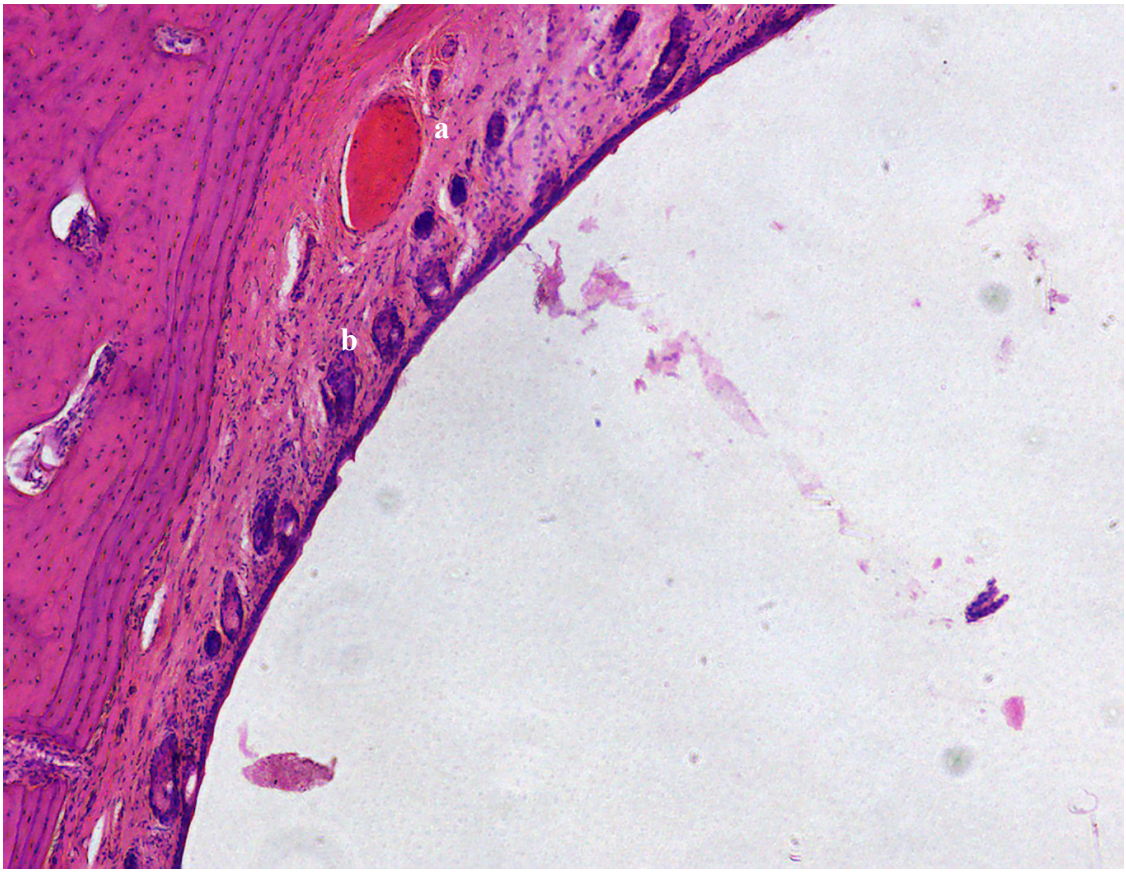


Fig. 4.11. *Stria vasculară din canalul cohlear: a) vas sangvin; b) elemente celulare bine conturate*

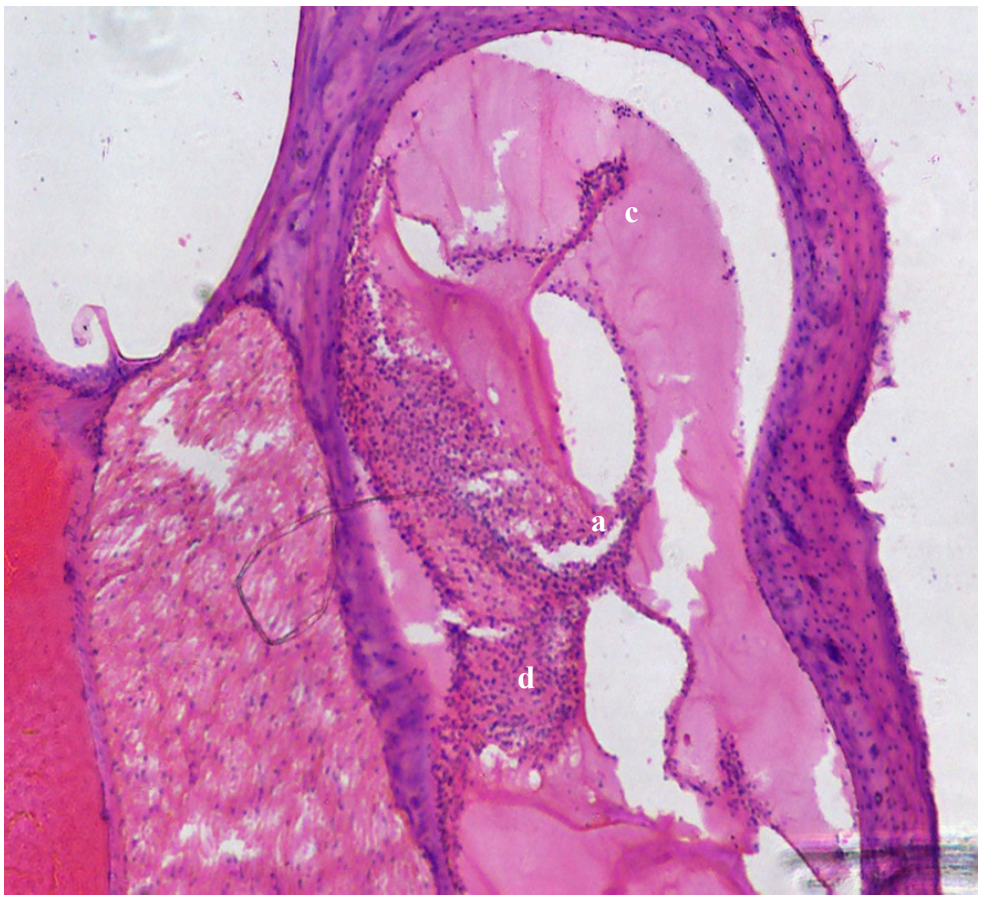


Fig. 4.12. *Secțiune transversală a melcului: a) rampa timpanică; b) rampa vestibulară; c) plasmă omogenă; d) endolimfă cu elemente limfatice conturate. H-E×90*

La subiecții din grupul de control, structura striei vasculare a fost normală, în timp ce la cei tratați cu gentamicină au fost constatate modificările striei vasculare, organitele celulare, mitocondriile, reticulul endoplasmatic au prezentat grave leziuni. În particular, celulele marginale au suferit și ele leziuni. Spațiile intercelulare au devenit mai largi, reducând numărul de mitocondrii pe suprafața liberă a celulelor striei vascularis. Mitocondriile s-au edemațiat, au prezentat rupturi, zone de degenerescență secundară, lizozomii și autofagozomii au crescut ca număr și au prezentat incluziuni modulative, indicând o severă ototoxicitate.

La cercetările microscopice, afectarea cea mai puternică a OC a fost constatată parțial în primul și total în al doilea tur spiralat al cohleei. Se determina majorarea volumului nucleelor celulelor ciliate externe, așa-numitul fenomen de pulsare, cauzat de majorarea hidrofilității carioplasmei în condițiile de intensificare a POL. Am constatat distrucția sau dispariția stereocililor ale CCE și CCI, precum și deformarea plăcii (membranei) cuticulare a celulelor ciliate. Stereocilii sunt microvilozități implantate pe platoul cuticular de pe fața superioară a CCE/I după un aranjament caracteristic, care participă la procesul de traducere mecano-electică a stimulului sonor. Structura internă a stereocilului constă din microfilamente axiale compacte care corespund actinei F și sunt polarizate în direcția plăcii cuticulare. Placa cuticulară se află

la polul apical al CCE/I și prezintă la om și animale o densificare constituită dintr-un amestec de proteine contractile (actină, miozină) și de proteine legate de calciu. S-a determinat CCE în stare de picnoză cu margini diferențiate, cu structură nediferențiată a carioplasmei, micșorate considerabil în volum (practic uscate). Distrucția izolată doar a CCE poate fi explicată prin sensibilitatea sporită la hipoxie. Manifestarea organospecifică a procesului necrozei de „mumificare" a CCE a OC reprezintă sectoare cu hotar diferențiat între celulele intacte și cele deformate, fapt ce poate fi explicat nu atât prin afectarea toxică directă a CCE, ci prin afectarea striei vasculare gentamicin-induse.

Rezultatele morfologice în lotul cu ototoxicitate *(figurile 3.2.13 și 3.2.14)*

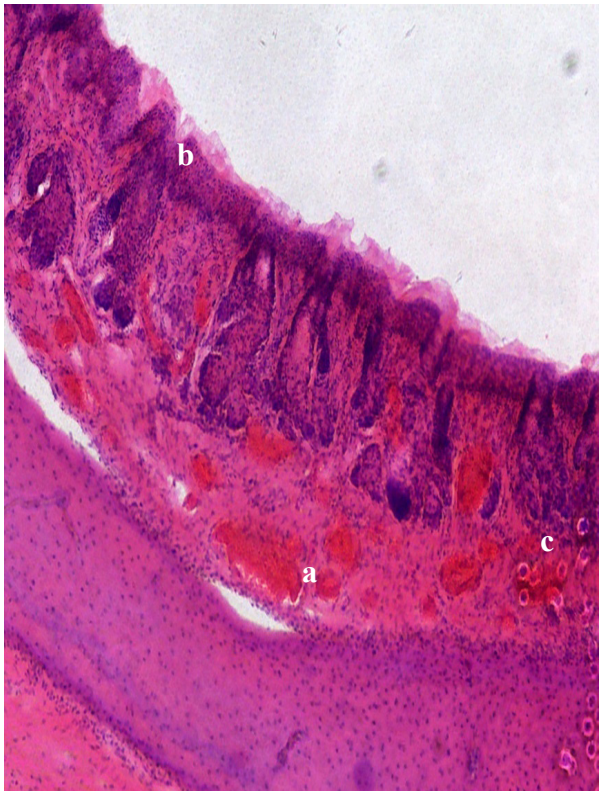


Fig. 4.13. *Stria vasculară: a) vase congestionate; b) diminuarea conturului celular; c) schimbări de apoptoză. H-E×90*

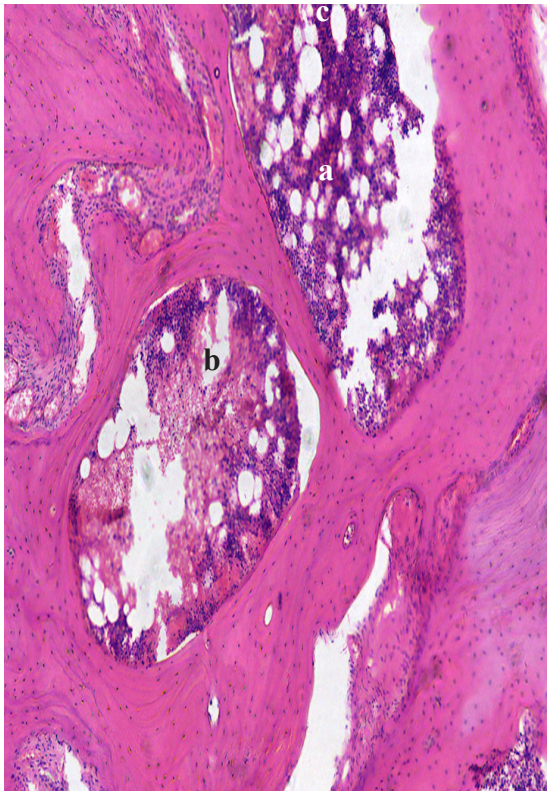


Fig. 4.14. *Secțiune transversală a canalelor melcului: a) endolimfă cu elemente celulare repartizate difuz, haotic; b) plasmă neomogenă; c) vezicule hidropice. H-E×90*

La animalele de laborator din toate loturile experimentale, otoscopia nu a constatat modificări patologice ale CAE (fig. 4.16) și ale membranei timpanice (fig. 4.17). Acest lucru denotă funcția normală a urechii externe și a celei medii, la animalele incluse în experiment [67]. Lipsa modificărilor patologice ale urechii externe și ale celei medii a permis înregistrarea OEA.

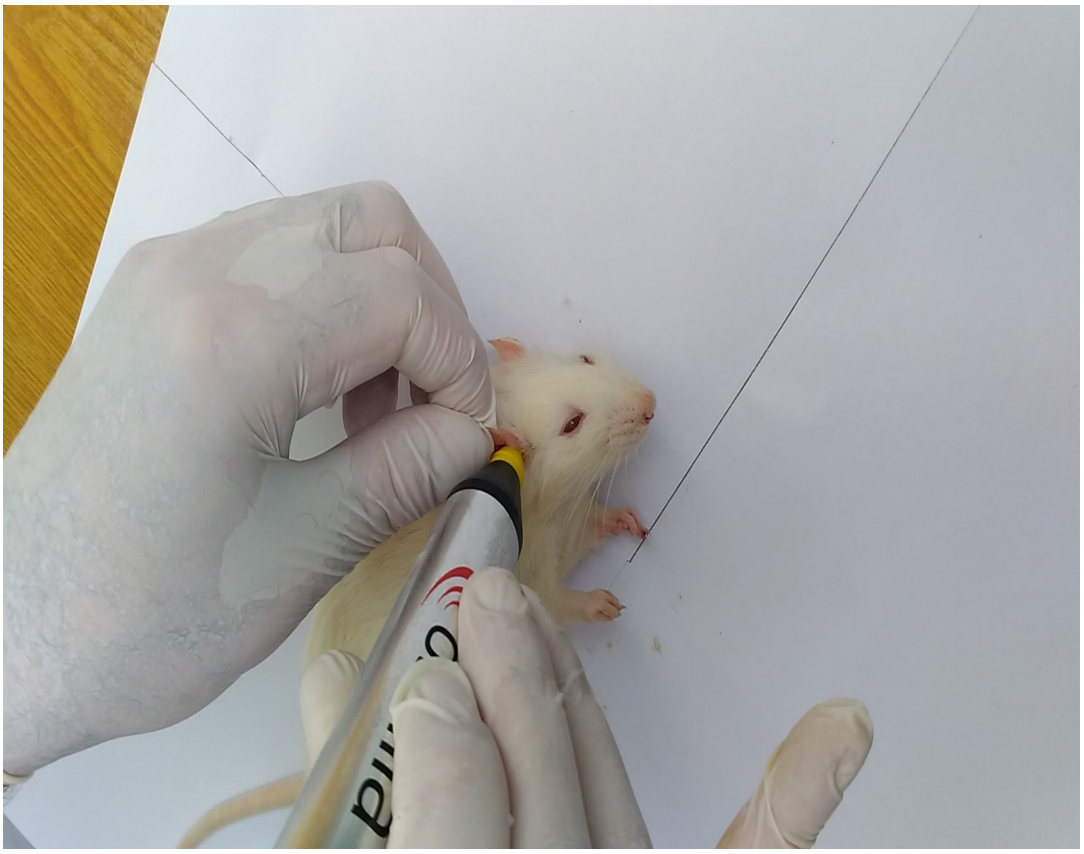


Fig. 4.15. Procesul de efectuare a otoscopiei la șobolan cu videootoscop

Fig. 4.16. Otoscopie. Conductul auditiv extern la șobolan

Fig. 4.17. Otoscopie. Membrana timpanică la șobolan

Fig. 4.18. Procesul de efectuare a determinării reacției șobolanilor la stimuli sonori puternici cu testerul sonor PA 5 (70dB)

Fig. 4.19. Reflexul Preyer. Animalele sunt relaxate, somnolente până la prezentarea stimu-

Fig. 4.20. Reflexul Preyer. Animalele sunt alertate (se aranjează împreună) la stimulul sonor intens

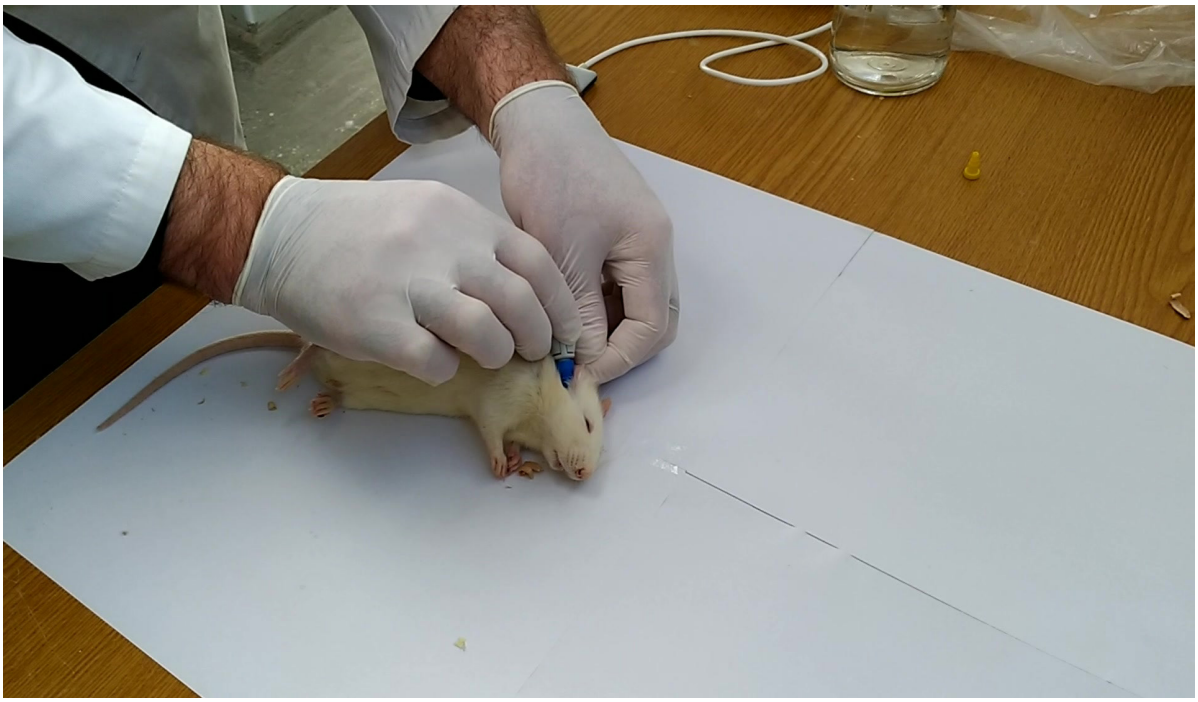


Fig. 4.21. Procesul de introducere a sondei auriculare a aparatului pentru înregistrarea OEA la șobolan în stare de somn medicamentos

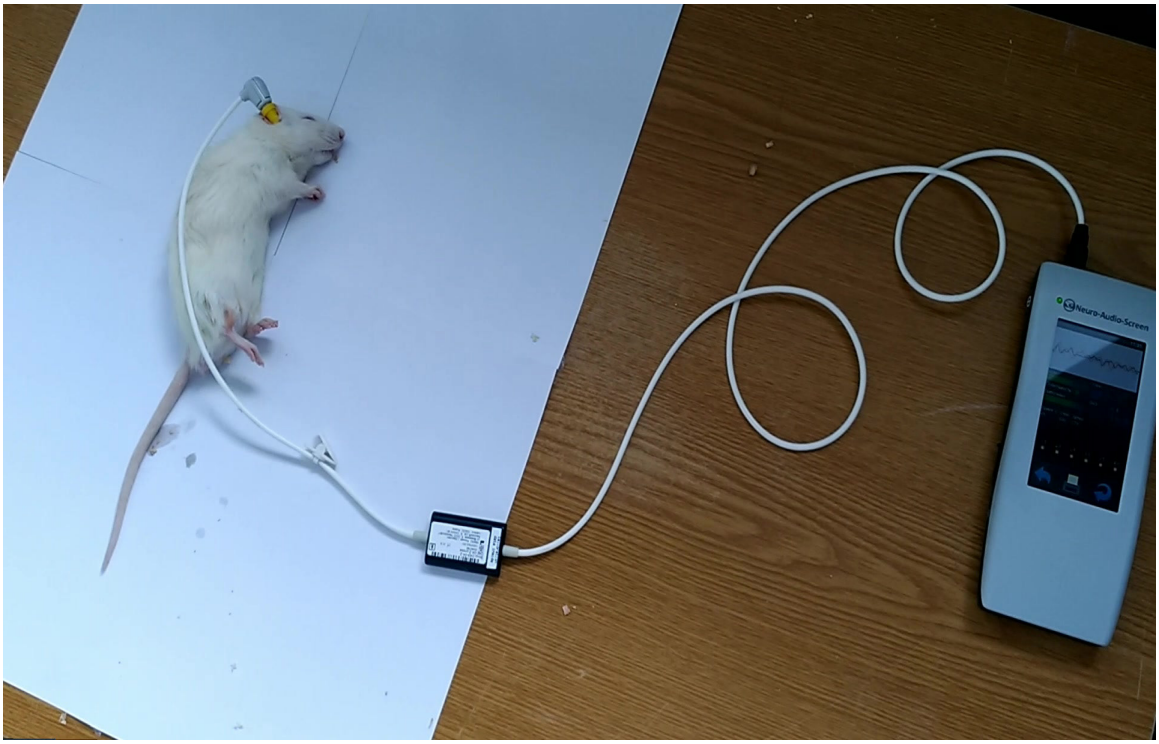


Fig. 4.22. Procesul de înregistrare a OEA cu aparatul Neirosoft la șobolan în stare de somn medicamentos

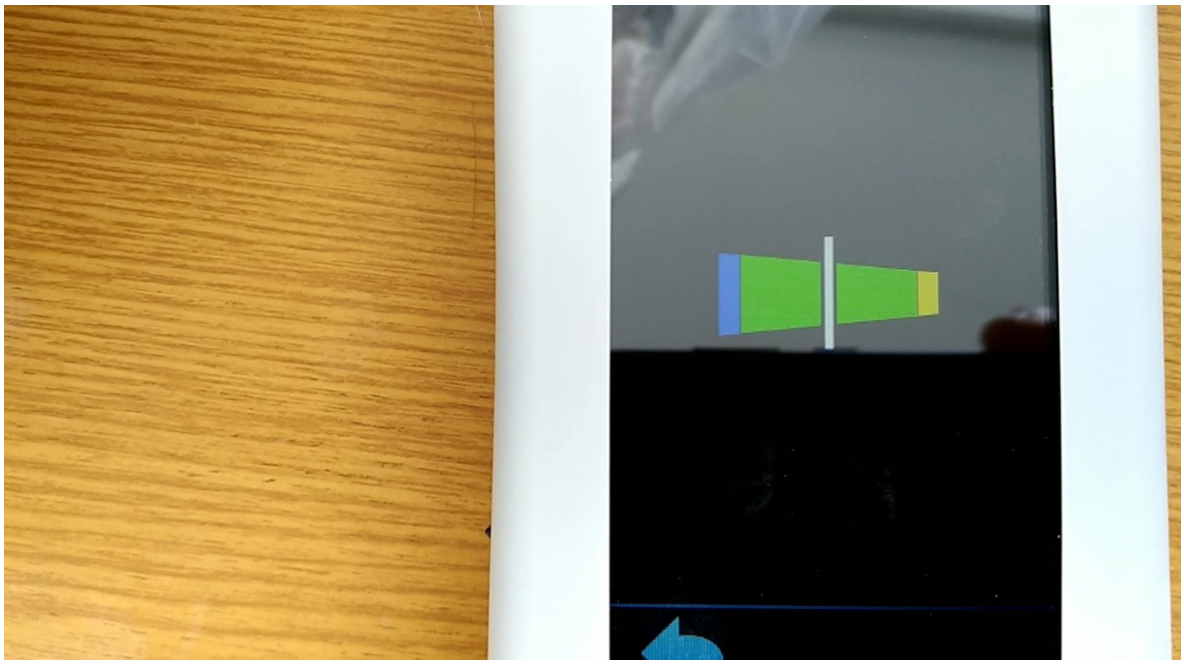


Fig. 4.23. Procesul de calibrare automată a stimulului generat de sonda Neirosoft, introdusă în CAE la șobolan

Fig. 4.24. Procesul de înregistrare (analiză automată) a OEA, vizualizată la ecranul aparatajului Neirosoft

4.5.2. Determinarea eficacității otoprotectoare a produsului CAF-01

Anterior, pe un lot de șase animale cu surditate indusă a fost demonstrată eficacitatea otoprotectoare a CAF-01.

Reflexul Preyer prezintă tresărirea animalelor de laborator – a șobolanilor (ciulirea urechilor, înlemnire etc.) la prezentarea stimulilor sonori puternici. Astfel, constatăm că, la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt (denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, procentajul a fost minor (până la 33%), ceea ce înseamnă că la majoritatea animalelor, cărora li s-a administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă. La administrarea majorității animalelor a CAF-01, rezultatele pozitive au constituit circa 75%, fapt ce poate fi atribuit efectului farmacologic benefic al produsului studiat (tabelul 4.44).

Tabelul 4.44. Reflexul Preyer: răspunsurile pozitive (numărul de animale,%)

Frecvența	Lotul de control	Lotul cu surditate indusă	Lotul cu surditate+ CAF-01
500 Hz	4/67	3/50	3/50
1000 Hz	5/83	4/67	5/83
2000 Hz	5/83	2/33	3/50
3000 Hz	5/83	2/33	4/67
4000 Hz	5/83	2/33	4/67

Rezultatele testului sonor (reflexul Preyer) au fost confirmate prin audiometria obiectivă (înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii). În acest context am determinat deosebirea statistic semnificativă între pragul de înregistrare a otoemisiunilor acustice și raportul semnal/zgomotul de fon la animalele din lotul- martor, căruia i s-a administrat doar gentamicină, și lotul ,căruia i s-au prescris gentamicină și CAF-01. Așadar, constatăm: la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt (ce denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, nu s-au înregistrat valori pozitive, fapt ce confirmă că la majoritatea animalelor, cărora li s-a administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă. La animalele din lotul, căruia i s-a prescris CAF-01, s-au constatat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor, fapt ce confirmă obiectiv efectul otoprotector al produsului studiat (tab. 4.45).

Țesutul cerebral, afectat de hipoxie (un factor favorizant de dezvoltare a SSN), în condiția de reperfuzie ischemică după terapie vasoactivă, este expus la acțiune agresivă de oxidare din partea sângelui, cu dezvoltarea sindromului de afectare reperfuzională. Astfel, devine rațională utilizarea neuroprotectoarelor și antioxidantelor în farmacoterapia SSN. Tratamentul respectiv este favorizat de conceptul „cascadă” a modificărilor patobiochimice în țesutul nervos ischemizat, în urma dereglărilor circulației cerebrale, și se bazează pe utilizarea citoprotectoarelor energostabilizante precum produsul CAF-01.

Tabelul 4.45. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice la lotul CAF-01

OEAT – surditate indusă, OEAT - surditate + CAF-01

Frecvența	TE (dB)	Diferența	TE (dB)	Diferența	P surditate/surditate +produs
1500 Hz	-2	-1	7	5	P<0,05
2000 Hz	0	2	8	6	P<0,05
2500 Hz	-2	1	7	3	P<0,05
3000 Hz	1	4	6	4	P<0,05
3500 Hz	-3	2	10	7	P<0,01
4000 Hz	-5	-3	15	5	P<0,01

Așadar, în preexperiment se determină efectul otoprotector al produsului CAF-01 prin prezența reflexului Preyer, confirmat de parametrii satisfăcători ai otoemisiei acustice. Totuși putem constata veridicitatea redusă a reflexului Preyer cauzată, în opinia noastră, de caracterul subiectiv al metodei bazată în exclusivitate pe observarea reacției (comportamentului) animalului din experiment. De asemenea este dificilă efectuarea metodei. Din aceste considerente, în cercetările ulterioare ne-am bazat pe audiometria obiectivă/computerizată, și anume înregistrarea OEA. Am efectuat validarea metodei înregistrării OEAT în condițiile laboratorului, precum și confirmarea inducerii SSN prin administrarea parenterală a gentamicinei.

4.5.3. Determinarea eficacității otoprotectoare a produselor Flamena, emulsie (CAF-01), în combinație cu MI și Neamon-hepa (NH-01)

Rezultatele audiometriei reflectorii au fost confirmate prin audiometria obiectivă (înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii). Așadar, atestăm o deosebire statistic semnificativă între pragul de înregistrare a otoemisiunilor acustice (OEAT) și raportul semnal/zgomotul de fon la animalele din lotul-martor, lotul care a administrat doar gentamicină și lotul căruia i s-a prescris gentamicină+CAF-01. În acest sens constatăm: la animalele din lotul-martor, procentajul a fost înalt (ce denotă un auz normal). La animalele din lotul cu surditate indusă, nu s-au înregistrat valori de raport semnal/zgomot pozitive, fapt ce confirmă că, la majoritatea animalelor care au administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă (tabelul 4.46). La administrarea animalelor a produselor medicamentoase CAF-01+MI și NH, am determinat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor, fapt ce confirmă obiectiv efectul otoprotector al produsului studiat (tabelele 4.47 și 4.49). Pe fondalul hipoxiei, efectul antioxidant protector al produselor CAF-01 și NH-01 se manifestă prin: reducerea concentrației lactatului și a activității lactatdehidrogenazei, sporirea activității succinatdehidrogenazei. Produsele respective inhibă hiperactivarea POL și sporește activitatea antioxidantă prin restabilirea glutationului, a activității enzimelor antioxidante (catalaza, glutationperoxidaza și superoxiddismutaza). Prin mecanismele respective se poate explica acțiunea benefică otoprotectoare asupra componentelor senzorineurale ale AA (organul Corti, nervul auditiv) a produselor CAF-01 și NH-01.

Așadar, constatăm că, la animalele din lotul-martor OEAT, au fost înregistrate la valori superioare de 5 *deciBelli, Sound Pressure Level* (dB SPL), cu un raport semnal/zgomot pozitiv. La animalele din lotul cu surditate indusă, nu s-au înregistrat valori ≥ 0,50 dB SPL (2000-3500Hz), iar la frecvența 4000 Hz s-a înregistrat valoare medie negativă - 6,17 ± 1,8 dB SPL, fapt ce confirmă că, la majoritatea animalelor care au administrat gentamicină, s-a instalat deficiență auditivă. Totodată, la animalele din lotul care a administrat NH-01 și CAF-01+MI, s-au constatat rezultate asemănătoare cu cele din lotul-martor (nu se determină deviere statistic semnificativă nici la o frecvență studiată). În același timp, rezultatele din grupele respective sunt deosebite practic la toate frecvențele superioare de 3000 Hz față de lotul cu surditate indusă (tabelele 4.47 și 4.50). Deci se determină deosebiri statistic semnificative, în special la frecvențele 3500 și 4000 Hz între loturile-martor și surditatea indusă (tabelul 4.56), între lotul-martor și loturile cu surditate indusă + produsele studiate și între loturile cu surditate indusă + produsele studiate și lotul doar cu surditatea indusă.

Tabelul 4.46. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului-martor *versus* lotul cu surditate indusă

Frecvența	Lotul-martor	Surditate indusă	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M ± m	
1500 Hz	5,07 ± 0,31	1,55 ± 0,67	< 0,001
2000 Hz	8,05 ± 0,41	1,36 ± 0,90	< 0,001
2500 Hz	7,75 ± 0,46	1,15 ± 0,81	< 0,001
3000 Hz	8,28 ± 0,47	0,78 ± 0,96	< 0,001
3500 Hz	10,05 ± 0,56	-0,46 ± 1,03	< 0,001
4000 Hz	12,24 ± 0,73	1,42 ± 1,12	< 0,001

Tabelul 4.47. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale loturilor cu surditate

Frecvența	Surditate indusă	Surditate indusă+CAF-01 și MI	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M±m	
1500 Hz	1,55 ± 0,67	4,08 ± 0,24	< 0,001
2000 Hz	1,36 ± 0,90	6,85 ± 0,29	< 0,001
2500 Hz	1,15 ± 0,81	7,11 ± 0,31	< 0,001
3000 Hz	0,78 ± 0,96	6,87 ± 1,48	< 0,001
3500 Hz	-0,46 ± 1,03	9,38 ± 0,42	< 0,001
4000 Hz	1,42 ± 1,12	10,11 ± 0,55	< 0,001

Tabelul 4.48. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice CAF-01

Frecvența	Lotul-martor	Surditate indusă+CAF-01 și MI	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M ± m	
1500 Hz	5,07 ± 0,31	4,08 ± 0,24	> 0,05
2000 Hz	8,05 ± 0,41	6,85 ± 0,29	> 0,05
2500 Hz	7,75 ± 0,46	7,11 ± 0,31	> 0,05
3000 Hz	8,28 ± 0,47	6,87 ± 1,48	< 0,01
3500 Hz	10,05 ± 0,56	9,38 ± 0,42	> 0,05
4000 Hz	12,24 ± 0,73	10,11 ± 0,55	> 0,01

Tabelul 4.49. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului-martor *versus* lotul cu surditate indusă + NH-01

Frecvența	Lotul-martor	Surditate indusă + NH-01	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M ± m	
1500 Hz	5,07 ± 0,31	3,12 ± 0,21	> 0,05
2000 Hz	8,05 ± 0,41	4,73 ± 0,32	> 0,05
2500 Hz	7,75 ± 0,46	6,12 ± 0,81	> 0,05
3000 Hz	8,28 ± 0,47	5,66 ± 1,67	< 0,01
3500 Hz	10,05 ± 0,56	7,11 ± 0,48	> 0,05
4000 Hz	12,24 ± 0,73	9,11 ± 0,51	> 0,01

Tabelul 4.50. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului cu surditate indusă *versus* surditate indusă + NH-01

Frecvența	Surditate indusă	Surditate indusă + NH-01	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M ± m	
1500 Hz	1,55 ± 0,67	3,12 ± 0,21	< 0,05
2000 Hz	1,36 ± 0,90	4,73 ± 0,32	< 0,05
2500 Hz	1,15 ± 0,81	6,12 ± 0,81	< 0,01
3000 Hz	0,78 ± 0,96	5,66 ± 1,67	< 0,01
3500 Hz	-0,46±1,03	7,11±0,48	<0,001
4000 Hz	1,42±1,12	9,11±0,51	<0,001

Tabelul 4.51. Rezultatele înregistrării otoemisiunilor acustice ale lotului cu surditate indusă + CAF-01 *vs* lot surditate indusă + NH-01

Frecvența	Surditate indusă+CAF01 și MI	Surditate indusă+NH-01	p
	OEAT, M ± m	OEAT, M±m	
1500 Hz	4,08 ± 0,24	3,12 ± 0,21	> 0,05
2000 Hz	6,85 ± 0,29	4,73 ± 0,32	> 0,05
2500 Hz	7,11 ± 0,31	6,12 ± 0,81	> 0,05
3000 Hz	6,87 ± 1,48	5,66 ± 1,67	> 0,05
3500 Hz	9,38 ± 0,42	7,11 ± 0,48	<0,05
4000 Hz	10,11 ± 0,55	9,11 ± 0,51	> 0,05

Odată ce rezultatele la 1500-3000 Hz diferă puțin între toate grupurile de studiu, considerăm că SSN a fost generată în special la frecvențele cuprinse în spectrul 3500-4000 Hz și mai mult. Comparând loturile care au administrat CAF-01+MI și NH, putem concluziona despre eficacitatea puțin mai ridicată a CAF-01+MI (deosebire statistic semnificativă la 3500 Hz, $p < 0,05$). Cercetările morfologice la animalele din loturile de studiu (CAF-01) indică lipsa fenomenelor de necroză celulară. Se constată polimorfismul nucleelor CCE, odată cu lipsa cariopicnozei (predomi-

nă numai distrofie cu tendința de mixorare volumului). CCI aveau nuclee vizual intacte. Șobolanii percep sunetele de la 500-70 000 Hz, labirintul osos având trei spire, și nu 2,5 ca la om. În același timp, unul dintre pereții labirintului membranos concrește cu labirintul osos, iar altul se unește prin membrana bazilară de modiolul urechii interne. Referitor la diapazonul auditiv maxim, datele sunt diferite: conform unora, auzul optim ar fi de aproximativ 1000 sau 3000-4000 Hz, alti autori consideră 6000-10000 Hz [10, 17]. Rezultatele cercetărilor noastre ne fac să concluzionăm despre sensibilitatea sporită a organului auditiv la șobolani, la frecvențele medii și acute (≥ 3500 Hz).

OC, așezat pe membrana bazilară, este constituit dintr-un ansamblu de celule de susținere (Deiters, Hensen, Claudiuc, Boettcher) și CCE, CCI așezate într-o manieră complexă [261, 263]. Păstrarea microstructurii extracelulare la apoptoza CC permite formarea cicatricei epiteliale, ca urmare a hipertrofiei compensatoare a celulelor de susținere Deuters [227, 264]. Aceasta, la rândul ei, face posibilă protejarea plăcii cuticulare a CC. Astfel nu se agravează defeglările micromecanicii perceperii sonore la regiunile adiacente ale OC cu CC păstrate.

Produsele CAF-01, MI, NH reprezintă combinații echilibrate de vitamine, minerale și oligoelemente, cu acțiune antioxidantă și alte efecte polivalente, și constituie o sursă echilibrată de compuși necesari pentru metabolismul uman în caz de carențe, afecțiuni cronice, supraefort fizic și intelectual [28]. Rezultatele obținute în urma determinării inofensivității și eficacității produselor evidențiază efectele lor otoprotectoare și pot servi ca bază pentru inițierea unor studii clinice în vederea determinării efectului benefic în tratamentul complex al SSN.

Vitamina A derivă din pigmenții naturali, denumiți carotenoizi (provitamina A). La nivelul celulelor ciliate ale organului Corti, prin activarea proceselor de expresie genică și regenerare celulară, contribuie la regenerarea neuroreceptorilor. Prin inhibiția POL, la nivelul țesuturilor urechii interne, contribuie la reducerea apoptozei celulelor organului auditiv și deci la încetinirea proceselor degenerative și reducerea riscului progresiv al deficienței auditive [249].

Vitamina D este necesară pentru formarea oaselor și reglarea metabolismului fosfo-calcic. În general, alimentele sunt sărace în vitamina D și, din acest motiv, este necesară suplimentarea dietei cu vitamina D, mai ales la copii. Vitamina E include un grup de compuși, denumiți tocoferoli, și manifestă efect antioxidant cu rol protector/stabilizator pentru membranele celulare. De asemenea, contribuie la prevenirea aterosclerozei și acționează ca imunomodulator [253].

Vitamina B1 (tiamina) manifestă influențe benefice la nivelul AA: la nivelul endolimfei, contribuie la stimularea neurotransmisiei prin participarea la producerea acetilcolinei; prin participarea la procesele de mielinizare și în calitate de coferment la utilizarea glucozei contribuie la normalizarea proceselor metabolice, neuroprotecția organului Corti (OC) și a nervului auditiv [9]. Vitamina B2 (riboflavina) îmbunătățește microcirculația la nivelul UI – profilaxia proceselor distrofice; la nivel OC și NA, manifestă acțiune antioxidantă și neuroprotectoare în cadrul afecțiunilor degenerative prin participarea ca un coferment al flavoenzimelor și glutationreductazei și prin menținerea arhitectonicii OC și NA [26, 171]. Vitamina B6 (piridoxina) este un coferment și participă la sinteza aminoacizilor și proteinelor, manifestând astfel acțiune neurotransmisivă și

neuroprotectoare la nivelele OS și NA. De asemenea este un vasoprotector la nivelul UI prin diminuarea colesterolului, homocisteinei și stimularea formării EPA și DHA [151, 255].

Vitamina C (acidul ascorbic) este un agent reducător puternic, care contribuie la formarea substanței intercelulare din pereții vaselor capilare, a colagenului, a elastinei și țesutului osos; este implicată în oxidarea celulară și stimulează sinteza NO (monoxidului de azot) de endoteliul celular. În același timp, este stabilit rolul NO în reglarea tonusului vascular. Vitamina C este necesară pentru creșterea și maturizarea normală a celulelor. Alături de vitamina E și beta-caroten (precursorul dietetic al vitaminei A), vitamina C este un antioxidant care poate avea un rol în susținerea nutrițională a copiilor bolnavi în stare gravă (în stres catabolic). Organismul uman nu este înzestrat cu capacitatea de a produce vitamina C și, de aceea, se limitează la procurarea acesteia din alimente. Un aport crescut de vitamina C este necesar mai ales la persoanele afectate de maladii, la cei aflați în convalescență, în cazul expunerii la eforturi fizice și psihice și la oamenii care trăiesc în mediu poluat [161, 215]. Este stabilit, în același timp, că dihidroquercetina, care se conține în produsul CAF-01, potențează efectele capilaroprotectoare ale vitaminei C.

Mineralele și oligoelementele precum magneziul, seleniul, cuprul și sodiul sunt esențiale pentru creștere și dezvoltare. Acestea reprezintă un rol proeminent în procesele energetice și în transportarea unor substanțe, fiind implicate în multe reacții biochimice moleculare, constituie componente ale scheletului. Magneziul este un constituent celular cu rol catalizator pentru multe funcții metabolice și sisteme de transmisie celulară. Toate aceste elemente reprezintă nutrienți esențiali pentru procesele vieții [51, 52].

Zincul (Zn) este un element esențial care oferă multe beneficii terapeutice. Zn este un component structural necesar joncțiunii proteinelor ADN și protejează de asemenea membrana celulară împotriva lizei. Zn reglează nivelurile de vitamina A și cantitatea în care aceasta este eliberată de ficat. Metabolismul este de asemenea parțial dependent de prezența zincului care ajută la transformarea tiroxinei în triiodotironină. În plus, analizatorii gustativ, olfactiv, vizual și auditiv nu ar funcționa în lipsa unei cantități adecvate de Zn în organism [74]. Contribuțiile Zn în funcția normală a AA sunt următoarele: CO - participă la metabolismul vitaminei A, manifestă efect antioxidant prin participarea la complexul Cu-Zn superoxiddismutaza și astfel protejând lipidele de POL. Fermenții care conțin Zn participă la metabolismul proteic și al colagenului la CC (celulele ciliate). Zn participă la procesul de mielinizare a axonilor, manifestând efect neuroprotector la NA [141, 171].

Efectul hipoxic local în UI poate accelera modificările atrofice care în mod normal au loc în țesutul de susținere al canalului cohlear. Hipoxia poate provoca schimbări în sensul alterării masei și structurii ligamentului spiral sau a membranei bazilare. Prin urmare, există o pierdere neurosenzorială de auz în otitele medii supurative cronice, datorită hipoxiei locale consecutivă îngroșării membranei ferestrei rotunde [232].

Micșorarea schimbărilor degenerative ale CC (lipsa proceselor de cariopicnoză la CCE, nuclee vizibil intacte la CCI) din spiralele 1 și 2, OC pe fundalul funcției păstrate a verigii de percepție a OC, conform rezultatelor OEAT, denotă efectele benefice ale produselor NH-01 și CAF-01

la surditatea indusă prin gentamicină. Efectele otoprotectoare ale produselor studiate pot fi elucidate prin eliminarea spasmului arteriolelor și capilarelor striei vasculare din labirintul membranos, prin micșorarea intensității procesului distructiv al POL asupra membranelor CC, astfel asigurând menținerea funcțiilor trofice și electrochimice și preîntâmpină agravarea complicațiilor ischemice.

Mecanismul efectelor antioxidante ale dihidroquercetinei se efectuează prin aranjarea moleculelor principiilor acvive în cadrul compartimentelor lipidice ale membranelor celulare și inhibă direct radicalii liberi, protejează structura membranei și, astfel, le protejează de fosfolipaze, ameliorează sistemele de fosforilare, este în legătură cu lipidele, care sunt necesare pentru neutralizarea superoxidanionului [222, 253].

Acidul glutamic, arginina și glicina ameliorează procesele anabolice (majorarea ADN, ARN, proteinelor, glicogenului, ATP), asigură dirijarea proceselor catabolice care sunt inițiatorii formării ROS, astfel se inhibă rețeaua finală a POL. Zincul, de asemenea, servește în calitate de cofactor pentru reacțiile fermentative și participă în procesele anabolice [255, 257]. Astfel putem considera că administrarea combinată a CAF și MI poate cauza inhibarea întregului lanț de POL. Astfel, se structurează membranele celulare și se contribuie la aranjarea adecvată a sistemelor fermentative din membrane.

Cercetările anterioare [245] au demonstrat [227, 229] că, în cazul SSN subcronice, celulele ciliate pot timp îndelungat (până la trei-patru luni) să se păstreze în stadiu de „mumificare", în cazul menținerii intacte a plăcii cuticulare. Funcția de fagocitază va fi îndeplinită de epiteliocitele de menținere. La distrucția CC sub placa cuticulară a OC, fagocitoza va fi menținută de celulele Deiters. Dacă materialul patologic, de exemplu, format în urma hemoragiei locale în endolimfă, la expunerea acustică intensă, nu este acoperit de placa cuticulară și liber circulă prin endolimfă, fagocitoza va fi asigurată de celulele Hensen, Claudius, Boettcher [9, 79, 227]. Astfel este argumentată, din punct de vedere științific, necesitatea efectuarii tratamentului farmacologic în stadiile acute și subacute ale SSN și a celui medicamentos „profilactic" de menținere a AA sub aspect morfofuncțional.

Efectele farmacologice ale produselor cercetate în cadrul studiului pot fi explicate, de asemenea, prin eliminarea spasmului arteriolar și a celuicapilar ale striei vasculare a UI (indus de aminoglicozidic), asigurând funcțiile trofice și electrochimice și prevenind complicațiile ischemico-reperfuzice. Potențialul antiapoptotic este asigurat prin posibilitatea glicinei de a inhiba activitatea endonucleazelor Ca dependente. Produsele farmacologice intervin prin blocarea receptorilor adenozinici, inhibarea fosfodiesterazei trombocitare cu creșterea concentrației AMPc (care preîntâmpină trecerea endoperoxizilor ciclici sub acțiunea ciclooxigenazei în tromboxan A2, care este o substanță endogenă cu proprietăți agregante marcate) și a duratei lui de acțiune, mobilizarea ionilor de calciu. Astfel se obține: acțiune vasodilatatoare cu creșterea fluxului sangvin în zonele ischemice; îmbunătățirea proprietăților reologice ale sângelui și ameliorarea microcirculației prin micșorarea agregării plachetare; amplificarea potențialului energetic al AA prin creșterea substanțelor energetice (glucoză, fosfat) și intensificarea oxidării lor.

4.5.5. Algoritm de conduită a investigațiilor audiologice experimentale

Rezultatele obținute ne-au permis să elaborăm un algoritm de modelare a SSN la animalele de laborator (fig. 4.25).

Algoritmul este format din două etape consecutive, și anume: determinarea tipului de analgezie; stabilirea genului de substanță pentru inducerea și dirijarea decurgerii SSN, metodele audiometrice experimentale (OEA, impendansmetrie, reflex Preyer) pentru constatarea și monitorizarea SSN; produsul farmacologic și determinarea eficacității prin metodele audiometrice menționate mai sus. Datorită metodei respective, a fost obținută proprietatea intelectuală prin acordarea certificatului de inovator.

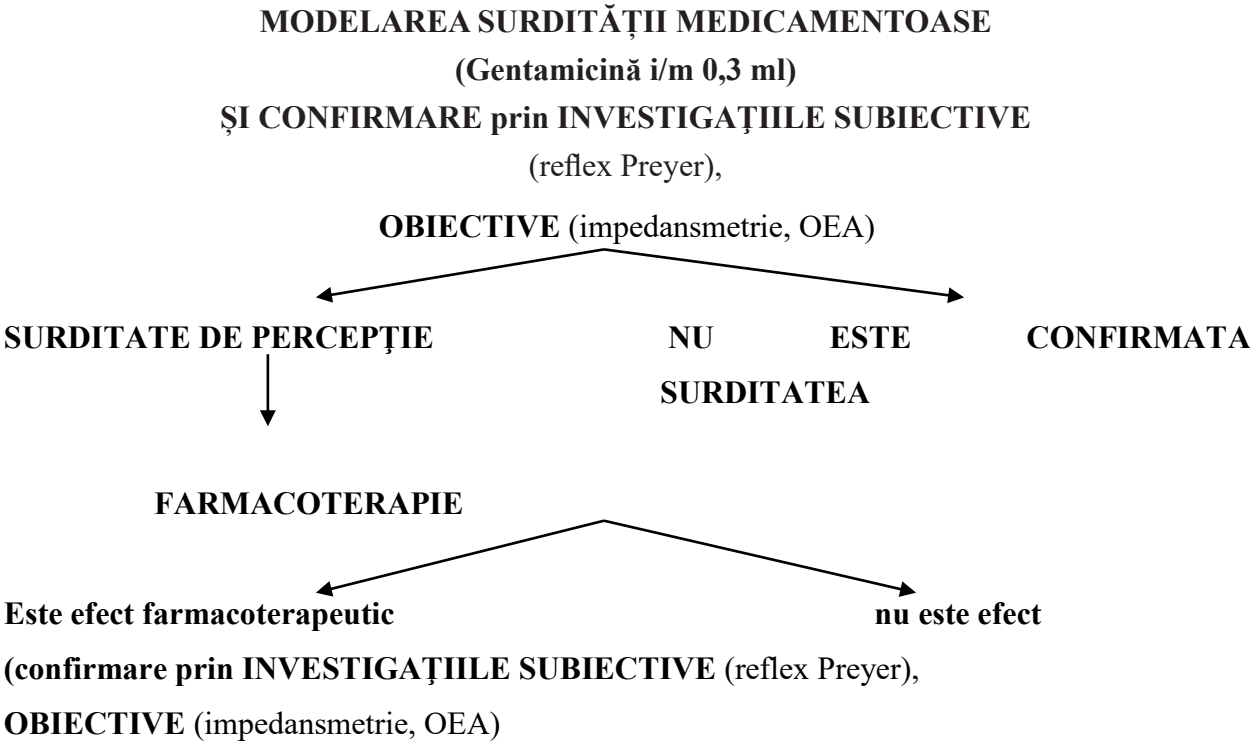


Fig. 4.25. Algoritmul de modelare a SSN la animalele de laborator

4.6. Sinteza capitolului 4

1. Rezultatele experimentale au arătat că produsul CAF-02 pentru administrarea acută unimomentană la animalele de laborator (șoareci, șobolani) practic nu prezintă efecte toxice.

2. La șoareci, administrarea intragastrală și intraperitoneală nu a cauzat decesul animalelor și nu s-au depistat modificări macroscopice ale organelor interne. La șobolani, în urma investigațiilor efectuate conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD),* posedă toxicitate redusă, astfel fiind clasificate: CAF-01 clasa de toxicitate 5 și LD50 estimat > 5000 mg/kg, iar CAF-02 clasa de toxicitate 5 și LD50 estimat - 2500 mg/kg.

3. După examinarea toxicității cronice a produsului CAF-02 putem concluziona că, pe parcursul utilizării acestuia timp de 30 de zile, s-a constatat o creștere ponderală mai importantă la animalele din loturile-martor, fără modificări esențiale ale masei corporale și masei organelor interne, reflectate prin indicele masă organ/masă corp.

4. La analiza hematologică s-a remarcat faptul că produsul CAF-01 poate provoca o leucopenie dozo-dependentă nesemnificativă. Utilizarea sistematică timp de o lună a compusului sub formă de gel la lotul-martor și loturile studiate nu a modificat esențial parametrii metabolismelor glucidic, proteic și lipidic, deși s-a constatat o creștere nesemnificativă a nivelului proteinei totale, a colesterolului care avea caracter dozo-dependent.

5. Analiza spectrului enzimatic ne-a relevat o reducere dozo-dependentă a activității transaminazelor. Administrarea timp de o lună a preparatului testat în doze de 100 și 1000 mg/kg a determinat efectul antioxidant al compusului, micșorarea dozo-dependentă nesemnificativă a Ca, precum și creșterea concentrației ureei, creatininei.

6. La examinarea macroscopică, microscopică și histopatologică, modificări patologice statistic veridice între loturile-martor și cele experimentale nu s-au constatat.

7. Rezultatele toxicității subcronice ne permit să recomandăm produsul cercetat pentru continuarea studiilor preclinice farmacologice de determinare a eficacității și inofensivității, precum și planificarea ulterioară a studiilor clinice.

În cadrul studiului preclinic pe animale de laborator (șobolani) s-a constatat că produsul medicamentos CAF-01 nu posedă efect ototoxic. Astfel, poate fi administrat local, în conductul auditiv extern, pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și urechii medii, cu și fără perforația membranei timpanice.

8. În concluzie, după o lună de administrare, produsul cercetat în doze de 100 și 1000 mg/kg nu a provocat deces și modificări în comportamentul și masa corporală a animalelor de laborator. Rezultatele cercetărilor hematologice indică faptul că MI poate provoca limfopenie și trombocitopenie dozo-dependentă (mai evident la doza de 1000 mg/kg), cu o scădere neesențială a nivelului neutrofilelor nesegmentate și o creștere relativă a nivelului limfocitelor, în comparație cu valorile din lotul-martor.

9. Potrivit cercetărilor biochimice, MI nu provoacă acțiune toxică semnificativă asupra metabolismelor proteic, lipidic și mineral, nu dereglează funcțiile ficatului la șobolanii albi. Substanțele medicamentoase testate influențează pozitiv echilibrul dintre sistemele pro- și antioxidante. În același timp, este cunoscută importanța disfuncțiilor ce au loc în sistemele respective pentru etiologia SSN.

10. Datorită progreselor înregistrate în farmacoterapie la nivel internațional, tratamentul SSN acute și subacute rămâne un domeniu deschis, în care se pot realiza studii clinice. Numărul de studii clinice referitoare la tratamentul patologiei respective este insuficient. După decenii de multiple studii clinice și experimentale, nu s-a ajuns la un protocol terapeutic, unanim acceptat, pentru tratamentul surdității brusc instalate.

11. Rezultatele toxicității subcronice a produsului CAF-01 ne permit să-l recomandăm pentru continuarea studiilor preclinice farmacologice de determinare a eficacității și inofensivității, precum și pentru planificarea ulterioară a studiilor clinice.

12. Farmacoterapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii subacute și cronice, inclusiv cu SSN, sunt în corelație cu valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor lor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide. Numărul surselor vegetale cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor și nivelul scăzut de asimilare a lor, în cazul suplimentelor cu conținut de acestea, sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor cu succes în ameliorarea diverselor situații clinice [51]. Întru soluționarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea medicamentelor combinate, obținute din preparate cu eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrate, cu efecte polivalente. În acest context, produsul CAF-01 (care reprezintă o combinație dintr-un principiu activ de sinteză – *glicina* și unul vegetal – *dihidroquercitina*) și BioR, capsule (extract din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*), posedă un potențial efect otoprotector și pot fi utilizate în schemele farmacoterapeutice ale SSN. De perspectivă sunt studiile clinice de determinare a eficacității produselor NH-01 și MI în tratamentul complex al bolnavilor cu afecțiuni cronice asociate cu SSN. O direcție importantă pentru tratamentul SSN constituie elaborarea și utilizarea în practica medicală a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Cercetările preclinice ne-au permis să elaboram un algoritm de modelare și monitorizare audiologică preclinică a eficacității farmacologice a produselor medicamentoase la animalele de laborator.

5. ASPECTE CLINICE DE OPTIMIZARE A DIAGNOSTICULUI ȘI DE RECUPERARE AUDITIVĂ A SURDITĂȚII SENZORINEURALE

5.1. Rezultatele diagnosticului genetic al mutației genei GJB2 în surditatea senzorineurală

Utilizând informațiile stocate în baza de date, cum ar fi NCBI [National Center for Biotechnology and Information], am preselectat din publicațiile recente o mutație patogenică cu impact major în apariția SSN prelinguale congenitale în populația de origine europeană [Gasparini et. al., 2000]. Mutația studiată la nivelul genei GJB2 a fost deleția 35delG, cea mai frecventă mutație a acestei gene la nivelul populației caucaziene/europene [Rabbani B., Manhdieh N., 2009].

Tabelul 5.1. Prevalența mutației 35delG în populațiile țărilor Europei Centrale și Europei de Sud-Est

Țara	Frecvența mutației 35delG	Referența
Croația	55,85%	Sansovic I., et.al., 2005
Rusia	42-57,5%	Lalaiants M.R., 2011
Belarus	53%	Danilenko N., 2012
Austria	23,2%	Frei K., et.al., 2002
Bulgaria	43,1%	Popova D.P., et.al., 2012
România	27,3%	Lazar C., et.al, 2017
Ungaria	38%	Toth T., et.al., 2004
Polonia	35,2%	Wiszniewski W., et.al, 2001
Slovenia	33%	Medica I., et.al., 2005
Estonia	32,4%	Teek R., et.al., 2010
Turcia	15-23,5%	Baysal E., et.al., 2008

Drintre țările europene apropiate, România prezintă o frecvență a acestei mutații de 27,3% [Lazar C., et.al.], Bulgaria – de 43,1%, Rusia – o frecvență cuprinsă între 42 și 57%, iar Belarus – de 53% [253].

Au fost selectați 20 de pacienți cu SSN pe baza anamnezei, examinării clinice și audiologice. Criteriul de includere în studiu a fost prezența SSN congenitale cu debut prelingual. Lotul de studiu a inclus șase subiecți de sex feminin (30%) și 14 de sex masculin (70%).

În lotul de referință au fost incluse 100 de persoane, otologic sănătoase. Lotul de referință s-a caracterizat prin subiecți cu vârsta cuprinsă între 18 și 29 de ani, mediana fiind 19 ani, valoarea întâlnită la 50 de persoane (50 %). Lotul a inclus 67 de subiecți de sex feminin (67%) și 33 de sex masculin (33%).

Studiul molecular-genetic s-a realizat conform unei metodologii de genotipare, bazată pe soluția tehnică TaqMan PCR, elaborată în Laboratorul de genetica a USMF „Nicolae Testemițanu", în cadrul temei instituționale de cercetare nr. 61 din 25.06.2013 „Sporirea eficienței diagnosticului prin testare genetică în surditate neurosenzorială" (investigator principal - Ghenadie Curocichin, dr. hab., prof. univ.). Metoda respectivă a fost perfectată în varianta finală în cadrul proiectului de cercetare bilateral moldo-român „Optimizarea tratamentului cu implant cochlear la copiii cu hipoacuzie senzorineurală autosomal recesivă nonsindromică, cu mutații la nivelul genei GJB2" (cifrul proiectului 16.80013.8007.13/Ro). Real-time PCR (TaqMan) este o reacție de polimerizare în lanț cu detecție în timp real a produsului PCR acumulat, prin măsurarea fluorescentei emise.

SNP genotiparea

Evidențierea polimorfismului mononucleotidic s-a efectuat prin tehnica TaqMan PCR. A fost utilizat setul Custom TaqMan SNP Genotyping Assay, Human (4351379, ThermoFisher Scientific, https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4351379), cu următoarea descriere tehnică de sonde oligonucleotidice cu fluorescentă, corespunzător, FAM - pentru identificarea *Wild Type Allele* (wt) și VIC - pentru recunoașterea formei alelice cu deleția 35delG (rs80338939).

Tabelul 5.2. Sensibilitatea și specificitatea detectării mutației 35delG prin tehnica TaqMan PCR la persoanele cu SSN

Mutația	**35delG prezentă alela 1+ alela 2**	**35delG absentă alela 1+ alela 2**
SNP pozitiv	24	1
SNP negativ	2	73
Numărul	24/ (24+2)	73 / (1+73)
	Sensibilitatea	Specificitatea
	0,92 (92 %)	0.98 (98 %)

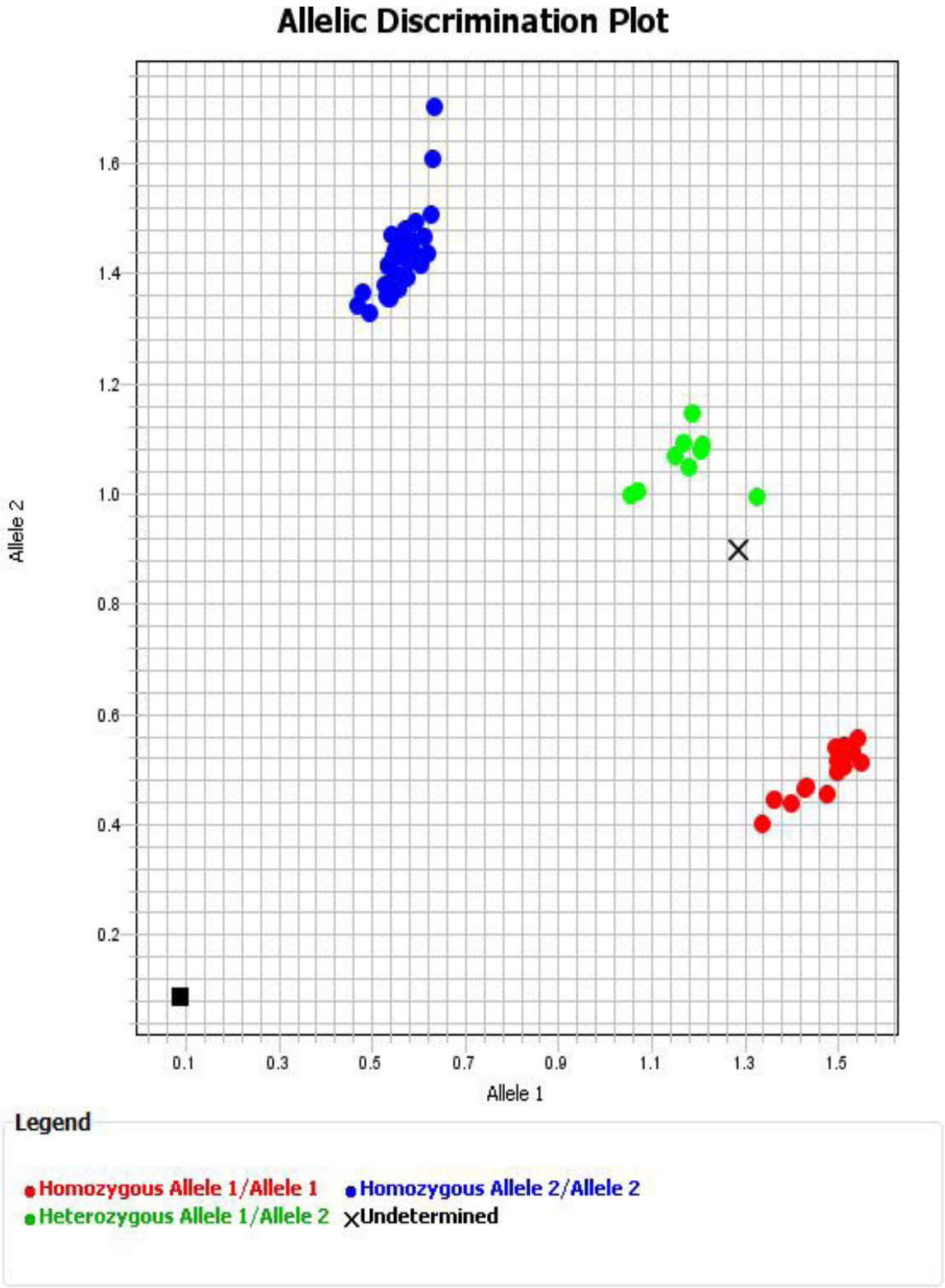


Fig. 5.1. Rezultatele genotipării SNP GJB2_rs80338939 (m.35delG)

Alela X – alela mutantă 35delG, rs80338939 (VIC); Alela Y – alela normală (alela WT) (FAM)

Astfel, în cadrul cercetării a fost elaborat setul de reactivi (sonde și primeri) pentru genotiparea prin metoda TaqMan, pentru detecția mutației 35delG din gena GJB2.

Repartiția cazurilor investigate molecular-genetic după prezența și frecvența mutației m.35delG (rs80338939).

Frecvența de apariție a acestei mutații în lotul studiat s-a determinat în felul următor: opt pacienți au prezentat mutația 35delG sub formă homozigotă (35delG/35delG), ceea ce reprezintă 40% de cazuri, doi – mutația 35delG sub formă heterozigotă (wt/35delG) – 10%, zece pacienți – genotip normal (wt/wt) – 50%. Pentru validarea rezultatelor genotipate prin metoda Taq Man, probele au fost secvențiate la Universitatea din Freiburg, Germania, în cadrul proiectului bilateral moldo-român „Optimizarea tratamentului cu implant cochlear la copiii cu hipoacuzie senzorineurală autosomal recesivă nonsindromică, cu mutații la nivelul genei GJB2". Gradul de coincidență a probelor a constituit 98% [82].

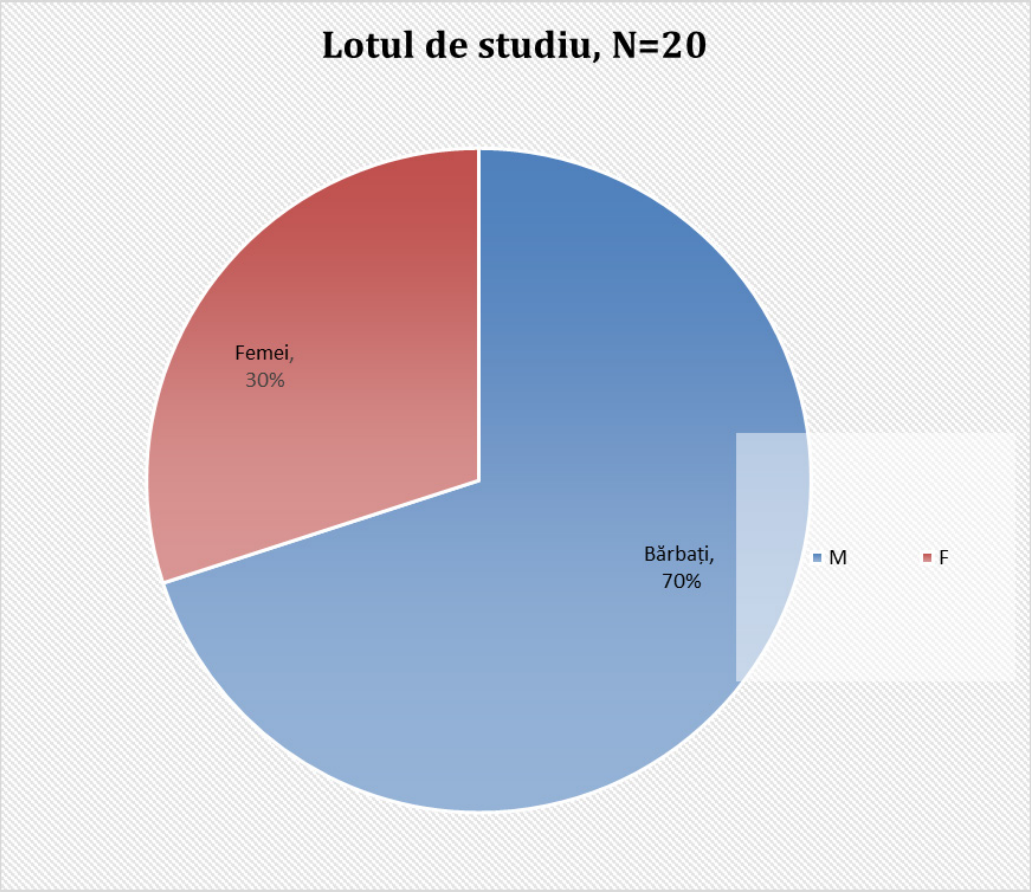


Fig. 5.2. Ponderea subiecților după sex în lotul pacienților cu SNN

Frecvența de apariție a homozigoților pentru alela patologică în lotul pacienților cu SNN a fost de 40%. În cazul copiilor homozigoți, putem afirma cu certitudine că aceasta este cauza apariției SSN. În cadrul lotului studiat, la cei opt bolnavi care prezintă un genotip homozigot pentru mutația 35delG, s-a determinat forma severă profundă, rezultate comparabile cu alte cercetări, în care s-a constatat o concordanță importantă între genotipul genei GJB2 și gradul hipoacuziei [96, 190]. La aproximativ 5% din bolnavi nu au avut deleția 35delG, ceea ce sugerează faptul că sunt alte defecte în gena GJB2, GJB6 sau altele nestabilite (tabelul 5.3).

Tabelul 5.3. Repartiția genotipurilor determinate la pacienți cu SNN (Nr. =20)

Mutație	Genotipul determinat, % cazuri		
	Homozigote 35delG/35delG	Heterozigote wt/35delG	Homozigote wt/wt
Deleția 35delG (rs80338939)	8 (40%)	2 (10%)	10 (50%)

Pentru pacienții cu SSN heterozigoți pentru mutația 35delG (reprezentând 10% din cazurile în lotul studiat) și cei homozigoți pentru alela normală (reprezentând 50% din cazurile investigate molecular-genetic), ar trebui continuate investigațiile molecular-genetice, în sensul căutării tuturor mutațiilor la nivelul genei GJB2, deoarece din cercetările recente [97] se știe cu certitudine că asocierea acestei mutații cu una non-35delG pentru gena GJB2 sau cu o mutație pentru gena GJB6 în caz de transmitere digenică pot fi cauzate de apariția SSN. Probabil, trebuie efectuată testarea mai profundă prin secvențierea acestei gene, mai ales pentru pacienții cu SSN, și la alți membri ai familiei, care au prezentat genotip normal în formă *wt/wt*, ceea ce poate depista și alte mutații la nivelul genei GJB2, chiar dacă acestea sunt mult mai rare decât mutația 35delG, răspunzătoare de apariția hipoacuziei congenitale în populația Republicii Moldova.

Datele obținute se pot considera ca fiind în concordanță cu autorii [96, 190] care afirmă existența unei corelări între gradul hipoacuziei și amploarea mutației, dar remarcă și existența unei variabilități semnificative a fenotipului în cadrul aceluiași genotip. Această variabilitate fenotip-genotip se poate explica atât prin efectul genelor modificatoare, cât și prin efectul factorilor de mediu, care pot genera o penetranță incompletă și o exprimare variabilă. Considerăm că analiza genetică a acestei mutații GLB2, cel mai frecvent implicată în apariția SSN, trebuie să facă parte din analizele din perioada prenatală, direcționând investigațiile genetice ulterioare și sfatul genetic.

Repartiția cazurilor investigate genetic din lotul de referință

În lotul de referință de 100 de persoane sănătoase, preselectate conform criteriilor stabilite pentru genotipare SNP-ului rs803389939, mutația 35delG la nivelul genei GJB2 n-a fost depistată, fiind homozigoți wt/wt (100%) după alela normală. În continuare lotul a fost extins până la 500 de persoane cu auz normal bilateral. La patru personae a fost depistată mutația 35delG sub formă heterozigotă (wt/35delG). Concluzionând, putem afirma că, pentru depistarea purtătorilor acestei mutații, este necesară efectuarea diagnosticului respectiv la toți copiii de vârstă precoce cu SSN și trebuie de extins lotul de referință până la circa 1000 de persoane.

Până în prezent au fost descrise mai multe mutații implicate în patologia auzului, dar cercetările recente au stabilit că mutațiile genei GJB2 sunt responsabile de peste 50% din cazuri de surditate bilaterală ereditară. Dintre 150 de mutații patogene ale genei GJB2, cea mai frecvent întâlnită la populația de origine caucaziană este mutația 35delG - deleţia guaninei în poziția 35 (cu frecvența 70-90%). Frecvența mutației 35delG în rândul purtătorilor sănătoși (carrier), la populația europeană, variază la diferite populații între valorile 0,5-4,5% [8, 9]. În alte populații decât cea

europeană sunt întâlnite și alte mutații patogenice, precum mutația 235delC (1-3%) la japonezi și la alte populații asiatice, 167delT - la evreii ashkenazi (4%), R143W - la africani (3%), W24X – la indieni și romi (3,5%) [2, 9-11].

La nivelul genei GJB6 sunt detectate două deleții largi care includ o porțiune mare din exonii 1, 2 și o parte a exonului 3 ale genei cu lungimea 309 kb și 232 kb, respectiv: del(GJB6 – D13S1830) și del(GJB6 – D13S1854) [3, 12]. Studiile recente au demonstrat faptul că circa 2% din cazuri de surditate neurosenzorială nonsindromică sunt datorate genotipului heterozigot cu ambele alele mutante ale pattern-ului digenic GJB2/GJB6 [2, 12].

În stadiu de elaborare este brevetul de invenție cu titlul „Genotiparea polimorfismului mononucleotidic GJB2_rs80338939 prin tehnica TaqMan Real Time PCR". „Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG) prin soluția TaqMan PCR" crește performanțele diagnosticării molecular-genetice ale SSN și poate fi recomandată ca metodă de screening copiilor cu patologia dată.

Pe lângă screening-ul audiologic obișnuit, la evaluarea persoanelor cu deficitul auditiv trebuie să fie recomandată și testarea molecular-genetică a surdității neurosenzoriale pentru genele GJB2 și GJB6 ale locusului DFNB1. Depistarea purtătorilor mutațiilor recesive patogenice ale acestor gene este foarte importantă pentru acordarea serviciilor de consiliere genetică privind posibilitatea de transmitere a acestora la descendenți, deoarece nașterea unui copil cu hipoacuzie la părinți sănătoși poate avea un impact deosebit.

5.2. Rezultatele diagnosticului auditiv la nou-născuți și sugari

UI este formată din mai multe cavități mici ce alcătuiesc **labirintul osos**, care cuprinde: **vestibulul osos**, **canalele semicirculare osoase** și **melcul osos**. În interiorul labirintului osos, dar de dimensiuni mai mici, se află **labirintul membranos**, reprezentat de formațiuni cavitare închise, ce comunică numai între ele și conțin un lichid, numit ***endolimfă***. Între pereții labirintului osos și labirintul membranos se găsește un alt lichid, numit ***perilimfă***.

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

La nivelul melcului membranos se găsește **receptorul acustic (organul Corti),** care este format din: o membrană bazilară, vibratorie, ale cărei fibre conjunctive constituente au diferite mărimi, fiind mai lungi spre vârf și mai scurte spre baza melcului; **celule senzoriale (celule ciliate externe – CCE, celule ciliate interne – CCI)** care au rolul primordial de a transforma energia mecanică sonoră în impuls nervos, astfel generând senzația auditivă. Axonii neuronilor din *gan-*

glionul Corti formează ramura acustică a nervului cranian VIII. Acesta face sinapsă cu neuronii din nucleele cohleare pontine (deutoneuronul căii). Majoritatea axonilor deutoneuronilor se încrucișează în punte și fac sinapsă cu al treilea neuron, în corpul geniculat medial (metatalamus). Din metatalamus informația auditivă ajunge la scoarța cerebrală [67].

Astfel, modificările acestor structuri pot provoca afectarea AA, o deficiență auditivă, recuperabilă sau nerecuperabilă, în funcție de locul anatomo-funcțional afectat și durata maladiei. În acest context, diagnosticul precoce al deficiențelor auditive este primordial pentru încadrarea ulterioară a persoanei hipoacuzice în activitatea socială.

În cadrul serviciului audiometrie am examinat 505 pacienți nou-născuți (la termen normal) la Spitalul privat Medpark. Băieți – 250, fete – 255 (în total, 1010 urechi examinate). La toți copiii, investigațiile audiologice primare au fost efectuate în perioada cuprinsă între 21 și 28 de zile. Din punctul de vedere al rezultatelor testelor auditive, la prima etapă de testare a otoemisiunii acustice tip TEOEA, au fost 484 de copii (95,84%), cazuri cu rezultate ***pass bilateral (test pozitiv caracteristic funcției normale a analizatorului auditiv),*** 19 (3,76%) rezultate ***refer unilateral*** și 2 (0,40%) caz ***refer bilateral***. La etapa a doua, surditatea SSN bilaterală a fost confirmată doar la un pacient (0,20%) (tabelul 5.4). Deci rezultate false pozitive au fost înregistrate doar la 20 de cazuri (copii) din 505, ceea ce constituie doar 3,96%. Acest indice este net inferior tuturor metodelor de screening auditiv, efectuat în prima săptămână după naștere, unde rata rezultatelor false pozitive (presupusa deficiență auditivă în cazul unui auz normal) este în medie de 10% (56, 89, 107, 129). Cauzele pot fi: prezența lichidului miconeal în CAE, prolapsul porțiunii cartilaginoase al CAE, întâlnit mai des în primele zile și, nu în ultimul rând, efectuarea procedurii de către personalul medical cu instruire imperfectă în domeniul audiometriei pediatrice.

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

Tabelul 5.4. Rezultatele screening-ului auditiv la nou-născuți

Etapa	Total copii	PASS	REFER unilateral	REFER bilateral
Etapa întâi	505 (100%)	484 (95,8%)	19 (3,8%)	2 (0,4%)
Etapa a doua	21 (100%)	20	0 (0%)	1 (%)

Protocolul pentru evaluarea audiologică a sugarului. Istoricul copilului – evidențierea factorilor de risc ce indică pierderi de auz la sugari; Inspecția otoscopică - trebuie să se verifice dacă conductul auditiv extern (CAE) este curat și nu are cerumen; Impedansmetria - determinarea stării urechii medii, reacția comportamentală OAE, la necesitate ABR. Evaluarea prin OEA pre-

supune folosirea stimulilor potriviți; testarea într-o cameră liniștită și copilul neagitat; Normal – o sensibilitate poate fi dedusă pentru toate frecvențele la care OAE sunt prezente; Lipsa OAE poate indica o pierdere de auz senzorială mai mare de 30-35 dB HL și/sau o disfuncție a urechii medii; Parțial normal – prezența OAE la câteva frecvențe, dar nu la altele poate ajuta la estimarea configurației audiometrice. Dacă OAE sunt prezente pe toată raza frecvențială de la 1000 la 4000 Hz, poate fi scoasă din discuție o hipoacuzie periferică. Dacă nu există factori de risc pentru neuropatie auditivă, nu trebuie făcut ABR. Dacă ABR cu click și OAE sunt normale, testarea este terminată. Hipoacuzia este confirmată, dacă pragul auditiv la ABR este ridicat. Sugarilor, care au urmat ABR, dar nu au trecut OAE, trebuie exclusă patologia urechii medii sau neuropatie auditivă. Indiferent de situație, părinții trebuie să dea informații despre dezvoltarea limbajului, despre începutul hipoacuziei sau progresia ei [97].

Desfășurarea optimă și eficientă a screening-ului auzului la nou-născuți permite o detecție precoce a hipoacuziei uni/bilaterale permanente, un diagnostic obiectiv al acesteia până la vârsta de trei luni și o intervenție terapeutică adecvată până la vârsta de șase luni. Astfel se asigură condițiile optime pentru achiziția normală a informațiilor sonore și dezvoltarea normală a limbajului copilului [7, 97].

OEA (otoemisiuni acustice) sunt semnale acustice care pot fi detectate în conductul auditiv extern. Acestea pot apărea spontan sau după stimularea urechii și se datorează vibrațiilor produse în urechea internă. OEA evaluează funcția urechii interne și este cel mai răspândit test de screening auditiv [5, 7, 21, 22, 23].

Nivelul ştiinţific de cunoaştere şi experienţa din practica actuală indică faptul că aproximativ toţi copiii, chiar şi cei cu surditate profundă, pot fi educaţi să audă şi, astfel, să însuşească limbajul sonor. Pentru obţinerea acestor rezultate impunătoare este necesar de a efectua: depistarea şi diagnosticarea precoce a deficienţei de auz (screening-ul audiologic al nou-născutului); protezarea auditivă timpurie; verificarea critică permanentă a eficacităţii aparatelor auditive; intervenţia pedagogică imediată în cazul deficienţei de auz în scopul formării unei personalităţi integre a copilului; dezvoltarea auzului şi formarea comunicării verbale (4, 19). Deci principiul de bază în asigurarea calităţii în cadrul audiologiei şi, în special, audiologiei pediatrice îl constituie colaborarea interdisciplinară a părinţilor, medicilor, profesorilor de educaţie specială şi audioproteziştilor.

În concluzie, otoemisiunile acustice reprezintă metoda de bază în diagnosticul precoce al deficiențelor auditive. Cea mai eficientă modalitate de screening se bazează pe asocierea celor două teste obiective. Screening-ul deficiențelor auditive neurosenzoriale contribuie semnificativ în diagnosticul precoce al surdității la copii, oferind, în același timp, și date epidemiologice. Programul de screening auditiv necesită a fi extins la alte maternități din republică, pentru a facilita diagnosticul precoce și reabilitarea adecvată a copiilor hipoacuzici în scopul integrării ulterioare a acestora în societate. Eficacitatea diagnosticului precoce și, ulterior, a reabilitării depinde de membrii echipei din care fac parte: medici neonatologi, familia, medic pediatru/medic de familie, audiologi, otolaringologi, psihologi, logopezi, educatori ai copiilor cu surditate [72].

5.3. Elaborarea principiilor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală

Starea auzului rezidual la hipoacuzici caracterizează următorii indici clinici şi audiologici ca: rezultatele examenului ORL, etiologia, diagnoza clinică, caracterul deficienţei de auz, în special gradul hipoacuziei la urechea dreaptă şi la cea stângă, configuraţia curbei audiometrice, la AD şi AS**,** raportul dintre pragul auditiv tonal pe conductibilitatea aeriană la frecvenţele zonei vorbirii și pragul disconfortului auditiv, diapazonul dinamic al auzului, prezenţa sau lipsa acufenelor.

Audiometria tonală reprezintă cea mai accesibilă metodă de diagnosticare a deficienţei de auz. Rezultatele audiometriei tonale liminare denotă deosebire între pragul auditiv și gradul surdităţii, concomitent cu micşorarea pragului auditiv și a numărului de răspunsuri pozitive la frecvenţele acute [1, 79].

Problema pe care o rezolvă metoda propusă constă în sporirea eficacității diagnosticului audiologic, datorită unei metode de pronostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală.

Avantajul constă în obiectivizarea pronosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală. Metoda propusă permite diagnosticul în lipsa testelor de audiometrie vocală, fapt ce ulterior este important pentru reabilitare și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Matematic, problema, fiind formalizată, se reduce la deducerea unei reguli în baza analizei datelor audiometriei tonale care permite a pronostica parametrul scorului maxim de inteligibilitate în dB, în urma rezultatelor audiometriei tonale liminare și celei supraliminare. Utilizarea analizei de regresie în prelucrarea datelor statistice despre pacienții investigați ne-a permis să deducem formula propusă *infra* și care constituie esența metodei de pronosticare.

Esența metodei constă în selectarea criteriilor de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală, în baza rezultatelor audiometriei tonale liminare, și celei supraliminare, conform formulei matematice reprezentate în figura 5.3.

Un scor maxim de inteligibilitate vocală, înregistrat până la 40 dB, este caracteristic pentru auzul normal. Un scor maxim, înregistrat la valori mai mari de 40 dB, este caracteristic pentru hipoacuzie. Diferența dintre scorul maxim de inteligibilitate pronosticat și cel real (diferența dintre valoarea reală și cea pronosticată), determinat în limitele cuprinse între valorile 0-5%, este considerată excelentă; > 5-10% - bună; 10% - joasă.

Controlul modelului propus pe date reale (51 de urechi examinate) a permis să constatăm că o eroare, ce nu depășește 5% din valoarea reală, constituie 54,9%, iar o eroare care nu depășește 10% din valoarea reală – 94,1 % din numărul de urechi investigate.

$$y = 0{,}784*PA + 0.230*PD – 1{,}192*xCA - 0{,}214*IA - 0{,}590*GS + 51{,}055,$$

unde:

CA reprezintă aspectul curbei audiometrice, determinat la: audiometria tonală liminară descendentă – 1, descendent abruptă – 2, plată – 3, ascendentă – 4, în clopot – 5;

PA - media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (100-6000 Hz), măsurat în deciBeli (dB);

GS – media gradului de surditate, stabilit la audiometria tonală (500, 1000, 2000 Hz), măsurat în deciBeli (dB);
PD - media pragului de disconfort, stabilit la audiometria tonală (500-4000 Hz), măsurat în deciBeli (dB);
IA - indicele de articulare, stabilit în baza audiometriei tonale liminare (%).

Coeficientul de determinație R^2 pentru modelul în cauză, la pacienții testați, este destul de mare: $R^2 = 0,7255$. Coeficientul de determinație R^2 cu valori cuprinse: între 0-0,2999 - nesatisfăcător; 0,3000-0,6999 - satisfăcător; 0,7000-1 -înalt. Rezultatul constă în majorarea eficacității diagnosticului audiometric.

Prin rezultatul prognosticat se facilitează diagnosticul topografic al patologiilor auditive și selectarea individuală adecvată a protezelor auditive. Rezultatul constă în creșterea exactității pronosticării scorului audiometriei vocale mai efectivă, operativă și ieftină.

Pragurile de auz la efectuarea audiometriei tonale se determină pe conducerea aeriană și osoasă separat, la fiecare ureche în parte. Audiometria tonală liminară începe cu prezentarea sunetului continuu la o intensitate confortabilă, la frecvența de 1000 Hz (fiind frecvența cea mai ușor identificabilă, primordială a zonei de conversație). Ulterior se descreștea în pași a câte 10 dB HL, până când pacientul nu mai răspundea și de aici se începea căutarea pragului de auz. Se creștea în pași a câte 5 dB HL pe două-trei secunde, până când pacientul răspundea din nou. Examinarea se repeta de două-trei ori. Ulterior, se examinau frecvențele de 2000, 4000, 6000, 8000 Hz, apoi cele de 500, 250, 125 Hz. Examinarea se sfârșea cu determinarea repetată a pragului auditiv la frecvența de 1000 Hz. La determinarea pragului de disconfort (audiometria tonală supraliminară), pacientul era instruit că intensitatea sunetului se va mări progresiv; dacă sunetul era neplăcut (foarte greu de suportat), trebuia să ridice mâna sau să apese butonul. Investigația a fost realizată la frecventele de 500, 1000, 2000, 4000 Hz, la ambele urechi. Începând de la nivelul perceperii, sunetul era treptat mărit până la primirea răspunsului de senzație neplăcută. Rezultatele erau fixate pe blancul audiogramei. Stabilirea scorului maxim de inteligibilitate vocală (100%) a fost pronosticat prin evaluarea următorilor indici ai audiometriei tonale liminare și supraliminare: aspectul curbei audiometrice (CA), media pragului auditiv (PA) și cea a gradului de surditate (GS), stabilite la audiometria tonală, media pragului de disconfort (PD), indicele de articulare (IA).

Exemplu 1: Pacientul N., 12 ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă moderată. Analiza audiometriei tonale liminare și a celei supraliminare a stabilit următorii indici: aspectul curbei audiometrice (CA) – descendentă; media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (PA) – 45 dB; media gradului de surditate, evaluat la audiometria tonală (GS) – 48 dB; media pragului de disconfort (PD) – 101,25 dB, indicele de articulare (IA) – 23%. Scorul maxim de inteligibilitate, constatat în cadrul audiometriei vocale de 100%, a fost stabilit la intensitatea de 75 dB. La utilizarea formulei matematice elaborate pentru prognozarea scorului

maxim de inteligibilitate, am obținut valoarea 75,19 dB, diferența dintre valoarea reală și cea prognosticată constituind 0,25%.

Exemplu 2: Pacientul A., 37 de ani, diagnosticul surditate neurosenzorială, formă severă. S-a selectat aparat auditiv pentru forma moderată de surditate. Analiza audiometriei tonale liminare și a celei supraliminare a stabilit următorii indici: aspectul curbei audiometrice (CA) – descendentă; media pragului auditiv, stabilit la audiometria tonală (PA) – 60,63 dB; media gradului de surditate, evaluat la audiometria tonală (GS) – 50 dB; media pragului de disconfort (PD) – 90 dB, indicele de articulare (IA) – 41 %. Scorul maxim de inteligibilitate a fost stabilit la intensitatea de 85 dB. La utilizarea formulei matematice, elaborate pentru prognozarea scorului maxim de inteligibilitate, am obținut valoarea 79,82 dB, diferența dintre valoarea reală și cea pronosticată constituind 6,09%.

Investigațiile au fost efectuate pe un lot de 26 de pacienți, de ambele sexe, cu vârsta cuprinsă între 7 și 42 de ani, cu diagnosticul SSN, protezaţi auditiv. S-au efectuat: examenul clinic primar (inclusiv statutul ORL), acumetria fonică, audiometria tonală, audiometria vocală. Analiza matematică a permis de a calcula faptul că o eroare, ce nu depășește 5% din valoarea reală, constituie 54,9%, iar o eroare, care nu depășește 10% din valoarea reală – 94,1 % din numărul de urechi investigate. Indicație pentru utilizarea acestei metode constituie diagnosticul audiologic la pacienți cu surditate, în scopul întocmirii ulterioare a protocolului de tratament și reabilitare electroacustică a auzului. Contraindicații nu sunt [73].

5.4. Elaborarea principiilor de prognostic al eficacității protezării auditive

Este cunoscută metoda de evaluare a eficacității protezării auditive, conform anchetei „hearing handicap inventory for the eldery” (HHIE), propusă de Ventry I., Weinsteinn B.: efectul protezării auditive se estimează în baza unei anchete completate de pacienți. Dezavantajul ei constă în faptul că nu prevede prognozare în baza rezultatelor investigațiilor audiometrice, conține numeroase compartimente, necesită mult timp pentru efectuarea ei și este recomandată preponderent persoanelor de vârstă înaintată.

Potrivit datelor din literatură, numai 40-50% dintre utilizatorii protezelor auditive sunt satisfăcuți de rezultatele protezării auditive. Un rol important, în acest context, revine reglării individuale cât mai reușite a protezelor auditive. Astfel, devine oportună implementarea unor principii de prognozare a eficacității protezării auditive.

Materialul acestui studiu a inclus analiza datelor anamnestice, clinice, instrumentale, informativitatea diverselor metode de investigații audiometrice și a selectării protezelor auditive la 73 de pacienți de ambele sexe cu SSN. Factorii decisivi de pronostic au fost stabiliți în baza comparațiilor frecvenței diferitor factori în două grupuri de pacienți: I grup la care, în perioada de reabilitare, după selectarea primară a protezei auditive, s-a constatat unul sau mai multe efecte adverse la utilizarea aparatelor auditive: acufene, oboseală rapidă, cefalee, iritabilitate, și grupul II - pacienții care nu au prezentat astfel de acuze la aplicarea protezei auditive.

În baza analizei discriminante, au fost selectați factorii decisivi de pronostic. Esența metodei constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții care suferă de surditate, în baza datelor anamnestice și investigațiilor audiometrice. Funcția discriminantă (F) se calculează conform unei formule, la baza căreia sunt următorii indici: vârsta pacientului (ani împliniți); factorul etiologic de surditate - infecțiile virotice și bacteriene (gripa, rujeola, rubeola, oreionul, parotita, meningita etc.), suportate în anamneză: nu – 0, da – 1; evoluția surdității: regresivă, progresivă, stabilizantă; pragul auditiv, stabilit la audiometria tonală cu casca de telefon, cuprinde limitele între 0 și 120 deciBeli (dB HL); indicele de articulare exprimă scorul de recunoaștere a vorbirii (%) și reprezintă o aplicație care manifestă transpunerea spectrului vorbirii în graficul audiometriei tonale. Proporția, în care sunt auzite informațiile necesare pentru perceperea vorbirii, se numește indice de articulare (IA). Deci IA este o măsură care arată ce proporție din informația unui semnal de vorbire normală este disponibil într-o situație oarecare de ascultare. Se exprimă printr-un indice, care are valoarea cuprinsă între 0 și 1 (sau 1-100 %), și reprezintă semnalul mediu de vorbire ce este auzit de un subiect dat. IA are următoarele aplicații clinice: servește la explicațiile date pacientului despre impactul hipoacuziei asupra capacității de a percepe vorbirea; indicele de articulare are o relație cunoscută cu capacitatea de recunoaștere a cuvintelor, astfel încât scorurile de recunoaștere a vorbirii pot fi reprezentate prin IA (6).

În cazul în care $F > 0$, se face pronosticul unui rezultat favorabil al protezării auditive (lipsa efectelor adverse), iar $F < 0$ – a unui rezultat nefavorabil (prezența efectelor adverse), deoarece necesită reglări suplimentare mai frecvente ale protezelor auditive și o perioadă de reabilitare mai îndelungată.

Avantajul constă în sporirea exactității și obiectivizării pronosticării evoluției nefavorabile a eficacității protezării auditive la pacienții cu surditate. Metoda propusă permite depistarea precoce a bolnavilor cu risc sporit de dezvoltare a efectelor adverse, fapt ce impune o atenție deosebită pentru această categorie de pacienți cu: corijarea la timp a programului de tratament, selectarea protezelor auditive, reabilitarea și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Matematic, problema, fiind formalizată, se reduce la deducerea unei reguli, criteriu de discriminare, în baza analizei datelor a două selecții (pacienți la care s-a constatat unul sau mai multe efecte adverse la utilizarea protezelor auditive, și anume: cefalee, oboseală rapidă, iritabilitate, acufene și pacienți care nu au acuzat inconvenientele sus-numite), care permite a atribui un nou element (pacient protezat auditiv) la una dintre cele două mulțimi cu o exactitate destul de bună. Utilizarea analizei discriminante în prelucrarea datelor statistice despre pacienții protezaţi auditiv ne-a permis să deducem funcția discriminantă propusă *infra* și care reprezintă esența metodei de pronosticare.

Esența invenției constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariției inconvenientelor protezării auditive la pacienții care suferă de surditate, în baza datelor anamnestice și

investigațiilor audiometrice. Funcția discriminantă (F) se calculează conform formulei (brevet de invenție MD 291 Z din 16.07.2011) :

$$F = - 7{,}927+0{,}144*VP-0{,}476* FS – 0{,}975* ES+0{,}073* PA +0{,}065* IA,$$

unde:

VP reprezintă vârsta pacientului (ani împliniți);

FS – infecțiile virotice, bacteriene, ca factor declanșator al surdității: nu – 0, da – 1;

ES – evoluția surdității: regresivă – 0, progresivă – 1, stabilizantă – 2;

PA – pragul auditiv, stabilit la audiometria tonală, cuprinde limitele între 0 și 120 deciBeli (dB);

IA – indicele de articulare, ce exprimă scorul de recunoaștere a vorbirii (%).

În cazul în care $F > 0$, se face pronosticul unui rezultat favorabil al protezării auditive (lipsa efectelor adverse), iar dacă $F < 0$ – a unui rezultat nefavorabil (prezența efectelor adverse), deoarece necesită reglări suplimentare mai frecvente ale protezelor auditive și o perioadă de reabilitare mai îndelungată. Rezultatul constă în creșterea exactității pronosticării efectelor adverse ale protezării auditive la pacienții cu surditate, datorită utilizării în metoda dată a parametrilor clinici și anamnestici.

La analiza retrospectivă a pacienților protezaţi, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP), prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS), evoluția deficienței auditive (ES), pragul auditiv sau severitatea surdității (PA), indicele de articulare (IA).

Analiza discriminantă a permis de a calcula ponderea fiecăruia din acești factori în riscul dezvoltării inconvenientelor protezării auditive. Precizia clasificației, conform acestor cinci factori pentru grupul cu pronostic nefavorabil, este de 93,75% și pentru grupul cu pronostic favorabil – de 84,21% (tabelul 5.5). Verificarea funcției discriminante s-a efectuat la 73 de pacienți cu diagnosticul surditate neurosenzorială. Rezultatul a fost considerat favorabil în cazul în care $F > 0$ și nefavorabil, dacă $F < 0$.

Tabelul 5.5. Rezultatele prognosticului efectelor adverse la protezarea auditivă

Rezultatul scontat	Rezultate reale, corect pronosticate		
	Lipsa efectelor adverse	Prezența efectelor adverse	Total pacienți
Lipsa efectelor adverse	48 (84,21%)	9 (15,79%)	57
Prezența efectelor adverse	1 (6,25%)	15 (93,75%)	16
Total	49 (67,12%)	24 (32,88%)	73

Indicație pentru utilizarea acestei metode constituie depistarea pacienților cu risc sporit de dezvoltare a efectelor adverse ale protezării auditive, în scopul întocmirii unui algoritm optim de selectare, reglare și adaptare la dispozitivele electroacustice. Contraindicații nu sunt.

Exemplul 1:

Pacientul N., 12 ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă severă. A fost selectat un aparat auditiv pentru forma severă de surditate. La analiza retrospectivă a pacienților protezaţi, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP) -12 ani, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS) = 1, evoluția deficienței auditive (ES) = 1, pragul auditiv sau severitatea surdității (PA) = 72 dB, indicele de articulare (IA) = 0%. Valoarea calculată a funcției discriminante F = - 2,394, adică F < 0, ceea ce permite pronosticul unei evoluții clinice cu prezența efectelor adverse. Metoda aplicată a demonstrat coincidența pronosticării cu rezultatul real la trei săptămâni de la protezare: pacientul acuza cefalee, oboseală rapidă în timpul conversațiilor cu proteza auditivă și iritabilitate pronunțată la expunerea în zgomot. În urma corijărilor efectuate la algoritmul de reabilitare, efectele nescontate au fost diminuate.

Exemplul 2:

Pacientul A., 37 de ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă moderată. S-a selectat aparat auditiv pentru forma moderată de surditate. La analiza retrospectivă a pacienților protezaţi, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP) – 37 de ani, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS) = 0, evoluția deficienței auditive (ES) = 1, pragul auditiv sau severitatea surdității (PA) = 42 dB, indicele de articulare (IA) = 14%. Valoarea calculată a funcției discriminante F = 0,402, adică F > 0, ceea ce permite pronosticul unei evoluții fără efecte adverse în perioada de adaptare la proteza auditivă, fapt ce demonstrează coincidența pronosticării cu rezultatul clinic favorabil.

Exemplul 3:

Pacientul C., 37 de ani, diagnosticul surditate neurosenzorială bilaterală, formă ușoară. A fost selectat aparat auditiv pentru forma ușoară de surditate. La analiza retrospectivă a pacienților protezaţi, s-au evaluat următorii indici: vârsta bolnavului (VP) – 37 de ani, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene (FS) = 1, evoluția deficienței auditive (ES) = 2, pragul auditiv sau severitatea surdității (PA) = 37 dB, indicele de articulare (IA) = 36 %. Valoarea calculată a funcției discriminante F = 0,016, adică F > 0, ceea ce permite pronosticul unei evoluții favorabile. În realitate însă, examenul repetat peste o lună indica persistența efectelor adverse (acufene), fapt ce demonstrează necoincidența pronosticului cu rezultatul clinic. În urma reglărilor suplimentare și extinderii perioadei de adaptare, efectele adverse la utilizarea protezei auditive au fost eliminate.

Astfel, pentru a obţine efectul maxim al protezării auditive, trebuie să ţinem cont de un complex de factori şi condiţii ce asigură pacientului o percepţie confortabilă a vorbirii. În acest complex intră factorii fiziologici şi psihoemotivi, rezultatele investigaţiilor clinice şi audiometrice, ce caracterizează: auzul rămas al bolnavului, exteriorul protezei auditive, culoarea, caracteristicele amplitudine/ frecvenţă a protezei auditive.

Atât factorii, cât şi condiţiile enumerate sunt necesare la alegerea modelului concret al protezei auditive. În fiece caz concret, selecţia trebuie să fie individuală, evidențiind factorii fiecărui

pacient. În general, rezultatele obţinute permit de a spori eficacitatea reabilitării sociale a auzului de diferită etiologie.

Proteza auditivă, odată ce extinde perceperea sunetelor înconjurătoare, are un efect benefic. În acelaşi timp, ea demască defectele faţă de oamenii sănătoşi, ce uneori poate fi cauza unei traume psihice. Apare necesitatea considerării acestui factor în recomandările la alegerea protezelor auditive, la antrenarea ulterioară cu hipoacuzicii protezaţi.

Analizând în ansamblu rezultatele diagnosticului şi protezării auditive a bolnavilor cu SSN periferică de diferite tipuri, putem conchide despre particularităţile metodelor atât obiective, cât şi subiective ale diagnosticului diferenţial al formelor cohleare şi retrocohleare. Au fost descrişi factorii declanşatori ai SSN la copii şi la adulţi.

Eficienţa protezării auditive corelează vârsta, motivarea bolnavului hipoacuzic cu gradul deficienţei de auz, prezenţa inconvenientelor protezării auditive, reglării lor conform regulilor de calcul al câştigului protezei auditive şi a parametrilor electroacustici [65].

5.5. Studiu clinic de determinare a eficacității antioxidante a produsului NH-01

La 18 pacienți cu hepatite cronice B, C și ciroză hepatică, din loturile care au administrat Neamon-hepa, și la 15 pacienți din loturile-martor, atât la IMSP SCR, cât și la IMSP SBI „Toma Ciorbă", au fost efectuate cercetări asupra efectului antioxidant al preparatului NH-01 în cadrul Laboratorului de biochimie al USMF „Nicolae Testemiţanu". La investigarea biochimică a enzimelor anitoxidante și a hidroxiperoxizilor lipidelor, s-a constatat o ameliorare substanțială a indicilor stresului oxidativ la pacienții din lotul tratat cu produsul studiat. Testările au stabilit o ameliorare în sistemul antioxidant, manifestată prin majorarea veridică a indicilor SOD: inițial – 1096 ± 23,5 U/g, după tratament – 1199 ± 30,6 U/g; a indicilor ceruloplasminei: inițial – 243 ± 17 mg/l, după tratament – 316 ± 11,4 mg/l ($p < 0,05$), precum și o creștere a activității antioxidante totale, a catalazei și Zn la pacienții tratați cu Neamon-hepa. Totodată, s-a constatat și micșorarea indicilor pro-oxidanți, cum ar fi dialdehida malonică, și reducerea activității hidroperoxizilor lipidici [66]. Pentru a aprecia starea sistemului pro-oxidant la pacienții cu ciroza hepatică, s-a determinat nivelul dialdehidei malonice și al hidroperoxizilor lipidici (HPL).

Indicii sistemului antioxidant s-au precizat prin determinarea următorilor parametri: activitatea antioxidantă totală [AAT], nivelul superoxiddismutazei [SOD] și al catalazei, activitatea glutationperoxidazei [GPO], nivelul ceruloplasminei, Zn, Cu.

Un indiciu caracteristic stresului oxidativ este dialdehida malonică, produsul final al peroxidării lipidelor și hidroperoxizii lipidici care s-au atestat majorați veridic în lotul pacienților cu ciroză hepatică. La fel, la acești pacienți s-a apreciat o activitate redusă a parametrilor sistemului antioxidant.

Rezultatele obținute după tratament cu Neamon-hepa nu au demonstrat un efect statistic concludent în sistemul de peroxidare a lipidelor, ci o ameliorare în sistemul antioxidant, mani-

festată prin majorarea veridică a SOD și ceruloplasminei, precum și o intensificare a activității antioxidante totale, a catalazei și Zn la pacienții tratați cu Neamon-hepa. Totodată, s-a remarcat și micșorarea indicilor pro-oxidanți, cum ar fi dialdehida malonică, și reducerea activității hidroperoxizilor lipidici (tabelul 5.6).

Una dintre cauzele SSN induse este stresul oxidativ. Afectările provocate de radicalii de oxigen, care posedă activitate chimică sporită, inclusiv în organul Corti, în stadiile inițiale sunt reversibile. Mecanismul primordial de apărare de leziunile provocate de radicalii liberi este ciclul de oxidoreducere a glutationului. Organul auditiv este supus stresului oxidativ. Pentru prevenirea POL, celulele ciliate ale OC trebuie să posede următoarele caracteristici: să nu permită inițierea reacției în lanț a radicalilor liberi, de exemplu prin micșorarea sintezei de O_2; să inhibe reacția în lanț a radicalilor, de exemplu prin utilizarea peroxiradicalilor; să posede efect regenerativ prin prezența fermenților, care să asigure astfel de procese în proteine și ADN.

Tabelul 5.6. Evaluarea indicilor sistemului de peroxidare a lipidelor la pacienții tratați cu NH-01

Indicii	Inițial	După tratament	P
Numărul pacienților	18	17	M ± m
Ceruloplasmina, mg/dL	243 ± 17	316 ± 11,4	p<0,05
Catalaza, mM/L	11,8 ± 1,1	12,3 ± 1,04	p>0,05
Glutationperoxidaza, mM/L	7,0 ± 0,5	7,2 ± 0,5	p>0,05
Superoxidismutaza, uc/L	1096 ± 23,5	1199 ± 30,6	p<0,05
Mg, mM/L	0,79 ± 0,005	0,79 ± 0,006	p>0,05
K, mM/L	4,35 ± 0,3	4,2 ± 0,3	p>0,05
Zn, mM/L	30,7 ± 0,86	31,1 ± 0,8	p>0,05
Cu, mM/L	18,77 ± 0,33	18,15 ± 0,30	p>0,05
Dialdehida malonică, mM/L	40,12 ± 1,66	39,8 ± 0,9	p>0,05
Hidroperoxizi lipidci (HPL) - I izopropil, uc/ml	385,6 ± 1,13	384,05±0,61	p>0,05
HPL-M izopr., uc/ml	447,9 ± 1,12	446,05±0,54	p>0,05
HPL-T izopr., uc/ml	450,02 ±1,32	446,9 ± 0,66	p>0,05
HPL-I hexan., uc/ml	75,6 ± 1,18	75,5 ± 0,11	p>0,05
HPL-M hexan., uc/ml	75,01 ± 0,17	74,9 ± 0,07	p>0,05
HPL-T hexan., uc/ml	75,6 ± 0,18	74,9 ± 0,07	p>0,05
Activitatea antioxidantă totală izopr., mM/L	1,37 ± 0,12	1,41 ± 0,11	p>0,05

Produsul NH-01 posedă astfel de proprietăți, deci poate fi util ca medicament cu proprietăți antioxidante în tratamentul SSN dobândite, în stadiile acute și subcronice reversibile [104]. BioR – antioxidant puternic. Aspartatul de arginină are un efect metabolic activ, îmbunătățind funcțiile trofice și anabolismul celular. Prezența spironolactonei, ca produs diuretic K-protector, face posibil de recomandat produsul Neamon-hepa, în formele de afecțiuni ale AA, în care intervine edemul cerebral (SSN acută pe fond de traumatism craniocerebral) sau edem al labirintului membranos din urechea internă (maladia Meniere în faza acută).

5.6. Studiu clinic de determinare a eficacității produsului CAF-01

În procesul dezvoltării stării patologice la bolnavii cu cancer și în urma tratamentului radioterapeutic și chimioterapeutic, au loc procese de intoxicație endogenă tumorală, de formare a radicalilor liberi, de denaturare a proceselor de oxidoreducere și de dereglare a microcirculației. Cele menționate argumentează includerea în tratamentul complex a preparatelor cu acțiuni și proprietăți antioxidante, detoxifiante, metabolice și angioprotectoare. Mecanismele enumerate se includ în acțiunea componentelor emusliei Flamena [30, 89]. A fost pus în evidență faptul că, în prezența speciilor reactive, cum ar fi H_2O_2 unii neuroni și celule gliale permit influxul de Ca^{2+} prin canale specifice de cationi, inițiind o cascadă dăunătoare, care culminează cu leziuni ale citoscheletului celular. Scopul studiului clinic: evaluarea eficacităţii şi inofensivităţii compusului medicamentos Flamena (emulsie, 100 ml), ca adjuvant în terapia complexă a cancerului glandei mamare; repartizarea pacientelor în studiu: lotul I – 20 de femei cu diagnosticul cancer al glandei mamare (CGM), după polichimioterapie neoadjuvantă, care au urmat terapia de bază + preparatul studiat.

Rezultatele investigațiilor hematologice, biochimice și imunologice au demonstrat eficacitatea statistic semnificativă a produsului, în comparație cu lotul studiat și cel de control [30]. În urma administrării emulsiei Flamena, în doza de 100 ml, indicii hemoglobinei în loturile de studiu s-au majorat de la 110 ± 0,71 până la 116,0 ± 1,28 g/L ($p \leq 0,05$) și, respectiv, de la 109,44 ± 0,43 până la 120,18 ± 0,4 g/L ($p \leq 0,05$), iar în loturile de control nu s-a determinat o diferență statistic semnificativă, $p > 0,05$ [30]. Emulsia Flamena 100 ml posedă proprietăţi detoxifiante evidente: micşorează bilirubina totală cu 1,1 ± 0,3 ($p < 0,05$), îmbunătăţeşte indicii sistemului de peroxidare a lipidelor: glutationperoxidazei – cu 1,1± 0,02 mM/L, catalazei – cu 2,05 ± 0,07 mM/L, ceruloplasminei – cu 53,3 ± 1,2 mg/dL, dialdehidei malonice – cu 0,7 ± 0,04 mM/L, hidroxipiroxizilor lipidici, activității antioxidante totale – cu 1,1 ± 0,03 mM/L.

Produsul medicamentos Flamena (emulsie, 100 ml) a manifestat o acțiune specifică imunomodulatoare prin ameliorarea și creșterea indicilor imunologici, chiar și a celor care inițial au fost denaturați. Acest fapt argumentează administrarea emulsiei în combinație cu preparatele citostatice și chimioterapeutice, cu radioterapie și de sine stătător, în calitate de imunomodulator specific. A fost înregistrată creșterea nivelului imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM, IgE în medie cu 0,8 ± 0,05 ($p < 0,05$). S-a stabilit o acțiune benefică asupra imunității celulare.

S-a atestat majorarea indicilor imunității celulare, a anticorpilor monoclonali CD_3, CD_4, Cd_8, CD_{16} în medie cu 0,4 ± 0,02 ($p < 0,05$) și intensificarea activității de fagocitare a neutrofilelor [30].

S-au îmbunătățit considerabil indicii sindromului de dezintoxicare: superoxiddismutaza, ureea, creatinina (tabelul 5.7). În urma efectuării studiului clinic, s-a constatat: administrarea produsului farmaceutic Flamena, emulsie orală, 100 ml, la bolnavii oncologici de profil mamologic și oncoginecologic, a înregistrat acțiuni benefice: îmbunătăţirea stării generale, creșterea poftei de mâncare și a masei corporale cu 1,8 ± 0,2 (kg) ($p < 0,05$), ameliorarea statusului psihoemoțional, diminuarea sindromului astenovegetativ cu 30%, a sindromului dispeptic cu 10% și a sindromului dolor. Preparatul Flamena 100 ml este acceptabil, comod de administrat și se recomandă bolnavilor oncologici după polichimioterapie și radioterapie, ca adjuvant, detoxifiant şi imunostimulator.

Tabelul 5.7. Rezultatele investigațiilor de laborator efectuate la pacientele din lotul cu CGM care au administrat CAF-01

Parametrii	Până la începerea tratamentului	La sfârşitul tratamentului	p
Parametrii hematologici			
Hemoglobina, g/L	110 ± 0,71	116,0±1,8	$p < 0,05$
Eritrocite, $*10^{12}$	3,78 ± 0,04	3,9 ± 0,14	$p < 0,05$
Leucocite, $*10^9$	3,8 ± 0,17	4,7 ± 1,02	$p < 0,05$
Trombocite, $*10^{3/}$/mL	180 ± 0,0001	182±0,02	$p < 0,05$
Nesegmentate	0,040 (2%)	0,09 (3%)	$p < 0,05$
Segmentate	2000 (47%)	5150 (56%)	$p < 0,05$
Eozinofile, $*10^3$/mL	0,7%	2,2%	$p < 0,05$
Limfocite, $*10^9$/mL	1200 (20%)	2,800 (29%)	$p < 0,05$
Sistemul de peroxidare a lipidelor			
Ceruloplasmina,mg/dL	242 ± 16	334 ±12,6	$p < 0,05$
Catalaza, mM/L	10,8 ± 1,2	13,4±1,06	$p < 0,05$
Glutationperoxidaza, mM/L	6,5 ± 0,5	7,8 ± 0,5	$p < 0,05$
Superoxiddismutaza, uc/L	1092 ± 22,5	1201±288	$p < 0,05$
Mg, mM/L	0,78 ± 0,003	0,80±0,06	$p < 0,05$
K, mM/L	4,20 ± 0,4	4,3 ± 0,2	$p < 0,05$
Zn, mM/L	29,8 ± 0,86	30,1±0,36	$p < 0,05$
Cu, mM/L	17,22 ± 0,31	18,1± 0,23	$p < 0,05$
Dialdehida malonică, mM/L	39,4 ± 1,25	40,2± 1,02	$p < 0,05$

Hidroperoxizi lipidici-I izopr., uc/ml	378,6 ± 1,12	380,1± 0,94	p < 0,05
HPL-M izopr.	442,9 ± 1,10	444,3± 1,12	p < 0,05
HPL-T izopr.	442,02 ±1,30	443,09± 1,28	p < 0,05
HPL-I hexan.	70,2 ± 1,15	71,6±1,42	p < 0,01
HPL-M hexan.	72,8 ± 0,14	74,6±0,21	p < 0,05
HPL-T hexan.	72,6 ± 0,15	73,8±0,34	p < 0,01
Activitatea antioxidantă totală izopr., mM/L	1,32 ± 0,14	1,52±1,02	p < 0,05

Investigațiile clinice și paraclinice nu au atestat nicio diferență în dezvoltarea procesului tumoral în loturile de studiu şi în cele de control, fapt ce denotă inofensivitatea şi neimplicarea preparatului Flamena în procesele proliferative tumorale. Cercetarea şi analiza clinică a preparatului Flamena, cu scop de administrare și aplicare în medicină, au fost realizate în conformitate cu Protocolul cercetării clinice, cu legislația națională şi cu principiile de bună practică ale studiului clinic.

De asemenea, șapte paciente cu SSN din loturile care au administrat produsul studiat au fost supuse investigațiilor audiologice până și după administrare (certificat de inovator – Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorineurale ale analizatorului auditiv, nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemiţanu"). Au fost efectuate: audiometria tonală liminară, audiometria tonală supraliminară (proba *Short Increment Sensitivity Index* – deteminarea nivelului de disconfort), tinnitus-audiometria. Rezultatele indică: o îmbunătățire a pragului auditiv, majorarea diapazonului dinamic al auzului și micșorarea intensității acufenelor cu până la 10-15 dB. Prezintă interes continuarea studierii efectelor otoprotectoare ale produsului Flamena, emulsie, 100 ml, la pacienții cu SSN, dobandită în urma chimio- și radioterapiei.

Aminoacidul glicină este un metabolit natural, care reglează procesele metabolice în creier, reduce tensiunea psihoemoţională, creşte capacitatea de muncă intelectuală. Manifestă acţiune de protecţie a creierului, antistres, calmantă, ameliorează metabolismul cerebral. Glicina de asemenea contribuie la sinteza hemoglobinei. Ca precursor al glutationului, aceasta se combină cu acidul colic și formează glucolcolați. Vitamina P este un sinergist al vitaminei C. Produsele din grupul vitamunei P (rutina, quercetina, dihidroquercetina) inhibă hialuronidaza, stabilizând substanța intercelulară, astfel manifestând efect antioxidant. Dihidroquercetina, de asemenea, preîntâmpină fragilitatea vaselor sangvine, intensifică rezistența organismului față de hipoxie, previne oxidarea acidului ascorbic și a catecolaminelor, prelungind acțiunea lor.

Particularitățile anatomo-histo-fiziopatologice ale cohleei sunt reunite în structurile neurosenzoriale ale acestia, deosebit de fragile la cele mai diferite noxe. Existența unei vascularizații de tip terminal, asigurată de vase cu traiect lung și sinuos, caracterizate prin raporturi intime între elementele vasculare și nervoase, explică de ce reversibilitatea fenomenelor patologice ce survin

la nivelul cohleei depinde de promptitudinea cu care se pune diagnosticul și se instituie o terapie corespunzătoare.

Urechea internă posedă o structură care poate fi semnificativ alterată de modificări ale debitului sangvine și, probabil, de creșterea permeabilității capilarelor. Stria vascularis este similar cu structura glomerulelor renale, a proceselor ciliare ale ochiului și plexului coroid al ochiului. Complecșii imuni, asemănători cu cei ce apar în diverse boli ca artrita reumatoidă și alte boli autoimune, pot să formeze depozite în vasele sangvine ale striei vascularis, iar acest lucru este favorizat de proprietățile hemodinamice particulare ale structurii respective. Este important să reținem faptul că titrul de autoanticorpi crește cu vârsta. Atunci când vorbim despre autoimunitate și autoanticorpi, nu trebuie să ne gândim la ceva dăunător sau patologic, pentru că autoimunitatea și autoanticorpii sunt importanți în eliminarea celulelor îmbătrânite.

Factorii dăunători din exo-, endogeni provoacă semne patologice comune: ischemie, hipoxie, creșterea POL care sunt ca urmare a catabolismului celular. Ele provoacă afectarea membranelor biologice, micșorarea formării energiei pentru funcția celulară, dezorganizarea procelelor biofizice și biochimice. Aceste procese patologice-cheie cauzează distrofie celulară și necroză. Administrarea comună a preparatelor antioxidante, antihipoxante (nootrope) mențin sistemele metabolice ale organismului, asigurând dirijarea hipoxiei și ischemiei. Flamena, emulsie, conținând un component antioxidand (dihidroquercetina) și nootrop (glicina), poate asigura tratamentul SSN.

5.7. Cercetări privind utilizarea rațională a medicamentelor otoprotectoare

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

Farmacoterapia profilactică primară:

- eliminarea factorilor dăunători din mediul ambiant asupra organului auditiv (zgomot, vibrație, factori chimici, toxici);
- excluderea din tratament (în special la copii, la pacienții cu patologie renală) a medicamentelor cu efect ototoxic sau utilizarea lor la indicații vitale, cu prescrierea concomitentă a dezintoxicantelor (refortan, reopoliglucină), antihistaminicelor, vitaminelor;
- prescrierea vasodilatatoarelor cerebrale (pentoxifillină, vincamină etc.) pacienților care suferă de maladii infecțioase, cu factori de risc în dezvoltarea SSN (în special la infecția meningococică).

Mijloacele terapeutice de profilaxie secundară

În stadiul progresiv de stabilizare, principiile de bază ale terapiei conservative medicamentoase sunt: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; ameliorarea metabolismului urechii interne; stimularea analizatorului auditiv și ameliorarea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase.

De două ori pe an este necesar de efectuat tratamentul profilactic (două-trei săptămâni) al SSN cu medicamente din grupele prezentate *infra* (vasodilatatoare, nootrope, multivitamine şi minerale, antioxidante, fizioterapie, oxibaroterapie). Monitorizarea pacienților trebuie efectuată de specialiștii: neurolog, cardiolog, endocrinolog (la necesitate) [21, 43].

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

Analizând *Clasificatorul medicamentelor autorizate în Republica Moldova*, lucrările în domeniul farmacologiei [12, 19, 28, 31, 41], precum și fișele de indicații ale pacienților cu SSN, am selectat medicamentele utilizate în tratamentul SSN (tabelul 5.8).

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

Prognosticul este incert de prezența vertijului ca simptom asociat; severitatea afectării este de asemenea importantă – cazurile severe se recuperează mai puțin. Eficacitatea farmacoterapiei este redusă în cazul pacienților vârstnici. Recuperarea auzului la pacienții cu SSN cronică ireversibilă este realizată prin utilizarea dispozitivelor care îmbunătățesc transmiterea sunetului spre: urechea internă, nervul auditiv, centrii nervoși (protezare auditivă, implant de ureche medie, implant cohlear, implant de trunchi cerebral).

Dificultatea identificării mecanismelor de apariție a SSN a determinat imposibilitatea stabilirii, până în prezent, a unui tratament eficient, care să asigure cu certitudine o recuperare auditivă satisfăcătoare după administrare [90, 97]. Astfel, principiile terapiei medicamentoase a hipoacuziei neurosenzoriale sunt: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; terapia de deshidratare labirintică; terapia de dezintoxicare și hiposensibilizare; ameliorarea metabolismului urechii interne și a transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase; diminuarea excitabilității sistemului nervos central și a celui vegetativ [36, 41, 44, 50].

Este cunoscută utilizarea complexelor de multivitamine și minerale la pacienții cu SSN. În special, în tratamentul medicamentos al SSN, asociat cu tinnitus, este salutară utilizarea preparatelor îmbogățite cu *Zn.* Elementul chimic *Zn* participă la reglarea metabolismului și transmiterea impulsurilor nervoase în celulele ciliate ale organului Corti, posedă efecte antioxidant și regene-

rativ etc. (36). Deci prezintă interes utilizarea produsului respectiv în scopul evidențierii efectelor otoprotectoare în tratamentul SSN, de comun cu Flamena, emulsie, care, în opinia noastră, reduce durata de terapie fără manifestarea unor efecte adverse. Cercetările în domeniul respectiv au fost argumentate de Certificatul de inovator „Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorineurale ale analizatorului auditiv", nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu", Chișinău.

Tabelul 5.8. Lista medicamentelor recomandate în tratamentul SSN și autorizate în RM și a metodelor de tratament

Denumirea medicamentului și a metodelor de tratament		
FARMACOTERAPIE **I. Perfuzii intravenoase cu:**	**IV. Vitamine, minerale, antioxidante**	**IX. Desensibilizante** (la surditatea infecțioasă)
Polividonă	Slezavit*	**X. Antibiotice, antivirale** (la necesitate)
Dextroză 10%	Acid ascorbic	
Amidon hidroxietilat	Tiamină	**XI. Tranchilizante, sedative** (la necesitate)
Dextran	Cocarboxilază	
Clorură de sodiu	Riboflavină	**XII. Stimulatori biogeni**
II. Vasodilatatoare	Piridoxină Cianocobalamină	Humisol*
1. ***Alcaloizi din vinca minor***	Cocarnit*	Adenozintrifostat de sodiu
Vincamină	Flamena*	Extract de aloe
Vinpocetină	Triovit*	**XIII. Anticolinesterazice**
2. ***Derivați xantinici***	BioR*	Neostigmină (Proserină)
Pentoxifilină	**V. Diuretice**	Galantamină, Ipidacrină
Aminofilină	Manitol	**ALTE METODE**
Xantinol nicotinat	Uree	**Fizioterapie**
3.***Alte vasodilatatoare***	Acetazolamidă	Electroforeză endaurală, cervicală cu:
Papaverină	Hidroclorotiazidă	*Vasodilatatoare*
Tolperisonă	Spironolactonă	*Anticolinesterazice*
Betahistină	**VI. Corticosteroizi**	*Stimulatori biogeni*
Cinarizină	Prednisolon	*Vitamine din grupa B*
Nimodipină	Dexametazon	Inhalații cu:
Nicergolină	Hidrocortizon	*Vasodilatatoare*
III. Nootrope, metabolice	**VII. Anticoagulante**	*Antihistaminice*
Piracetam	Heparină	*Vitamine*
Piritinol	Nadroparină	Oxibaroterapie

Acidul gamaaminobutiric	**VIII. Antidoturi** (la surditatea toxică)	Magnetoterapie
Pantogam	Unitiol	Acupunctură
Glicină	Tiosulfat de sodiu	Protezare auditivă
Extract de ginco Biloba	Pantotenat de calciu	Fangoterapie
Fenibut	Atropină	Implant cohlear

*Denumirea comercială a medicamentului.

Tratamentul farmacoterapeutic al SSN în perioadele acută și cronică este complex și include administrarea remediilor medicamentoase din grupe farmacologice diferite și utilizarea metodelor fizioterapeutice. Eficacitatea terapiei SSN brusc instalate/acute este în strânsă corelație cu începerea tratamentului medicamentos și cu forma de administrare a preparatelor (de exemplu, la administrarea i/v a medicamentelor, eficacitatea terapiei este mai mare). Intoxicațiile medicamentoase și nemedicamentoase au un rol important în etiologia SSN, care reprezintă o afecțiune cu morbiditate avansată. Prevalența și caracterul potențial invalidizant al SSN justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților terapeutice și de reabilitare în acest domeniu.

Conform cercetărilor prof. Boris Parii, inofensivitate sporită posedă următoarele produse medicamentoase: cu temperatura de topire < 100°C; cu masa moleculară mică (≤ 1000 UC); în stare amorfă; utilizate în doze < 0,5 g; cu solubilitate înaltă (≥ 20 g/l) [59, 60].

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

Medicamentele utilizate în tratamentul SSN pătrund în urechea internă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transportare, fie prin dizolvare în endoteliul capilar. Traversarea barierei hematolabirintice de către medicamente depinde de particularitățile chimice ale acestora. Medicamentele cu greutate moleculară sau încărcătură electrică mare traversează cu dificultate, în mod pasiv. Liposolubilitatea înaltă facilitează trecerea. Medicamentele care se leagă de proteine traversează mai anevoios. Potențialul pozitiv neobișnuit din labirint îngreuiază și mai mult trecerea, medicamentele încărcate pozitiv având de înfruntat un gradient electric [11,79].

Astfel, eficacitatea tratamentului medicamentos în formele subacute de SSN este rezervată, iar SSN cronice, în mare parte, nu sunt compliante farmacoterapiei [44]. Așadar, numeroasele metode de tratament farmacologic al SSN cronice nu au efectul benefic scontat, cauzele de bază fiind dificultatea penetrării de către produsele medicamentoase a barierei hematolabirintice și acțiunea incompletă asupra tuturor factorilor etiologici și verigilor patogenetice ale SSN. Perfectarea con-

ceptului de otoprotecție medicamentoasă a SSN necesită atât elaborarea noilor produse farmacologice, cât și revizuirea celor utilizate deja în tratamentul SSN, în baza cunoașterii tuturor aspectelor patogeniei și a mecanismelor efectelor otoprotectoare.

Prognosticul efectelor farmacologice ale medicamentelor este utilizat în cercetare prin metoda de prognosticare a efectelor alergizante ale medicamentelor [37, 39]. Spectrul grupelor de medicamente, utilizate concomitent în tratamentul farmacologic al SSN, impune elaborarea unor factori de prognosticare a eficacității farmacoterapiei otoprotectoare.

În pofida efectelor ototoxice pronunțate ale unor grupe de medicamente, derivații platinei (cisplastina, carbaplatina) se utilizează în tratamentul tumorilor desiminate, aminoglicozide sunt medicamentele de elecție la tuberculoză, bruceloză, tularemie, iar, în combinație cu b-lactamice, – la endocardita infecțioasă, meningita posttraumatică, infecții intraabdominale, osteomielită, artrita septică. Diureticile de ansă pot fi utilizate chiar și în tratamentul SSN brusc instalate. Din aceste considerente este important de a elabora mecanisme de farmacovigilență, care ar permite diminuarea efectelor adverse ototoxice a acestor grupe de medicamente.

Având în vedere multitudinea grupelor de preparate medicamentoase utilizate în tratamentul SSN, administrarea combinată a medicamentelor, corelația dintre particularitățile fizico-chimice ale medicamentelor și cele clinico-biologice ale organismului, polipragmazia întâlnită în farmacoterapia patologiei respective, utilizarea medicamentelor cu efect ototoxic, în special în tratamentul SSN acute, devin oportune și de perspectivă studiile privind prognosticarea efectului farmacoterapiei combinate la bolnavii cu afecțiuni senzorineurale și mixte ale analizatorului auditiv, în baza următorilor indici: caracterul și durata maladiei, rezultatele bilanțului audiometric, preparatul farmacologic, posologia, proprietățile chimico-farmaceutice, temperatura de topire a principiului activ etc.

În acest context noi am prezentat medicamentele utilizate frecvent în tratamentul SSN după metoda **profesorului** Boris Parii și am stabilit următoarele aspecte: majoritatea produselor au punctul de topire între 100 și 200°C, masă moleculară mică, dar în forma cristalină se denotă un grad mediu de reacții adverse. De aceea, medicul practician trebuie să fie foarte precaut, mai ales la utilizarea asociată a produselor medicamentoase în tratamentul SSN (tabelul 5.9).

Prognosticul eficacității tratamentului medicamentos

Factorii pronosticului favorabil: hipoacuzie ușoară moderată, hipoacuzie la frecvențele joase, medii; lipsa simptomaticii vestibulare; începerea tratamentului în stadiu timpuriu (primele ore-zile de la instalarea deficienței auditive); administrarea vasodilatatoarelor cerebrale, antioxidantelor, nootropelor.

Factorii pronosticului nefavorabil: vârsta înaintată; formele severe profunde de surditate; hipoacuzie la frecvențele înalte; simptome vestibulare obiective; factorii de risc de origine vasculară; tratament tardiv (începutul farmacoterapiei peste două-trei săptămâni de la debut).

Pornind de la aceste aspecte, studiile de perspectivă vor avea drept scop: elaborarea principiilor de prognosticare a eficacității otoprotectoare a medicamentului; asocierea rațională a me-

dicamentelor otoprotectoare în tratamentul SSN; majorarea efectelor farmacoterapeutice; aprecierea posibilității dezvoltării reacțiilor adverse la aplicarea preparatelor otoprotectoare; elaborarea produselor medicamentoase în formă chimică amorfă, a compușilor de cuplare și a amestecurilor eclectice de produse medicamentoase, cu posibilitatea creșterii tolerabilității produselor farmaceutice.

Tabelul 5.9. Proprietățile fizico-chimice ale unor produse medicamentoase utilizate în tratamentul SSN

Substanța /F.F.	Temperatura de topire	Masa moleculară	Solubilitatea	Forma (cristalină sau amorfă)
Vinpocetină (tab.)	147-153ºC	350,45 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în alcool	Cristalină
Nicergolină (tab.)	136-138ºC	484,39 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în alcool	Cristalină
Betahistină (tab.)	148-149ºC	136,19 g/mol	Solubilă în apă, eter, chloroform	Cristalină
Cinarizină (tab.)	192ºC	368,51 g/mol	Solubilă în apă	Cristalină
Piracetam (tab.)	151,5-152,5ºC	142,23 g/mol	Uşor solubil în apă	Cristalină
Glicină (tab.)	233ºC	75,14 g/mol	Solubilă în apă	Cristalină
Pentoxifilină (tab.)	105ºC	278,32 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în cloroform	Cristalină
Dexametazon (tab.)	262-264ºC	392,46 g/mol	Insolubil în apă	Cristalină
Metilprednisolon (tab.)	228-237ºC	374,47 g/mol	Insolubil în apă	Cristalină
Neostigmină (Prozerin) (tab.)	170ºC	303,26 g/mol	Foarte solubilă în apă	Cristalină
Spironolactonă (tab.)	431-451ºC	416,57 g/mol	Insolubilă în apă, solubilă în solvenţi organici	Cristalină

Din punctul de vedere al sporii farmacovigilenței, în farmacoterapie este salutară administrarea principiilor cunoscute din punct de vedere biochimic, deoarece cele mai inofensive sunt produsele endogene, care fac parte din organismul uman. În acest caz nu se dezvoltă conflictul imun și se pot prognostica reacțiile farmacologice la medicament, în concordanță cu mecanismele fiziologice și biochimice cunoscute.

Cercetările efectuate la interferența termodinamicii, fizicii statice, chimiei, farmaceuticii și farmacologiei sunt esențiale, mai ales sub aspectul prognozării efectelor farmacologice ale substanțelor noi. Aceste principii sunt veridice și în cazul grupelor de medicamente utilizate în tratamentul conservator al SSN.

5.8. Sinteza capitolului 5

Stabilirea mutației 35delG a genei GJB2 prin tehnica *TaqMan Real Time PCR* prezintă importanță deosebită în diagnosticul SSN. Screening-ul audiologic la nou-născuți și sugari este mai eficient după a treia săptămână de naștere, prezentând un număr redus de rezultate false pozitive. Metodele propuse de pronostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și de pronostic al eficacității protezării auditive sunt importante în managementul bolnavilor cu deficiență auditivă. Metoda de pronostic a efectului alergizant al medicamentelor, propusă de prof. B. Parii, poate fi utilizată în pronosticarea efectelor adverse în farmacoterapia afecțiunilor analizatorului auditiv. Cercetările efectuate ne-au permis să elaborăm un algoritm de management al bolnavilor cu afecțiuni inflamatorii și neinflamatorii ale AA.

Pe lângă screening-ul audiologic obișnuit, la evaluarea persoanelor cu deficitul auditiv trebuie să fie recomandată și testarea molecular-genetică a surdității neurosenzoriale pentru genele GJB2 și GJB6 ale locusului DFNB1. Depistarea purtătorilor mutațiilor recesive patogenice ale acestor gene este foarte importantă pentru acordarea serviciilor de consiliere genetică privind posibilitatea de transmitere a acestora la descendenți, deoarece nașterea unui copil cu hipoacuzie la părinți sănătoși poate avea un impact deosebit. În cadrul cercetării s-au efectuat: estimarea contribuției unor mutații recesive la nivelul genei *GJB2* în loturile de persoane studiate cu SSN; elaborarea și validarea unui algoritm de *screening* cu potențialul de a fi ulterior utilizat în alte laboratoare din regiune; identificarea unor subiecți cu defecte genetice care nu sunt asociate cu defectele genei *GJB2,* ce necesită în continuare explorări molecular-genetice profunde de performanță, evaluarea particularităților relațiilor genotip-fenotip în vederea pronosticării efectelor intervențiilor de corecție auditivă la populația Republicii Moldova; creșterea performanțelor de diagnosticare, a consilierii genetice, îmbunătățirea măsurilor profilactice și sporirea eficienței managementului medical ulterior al pacienților afectați; facilitarea deciziilor de abordare terapeutică precoce și ameliorarea recuperării auditive, îmbunătățirea eficienței serviciilor de integrare socială a persoanelor cu deficiențe de auz.

Realizările științifice din ultimele decenii privind structura, expresia și reglarea genelor au determinat o evoluție rapidă a științelor biomedicale, modificând radical imaginea și conceptele noastre despre procesele fundamentale ale materiei vii. Cercetările, care până nu demult se bazau în special pe caracteristici fenotipice, fiziologice și biochimice, au marcat un salt calitativ, asigurat de perfecționarea tehnicilor de investigare la nivel molecular. Pentru prima dată, studiul genetic a propus explorarea profilului molecular-genetic al SSN congenitală la nivelul genei GJB2 din Moldova, pentru elaborarea unui algoritm de diagnostic mai reușit. Această abordare corespunde direcțiilor de cercetare în domeniul medicinii personalizate, propuse de Comisia Europeană în cadrul Provocării Societale 1 „Sănătate, schimbări demografice și bunăstare”. În acest context vom crea premise care să permită personalizarea implantării cochleare în funcție de particularitățile fiecărui copil, astfel încât șansele de reabilitare ale acestora să fie maxime.

În același context este cunoscută utilizarea complexelor de multivitamine și minerale la pacienții cu SSN. În special în tratamentul medicamentos al SSN, asociat cu tinnitus, este bine venită utilizarea preparatelor antioxidante. Cercetările privind utilizarea preparatelor Flamena, emulsie, și Merion au fost argumentate de Certificatul de inovator „Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorineurale ale analizatorului auditiv", nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemiţanu", Chișinău. Odată cu sporirea farmacovigilenței în farmacoterapie, biochimic, este oportună administrarea principiilor cunoscute, întrucât cele mai inofensive sunt produsele endogene, care fac parte din organismul uman. În acest caz nu se dezvoltă conflictul imun și se pot prognostica reacțiile farmacologice la medicament, în concordanță cu mecanismele fiziologice și biochimice cunoscute.

Rolul medicamentelor în lumea modernă este enorm. Actualmente, practic orice act medical, inclusiv în sfera organelor ORL, definitivează cu prescrierea medicamentelor. Omul are dreptul la sănătate, iar medicamentul este unul dintre instrumentele cu care aceasta se menține.

SINTEZA REZULTATELOR

Analizatorul auditiv este organul de simț care asigură perceperea și deosebirea undelor sonore, orientarea în spațiu și vorbirea, ca mijloc de comunicare interumană. Este format din trei părți: segmentul periferic (urechea externă, urechea medie, urechea internă), căile de conducere a impulsurilor nervoase, segmentul central, unde au loc analiza și sinteza definitivă a auzului [1, 198]. Astfel, modificările acestor structuri pot provoca afectarea AA, manifestată prin deficiență auditivă recuperabilă ori nerecuperabilă, în funcție de factorul etiologic (inclusiv genetic), de structura anatomo-funcțională afectată și durata maladiei [20, 67].

Problema diagnosticării și recuperării auditive atât la copii, cât și la adulți rămâne una dintre cele mai actuale în aspect medico-social [63, 204].

În Republica Moldova, numărul copiilor aflați la evidență audiologică depășește cifra de 3000, iar cel al persoanelor mature cu handicap al auzului – cifra de 10000. Deficiența de auz provoacă mare dificultate în comunicare, în procesul de învățare; o surditate severă cauzează invalidizarea persoanelor [7, 18].

Recuperarea auzului la astfel de bolnavi implică problema diagnosticării cât mai sofisticate a deficiențelor auditive și alegerii cât mai reușite a protezelor auditive după specificul maladiei [29]. În același timp, crearea noilor produse medicamentoase, inclusiv cu indicații în tratamentul afecțiunilor auriculare, este actuală [31, 71].

Prezenta lucrare a fost consacrată problemelor privind: elaborarea și studiul acțiunii curative a unor medicamente combinate otoprotectoare, actualizarea diagnosticului molecular-genetic și audiologic, precum și stabilirea factorilor de prognostic al eficacității recuperării auditive în afecțiunile inflamatorii ale urechii și SSN.

Pentru soluționarea obiectivului nominalizat s-au studiat experimental, pe animale de laborator, și în cadrul studiilor clinice, aspecte de diagnostic și tratament medicamentos (au fost elaborate preparate medicamentoase combinate) în cadrul afecțiunilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii, și anume: otita acută și SSN. Pentru prima dată a fost modelată SSN și evaluată preclinic funcția auditivă în baza audiometriei comportamentale și a otoemisiunilor acustice, conform unui algoritm elaborat.

Farmacoterapia modernă presupune utilizarea combinată a medicamentelor din diverse grupe farmacologice, fapt determinat în primul rând de necesitatea de a acționa concomitent asupra mai multor organe și sisteme. Asocierea rațională a medicamentelor include majorarea eficacității terapeutice cel puțin a unuia dintre componente sau micșorarea unor proprietăți nedorite [17, 19, 39]. O astfel de asociere trebuie să tindă spre următoarele aspecte: sporirea efectului farmacologic scontat, diminuarea efectului farmacologic nescontat și dirijarea

farmacocineticii substanței/substanțelor active ale compoziției date [19, 243]. Farmacologia multor medicamente în mare măsură este dozo-dependentă. Anume din aceste considerente, pentru a diminua efectele adverse, deseori, se recurge la administrarea asociată a medicamentelor, cu o farmacodinamie similară, dar în doze terapeutice reduse [15, 21].

Elaborarea produselor medicamentoase combinate constituie unul din domeniile de dezvoltare a noilor medicamente. Medicamentele combinate presupun asocierea, într-un singur preparat comercial, a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită, în doză fixă [69]. Ele, odată ce conțin substanțe active cu diferită acțiune, pot avea o șansă statistică de succes mai mare, întrucât, acționând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice, intensifică probabilitatea de a obține un răspuns terapeutic sporit [3, 31, 191]. Sunt posibile patru căi de obținere a medicamentelor combinate: asocierea compușilor bine cunoscuți, deja aprobați/utilizați în combinație; principii renumite, incluse pentru prima dată în medicamentul combinat; asocierea unei sau mai multor entități chimice noi cu una sau mai multe substanțe arhicunoscute; combinația a două sau mai multe entități chimice noi [10, 175].

Aproximativ jumătate din produsele medicamentoase combinate, prezente pe piața farmaceutică, sunt combinații fixe. Medicamentele combinate posedă numeroase avantaje precum: eficiența crescută a efectului terapeutic prin acțiunea aditivă sau sinergică la o parte din pacienți; reducerea efectelor secundare, rezultată din utilizarea unor doze mai mici de substanțe active cu reacții adverse diferite, creșterea tolerabilității medicației și complianței pacienților la tratament. Asocierea de agenți activi, cu acțiuni complementare la nivelul organelor-țintă, poate fi de asemenea benefică [20, 21, 31]. Putem prezenta numeroase exemple de medicamente combinate, utilizate cu succes în farmacoterapia actuală în diverse domenii clinice (cardiologie, ginecologie, pneumologie, gastrologie, afecțiuni inflamatorii ale rinofaringelui etc.) precum: amoxicilina și acidul clavulanic, paracetamolul și acidul acetilsalicilic, cinarizina și dimenhidrinatul, losartanul și hidroclorotiazida etc. [40, 187]. Pentru farmacologia clinică sunt de o mare perspectivă preparatele complexe noi, inclusiv cu componenți adaptogeni și biostimulante. Produsele combinate pot produce efect terapeutic maxim, cu doze minime [61].

În Republica Moldova, elaborarea și cercetarea farmacologică a produselor medicamentoase combinate s-au efectuat sub tutela ilustrului profesor Efim Muhin, începând cu anii ’70 ai secolului precedent, la Catedra farmacologie a USMF „Nicolae Testemițanu”, în perioada respectivă fiind Institutul de Stat de Medicină din Chișinău. Ulterior, direcția respectivă de cercetare a fost dezvoltată în cadrul Centrului Farmaceutic Științific și de Producție al MS RM (1991-1995) și apoi la Institutul Național de Farmacie (1996-2005), sub conducerea regretatului profesor Boris Parii, discipol al savantului Efim Muhin. În perioadele respective au

fost elaborați: clatratul strofantinei cu heparină, aspirinei și hexametilentetraminei, a fost implementat aspicorglicoturonul (un produs medicamentos combinat care conținea aspirină solubilă, glicozid cardiac și izoturon, cu utilizare în diverse forme de șoc), precum și alți compuși farmacologici combinați [51, 59]. Din 2007, elaborarea produselor medicamentoase combinate cu indicații, inclusiv în domeniul maladiilor ORL, este efectuată în cadrul Centrului Științific al Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu" [69].

Afectarea aproximativ a oricărui sistem al organismului uman poate determina alterarea funcției auditive [21, 37]. În analogie cu complicațiile altor sisteme de organe (insuficiența cardiovasculară, insuficiența respiratorie, insuficiența renală), surditatea de percepție de asemenea poate patogenetic fi interpretată ca insuficiență auditivă [21, 25].

Medicația ototoxică sau alte substanțe ototoxice sunt cauzele apariției SSN și a tinnitusului subiectiv (zgomote auriculare). În mod curent, un număr mare de grupe de medicamente include una sau mai multe componente cu proprietăți ototoxice [23, 97, 298].

Terapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii acute și cronice sunt indispensabile de valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide. Numărul de surse cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor, nivelul redus de asimilare sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor în ameliorarea diverselor situații clinice. Întru soluționarea problemei în cauză, oportună poate fi utilizarea produselor combinate polifuncționale cu eficiență clinică și inofensivitate demonstrată [21, 24, 28].

Utilizarea plantelor medicinale în scop terapeutic are o vechime de milenii și o eficiență deja dovedită [23]. Printre avantajele ei figurează: accesibilitatea (plantele sunt ușor de procurat și ieftine), acțiunea blândă și lipsa efectelor adverse (când se respectă dozele adecvate), tratarea complexă a bolnavului (plantele au efecte fizice și psihoemoționale și echilibrează organismul la toate nivelele). Se cunoaște și multitudinea de beneficii terapeutice ale produselor de origine vegetală, inclusiv cu acțiune antibacteriană, în tratamentul otitelor, printre care: favorizează regenerarea și cicatrizarea tegumentului conductului auditiv extern, facilitează și potențează eficacitatea curățării urechilor, diminuează aderarea secreției de pereții CAE, reglează formarea secreției, stopează înmulțirea microorganismelor, menține proporțiile fiziologice naturale, previne otita, care poate apărea prin contactul secreției auriculare cu apa. Produsele de origine vegetală sunt indicate pentru toate categoriile de vârstă [43]. Plantele medicinale pot avea efecte benefice în tratarea otitelor și a simptomelor care le însoțesc.

Ținând cont de particularitățile farmacoterapeutice ale principiilor active, produsul respectiv are un potențial de utilizare în tratamentul medicamentos al maladiilor din sfera

organelor ORL, inclusiv afecțiunile inflamatorii, traumatisme, plăgi, combustii ale urechii externe – ale pavilionului urechii și conductului auditiv extern [2, 74]. În Republica Moldova, prevalența generală prin bolile urechii constituie anual 105,3 la 10 000 de locuitori [5].

Conform datelor din literatură, cca 1,5-4% din populație suferă de diferite forme ale otitei medii cronice. Până la 30% din populație, cel puțin o dată în viață, a suferit un puseu de otită medie acută. Ponderea pacienților cu mezotimpanită cronică supurată este de 65-67%; cu epitimpanită cronică supurată – de 26-31%, iar 2-7% dintre pacienți dezvoltă „maladia urechii operate" după epi-mezotimpanită, din numărul total de otite medii supurate cronice [5, 29]. În România sunt raportate anual peste 130000 de cazuri de otită medie la copii [134].

Odată ce rata rezistenței bacteriene la antibiotice a crescut, un număr important de cazuri nu răspund la tratament (rezistență de peste 60% la tratamentul clasic cu peniciline) și de aici reiese necesitatea critică de molecule și produse noi (42). Studii recente denotă faptul că cele mai multe cazuri de otită medie sunt provocate de infecții cu *Streptococcus pneumoniae* (70%), care prezintă și cea mai mare rezistență la antibiotice, urmat de *Haemophilus influenzae* (21%), *Streptococcus pyogenes* (4,5%) și *Moraxella catarrhalis* (1,8%), în timp ce otitele externe pot fi de natură bacteriană (*Staphylococcus aureus* (50%), *Staphylococcus aureus* meticilinorezistent (10%) și *Pseudomonas aeruginosa* (30%) sau fungică (*Candida* spp. și *Aspergillus* spp.) [134, 192].

Farmacoterapia afecțiunilor inflamatorii din sfera organelor ORL include utilizarea combinată a remediilor antibacteriene, imunomodulatorii, simptomatice, regenerative etc. [2]. Volumul indicațiilor terapeutice depinde de etapa maladiei: în faza acută se efectuează preponderent farmacoterapie etiotropă și simptomatică, inclusiv cu preparate combinate; în faza subacută – diverse manipulări invazive și terapie medicamentoasă, cu includerea în complex a imunomodulatoarelor; în cazul unui proces cronic se adaugă metodele chirurgicale și remediile medicamentoase complexe [184]. Astfel, intensitatea și calitatea terapiei la fiece etapă determină succesul tratamentului.

Conform OMS, rezistența microbiană la antibiotice reprezintă o preocupare de nivel global, deoarece noi mecanisme de rezistență sunt în curs de dezvoltare și se răspândesc, amenințând capacitatea omenirii de a trata eficient maladiile infecțioase, având ca rezultat prelungirea bolii, invaliditate.

Administrarea locală a produselor medicamentoase este una dintre cele mai inofensive. Astfel de administrare este fiziolofgic primordială, deoarece în acest caz se tratează numai organul-țintă și se evită în mare parte efectele adverse sistemice. Pentru tratamentul local al

proceselor inflamatorii din urechea medie sunt necesare principii active, cu afinitate sporită, deoarece prin membrana timpanică pătrunde numai o parte a medicamentului [183].

În funcție de etiologia, de patogenia și localizarea maladiei, una dintre cele mai des utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul otitelor sunt picăturile auriculare [2, 55]. În ultimii ani, pe piața farmaceutică autohtonă a apărut un număr mare de medicamente sub formă de picături auriculare, dar majoritatea sunt de sinteză și au o contraindicație – perforația membranei timpanice. În același timp, în țară există doar un singur producător autohton, care produce o singură denumire de picături auriculare [21, 189].

În tratamentul otitelor se utilizează picături ce conțin, ca principii active, atât substanțe de sinteză, cât și cele naturiste, dar nu am întâlnit o combinație de aceste principii într-o formă farmaceutică. Valorificarea compușilor de origine sintetică cu acțiune antimicrobiană, prin combinarea acestora cu produse de origine vegetală, reprezintă o direcție actuală în elaborarea noilor preparate combinate pentru tratamentul maladiilor inflamatorii.

Uleiurile esențiale pot să deterioreze lipidele și proteinele. Deteriorarea peretelui celular și a membranei poate cauza scurgerea macromoleculelor și lizarea lor. Uleiurile esențiale derivate din plante sunt cunoscute a fi active împotriva unei largi varietăți de microorganisme. Efectele citotoxice au fost observate *in vitro* la majoritatea bacteriilor patogene gram-pozitive și gram-negative, în general, prin metoda difuziei discului sau prin metoda de diluare [55, 100].

Așadar, noi am reușit să elaborăm și să evaluăm farmacologic preclinic un produs medicamentos combinat, care conține substanțe active de sinteză și naturiste, cu indicații atât în otitele neperforative, cât și în cele cu perforația membranei timpanice. Produsul cu denumirea de lucru CB 12, picături auriculare, reprezintă o combinație [77] de ciprofloxacină clorhidrat, ulei volatil de busuioc, indicat în afecțiunile inflamatorii nesupurate și supurate ale urechii externe și urechii medii (Certificat de inovator nr. 5308 din 15.02.2014, IP USMF „Nicolae Testemițanu").

Ciprofloxacina este un antibacterian fluorochinolon, cu spectru larg de acțiune, activ față de un număr mare de germeni patogeni. Mecanismul de acțiune constă în blocarea ADN-girazei microorganismelor sensibile și a replicării ADN-ului. Fluorul este responsabil de extinderea spectrului antibacterian pentru gram-negativi și a spectrului la gram-pozitivi. Ciclul piperazinic face preparatul activ contra pseudomonadelor.

Busuiocul (*Ocimum basilicum*) este o plantă din familia *Laminacea* și manifestă numeroase efecte terapeutice. Posedă acțiune antiinflamatorie, regenerativă, calmantă, antipiretică, ușoară anestezică etc. Este utilizat inclusiv în tratamentul afecțiunilor aparatului respirator superior și inferior [14, 18]. Ca rezultat al cercetărilor farmaceutice ale principiilor active - ciprofloxacină, ulei de busuioc (modificat la vâscozitatea de soluție pentru comoditatea

administrării locale în conductul auditiv extern) și a combinației lor, a fost elaborat un nou produs medicamentos, cu acțiune polivalentă pentru tratamentul otitelor externe și otitelor medii. Pentru prima dată s-a propus, sub formă de picături auriculare, combinația dintre un antibacterian fluorochinolon și un remediu naturist în tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii [77].

Studiile efectuate pe modele de infecții animale au demonstrat faptul că anumite teste și parametri farmacocinetici, cum ar fi corapoartele ASC/MIC și Cmax/MIC, sunt predictori buni ai eficacității antimicrobiene a fluorochinolonelor. Antibioticele chinolone prezintă o activitate bactericidă, dependentă de concentrație: cu cât este mai mare concentrația medicamentului, cu atât mai mare este activitatea bactericidă pe care o reprezintă. Ratele de AUC/MIC și Cmax/MIC pentru douăzeci de ore egale cu 125 și, respectiv 12, sunt parametrii optimi pentru a prezice o eficacitate bacteriologică și clinică bună împotriva infecțiilor gram-negative pentru fluorochinolone.

Absorbția substanțelor medicamentoase din picăturile auriculare depinde atât de concentrația acestora, cât și de durata de contact a țesutului extern cu produsul medicamentos. Deoarece medicamentul este îndepărtat prin eliminarea fluidului și/sau absorbția în țesutul urechii, substanța activă se furnizează din vehicul polimeric. Astfel, utilizarea unui vehicul polimeric în picăturile auriculare CB-12 facilitează încărcarea țesutului otic, având în vedere rata de penetrare tipică lentă și redusă a antibioticelor insolubile în apă.

Analiza calitativă (identificare și puritate) a CB-12 a fost efectuată prin metode chimice (reacții de identificare a substanțelor active) și metode fizico-chimice: spectrofotometria UV-VIS și HPLC. Pentru analiza cantitativă a substanțelor medicamentoase din CB-12, s-au elaborat și validat metodele: spetrofotometrică UV și HPLC. Acestea au fost lineare, selective, exacte, precise și robuste [99].

Cercetările farmaceutice au demonstrat compatibilitatea ciprofloxacinei și uleiului de busuioc prin metode exacte și sensibile – spectrofotometria UV (*ultraviolet*), HPLC *(cromatografia lichidă de înaltă performanță)* și GC (*cromatografia de gaze*) –, ceea ce semnifică faptul că substanțele nu interferează și pot fi asociate în aceeași formă farmaceutică. Studiile de preformulare au contribuit la elaborarea formulei optime și a tehnologiei de preparare pentru picăturile auriculare. În acest sens au fost elaborate metodele de analiză și standardizare a principiilor active din picăturile auriculare; metoda spectrofotometrică în UV de dozare a ciprofloxacinei a fost validată [101].

Scopul oricărui medicament constă în manifestarea efectului terapeutic după administrare. De aceea, este extrem de important ca produsul să aibă un conținut corespunzător de substanță activă și să mențină proprietățile specifice ale substanțelor auxiliare până la depășirea termenului

de valabilitate. Astfel este important ca medicamentul elaborat să fie testat din punctul de vedere al stabilității în timp. Stabilitatea unui medicament reprezintă, alături de eficacitate, puritate și inocuitate, un factor important în asigurarea calității acestuia. Un medicament poate fi administrat doar dacă nu mai mult de 10% din substanța activă a suferit degradări, iar produșii de degradare nu sunt toxici. Un medicament se consideră stabil atât timp cât modificările apărute nu depășesc valorile prevăzute în specificațiile de normare ale calității. Testele de stabilitate a picăturilor auriculare CB-12 au determinat un termen de valabilitate de 24 de luni.

Produsul CB-12 a fost standardizat în baza regulamentelor farmacopeice, după următorii parametri: descriere, omogenitate, pH, proprietăți reologice, sterilitate, dozare și stabilitate. În urma studiilor de stabilitate prin metoda clasică, în timp real a fost determinat termenul de valabilitate de doi ani.

Față de picăturile auriculare care se introduc în urechea medie sunt cerințe speciale de sterilitate: ele trebuie să fie izoosmotice ori să aibă presiune osmotică cuprinsă între valorile de 260 și 460 mOsm. CB-12 se încadrează în cerințele respective.

Rezultatele farmacologice indică toxicitate redusă (clasa de toxicitate 5-LD_{50} = 2500 mg/kg) a preparatului studiat și pot servi ca premisă pentru continuarea cercetărilor farmacologice de evaluare a eficacității și inofensivității, precum și planificarea studiului clinic al preparatului CB-12 (29, 32). În cadrul cercetărilor microbiologice s-a constatat că produsul CB-12 a manifestat activitate antibacteriană înaltă față de toate test-culturile bacteriene cercetate, microorganisme gram-pozitive și gram-negative. Uleiul volatil de busuioc potențează activitatea ciprofloxacinei în combinație. Picăturile auriculare CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacină, față de unele tulpini bacteriene *(S. aureus (t.209); Ps. aeruginosa (t.ATCC 27853) și E. faecalis (t.ATCC 19433)).*

În cadrul CȘM al IP USMF „Nicolae Testemiţanu”, în colaborare cu Compania farmaceutică SC „CSK Grup Plus”, a fost evaluat, farmacologic preclinic, un produs medicamentos combinat – Flamena, gel. Producător - „Standart SRL” (Federația Rusă). Forma de prezentare farmaceutică - gel în dispersator. Compoziția la 50 ml: glicină – 1500 mg, dihidroquercitină – 150 mg, lecitină – 1000 mg, sanguiritină – 4 mg. Produsul farmaceutic Flamena, gel, cu indicație în procesele inflamatorii acute și cronice ale mucoaselor, inclusiv de utilizare în otita externă, în cadrul cercetărilor farmacologice de inofensivitate, de asemenea manifestă toxicitate acută redusă, fiind clasificat în clasa de toxicitate 5, și doza letală medie, care provoacă decesul a 50% din numărul animalelor experimentale (LD_{50}) > 2500 mg/kg – *practic netoxic*. Rezultatele cercetării toxicității subcronice, de asemenea, au remarcat toxicitatea redusă a produsului studiat [66, 76]. Alcaloizii de sanguiritină se conțin în planta *Macleaya*

cordata Will., care se caracterizează prin activitate antimicrobiană față de bacteriile gram-pozitive și gram-negative. De asemenea, posedă acțiune antimicotică [13, 249, 254].

În concluzie, o direcție importantă pentru tratamentul maladiilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii constituie elaborarea și utilizarea în practica medicală a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Astfel, produsele Flamena, gel, și CB-12, picături auriculare, care, datorită proprietăților sale antimicrobiene, antiinflamatorii, regenerative, prezintă interes în tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii externe și celei medii. Afecțiunile inflamatorii ale urechii – otitele externe și medii – sunt boli semnificative din punct de vedere socioeconomic, deoarece se dezvoltă preponderent la copii și adulți de vârstă activă. Farmacoterapia combinată este cea mai reușită metodă de tratament a otitelor. Elaborarea noilor produse combinate pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii este oportună și vine să completeze arsenalul de remedii pentru combaterea acestor maladii.

Surditatea senzorineurală (SSN) se manifestă clinic prin deficiență auditivă de tip percepție și/sau acufene (zgomot auricular). Antrenarea, în procesul patologic, și a fibrelor porțiunii vestibulare a nervului cranian VIII, provoacă apariția simptomaticii vestibulare odată cu cele auditive: vertij, nistagm și dereglări de echilibru. SSN afectează procesul de percepere a sunetelor [69]. Din punctul de vedere al evoluției clinice, SSN se clasifică în: acute, subacute și cronice.

Substratul anatomic al SSN este situat nu la nivelul urechii externe și al celei medii, ci la nivelul urechii interne (organul Corti), nervului auditiv, centrilor nervoși subcorticali și corticali [21, 37]. Deci SSN poate fi cohleară, retrocohleară și centrală. Majoritatea leziunilor cohleare debutează prin lezarea celulelor ciliate externe (în special a leziunilor ototoxice, traumei sonore, presbiacuziei etc). Aspectul patomorfologic principal al SSN cohleare (peste 90% din cazuri) este procesul distrofic și apoptoza celulelor ciliate ale organului Corti, care deseori este reversibil în cazul farmacoterapiei precoce (îndeosebi la formele acute și subacute de SSN). La rândul său, medicația afecțiunilor cardiovasculare, a sistemului nervos central și a celui endocrin, corijarea statusului imun, concomitent, sunt și tratamentul profilactic de prevenire a agravării SSN cronice (metoda de recuperare auditivă de bază a căreia este protezarea auditivă și implantul cohlear [21, 37].

Se consideră că cele mai importante cauze ale SSN acute sunt: infecțiile, afectarea autoimună, ototoxicitatea, traumatismele, dereglările de circulație și bolile neurologice. În multe cazuri nu poate fi identificată o cauză determinantă [203]. În astfel de situații vorbim de o surditate brusc instalată idiopatică. Survine afectarea celulelor ciliate din urechea internă,

responsabile de transformarea vibrațiilor sonore în stimul nervos. În funcție de durata acțiunii cauzei care a produs surditatea și de precocitatea tratamentului, afectarea acestor celule poate fi tranzitorie sau definitivă [56, 67, 69, 75].

În patogeneza afecțiunilor circulației cerebrale, inclusiv ale porțiunilor analizatorului auditiv, un rol important îi revine endoteliului vascular, substanțelor endogene biologic active și microcirculației. Ca rezultat al ocluziei arterelor cerebrale, se reduc fluxul sangvin și aprovizionarea cu substanțe energetice ce cauzează lezarea neuronală. Ischemia cerebrală, la rândul ei, provoacă micșorarea conținutului de ATP, hipoxia stimulează trecerea la glicoliza anaerobă pentru menținerea sintezei de ATP. Ca rezultat al epuizării substanțelor energetice, se dereglează transportarea ionilor prin membrana celulară, suferă pompa Na-K, se produce depolarizarea membranei celulare și un influx al ionilor de Ca din lichidul interstițial în celulă, care, la rândul ei, cauzează necroza celulară.

Principiile de bază ale tratamentului SSN acute sunt: eliminarea factorului etiologic; începerea tratamentului în termen cât mai precoce de la debutul bolii, care să includă: îmbunătățirea hemodinamicii și a funcției pereților vasculari ai urechii interne; terapia de deshidratare labirintică, detoxicare și hiposensibilizare; ameliorarea metabolismului urechii interne; îmbunătățirea transmiterii sinaptice a impulsurilor nervoase; diminuarea excitabilității sistemului nervos central și a celui vegetativ [2, 17, 21, 67, 69, 193]. Dinamica fenomenelor patologice în focarul ischemic al AA creează premise pentru administrarea oportună a medicamentelor ce vor restabili microcirculația și vor susține o corelație optimă a metabolismului cerebral și a fluxului sangvin la diverse etape patofiziologice și vor crește rezistența zonei afectate a AA la ischemie. Medicamentele de prima linie, utilizate în tratamentul SSN (luând în considerație mecanismele de acțiune celulară a factorilor declanșatori), sunt: vasodilatatoare cerebrale, nootrope, antioxidante, vitamine, diuretice, corticosteroizi. Medicamentele pătrund în urechea internă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transport, fie prin dizolvare în endoteliul capilar [4, 7, 11]. Scopul principal al tratamentului tulburărilor senzorineurale ale AA constă în diminuarea și preîntâmpinarea agravării ulterioare a proceselor patologice ce provoacă instalarea deficienței auditive.

Actualmente, se utilizează și introducerea intratimpanică a preparatelor farmacologice [12, 20]. Traversarea barierei hematolabirintice de către medicamente depinde de caracteristicile chimice ale acestora. Medicamentele, cu greutate moleculară sau încărcătura electrică înaltă, traversează cu dificultate în mod pasiv [4, 20]. Liposolubilitatea sporită facilitează trecerea. Medicamentele care se leagă de proteine, traversează mai greu. Potențialul pozitiv neobișnuit din *scala media* a urechii interne (care conține endolimfă) îngreunează suplimentar trecerea

medicamentelor încărcate pozitiv, deoarece acestea au de înfruntat un gradient electric invers (4). Tratamentul SSN este caracteristic prin: administrarea preparatelor din diverse grupuri farmacologice, asocierea combinată a medicamentelor, utilizarea medicamentelor cu potențial efect ototoxic (diuretice, antiinflamatorii, antibacteriene), în special pentru tratamentul formelor acute. Aspectele menționate indică necesitatea studiilor privind elaborarea și utilizarea produselor combinate în farmacoterapia SSN [67].

În formele de SSN cronice sau ireversibile, care nu beneficiază de tratament preventiv sau curativ, se recurge la proteză auditivă sau implant cohlear. Deși nu există încă un tratament eficient unanim acceptat, în medicația SSN se utilizează câteva grupe de preparate, în funcție de etiologia bolii. [5, 18, 29, 39]. Schema terapeutică trebuie individualizată în funcţie de comorbidităţile asociate, de istoricul fundamentat farmacologic şi de terenul biologic al pacientului: în cazul afecţiunilor cardiovasculare, schema terapeutică trebuie completată cu tratamentul cardiologic; în cazul pacienţilor diabetic, se administrează antidiabetice orale sau insulinoterapie; în cazul pacienţilor hipotiroidieni, se indică tratament de substituție hormonală, iar la dislipidemiii se recomandă tratament hipolipemiant, cu analiza și tratamentul sindromului antifosfolipidic etc.

Agenții terapeutici, cel mai frecvent utilizați în tratamentul SSN, sunt: vasodilatatoarele – îmbunătățesc cantitatea de oxigen adusă la cohlee de către fluxul sangvin; antiinflamatoarele/agenții imunologici; remediile nootrope – exercită o influență pozitivă asupra metabolismului neuronal; antioxidanții – protejează nervul cohlear de acțiunea radicalilor liberi (acidul alpha-lipoic, N-acetilcisteina, extracte de Ginkgo biloba, păducel și alte suplimente alimentare); oxigenoterapia hiperbară – este utilizată, întrucât permite creșterea fluxului de oxigen la cohlee (Carbogen (95% O2 și 5% CO2), Oxigenul hiperbar); alți agenți și proceduri adjuvante: Vit. A, E (Tocoferol), Acupuntura, Fier, Procaina, Coenzima Q10, Zn, Mg [69, 188].

În farmacoterapie este salutară administrarea principiilor cunoscute din punct de vedere biochimic, deoarece cele mai inofensive sunt produsele endogene, care fac parte din organismul uman. În acest caz nu se dezvoltă conflictul imun și se pot prognostica reacțiile farmacologice la medicament, în concordanță cu mecanismele fiziologice și biochimice cunoscute [184].

Astfel, ideea unei etiologii vasculare a surdității brusc instalate, ca fiind una dintre cele mai probabile, cunoscută fiind vascularizația de tip terminal a cohleei și dependența acesteia de un singur ram terminal al arterei labirintice, precum și afectarea directă a nervului auditiv în hipoacuzia neurosenzorială, au condus la asocierea unui agent vasodilatator cu efect nootrop (glicina), precum și potențarea acțiunii acestora prin asocierea cu un antioxidant de origine vegetală, cu tropism asupra celulelor neuronale – dihidroquercetina.

Produsul medicamentos combinat, Flamena, emulsie orală, este original prin faptul că la bază are un complex liposomal antioxidant-fosfolipidic, datorită căruia medicamentul posedă proprietăți biologice polivalente. Ca principii active, conține glicina și dihidroquercitina [76, 78].

Dihidroquercetina (taxifolin) este un flavonoid derivat din tulpina copacilor *Larix sib., Larix dahurica*. Dihidroquercitina posedă următoarele acțiuni terapeutice: antioxidantă, capilaroprotectoare, regeneratoare, detoxifiantă și antiinflamatoare [235, 249]. Aminoacidul glicina (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor și reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos, manifestă acțiune neuroprotectoare [14]. Glicina influențează pozitiv asupra metabolismului cerebral, mărește consumul glucozei, viteza circuitului ATR și ARN, contribuie la sinteza fosfolipidelor, activează procesele respiratorii în mitocondrii. Glicina ameliorează structura neuronilor, în special asupra membranei celulare și nucleare, aparatului lizozomal, mitocondriilor, ribosomilor. Lecitina este o fosfolipidă și participă la constituirea membranelor celulare la nivelul celulelor nervoase. În cazul deficitului de lecitină, se reduce eficiența acetilcolinei în țesutul nervos. Lecitina participă la restabilirea activității funcționale a celulelor endoteliale, la sinteza și eliberarea factorului de relaxare endotelial, îmbunătățește microcirculația și proprietățile reologice ale sângelui. Lecitina inhibă procesele de peroxidare a lipidelor în sânge și țesuturi, susține activitatea sistemelor antioxidante ale organismului, manifestă acțiune membrano-protectoare [21]. Produsul Flamena provoacă efect vasodilatator, cauzat de inhibiția fosfodiesterazei, cu creșterea concentrației de AMPc în musculatura vaselor. De asemenea, efectul de vasodilatație se datorează reducerii captării adenozinei în celulele cerebrale. Flamena intensifică transferul glucozei în creier și metabolismul ei, crește formarea de ATP, contribuie la modificări pozitive în lanțul respirator și utilizarea oxigenului, îmbunătățește circulația cerebrală, reduce fluxul de kaliu în SNC, intensifică includerea fosforului în fosfolipidele neurogliei.

Acest produs medicamentos manifestă o acțiune antihipoxică, crește viteza difuziei oxigenului în țesuturi, normalizează procesele respirației tisulare, îmbunătățește activitatea funcțională a celulelor endoteliale, contribuind la ameliorarea microcirculației și parametrilor reologici. Rezultatele toxicității acute și subcronice au permis continuarea studiilor de determinare a eficacității și inofensivității, precum și pentru planificarea ulterioară a strategiei studiului clinic [6, 41, 42]. Luând în considerare potențialul antitoxic și citoprotector, devine promițătoare utilizarea produsului Flamena, emulsie, în tratamentul farmacologic al SSN la pacienții cu SSN după chimio- și radioterapie. Rezultatele investigațiilor hematologice, biochimice și imunologice au demonstrat eficacitatea statistic semnificativă a produsului, în comparație cu lotul studiat și cel martor [47]. În urma administrării emulsiei Flamena în doza de

100 ml, indicii hemoglobinei în loturile de studiu s-au majorat de la 110 ± 0,71 până la 116,0 ± 1,28 g/L ($p \leq 0,05$) și, respectiv, de la 109,44 ± 0,43 până la 120,18 ± 0,4 g/L ($p \leq 0,05$), iar în loturile de control nu s-a determinat o diferență statistic semnificativă, $p > 0,05$ [30]. Emulsia Flamena, 100 ml, posedă proprietăți detoxifiante evidente: micșorează bilirubina totală cu 1,1 ± 0,3 ($p < 0,05$), îmbunătățește indicii sistemului de peroxidare a lipidelor: glutationperoxidazei – cu 1,1 ± 0,02 mM/L, catalazei – cu 2,05 ± 0,07 mM/L, ceruloplasminei – cu 53,3 ± 1,2 mg/dL, dialdehidei malonice – cu 0,7 ± 0,04 mM/L, hidroxipiroxizilor lipidici, activității antioxidante totale – cu 1,1 ± 0,03 mM/L [47].

Produsul medicamentos Flamena (emulsie, 100 ml) a manifestat o acțiune specifică imunomodulatoare prin ameliorarea și creșterea indicilor imunologici, chiar și a celor care inițial au fost denaturați. Acest fapt argumentează administrarea emulsiei în combinație cu preparatele citostatice și chimioterapeutice, cu radioterapia și de sine stătător, în calitate de imunomodulator specific. A fost înregistrată creșterea nivelului imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM, IgE în medie cu 0,8 ± 0,05 ($p < 0,05$). S-a stabilit o acțiune benefică asupra imunității celulare. S-a atestat majorarea indicilor imunității celulare, anticorpilor monoclonali CD_3, CD_4, Cd_8, CD_{16} în medie cu 0,4 ± 0,02 ($p < 0,05$) și intensificarea activității de fagocitare a neutrofilelor [47].

Rezultatele studiului efectuat au demonstrat că emulsia Flamena este practic netoxică și nu posedă proprietăți cumulative. Administrarea îndelungată a produsului medicamentos elaborat nu cauzează dezvoltarea proceselor toxice în organismul animalelor [26, 27]. Studiile clinice de fazele 1 și 2 au înregistrat indicii farmacocinetici și farmacoterapeutici [15, 41]. A fost demonstrată eficacitatea produsului Flamena, emulsie, în tratamentul bolnavilor cu cancer după chimio- și radioterapie [15, 21].

Datele studiilor preclinice cu modelarea SSN pun în evidență efectul otoprotector al produsului Flamena. A fost constatată îmbunătățirea indicilor reflexului Preyer și a otoemisiunilor acustice, care indică funcția adecvată a organului auditiv. Rezultatele obținute în urma determinării inofensivității și eficacității produsului Flamena pe animale de laborator, cu modelarea SSN, pot servi ca bază pentru inițierea unor studii clinice postautorizare (faza a patra) în vederea determinării efectului benefic al produsului studiat în tratamentul complex al SSN [21, 202].

La șapte paciente cu SSN din loturile care au administrat Flamena în cadrul studiului clinic la Clinica de Oncologie au fost supuse investigațiilor audiologice până la și după administrare (certificat de inovator – Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorineurale ale analizatorului auditiv, nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemițanu”). Au fost efectuate: audiometria tonală liminară, audiometria tonală supraliminară (proba *Short Increment*

Sensitivity Index – determinarea nivelului de disconfort), tinnitus-audiometria. Rezultatele indică o îmbunătățire a pragului auditiv, majorarea diapazonului dinamic al auzului și micșorarea intensității acufenelor cu până la 10-15 dB. Deci produsul Flamena, emulsie, poate fi utilizat în tratamentul complex al SSN acute, subacute și în tratamentul de menținere a SSN cornice, datorită proprietăților antioxidante, detoxifiante, metabolice și angioprotectoare [47]. Produsul Flamena asigură efectul terapeutic prin: creșterea fluxului cerebral; ameliorarea microcirulației cerebrale, inclusiv al urechii interne; intensificarea metabolismului în creier.

Datorită efectului vasodilatator al produsului Flamena, ameliorării microcirculației și proprietăților reologice, se restabilesc procesele metabolice și energetice în creier; se intensifică utilizarea oxigenului și glucozei, care contribuie la creșterea rezistenței la hipoxie. Efectul antioxidant face să predomine reacțiile aerobe de scindare a glucozei cu preîntâmpinarea acidozei.

În ultimele decenii, nanotehnologia și-a găsit numeroase aplicații în sfera medicinii și farmaciei. Nanoparticulele sunt particule a căror dimensiune variază între 1 și 100 de nanometri (nm). Medicamentele pătrund spre țesuturile sau celulele-țintă prin utilizarea nanoparticulelor special preparate. Nanoparticulele „încărcate" cu agenți terapeutici pot fi astfel protejate pentru a spori efectul terapeutic, devin rezistente la sucul gastric și capabile să transporteze substanțele active cu care sunt cuplate direct în circulația sangvină. Prin introducerea nanoparticulelor transportatoare ale substanțelor farmaceutice, se tinde spre o maximizare a biodisponibilității, atât din punctul de vedere al țesutului-țintă, cât și din punctul de vedere al perioadei de timp în care se eliberează substanța activă. Nanoparticulele pot transporta medicamentele în mediul intern al celulei fără a produce efecte adverse, întrucât ele devin active numai la atingerea „țintei" finale [74].

Pentru prima dată, nanoparticulele au fost sintetizate în 1963 și aplicate în diverse tehnologii industriale. O particularitate semnificativă a nanoparticulelor este că ele pătrund în membrana celulară și pot precipita la suprafața sferică a mai multor celule substanțe biologic active, medicamente, polimere etc. Aceste caracteristici au stat la baza aplicării nanoparticulelor cu scop de dezintoxicare și drept conductoare [74].

Produsul Merion reprezintă o combinație echilibrată de vitamine, minerale, nanoparticule, cu acțiune antioxidantă și alte efecte polivalente, și constituie o sursă echilibrată de compuși necesari pentru metabolismul uman în caz de carențe, afecțiuni cronice, supraefort fizic și intelectual (28). Contribuțiile Zn în funcția normală a AA sunt următoarele: CO - participă la metabolismul vitaminei A, manifestă efect antioxidant prin participarea la complexul Cu-Zn superoxiddismutaza și, astfel, protejând lipidele de POL. Fermenții care conțin Zn participă la

metabolismul proteic și colagenul la CC (celulelor ciliate). Zn participă la procesul de mielinizare a axonilor, manifestând efect neuroprotector la NA [206].

Așadar, formarea radicalilor liberi reprezintă un rol de bază în dezvoltarea SSN. Este demonstrat faptul că administrarea antioxidantelor (vitaminele A, C, B, microelementele Zn, Mg) manifestă efect otoprotector. În cazul SSN brusc instalate, vitaminele A, C și E majorează efectul terapeutic. Este dovedită corelarea între administrarea micronutrienților antioxidanți și deficiența auditivă. Administrarea zilnică a antioxidanților (A, C, E, Mg) se soldează cu ameliorarea scorului vocal și perceperii sonore la frecvențe înalte [201]. De asemenea este demonstrat faptul că administrarea combinată a micronutrienților antioxidanți este mai efectivă decât administrarea separată a lor. Produsul Merion, prin componența sa, poate manifesta efect otoprotector în tratamentul afecțiunilor AA.

Rezultatele studiului de inofensivitate denotă toxicitate acută și toxicitate cronică redusă atât la administrarea enterală, cât și la cea parenterală a produsului Merion. Aceasta poate servi drept premisă pentru continuarea studiilor preclinice de determinare a eficacității, cu planificarea ulterioară a studiilor clinice pentru produsul Merion (suspensie 100 ml). În urma cercetărilor farmaceutice, a fost elaborat un nou produs combinat cu acțiune polivalentă. Pentru prima dată se propune combinația dintre vitamine, microelemente și nanoparticule de Zn sub formă de suspensie [74].

Peroxidarea lipidică (POL) este un mecanism autocatalitic, care cauzează alterarea oxidativă a membranelor biologice. Dereglarea echilibrului POL accelerează reacțiile de oxidare peroxidică a lipidelor în membranele biologice și reprezintă unul dintre factorii fundamentali în patogenia multiplelor stări patologice: hiperoxie, hipoxie, hiper- și hipotermie, suprasolicitări fizice, combustii, hepatotoxicitate, ototoxicitate, ischemie, anemie hemolitică, ateroscleroză, diabet, inflamații etc. [6, 11, 21]. Numeroși factori, atât de origine genetcă, cât și non-genetică, în opinia noastră, sunt implicați în creșterea nivelelor celulare de specii reactive de oxigen, peste capacitatea mecanismului de apărare antioxidativă. Acești factori induc deteriorarea celulară oxidativă a lipidelor, proteinelor și a ADN-ului, ceea ce cauzează o creștere și diferențiere anormală neuronală. Perturbările sistemului antioxidativ și prezența stresului oxidativ au un rol definitoriu în cazul mecanismelor biochimice implicate în SSN. Astfel, în patogenia SSN, un rol deosebit îi revine dezechilibrului POL [208, 210]. În acest context, administrarea antioxidanților este bine venită în farmacoterapia SSN.

În același timp este demonstrată acțiunea factorilor din exterior asupra decurgerii severității SSN precum: medicamentele ototoxice, traumatismul sonor acut și cronic, infecțiile virale

bacteriene, infecțiile virale, inclusiv hepatitele cronice și encefalopatia, în cadrul cirozei hepatice etc. [149].

În procesul evoluției ischemiei în neuronii cercebrali, inclusiv ale AA, se dereglează sinteza neuromediatorilor, precum și a unor aminoacizi ce îndeplinesc această funcție. În creier crește conținutul de acid gama-aminobutiric, dar se micșorează concentrația de glutamat și aspartat. Se constată diminuarea sintezei dopaminei și norepinefrinei, iar eliberarea serotoninei crește substanțial. Totalitatea reacțiilor fiziopatologice cauzează dereglarea autoreglării circulației cerebrale, spasmul vaselor, accelerarea agregării trombocitelor și staza intravasculară. Aceste procese agravează gradul ischemiei în structurile urechii interne, centrilor nervoși auditivi subcorticali și corticali, ea devenind în multe cazuri ireversibilă. Astfel, luând în considerare mecanismele fiziopatologice de dezvoltare a focarului ischemic pe parcursul farmacoterapiei, se poate recurge la preparate din diverse grupe farmacologice cu diverse mecanisme de acțiune. Unele dintre acestea posedă efecte polivalente și sunt în stare să influențeze asupra mai multor verigi patogenetice ale SSN.

Produsul medicamentos combinat Neamon-hepa (capsule, 834 mg), elaborat în cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemiţanu”, conține următoarele *substanțe active*: aspartat de arginină, spironolactonă și produsul indigen BioR pentru prima dată propuse sub forma unei combinații fixe de medicamente [219]. Modul de preparare a formei farmaceutice Neamon-hepa, capsule: cântărirea și măsurarea volumului componentelor, impregnarea lactozei cu soluția BioR, uscarea lactozei cu BioR și pulverizarea amestecului uscat. Pregătirea mixurilor: I – spironolactonă: lactoză anhidră în raport de 1 : 2; II – se amestecă mixul I cu lactoza impregnată cu BioR; III – se amestecă mixul II cu amidon de porumb, celuloză microcristalină, stearat de magneziu; IV (final) – se amestecă mixul III cu aspartat de L-arginină uscată, condiționarea în capsule [104].

Eficacitatea și inofensivitatea produsului au fost demonstrate mai întâi prin experimente preclinice pe un lot de 56 de șoricei, cu determinarea toxicității acute și subcronice și modelarea hepatitei toxice induse cu CCl_4 (tetraclorură de carbon). Rezultatele au indicat faptul că la animalele de laborator, cu afectarea cronică indusă a ficatului, cărora li s-a administrat preparatul Neamon-hepa, s-a redus semnificativ declinul masei corporale, s-a diminuat hepatomegalia, s-a ameliorat starea funcțională a ficatului, exprimată prin reducerea bilirubinei totale, AlAT, AsAT, fosfatazei alcaline, lactatdehidrogenazei și colesterolului seric (34). Efectele hepatoprotectoare și antioxidante ale produsului au fost demonstrate și în cadrul studiului clinic multicentric de faza a doua [96, 104, 194].

Spirulina platensis este un amestec echilibrat din punct de vedere fiziologic de proteine (60-70%), hidrocarburi (12-16%), vitamine, aminoacizi, micro- și macroelemente, acizi grași

esențiali, clorofilă, carotenoizi totalizând peste 50 de componente. Conține doar 5-7% de grăsimi și 0,8% de colesterol. Spirulina conține toți aminoacizii esențiali și neesențiali, în cantități incomparabil mai mari decât produsele tradiționale. S-a stabilit rolul aminoacizilor din Spirulină pentru producerea polipeptidelor, hormonilor cerebrali și corectarea funcționării sistemului endocrin în producerea hormonului vital - insulinei. Spirulina diferă de celelalte plante și prin aceea că depozitează glicogenul, și nu amidonul, precum plantele, ceea ce o apropie de regnul animal. Spirulina platensis conține ficocianină. Aceste substanțe au rol de oxidoreducători, cu reglaj în multe din procesele care au loc la nivel celular, ceea ce face ca aceasta să-și păstreze elasticitatea și puterea membranară de transfer energetic.

BioR manifestă acțiune antioxidantă și de stabilizare a membranelor celulare și lizozomale prin normalizarea metabolismului glutationului și menținerea la un nivel optim a echilibrului dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor și cel antioxidant [85]. În cadrul cercetărilor preclinice pe animale de laborator (șobolani), cu inducerea aminoglicozidică a SSN, a fost demonstrat efectul otoprotector al BioR și Neamon-hepa. Ulterior a fost demonstrată eficacitatea produsului BioR în cadrul SSN asociate cu tinnitus [86].

Peroxizii conțin grupa peroxidică O-O-. Inițiatorii POL sunt radicalii liberi (atomi, grupuri de atomi, molecule, care au pe orbita externă electroni neconjugați și capacitate de reactivitate chimică majoră). Ei se formează în urma procesului continuu de catabolism al substanțelor și reacțiilor de oxido-reducere. La oricare influențe exagerate asupra organismului a factorilor fizici, chimici și psihici, are loc intensificarea POL, care este mecanismul de declanșare a patologiei membranare (caracteristic și pentru CC a OC), se formează DAM. Intensificarea POL are loc în urma afectării proteinelor și lipidelor membranare (de exemplu, factorii toxici endo-, exogeni, hipoxia, ischemia etc).

Mecanismul comun al patologiei membranare, cauzat de intensificarea POL, constă în următoarele aspecte: majorarea hidrofilității membranelor celulare, astfel devenind mai permiabile pentru ionii de Ca etc.; intervenirea disfuncției în respirația și fosforilarea celulară; dereglarea funcțiilor fermentative; slăbirea legăturilor fosfolipidelor cu receptorii proteici ai membranelor celulare; inactivarea fermenților tiolici, SH-grupelor a amiloacizilor și proteinelor; afectarea ADN-ului; umflarea și liza membranelor, în special lisozomale, cu ieșirea din ei a fosfolipazelor și altor fermenți proteolitici care provoacă autoliza celulară. Astfel, POL exagerată cauzează micșorarea detoxifierii substanțelor endogene și a xenobioticelor, distrofia și necroza celulară (încetarea funcțiilor vitale). Mecanismul respectiv este valabil și în cadrul SSN.

Pentru reglarea POL, prin evoluție a fost creat mecanismul de oxidare biologică fermentativă a substanțelor prin oxigen molecular neoxidat (POL este micșorat cu ajutorul

protonilor). Pentru aducerea POL în limitele fiziologice, este necesară funcția rapidă și adecvată a fermenților celulari. SOD încetinește activarea POL, apoi catalaza și GTP micșorează toxicitatea H_2O_2 prin descompunere.

Medicamentele antioxidante pot interveni în procesul patologic prin inhibarea radicalilor liberi, reducându-i la forma stabilă prin cedarea hidrogenului și micșorând POL prin stimularea activității fermentative antioxidante, prin crearea condițiilor optime pentru sinteza proteinelor.

Produsele medicamentoase antioxidante au capacitatea de a inhiba POL membranelor biologice, stabilizând structura și funcția membranelor și, astfel, creând condiții optime pentru homeostazia celulelor și țesuturilor. Antioxidanții posedă efect antinecrotic, deoarece stabilizează membranele și nucleele celulare. Astfel sunt benefice în tratamentul SSN, întrucât distrofia și necroza celulelor ciliate și altor structuri ale OC sunt factori declanșatori ai patologiei respective. Astfel, utilizarea produselor combinate Flamena, emulsie, și Neamon-hepa, capsule, având marcante efecte antioxidante, sunt bine venite în tratamentul complex al SSN.

Deficiența de auz, mai ales formele severe și profunde, modifică poziția persoanei respective în societate. Persoana își pierde capacitatea de lucru, se schimbă structura psihologică a acesteia. În același timp, eficacitatea tratamentului medicamentos al afecțiunilor analizatorului auditiv subcronice și, în special, formele cronice este destul de rezervată. Procesele inflamatorii ale urechii medii, la rândul lor, prezintă pericol prin posibilitatea dezvoltării SSN și a complicațiilor supurate endocraniene și generalizate, existând aspecte neelucidate ce țin de tratamentul farmacologic al afecțiunilor analizatorului auditiv. Astfel, au fost oportune studiile privind ameliorarea și/sau preîntâmpinarea consecințelor SSN și a otitelor. De asemenea, de perspectivă este elaborarea noilor medicamente pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii supurative și nesupurative ale analizatorului auditiv, inclusiv în scopul prevenirii dezvoltării complicațiilor senzorineurale ale urechii interne.

Farmacoterapia și reabilitarea complexă a pacienților cu maladii subacute și cronice, inclusiv cu SSN, sunt în corelație cu valorificarea compușilor chimici ai bioelementelor sau suplimentelor lor ce conțin vitamine, minerale, oligopeptide. Numărul surselor vegetale cu proprietăți polivalente, concomitent și stimulente, este însă redus. Interacțiunile competitive ale microelementelor și nivelul redus de asimilare a lor, în cazul suplimentelor cu conținut de acestea, sunt printre cauzele eficienței reduse a utilizării lor cu succes în ameliorarea diverselor situații clinice [67]. Întru soluționarea problemei în cauză, drept oportună poate fi considerată utilizarea medicamentelor polifuncţionale obținute din preparate cu eficiență clinică și inofensivitate bine demonstrate, cu efecte polivalente, cum ar fi Neamon-hepa, capsule, care este

promițător în tratamentul complex al SSN, în special asociată cu hepatita cronică și hidrops endolimfatic [69].

În acest context este cunoscută audiometria vocală – o metodă de evaluare a auzului. Prin căștile de telefon sau prin difuzoare, în câmp liber sonor, sunt emise testele vocale calibrate și pacientul trebuie să repete cuvintele percepute, astfel calculându-se scorul de inteligibilitate vocală, care este foarte necesar în diagnosticul audiologic și, ulterior, în reabilitarea protetică. Dezavantajul ei constă în necesitatea audiometrelor specializate, aparatajului sofisticat de calibrare, testelor de audiometrie vocală cu specificul de dialect, dificultatea de efectuare la copii și la vârstnici. În același timp, pentru stabilirea diagnosticului topografic al patologiilor auditive și selectarea individuală adecvată a protezelor auditive, este important de a stabili scorul maxim de inteligibilitate a cuvintelor. Astfel, a devenit oportună întrebuințarea unor principii de prognozare a indicelui respectiv în baza datelor anamnezei, clinice, instrumentale, informativității diverselor metode de investigații audiometrice. Avantajul unei astfel de metode este obiectivizarea prognosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală, fapt ce permite stabilirea diagnosticului în lipsa testelor de audiometrie vocală, ceea ce este important în reabilitarea și, ca urmare, în încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Protezarea auditivă reprezintă o metodă de recuperare a auzului cea mai frecvent utilizată. Metodele alternative (stimularea structurilor cohleare și retrocohleare sau transmiterea informației sonore la alte organe senzoriale) se utilizează la surditatea profundă, dacă protezarea auditivă este practic ineficace. În prezent, numărul bolnavilor cu indicații pentru protezare auditivă este în creștere. Actualmente, conform diferitor surse, în lume sunt circa 25-30 mil. de oameni care utilizează proteze auditive [6, 7]. Diagnosticul și protezarea auditivă a pacienților cu SSN ar putea fi extinse de cunoașterea severității surdității și eficienței protezării auditive. În acest scop a fost perfectat indexul pronostic, care a cuprins două aspecte: primul - condițiile evoluției severității surdității, al doilea - factorii determinatori ai eficienței protezării auditive.

Avantajul metodei de pronostic al eficacității protezării auditive constă în sporirea exactității și obiectivizării pronosticării evoluției nefavorabile a eficacității protezării auditive la pacienții cu surditate. Metoda propusă permite depistarea precoce a bolnavilor cu risc sporit de dezvoltare a efectelor adverse, fapt ce impune o atenție deosebită pentru această categorie de pacienți, cu corijarea la timp a programului de tratament, selectarea protezelor auditive, reabilitarea și, ca urmare, încadrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Cercetările științifice în domeniul audiologiei denotă faptul că nivelul de dezvoltare a limbajului este semnificativ mai bun în cazul copiilor diagnosticați până la vârsta de șase luni și care sunt reabilitați după diagnosticare (prin protezare auditivă sau implant cohlear), față de

copiii la care diagnosticul de hipoacuzie se stabilește după vârsta respectivă. Se consideră că până la 80% dintre copiii hipoacuzici în vârsta de cinci ani au deficiență auditivă permanentă din perioada neonatală. Otoemisiunile acustice și înregistrarea potențialelor evocate auditiv sunt principalele metode în diagnosticul precoce al deficiențelor auditive. Cea mai eficientă modalitate de screening se bazează pe asocierea celor două teste obiective.

Screening-ul deficiențelor auditive contribuie semnificativ în diagnosticul precoce al surdității la copii, oferind, în același timp, și date epidemiologice [207]. Diagnosticul primar, efectuat la intervalul de 20-28 de zile, micșorează vădit rata răspunsurilor false pozitive, care pot provoca disconfort considerabil părinților copilului. Programul de screening auditiv necesită a fi extins la alte maternități din republică, pentru a facilita diagnosticul precoce și reabilitarea adecvată a copiilor hipoacuzici în scopul integrării ulterioare în societate. Eficacitatea diagnosticului precoce și, ulterior, al reabilitării depinde de membrii echipei din care fac parte: medici neonatologi, familia, medic pediatru, medic de familie, audiologi, otolaringologi, psihologi, logopezi, educatori ai copiilor cu surditate.

Abordarea terapeutică tradițională, prin aplicarea acelorași protocoale terapeutice tuturor pacienților posesori ai aceluiași diagnostic, s-a dovedit astăzi a avea anumite limite, care sunt datorate contrapunerii unui număr mare de factori care provoacă apariția, dezvoltarea, agravarea și complicarea bolilor, factori cu influențe și asupra eficacității și siguranței medicamentelor prescrise pacienților. Medicina de precizie este un concept medical nou, de abordare integrativă a pacientului, ce-și propune personalizarea serviciilor de asistență medicală, cu decizii și practici medicale adaptate fiecărui pacient în parte, utilizate pentru a selecta tratamente adecvate, optime acestuia, bazate pe necesitățile și caracteristicile genetice ale pacientului.

SSN de origine genetică se referă la boli monogenice, caracterizate de o mare eterogenitate. 50% din cauzele lor sunt de mediu sau interacțiune mediu-genetică și 50% – cauze genetice, dintre care 20% – hipoacuzie sindromică, iar 80% – hipoacuzie nonsindromică. După modalitatea de transmitere genetică, cea mai frecventă este transmiterea autosomal recesivă (75-80%), urmată de transmiterea autosomal dominantă (18-20%); celelalte modalități de transmitere genetică – X-linkată și mitocondrială, întâlnite foarte rar. Prin urmare, testările genetice trebuie să facă parte din evaluarea copiilor și adulților hipoacuzici, pentru o cunoaștere mai bună a cauzei și pentru eficientizarea intervenției de recuperare auditiv-verbală, terapiei și consilierii genetice.

Proteinele membranare codificate de gene, GJB2 și GJB6, participă la formarea contactelor intercelulare – conexoni – în țesuturile urechii interne, care sunt responsabile de transportarea moleculelor mici și oferă în special circulația K^+ în cohlee. Dacă este dereglată sinteza acestor

proteine, se produce un dezechilibru al homeostaziei endolimfatice, ceea ce induce atrofierea celulelor ciliate și dezvoltarea SSN [205].

Mutațiilor din genele GJB2, GJB3, GJB6 le revin circa 90% din factorii etiologici ai SSN genetice la populația europeană. În același timp, este demonstrată acțiunea factorilor din exterior asupra severității surdității genetice – acțiunea medicamentelor ototoxice, traumatismului sonor, infecțiilor virotice, alimentației etc. [190].

Farmacogenetica (studiul factorilor genetici, care determină răspunsul la medicamente) este cel mai important factor al medicinei personalizate [195]. Scopul farmacogeneticii este de a percepe rolul componentei genetice în răspunsul la o anumită terapie medicamentoasă și apariția efectelor adverse la unii dintre pacienții tratați cu același medicament, de a stabili dozele optime pentru fiecare pacient în parte. Scopul personalizării este ca fiecare pacient să beneficieze de terapia cea mai eficace și cu cât mai puține efecte secundare.

Farmacogenomica analizează impactul variațiilor genomului complet al unei persoane asupra efectelor terapeutice ale unui medicament. În farmacogenomică, studiul se desfășoară pe două direcții: 67] analiza genomului pacienților pentru identificarea variantelor genetice ce cauzează modificarea eficacității unui medicament (de exemplu, prin decelarea SNP-urilor – *Single Nucleotide Polymorfism)* și a altor factori genetici și epigenetici, răspunzători de modificări în căile de metabolizare a medicamentelor, modificări ale țintelor terapeutice, ale abilității organismului de a activa medicamentul administrat în forma sa inactivă etc.; studierea bazelor moleculare ale diferitor maladii, cu stabilirea căilor metabolice implicate (a gradului de alterare al acestora) și a țintelor terapeutice (233).

Pe lângă conexinele implicate direct în procesul de percepție a sunetului, s-a stabilit că mutațiile ce au loc în genele de ADN mitocondrial pot fi responsabile de „hipersensibilitate” la medicamente ototoxice și cauzarea deficienței auditive. Substituirea A1555G în gena 12S ARNr de ADNmt face ARNr mitocondrial uman o structură similară cu ARNr bacterian, acesta devenind ținta lor. Odată ce cererea de antibiotice aminoglicozidice este foarte răspândită, studierea frecvenței mutațiilor din gena A1555G 12SrRNA este relevantă pentru evaluarea riscului SSN. Prin urmare, este importantă profilaxia primară a SSN în sensibilitatea constituțională, determinată la factorii ototoxici (antibiotice aminoglicozidice, antineoplazice, antiinflamatoriile nesteroidiene).

În Republica Moldova, această problemă este actuală și impune dificultăți în soluționarea unor aspecte ale patologiei date, cum ar fi diagnosticul genetic și corijarea precoce a formelor genetice de surditate. În cadrul Laboratorului de genetică al USMF „Nicolae Testemițanu”, s-a efectuat un studiu complex al factorilor genetici cauzali de SSN, inclusiv SSN ototoxică, valabili

pentru Moldova. Cercetarea a avut ca obiective: determinarea, pentru prima dată pentru populația Republicii Moldova, a ponderii marcherilor genetici pentru mutația 35 del G gena GJB2 în producerea SSN nonsindromice; testarea genetică a bolnavilor cu surditate; evaluarea riscului dezvoltării surdității ototoxice, cauzate genetic la copiii din cuplurile cu factori de risc.

În studiu au fost incluși copii și adulți, diagnosticați cu SSN, și persoane fără patologie auriculară de diferite etnii (bărbați, femei 1-20 de ani). Bateria testelor audiologice la pacienții cu surditate: audiometria tonală, audiometria vocală, impedansmetria, la necesitate – OEA, PEAP, ASSR. Determinarea mutației prin genotipare, a mutației 35delG gena GJB2 prin metoda Taqman Real time PCR. Au fost preluate probe de sânge de la 20 de pacienți cu SSN bilaterală, de formele severă și profundă, și la 100 de persoane cu auz normal. Studiul este în derulare, dar rezultatele provizorii indică faptul sensibilizării problemei screening-ului genetic la persoanele care necesită antibioterapie cu aminoglicozidice. Au fost stabilite următoarele rezultate ale analizei molecular-genetice: 20 de pacienți cu SSN: 18% (nouă pacienți) homozigoți cu mutații 35delG, 14% (șapte pacienți) - heterozigoți cu mutații 35delG

În cadrul cercetării: a fost creată biobanca de specimene biologice și de ADN, dedicate proiectului de studiu, a fost extras ADN-ul genomic, conform POS-urilor elaborate pentru genotiparea TaqMan. Au fost parțial asigurate etapele studiului molecular-genetic cu reactivii necesari în realizarea proiectului de cercetare. A fost realizată analiza molecular-genetică a lotului subiecților de studiu (pacienți) și persoanelor sănătoase și estimarea contribuției mutației genice (deleției 35delG a genei *GJB2*) cu impact major, asociată cu SNN în populația din regiunea Moldovei. În cadrul colaborării cu laboratorul Centrului Medical al Universității din Freiburg, Germania, a fost realizată validarea datelor de genotipare prin tehnica TaqMan a genei *GJB2* prin metoda alternativă – secvențierea de ADN cu ajutorul secvențiatorului Amersham MegaBACETM 500 (*American Biosciences, GE Healthcare Europe*, Muenchen, Germany). S-a efectuat stabilirea particularităților relațiilor genotip-fenotip caracteristice populației din regiunea Moldovei. Au fost realizate: analiza statistică a rezultatelor obținute, formularea concluziilor studiului, definirea perspectivelor de investigare ulterioară și a recomandărilor de nivel clinic.

În acest context a fost elaborată și completată metoda tehnologică „Genotiparea polimorfismului mononucleotidic GJB2_rs80338939 prin tehnica TaqMan Real Time PCR". Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG) prin soluția TaqMan PCR sporește performanțele diagnosticării molecular-genetice ale SSN și poate fi recomandată ca metodă de screening la copii cu patologia SSN. Sondele TaqMan sunt sonde de hidroliză, concepute pentru a crește specificitatea PCR cantitativă. Principiul sondei TaqMan se bazează pe activitatea exonucleazei 5–3′ a Taq polimerazei, pentru a cliva o sondă cu etichetă dublă în

timpul hibridării la secvența țintă complementară și detectarea pe bază de fluorofor. Ca și în alte metode PCR cantitative, semnalul de fluorescență rezultat permite măsurători cantitative ale acumulării produsului în timpul etapelor exponențiale ale PCR. Cu toate acestea, sonda TaqMan crește semnificativ specificitatea detectării.

Cunoașterea profilului genetic al pacientului poate contribui la prezicerea răspunsului acestuia la un anumit medicament. Farmacoterapia personificată are drept obiectiv principal îmbunătățirea specificității, eficacității și siguranței medicamentelor, prin alegerea de produse țintite, pentru fiecare pacient în parte. Astfel sunt importante implementarea programelor de farmacogenomică clinică cu scopul de a îmbunătăți aderența, siguranța și rezultatele tratamentului.

Deși performanțele și avantajele tehnicilor genetice de ultimă generație sunt evidente, ele nu pot să substituie complet analiza cromosomică sau secvențierea genică clasică. În plus, prețul platformelor de genomică este costisitor, iar evaluarea datelor oferite de aceste analize impune o dotare informatică performantă. În concluzie, investigarea genetică de laborator, deși s-a dezvoltat de o manieră impresionantă, rămâne legată de clinică, care furnizează supoziția de diagnostic.

Pentru clinicieni este foarte importantă cunoașterea posibilităților și limitelor testărilor genetice, utilizate în cadrul diagnosticării SSN. Pentru a identifica cauza, este important să se coreleze informațiile obținute din examinarea fizică, testele clinice (inclusiv screening-ul auditiv la nou-născuți), istoricul familial (arborele genealogic) cu testele genetice. Acest lucru poate contribui la stabilirea tratamentului și managementului hipoacuziei și poate prezice posibilitatea transmiterii acestei afecțiuni generațiilor următoare. Pentru o cunoaștere mai bună a cauzei, precum și pentru eficientizarea intervenției de recuperare auditiv-verbală, a terapiei, a consilierii genetice și prevenirii reacțiilor ototoxice la pacienții predispuși genetic la SSN, testările genetice, în special pentru conexina 26 și A1555G, trebuie să facă parte din evaluarea pacienților cu SSN.

Medicina personalizată sugerează, chiar și în rândurile pacienților care suferă aparent de aceeași boală și cu aceleași simptome, tratamentul individualizat în baza unor teste predictive sau de prognoză [196]. Altfel spus, tratamentul presupune o abordare terapeutică, bazată mai mult pe tratamentul individual, decât pe cel al unor grupe de pacienți, pe unicitatea clinică, genetică, genomică a fiecărui individ. Acest tip de medicină poate fi definit și ca „folosirea datelor genomice și moleculare pentru o mai bună aplicare a tratamentului țintit, pentru a facilita descoperirea și testarea clinică de noi produși, dar și pentru a ajuta la determinarea predispunerii unei persoane la o anumită boală”.

Diferențele interindividuale ale secvențelor de ADN și capacitatea de a manifesta un anumit răspuns la medicamente datorate variațiilor genomului uman pot contribui la îmbunătățirea eficacității și siguranței terapeutice. Studiile farmacogenetice pot reduce riscurile de reacții adverse la pacienți și pot îmbunătăți rezultatele clinice prin stratificarea populațiilor pe grupuri prin diferențe genetice. Fiecare individ poartă propria amprentă genetică a riscului de a dezvolta maladia.

Pe lângă screening-ul audiologic obișnuit [197], la evaluarea persoanelor cu deficitul auditiv trebuie să fie recomandată și testarea molecular-genetică a SSN pentru genele GJB2 și GJB6 ale locusului DFNB1[199]. Depistarea purtătorilor mutațiilor recesive patogenice ale acestor gene este foarte importantă pentru acordarea serviciilor de consiliere genetică privind posibilitatea de transmitere a acestora la descendenți, deoarece nașterea unui copil cu hipoacuzie la părinți sănătoși poate avea un impact deosebit.

Pronosticul efectelor farmacologice ale medicamentelor este pe larg utilizat în cercetare (de exemplu, metoda de pronosticare a efectelor alergizante ale medicamentelor (B. Parii, 2007). Spectrul grupelor de medicamente, utilizate concomitent în tratamentul farmacologic al SSN, impune elaborarea unor factori de pronostic al eficacității farmacoterapiei. Având în vedere multitudinea preparatelor și corelațiilor lor cu particularitățile fizico-chimice și clinico-biologice ale organismului, devin oportune și de perspectivă studiile privind pronosticarea efectului farmacoterapiei combinate la bolnavii cu afecțiuni senzorineurale și mixte ale analizatorului auditiv în baza unor indici: caracterul și durata maladiei, rezultatele bilanțului audiometric, preparatul farmacologic, posologia, proprietățile chimico-farmaceutice, temperatura de topire a principiului activ etc.

Activitatea analizatorului auditiv este condiționată de funcții vasculare, hematologice, metabolice și endocrine normale. Ca urmare, afectarea aproape a oricărui sistem al organismului uman poate determina alterarea funcției auditive. Tratamentul afecțiunilor urechii este caracteristic prin: administrarea preparatelor din diverse grupe farmacologice, indicarea combinată a medicamentelor, utilizarea medicamentelor cu potențial efect ototoxic (diuretice, antiinflamatorii, antibacteriene), în special, pentru tratamentul formelor acute de SSN.

Prevalența și caracterul potențial invalidizant al maladiilor auriculare justifică orientarea unor eforturi considerabile în cercetarea fundamentală și clinică a posibilităților farmacoterapeutice și de reabilitare în acest domeniu. O direcție pentru tratamentul farmacologic al maladiilor urechii constituie elaborarea și utilizarea în medicină a preparatelor medicamentoase combinate, ce conțin substanțe de sinteză și naturiste. Pentru clinicieni este foarte important ca de la începerea tratamentului să se poate prezice efectele curative, secundare și adverse la fiecare pacient. În acest context, farmacoterapia medicamentoasă combinată a SSN

impune o colaborare între medic, farmacolog şi farmacist clinician. Elaborarea şi implementarea noilor compuşi medicamentoşi sau sporirea eficienţei celor deja cunoscuţi, care manifestă acţiunea scontată asupra organismului uman, constituie unul dintre obiectivele de bază ale biomedicinei.

Datorită progreselor înregistrate în farmacoterapie, tratamentul SSN acute şi subacute este în continuare un domeniu deschis, în care se pot realiza studii clinice. Cu regret însă, numărul de studii clinice referitoare la tratamentul patologiei respective este insuficient. După decenii de multiple studii clinice şi experimentale, nu s-a ajuns la un protocol terapeutic, unanim acceptat, pentru tratamentul surdităţii brusc instalate.

PMC studiate în cadrul studiului micşorează agregarea plachetară şi eritrocitară, îmbunătăţesc permiabilitarea vasculară, ameliorează circulaţia cerebrală şi procesele metabolice în creier, cresc rezistenţa la hipoxie. Asocierea principiilor active este oportună din punct de vedere farmacocinetic şi farmacodinamic.

PMC presupun asocierea, într-o formă farmaceutică, a doi sau mai mulţi agenţi cu acţiune terapeutică diferită, acţionând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanşarea stării patologice. PMC manifestă: sporirea efectului terapeutic prin acţiune sinergică, reducerea efectelor secundare, creşterea toleranţei medicaţiei şi complianţei tratamentului. Elaborarea medicamentelor este un proces extrem de complex, care include numeroase cercetări farmacologice, toxicologice, farmacocinetice, tehnologice, farmaceutice, analitice, farmacoeconomice care, de comun, implică evaluarea calităţii, securităţii utilizării şi eficacităţii preparatelor. O direcţie importantă pentru tratamentul afecţiunilor analizatorului auditiv constituie elaborarea şi utilizarea în practica medicală a PMC, ce conţin substanţe de sinteză şi naturiste. Alegerea raţională a principiilor active poate permite intensificarea efectului farmacoterapeutic ori reducerea efectelor adverse.

Pentru a aprecia valoarea diagnostică şi a eficientiza eficacitatea farmacoterapiei, precum şi a majora efectul de recuperare, am elaborat un **algoritm complex** de metode subiective şi obiective de efectuare a diagnosticului SSN, farmacoterapie ce permite asigurarea, în limita posibilităţilor, a efectului scontat de reabilitarea auditivă.

Metodele algoritmului sunt divizate în două etape. La prima etapă are loc efectuarea metodelor audiometrice obiective şi subiective, în favoarea stabilirii diagnosticului patologiei şi formelor de surditate, precum şi necesitatea protezării auditive cu utilizarea metodelor de pronostic al scorului vocal şi al eficacităţii protezării auditive. Etapa a doua prevede metodele complexe de farmacoterapie, selectarea PA, controlul eficacităţii lor. Un factor important este controlul audiologic în dinamică (fig. 5.3).

I etapă

ANAMNEZA

Diagnostic audiologic primar nou-născuți, INVESTIGAŢIILE SUBIECTIVE (acumetria fonică, audiometria tonală, audiometria vocală), **OBIECTIVE** (impedansmetria)

SURDITATE DE PERCEPŢIE ↓

ALTE FORME ALE SURDITĂŢII (în cazul afecțiunilor inflamatorii – farmacoterapie combinată)

INVESTIGAŢIILE OBIECTIVE (impedansmetria, OEA, PEA), Diagnostic genetic

SURDITATE ACUTĂ, SUBCRONICĂ ↓

SURDITATE CRONICĂ ↓

NECESITĂ FARMACOTERAPIE ↓

NECESITĂ PROTEZARE (la necesitate, utilizare scor vocal, pronostic eficacitate)

II etapă

UTILIZARE, PRONOSTIC, INOFENSIVITATE MEDICAMENTOASĂ (la necesitate)

↓

CONSULTAŢIILE MEDICALE SUPLIMENTARE

↓

CONTROL ÎN DINAMICĂ

(utilizarea metodelor de diagnostic, a îndrumarului de verificare a PA, reglarea PA, farmacoterapie la necesitate**)**

Fig. 5.3. Algoritmul diagnosticului și terapiei pacienților cu surditate senzorineurală

Algoritmul propus permite respectarea succesiunii etapelor de diagnostic și prognosticarea formelor de surditate. Astfel se va respecta logica profesională dintre scopul inițiat și efectul scontat al asistenței medicale în managementul afecțiunilor analizatorului auditiv.

În încheiere putem estima că examenul audiologic longitudinal al copiilor și maturilor cu SSN permite să apreciem eficacitatea de tratare și recuperare în termene tardive. Elaborarea principiilor de prognosticare a inofensivității farmacoterapeutice și a eficacității protezării auditive, a algoritmului de diagnostic și recuperare acustică a SSN va permite optimizarea farmacoterapiei și eficacității protezării auditive a pacienților care suferă de maladia descrisă.

În cadrul studiului disertațional au fost elaborate: un nou concept ce prevede utilizarea preparatelor medicamentoase combinate cu principii active de sinteză și naturiste în tratamentul afecțiunilor inflamatorii și neinflamatorii ale urechii; principiile de pronostic al eficacității de diagnostic și recuperare auditivă în surditatea senzorineurală și diagnosticul genetic al SSN în vederea profilaxiei și majorarea eficacității farmacoterapiei SSN.

Contribuția personală a autorului în realizarea obiectivelor tezei este de peste 90%. Proprietatea intelectuală a fost asigurată prin patru brevete de invenții și șase certificate de inovator. Valorificarea practică este dovedită prin: un certificat de autorizare a produselor medicamentoase, un certificat de autorizare a suplimentelor, 12 acte de implementare a invențiilor și inovațiilor în activitatea științifică și clinică.

CONCLUZII GENERALE

Realizarea cercetărilor și analiza rezultatelor obținute în cadrul tezei de doctor habilitat **„Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv”,** au generat formularea următoarelor concluzii generale:

1. A fost argumentat raționamentul combinării, în aceeași formă farmaceutică, a substanței active antibacteriene ciprofloxacina hidroclorid cu un produs natural – uleiul volatil de busuioc. S-a stabilit compatibilitatea ciprofloxacinei și uleiului volatil de busuioc. Studiile farmaceutice de preformulare au favorizat elaborarea formulei optime și a tehnologiei de preparare pentru produsul CB-12.
2. Picăturile auriculare cu ciprofloxacină și ulei volatil de busuioc CB-12 posedă o activitate antibacteriană mai înaltă decât forma farmaceutică doar cu ciprofloxacină, față de unele tulpini bacteriene *(S.aureus (t.209); Ps.aeruginosa (t.ATCC 27853) și E.faecalis (t.ATCC 19433)).*
3. Cercetările farmacologice ale toxicității acute (clasa de toxicitate 5 LD_{50} > 2000 mg/kg) și toxicității subcronice (parametrii hematologici, biochimici și morfologici) a produselor farmacologice combinate CB-12, CAF-01, MI au demonstrat toxicitatea redusă a produselor respective, fiind clasificate ca practic inofensive.
4. Produsele medicamentoase combinate CAF-01 și NH-01 manifestă eficacitate otoprotectoare deosebită în tratamentul surdității senzorineurale induse cu gentamicină (indicii reflexului Preyer, OEAT $p < 0,001$), administrarea la subiecții umani, de asemenea, contribuie la ameliorarea simptomaticii, confirmată prin indicii hematologici, biochimici și audiologici.
5. În cadrul studiilor clinice au fost demonstrate efectele antioxidante otoprotectoare ale produselor medicamentoase combinate CAF-01 și NH-01 prin ameliorarea statistic semnificativă ($p < 0,05$) a indicilor biochimici: superoxiddismutaza, catalaza, ceruloplasmina, glutationperoxidaza.
6. În cadrul cercetărilor genetice a fost elaborată și validată o nouă metodă tehnologică de diagnostic molecular-genetic al deleției 35delG (rs80338939) în gena *GJB*2, mutație responsabilă pentru instalarea SSN prin genotiparea *TaqMan PCR*.
7. La evaluarea genetică s-a depistat frecvența sporită (50%) la bolnavii cu SSN prelingvală nonsindromică și a nivelului infim de portaj la persoane fără patologie auriculară a mutației 35delG în gena GJB2.
8. A fost elaborată și demonstrată eficiența unei noi metode de prognostic al scorului maxim de inteligibilitate vocală și am stabilit criterii de prognostic al eficacității recuperării auditive la

bolnavii cu hipoacuzie, în baza factorilor anamnestici, audiometriei tonale liminare și supraliminare.

9. Studiile experimentale au permis de a elabora un protocol de monitorizare preclinică a produselor farmacologice, cu posibile efecte ototoxice sau otoprotectoare. De asemenea, studiile clinice audiologice, farmacologice și genetice au permis de a concepe un algoritm complex de explorare și tratament medicamentos și recuperare la pacienții cu afecțiuni ale analizatorului auditiv, în special, pentru conduita medicală a SSN.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Metodele de analiză și standardizare a produselor medicamentoase combinate (CB-12, picături auriculare, și NH-01, capsule) se recomandă pentru utilizare în cadrul laboratoarelor de control al calității medicamentelor și în departamentele de cercetare-dezvoltare a companiilor farmaceutice, care posedă, ca domeniu, producerea medicamentelor combinate.
2. Protocolul elaborat de determinarea funcției auditive la animalele de laborator, cu utilizarea reflexului Preyer, impedansmetriei și otoemisiei acustice, poate fi utilizat pentru a stabili efectele ototoxice și otoprotectoare ale produselor medicamentoase și în alte cercetări preclinice asupra analizatorului auditiv.
3. Genotiparea polimorfismului mononucleotidic rs80338939 (m.35delG), prin soluția TaqMan PCR, sporește performanțele diagnosticării molecular-genetice și se recomandă ca metodă de screening genetic mai accesibilă la copii și adulți cu SSN.
4. Crearea unui nucleu multidisciplinar de competență în investigare, diagnosticul molecular-genetic, reabilitarea copiilor și adulților cu surditate senzorineurală (SSN) pot fi implementate în vederea stratificării tratamentului conform principiilor medicinii personalizate.
5. Efectuarea unui studiu multicentric pentru a stabili răspândirea factorilor genetici ai SSN nonsindromice și nivelul de portaj în regiunile țării noastre poate servi la elaborarea unui program național pentru determinarea nivelului de risc al SSN la copiii părinților fenotipic sănătoși.
6. Metoda de diagnostic, cu prognosticarea scorului de inteligibilitate vocală, în baza a astfel de factori ca: aspectul curbei audiometrice, media pragului auditiv stabilit la audiometria tonală, media pragului de disconfort, indicele de articulare se recomandă a fi implementat în cadrul serviciilor audiologice și ORL din republică.
7. Metoda de prognostic al eficacității protezării auditive, bazată pe vârsta bolnavului, prezența, ca factor declanșator al surdității, a infecțiilor virotice și/sau bacteriene, evoluția deficienței

auditive, pragul auditiv sau severitatea surdității, indicele de articulare, se recomandă a fi utilizată în cadrul selectării protezelor auditive la bolnavii cu SSN cronică.

8. Produsul medicamentos combinat Flamena, emulsie orală, 100 ml, se recomandă a se administra în tratamentul complex al bolnavilor cu SSN.
9. Utilizarea algoritmului de diagnostic și farmacoterapie, precum și continuarea cercetărilor clinice privind elaborarea produselor combinate de sinteză și naturiste, sunt recomandate pentru tratamentul complex al afecțiunilor analizatorului auditiv.
10. Metodele aplicate și rezultatele obținute pot fi utilizate în procesul de instruire universitară și postuniversitară în cadrul disciplinelor: farmacologie și farmacologie clinică, farmacie clinică, otorinolaringologie, chimie farmaceutică și toxicologică, biologie și genetică umană; în activitatea Centrului Științific al Medicamentului, Laboratorul de otorinolaringologie, Laboratorul de genetică, precum și în centrele medicale (specialitatea otorinolaringologie).
11. Elaborarea, în baza rezultatelor studiului disertațional, a unui standard național de conduită farmacoterapeutică și protezare auditivă a bolnavilor cu SSN.

BIBLIOGRAFIE

1. ABABII, I., POPA, VL., ANTOHI, I. *Otorinolaringologie* (Vademecum clinic). Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, 2000, 150 p. ISBN:9975-945-31-7.
2. ABABII, I., MANIUC, M., ERENCOV, V. *Terapia medicamentoasă în otorinolaringologia pediatrică*. *Ghid.* Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, Chișinău, 2004. 455 p. ISBN 9975-907-45-8.
3. ABABII, I., MANIUC, M., SANDUL, A. *Otorinolaringologie* (Manual). Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*, 2019, 407 p. ISBN: 978-9975-56-618-6.
4. ABABII, I., **PARII, S.,** CHIABURU, A., DIACOVA, S., CHIRTOCA, D., CHIABURU-CHIOSA, D. Rezultatele impedansmetriei şi produselor de distorsiune ale otoemisiunilor acustice în diagnosticul topografic al surdităţii neurosenzoriale. În: *Analele ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu”.* Ediţia a XIV-a. Chişinău, 2013, vol. 4, pp. 228-236. ISSN 1857-1719
5. ABABII, I., MANIUC, M., DIACOVA, S., MAXIMENCO, E. *Otita medie acută la copil. Protocol clinic naţional.* Chişinău, 2016, 24 p.
6. ABABII, I., POPA, V., VETRICEAN, S., ANTOH,I I., ANTOHI, A. *Otita medie cronică supurată la adult. Protocol clinic naţional.* Chişinău, 2016, 25 p.
7. ABABII, I., CHIABURU, A., MANIUC, M., REVENCO, N., CHIRTOCA, D., CHIABURU-CHIOSA, D. *Standardul național privind screening-ul audiologic la nou-născuți*. Chișinău, 2017, 22 p.
8. ATAMAN, T., NEAGU, A., GONȚA. *Otoscleroza vârstei a treia.* Romanian Medical Journal. 2008, Vol. 55 Issue 3, pp. 211-212. ISSN**:** 1220-5478.
9. ATAMAN, T. *Audiologie Clinică*, Editura Sitech, Bucureşti, 2009; 1:19-40. ISBN 978-606-530-658-5.
10. ATAMAN, T. *Chirurgie otologică*. Bucureşti, 2002, 426 p. ISBN 973-31-2081-2
11. ATAMAN, T., GEORGESCU, M., ATAMAN, M. Otita medie şi otomastoidita osificată. În: *„Revista specializată ORL.ro”.* Bucureşti, România, nr. 219 (2/2013), pp. 40-41. ISSN 2067-6530.
12. BABILEV, F. *Chimia farmaceutică*, Editura Universitas, Chişinău, 1994, pp. 57-63. ISBN 5-362-01110.
13. BACINSCHI, N. *Farmacologia preparatelor entomologice şi utilizarea lor raţională.* Autoreferat al tezei de doctor habilitat în medicină. Chişinău, 2013, 48 p.
14. BITERE, O., COZMA, S., MÂRȚU, C., MÂRȚU, D., OLARU, R., RĂDULESCU, L.

Potențialul de acțiune compus al nervului cohlear în evaluarea buclei electroneurale la pacienții cu implant cohlear. În: *Rev. Med. Chir. Soc. Med.* Iaşi – nr 2/2016, supl. 1, pp. 43-53. ISSN: 2286-2560.

15. BOBOC, A.-M., BANDOL, G. Algoritm de management în cancerele de cap și gât. În: Volum de rezumate a cursului „Cancere ORL, sarcom, melanom", Iași, 2019, pp. 25-26.
16. BOJIȚĂ, M., MUNTEAN, D. *Controlul medicamentelor. Metode spectrale, cromatografice și electroforetice de analiză,* Tipografia Medicală Universitară, Cluj-Napoca, 2004, pp. 12-57, 98-125, 229-243. ISSN: 2068-3324.
17. CALARAȘU, R., ATAMAN, T,, ZAINEA, V., BOGDAN, C,, PASCU, A. *Manual de patologie otorinolaringologică și chirurgie cervicofacială,* Ed. Universitară, „Carol Davila", București, 2000, 227 p. ISBN: 9738047382. 9789738047389 9738047382
18. CHIABURU, A. Audiometria obiectivă în diagnosticul surdității precoce la copii. În: *Analele științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu"*. 2012, nr. 4 (13), pp. 306-309. ISSN 1857-1719
19. CHIABURU, A., ABABII, I., DIACOVA, S., **PARII, S.** Particularităţile potenţialelor evocate auditiv ale trunchiului cerebral la copiii cu surditate şi patologie perinatală a sistemului nervos central. În: *Analele ştiinţifice ale Universităţii USMF „Nicolae Testemiţanu"*. Ediţia a VI-a. Chişinău, 2005, vol. 3, pp. 288-291. ISBN 978-9975-113-45-8
20. CHIRTES, F., ALBU, S. *Tratamentul intratimpanic în terapia sindroamelor cohleo-vestibulare*. Rezumat al tezei de doctorat. Cluj-Napoca, 2015, 50 p.
21. *Clasificatorul medicamentelor autorizate în Republica Moldova.* 10.07.2019. Disponibil: http://amed.md/ro/clasificator-medicamente.
22. COZMA, S., MÂRȚU, C., MANOLACHE, O., OLARU, R., DAMEAN, G., CAVALERIU, B., ZOTA, D., MÂRȚU, D., RĂDULESCU, L. 6 ani de screening auditiv neonatal universal la Iași – rezultatele unui parteneriat interdisciplinar. În: *„Revista specializată ORL.ro"*. Bucureşti, România, nr. 27 (2/2015), pp. 26-31. ISSN 2067-6530
23. COJOCARU-TOMA, M., **PARII, S.,** NICOLAI, E., TOMA, M.M. ș.a. Determinarea toxicității acute a extractelor din *Argimoniae herba și Cichorii herba: studiu experimental.* În : *Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Ştiinţe ale Sănătăţii din Moldova,* 2018, nr. 2 (16), pp. 35-43. ISSN 2345-1467.
24. CUROCICHIN, GH., CEMORTAN, I., BARBACAR, N. Caracteristica molecular-genetică a dereglărilor metabolice la hipertensivi. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii*. 2010, nr.2 (311) pp. 58-68. ISSN: 1857–064X

25. EȚCO, C., RUSSU-DELEU, R., ZABRAILOV, N. *Proiectarea, elaborarea și redactarea lucrărilor științifice (Ghid)*. Chișinău: S. n., 2016 (Tipogr. „Primex-Com"). 246 p. ISBN 978-9975-110-55-5.
26. FILIMON, A. Studiul factorilor de risc în hipoacuzia neonatal. Importanța depistării precoce. Rezumat al tezei de doctor. Clij-Napoca, 2009, 23 p. http://www.umfcluj.ro/sustinute-ro/category/20-rezumate-2009?download=643:filimon-angelica-teodora&start=15
27. GARBUZ, O.S.; GRAUR, V.O.; TAGADIUC, O.C.; ANDRONACHE, L.M.; SARDARI, V.V.; GULEA, A.P.; GUDUMAC, V.S. In vitro antiproliferative potential and antioxidant capacity of new coordination compounds. B: *Международный научно-исследовательский журнал. International research journal*. Екатеринбург, 2017, N.05 (59), часть 2, pp.122-125. ISSN 2303-9868 PRINT, ISSN 2227-6017
28. GEORGESCU, M. Infecția congenitală cu CMV și hipoacuzia. Reeducarea vestibulară la pacienţii cu vertij. În: *„Revista specializată ORL.ro"*. Bucureşti, România, nr. 41 (4/2018), pp. 24-34. ISSN 2067-6530. doi. 10.26416/ORL.41.4.2018
29. GEORGESCU, M., ATAMAN, T. Hipoacuzia neurosenzorială – complicație în supurațiile urechii medii. În: *„Revista specializată ORL.ro"*. Bucureşti, România, nr. 21 (2/2013), pp. 36-37. ISSN 2067-6530.
30. GHEORGHE, D.C., NEAGU, A.C., BORANGIU, A. Sindromul Stickler tip III – prezentare de caz. În: *„Revista specializată ORL.ro"*. Bucureşti, România, nr. 219 (2/2013), pp. 38-39. ISSN 2067-6530.
31. GHICAVÎI, V., BACINSCHI, N., GONCIAR, V. *Antibioticoterapia în otorinolaringologie*. Tipografia Centrală, Chișinău, 2001, 40 p.
32. GHICAVÎI, V., BACINSCHI, N., GUȘUILĂ, G. *Farmacologie*, Tipografia Centrală, Chișinău, 2012, 129-132, 377, 383-384. ISBN: 978-9975-53-068-2.
33. GHICAVÎI, V., BACINSCHI, N., PODGURSCHI, L., ȚURCAN, L., GUȘUILĂ, G., GUȚU I. *Clinical cases in clinical pharmacology*. Chișinău: Chișinău, CEP „Medicina", 2017, 190 p. ISBN 978-9975-82-054-7.
34. GHICAVÎI, V., STRATU, E., POGONEA, I., ș.a. *Îndrumar pentru lucrări de laborator la farmacologie*. Chișinău: Tipografia CEP Medicina, 2016, 396 p. ISBN 978-9975-82-037-0.
35. GONCIAR, V. *Optimizarea farmacologică și utilizarea rațională a enterosorbției*. Teză de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 2008, 50 p.
36. GONCIAR, V., CAZACU, V., CHEPTEA, E. *Farmacotoxicologie*. Chișinău, 2008, 264 p. ISBN 978-9975-918-77-0.

37. GONCIAR, V., OBRIJANU, D., NISTREANU, A. *Elemente de fitofarmacologie*. Ch.: S. n., 2012. p. 248 ISBN 9975-53-075-0.
38. GONCIAR, V., SCUTARI, C., BODRUG,E. *Medicaţia afecţiunilor specific şi nespecifice.* Ch.: S. n., 2015, 222 p. ISBN 978-9975-53-516-8.
39. GONCIAR, V., SCUTARI, C., BACINSCHI, G., BESLIU, A. Interacţiunile farmacodinamice ale fitopreparatelor şi medicamentelor. În: *Materialele Conferinţei ştiinţifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la naşterea profesorului Efim Alexeevici Muhin „Actualităţi în farmacologie şi farmacologia clinică”.* Revista Sănătate Publică, Economie şi Management în Medicină. Chişinău, 2018, nr. 4 (78), p.117-127. ISSN: 1729-8687.
40. HERMAN, S. *Aparate de reabilitare auditivă*. Bucureşti, 2006, Ed.Tehnoplast, 260 p. ISBN – 973-98254-1-9.
41. Legea RM nr. 265 din 28.07.2006 „Privind protecţia animalelor folosite în scopuri experimentale sau în alte scopuri ştiinţifice”. În: *„Monitorul Oficial al RM.”*. Chişinău, 27.10.2006, nr. 168-169.
42. LICKER, M., BĂDIŢIOU, L., MUNTEAN, D. Rezistența la antimicrobiene: treunduri și abordări multimodale. *Revista Română de Medicină de Laborator Supliment 1 la Vol. 27, Nr. 2, Aprilie, 2019,* p.S10. ISSN 2284-5623.
43. MANEA, S. *Spirulina – nutrientul miracol.* Ed. Tridonia, Bucureşti, 2004, 37 p.
44. MATCOVSCHI, C., PROCOPIŞIN, V., PARII, B. *Ghid farmacoterapeutic*. Chişinău, 2006, 1157 p. ISBN 978-9975-78-491-7.
45. MATCOVSCHI, C., SAFTA, V. *Ghid farmacoterapeutic*, Tipografia Centrală, Chişinău, 2010, pp. 834-835, p. 901-902, p. 925-926. ISBN 978-9975-4048-5-3.
46. MÂRŢU, D., TANASI, D., COZMA, S. Particularităţile tratamentului copilului hipoacuzic. Idei pentru prezent şi viitor. *Audionews.* Vol. 1. 2002, pp. 22-26. ISSN: 0130-1535.
47. MEREUȚĂ, I., VALICA, V., PARII, S., CARAUȘ, V., CLECICOV, M., ȘVEȚ, V., CERNAT, M. Rezultatele cercetării clinice: Studiul proprietăţilor citoprotectoare (chimio-, radioprotectoare) ale emulsiei orale Flamena 100 ml la pacientele cu cancer mamar şi cancerul organelor reproductive supuse chimio- sau radioterapiei. În: *Revista InfoMed*. Chişinău, 2016, nr. 2/1, pp. 75-83. ISSN 1810-3936.
48. MUHIN, E., GHICAVÎI, V., GONCIAR, V., BACINSCHI, N. *Medicaţia dereglărilor circulaţiei cerebrale şi periferice.* Chişinău, 1998, 137 p.
49. MUNTEAN, D.L., BOJIȚĂ, M. *Controlul medicamentelor (Metode spectrale,*

cromatografice şi electroforetice de analiză). Cluj-Napoca: Editura Medicală Universitară „Iuliu Haţieganu", 2004. – 303 p.

50. NAŞCU, H.I., JÄNTSCHI, L. *Chimie analitică şi instrumentală*, Academic Pres &Academic Direct, Cluj-Napoca, 2006, 97-113, 231-248.
51. NEAGU, A., ATAMAN, T. Hipoacuziile neurosenzoriale non-sindromice congenital și legatura lor cu conexina 26. În: *"Revista Medicală Română"* – Vol. LVII, nr. 2, 2010, pp. 88-92. ISSN: 1220-5478
52. NEAGU, A., ATAMAN, T., DIMITRIOU, P. Testările pentru hipoacuzie înainte de sarcină și în timpul sarcinii. În: *"Revista Medicală Română"* – Vol. LVIII, nr. 2, 2011, pp. 113-115. Disponibil: https://rmj.com.ro/articles/2011.2/RMR_Nr-2_2011_Art-7.pdf ISSN 1220-5478
53. NICOLAI, S., SCUTARI, C., CEKMAN, I., CÂRLIG, V. *Farmacologie.* Chişinău, Centrul Editorial-Poligrafic „Medicina", 2003, 397 p. ISBN: 9975-907-55-5
54. NICOLAI, E., UNCU, L., VISLOUH, O., STAVER, M., **PARII, S.** Determination of Ciprofloxacine in multicomponent mixture by HPLC method. In*: Book of abstracts, the 16th CEEPUS Symposium and Summer School on Bioanalysis*, Warsaw, Poland, p.75. http://eprints.ugd.edu.mk/16107/2/Ivanova-Petropulos_Abstract_Poster%202-brandy.pdf
55. NICOLAI, E., **PARII, S.,** VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea conţinutului de impurităţi de etilendiaminoderivat de ciprofloxacina în studiul stabilităţii picăturilor auriculare combinate. În: *Volumul de rezumate a Conferinţei Naţionale de Farmacie Clinică, ediţia a II,"Provocări ale farmacoterapiei contemporane"* Bucureşti, 15-17 iunie 2017, p. 199. ISSN: 0014-8237
56. Ordinul MS RM nr.358 din 12 mai 2017 „Cu privire la aprobarea Regulamentului privind efectuarea activităţilor de farmacovigilenţă". În: „*Monitorul Oficial al RM*",nr.244-251(6167 6174), pp. 129-143.
    Disponibil: http://amed.md/sites/default/files/Medicamente/Farmacovigilenta/Ordinul%20MS%20358%20din%2012.05.2017.PDF
57. PAPUC, S., MASARIU, D. *Hipoacuzia neurosenzorială nonsindromică progresivă de cauză genetică.* ORL Supliment medical, Bucureşti, Nr1, 2012, pp. 14-15.
58. PARII, B. *Majorarea eficacităţii medicamentelor şi prognozarea efectelor lor secundare.* Teză de doctor habilitat în medicină. Chișinău, 1994, 201 p.
59. PARII, B. *The dependence between physico-chemical and allergenic properties of xenobiotics. NBC Risks. Current Capabilities and future perspectives for protection*. Kluwer academic publishers., London, NATO science Series. Vol. 25., 1999., pp. 459-467.

DOI: 10.1007/978-94-011-4641-8_35

60. PARII, B. *Efectele specifice şi nespecifice ale medicamentelor – mecanisme la nivel molecular*. În: ,,Academos", nr. 4(8), 2007, pp. 62-65. ISSN 1857-0461.
61. PARII, B., RUSNAC, L., **PARII, S.** The role and place of Magnesium amoung other bioelements: phisyco-chemical aspects. În: *Abstracts of XII International Magnesium Simposium*, Iasi Romania. Magnesium Research. Montreuil, France, 2009, vol.22, nr.3, pp. 208S-209S. ISSN 0953-1424.
62. PARII, B., TODIRAŞ, M., VALICA, V., RUSNAC L., **PARII, S.,** GOLOVIN, P. Medicamentele autohtone combinate. Actualităţi şi perspective. În: *„Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei" (ştiinţe medicale).* Chişinău, 2010, nr. 1, pp. 33-36. ISSN: 1857–064X.
63. **PARII, S.** *Particularităţile diagnosticului şi selectării protezelor auditive la pacienţii cu surditate neurosenzorială.* Teză de doctor în medicină. Chișinău, 2003, 152 p.
64. **PARII, S**. Particularităţi ale managementului pacienţilor cu tinnitus. În: *Analele Ştiinţifice ale USMF „N. Testemiţanu"*. 2011, nr. 4(12), pp. 339-333. ISSN 1857-1719.
65. **PARII, S.,** ABABII, I., CHIABURU, A., JUCOVSCHI, C., DIACOVA, S. Pronosticul eficacităţii protezării auditive. În: *Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu"*. 2012, nr. 4 (13), pp. 292-296. ISBN 978-9975-113-45-8.
66. **PARII, S.** Evaluarea inofensivității unui nou produs medicamentos sub formă de gel. În: *"Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași",* România, 2018, vol. 122, nr.2/supl. 1, pp. 195-202. ISSN 0048-7848.
67. **PARII, S.** *Surditatea şi tratamentul medicamentos.* Chişinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic Medicina. 136 p. ISBN 978-9975-82-091-2.
68. **PARII, S.** Surditatea senzorineurala: farmacoterapia otoprotectoare şi medicamente combinate. În: *Volumul de rezumate a Conferinţei Naţionale de Farmacie Clinică, ediţia a II,"Provocări ale farmacoterapiei contemporane"* Bucureşti, 15-17 iunie 2017, p. 30. ISSN: 0014-8237.
69. **PARII, S.** Produse medicamentoase combinate în farmacoterapia afecţiunilor auriculare. În: *Materialele Conferinţei ştiinţifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la naşterea profesorului Efim Alexeevici Muhin „Actualităţi în farmacologie şi farmacologia clinică". Revista Sănătate Publică, Economie şi Management în Medicină*. Chişinău, 2018, nr. 4 (78), pp.78-88. *(Categoria B)* ISSN: 1729-8687.
70. **PARII, S.,** CHIABURU, A., DIACOVA, S., PARII B. Farmacoterapia surdităţii neurosenzoriale acute şi cronice: medicamente ototoxice şi otoprotectoare. În: „Revista

Farmaceutică a Moldovei". Chişinău, 2008, nr. 3-4, pp. 48-52. ISSN 1812-5077.

71. **PARII, S.,** GONCIAR, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E., VALICA, V. Medicamente combinate şi surditatea sensorineurala. În: *Volumul de rezumate a Simpozionului „Zilele Medicamentului- Medicamentul de la idee la clinică".* Ediţia a XXVI-a. Iaşi, România. 29-31 martie 2018, pp.89-90. ISSN-L 1843-1038.
72. **PARII, S.,** JOSANU, V., CIOCANU, M. Screening-ul auditiv la nou-născuți. În: *„Revista specializata ORL.ro".* Bucureşti, România, nr. 19 (2/2013), pp. 42-44. ISSN 2067-6530.
73. **PARII, S.,** JUCOVSCHI, C. *Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală.* Brevet de invenție MD 792 Z din 2014.09.30. În: BOPI. Chişinău, 2014, nr. 02, pp. 29.
74. **PARII, S.,** MEREUȚĂ, I., VALICA, V., CARAUȘ, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E. Evaluarea toxicității acute a suspensiei Merion 100 ml. În: *„Revista InfoMed"*. Chișinău, 2016, nr. 2/2, pp. 240-244. ISSN 1810 – 3936.
75. **PARII, S.,** RUDIC, V. *Utilizarea extractului din biomasa tulpinii cianobacteriei Spirulina platensis (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienţilor cu hipoacuzie.* Brevet de invenție 4277 C1, A61K 36/05, A61P27/16. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Nr. depozit a 2013 0056. Data depozit 24.05.2013. Publicat 31.03.2014. In: BOPI. 2014, nr. 3, p. 27.
76. **PARII, S.,** VALICA, V., CARAUȘ, V., UNGUREANU, A., NICOLAI, E., COJOCARU, A. Evaluarea toxicității acute a unor noi compuși medicamentoși combinați. În: *„Revista Farmaceutică a Moldovei*". Chișinău, 2015, nr. 1-2, pp. 35-38. ISSN 1812-5077.
77. **PARII, S.,** UNCU, L., VALICA, V, NICOLAI, E., MANIUC, M. Elaborarea și evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos pentru tratamentul otitelor. În: "*Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași",* România, 2016, vol. 120, nr.2/supl. 1, pp. 61-69. ISSN-L: 2286-2560.
78. **PARII, S.,** VALICA, V., GUDUMAC, V., NACU, V., CARAUȘ, V., NICOLAI, E., UNGUREANU, A., PÂNTEA, V., COCIUG, A., JIAN, M. Determinarea toxicității cronice a unui nou compus medicamentos combinat. În: „*Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale*. Chişinău, 2016, nr. 1, pp. 214-219. ISSN 1857-0011.
79. PASCU, A. *Audiometrie*. Monografie. Bucureşti. 2000. 274 p. ISBN 9738047153.
80. POPA, V., ANDRIUȚĂ, V., HODONOAGĂ, N. *Ghid otorinolaringologic*. Ed. „Universitas". Chișinău, 1994, 200 p. ISBN 5-362-01114-6.
81. RADU, A., RIZESCU, M. *Hipoacuzia genetică*. ORL. Supliment medical. Bucureşti, nr. 1, 2012, pp. 10-11.
82. RADULESCU, L., MÂRȚU, C., RĂDULESCU, T., MÂRȚU, D. Bioetica și audiologia

În: *„Revista specializata ORL.ro”*. Bucureşti, România, nr. 15 (2/2012), pp. 7-9. ISSN 2067-6530.

83. RĂDULESCU. L., MÂRȚU. C., MÂRȚU. D., DAMEAN. G., COZMA. S. Hipoacuzia – indicațiile tratamentului cu proteze implantabile. În: „*Revista specializată ORL.ro*”. Bucureşti, România, nr. 27 (2/2015), pp. 22-25. ISSN 2067-6530.
84. ROMAN, L., BOJIȚĂ, M., SĂNDULESCU, R. – *Analiza și controlul medicamentelor//Metode instrumentale de analiză și controlul medicamentelor*, Intelcredo, Cluj-Napoca, 2003, pp. 65-85,253-282,296-327. ISBN 9738197120.
85. RUDIC, V. BioR – *Studii biomedicale și clinice*. Monografie. Chișinău, 2007, 375 p. ISBN 978-9975-9548-8-4.
86. RUDIC, V., RUDI, L., CHIRIAC, T., CEPOI, L., MISCU, V., s.a. Activitatea antioxidantă și antiradicalică a biomasei cianobacteriei Spirulina platensis CNMN-CB-11 pe fon de stres indus în condiții de producere industrial. În: *Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii.* nr. 1(331) 2017, pp.105-111. ISSN: 1857-064X.
87. RUSNAC, L., UNGUREANU, A., VALICA, V., PARII, S., NICOLAI, E. Nanomedicine – regulatory aspects. În: *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei, Ştiinţe Medicale*. Chişinău, 2014, nr.5, pp. 41-52. ISSN 1857-0011.
88. SANDUL, A., ANTOHI, A., VETRICEAN, S., FORTUNA, V., DIDENCU, A., ENACHI, V. Abcesul Bezold. Prezentare de caz. În: *Analele ştiinţifice ale USMF* „N. Testemițanu”, 2013, nr. 4, pp. 326-329. ISBN 978-9975-113-45-8.
89. SANDUL, A., BURACOVSCHI, N., BURACOVSCHI, M. Otomastoidita cervicală Bezold – caz clinic. În: *„Revista specializată ORL.ro”*. Bucureşti, România, nr. 31 (2/2016), pp. 16-19. ISSN 2067-6530
90. SARAFOLEANU, D., SARAFOLEANU, C. *Urgenţe în ORL*. Monografie. Bucureşti, 1997, 127 p. ISBN 973-570-078-6.
91. SARAMET, G. *Combinaţiile fixe de substanţe active, provocări ale industriei farmaceutice*. Univers Farmaceutic, nr 3, Bucureşti, 2015, pp. 20-21. ISSN 2537-2483.
92. SCUTARI, C., GONCIAR, V., BACINSCHI, G., BESLIU, A. Interacțiunile farmacocinetice ale fitopreparatelor și medicamentelor. În: *Materialele Conferinţei ştiinţifico-practice dedicată aniversării a 100-a de la naşterea profesorului Efim Alexeevici Muhin „Actualităţi în farmacologie şi farmacologia clinică”. Revista Sănătate Publică, Economie şi Management în Medicină*. Chişinău, 2018, nr. 4 (78), pp.109-117. ISSN: 1729-8687.

93. SPINEI, L., LOZAN, O., BADAN, V. Biostatistica. CEP Medicina. Chişinău. 2009. 186 p. ISBN 978-9975-78-743-7.
94. STRUNGARU, C.R., CALARAȘU, R., BRÂNZAN, A., et al. Hipoacuzia la copil. Cauze genetice. În: *„Revista Medicală Română”.* Vol. LVIII, 2011, nr. 1, pp. 28-30. ISSN 1220-5478
95. TODIRAȘ, M. *Interrelații dintre factorii vasomotorici locali și rolul lor în reglarea tonusului vascular.* Teză de doctor habilitat în medicină, Chișinău, 2006. 224 p.
96. TOTOLIN, M. Metode clinice, audiologice și genetice de investigare a hipoacuziei neurosenzoriale congenitale. *Rezumat al tezei de doctor în medicină.* Craiova, România, 2011, 24 p.
97. TUDOR, A., MAZILU, R., TOADER, M., TOADER, C. Diagnosticul audiologic la copil. În: *Rezumatele Primului Congres Naţional de ORL Pediatrie.* Timişoara, România, 2011, pp. 37-38.
98. ŢURCAN, L., PODGURSCHI, L., GHICAVÎI, V. Medicina personalizată – un imperativ al timpului. În: *.Analele Ştiinţifice ale USMF „N. Testemiţanu”.* 2013, nr. 1(14), pp. 288-285. ISSN 1857-1719.
99. UNCU, L., GONCEAR, T., NICOLAI, E., VISLOUH, O., PARII, S. Evaluarea calitativa a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele Conferinţei ştiinţifice cu participare internaţională „Farmacia etică: istorie, realităţi şi perspective” dedicată memoriei acad. Vasile Procopisin şi a conf. Nadejda Ciobanu.* Chişinău, 2018, pp. 172-173. ISBN 978-9975-3159-1.
100. UNCU, L., IURESCO, T., **PARII, S.,** CIOBANU, N. Utilizarea medicamentelor combinate în tratamentul maladiilor otorinolaringologice. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chişinău, 2011, nr. 1-4, pp. 32-36. ISSN 1812-5077.
101. UNCU, L., NICOLAI, E., POMANĂ, E., VALICA, V., **PARII, S.,** DONICI, E. Studiul stabilității picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacină 3 mg/ml. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei,* Chişinău, 2016, nr.1-4, pp. 65-67. ISSN 1812-5077.
102. VALICA, V. *Studii privind elaborarea unor produse farmaceutice antiinfecţioase. Tehnologie, analiză şi standardizare*. Autoreferat al tezei de doctor habilitat în farmacie. Chișinău, 2003. 40 p.
103. VALICA, V., RUSNAC, L. Centrul Ştiinţific în Domeniul Medicamentului – actualităţi şi perspective. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei.* Chişinău, 2014, nr. 1-2, pp. 15-18. ISSN 1812-5077
104. VALICA, V., TODIRAŞ, M., **PARII, S.,** RUSNAC, L., DIUG, O., UNGUREANU, A.,

GOLOVIN, P., NICOLAI, E., PETROVA, T., BALUȚEL, B. Neamon-hepa, capsule, în tratamentul hepatitelor și cirozei hepatice. În: *Materialele Conferinței ştiinţifico-practice dedicată aniversării a 70-a de la naşterea profesorului Boris Parii „Medicamentul de la idee la farmacie", Revista Farmaceutică a Moldovei".* Chișinău, 2014, nr. 1-2, pp. 37-42. ISSN 1812-5077.

105. AKHILA, S., AISWARYA, S., KAVYA, S. Development and validation of spectrophotometric methods for simultaneous estimation of citicoline and piracetam in tablet dosage form. In: *J Pharm Bioallied Sci.* 2013 Jul-Sep; vol.5(3) pp.202–207. DOI: 10.4103/0975-7406.116818 ISSN: 0975-7406
106. ALADAG, I., EYBILEN, A. Role of oxidative stress in hearing impairment in patients with type two diabetes melitius. In: *The Journal of Laryngol and Otology* . vol 123/Issue09/2009 sep; pp. 957-963. DOI: 10.1017/S0022215109004502 ISNN: 00222151
107. *Australian Government Department of Health and Ageing. Compliance Medicines Working Group Report to Pharmaceutical Benefits Advisory Committee.* April 2010. Disponibil: http://www.pbs.gov.au/publication/factsheets/shared/2010-09-20-CMWG-report-to-PBAC.pdf (accesat 15.06.2019).
108. BA, A. Metabolic and structural role of thiamine in nervous tissues. In. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2008, vol.28., nr.7, pp. 923-931. DOI: 10.1007/s10571-008-9297-7, ISSN: 1573-6830.
109. BAMFORD, J.M., UUS, K., DAVIS, AC. Screening for hearing loss in childhood: issues, evidence and current approaches in the UK. In: *J Med Screen*, 2005,12(3), pp.119-124. DOI: 10.1258/0969141054855256.
110. BANGALORE, S., KAMALAKKANNAN, G., PARKAR, S., MESSERLI, FH. Fixed-dose combinations improve medication compliance: a meta-analysis. In: *American Journal of Medicine* 2007; nr. 120(8): pp. 713-719, DOI : 10.1016/j.amjmed.2006.08.033 ISSN: 00029343.
111. BLIZNETZ, E.A., LALAYANTS, M.R., MARKOVA, T.G., BALANOVSKY, O.P., BALANOVSKA, E.V. *et al.* Update of the GJB2/DFNB1 mutation spectrum in Russia: a founder Ingush mutation del (GJB2-D13S175) is the most frequent among other large deletions. In: *Journal of Human Genetics.* 2017;62(8): pp. 789-795. https://doi.org/10.1038/jhg.2017.42 ISSN: 1468-6244.
112. BORKOSKI-BARREIRO, S.A., FALCON-GONZÁLEZ, J.C., LIMINANA-CANAL, J.M., RAMOS-MACIAS, A. Evaluation of very low birth weight (≤ 1,500 g) as a risk

indicator for sensorineural hearing loss. In: *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2013; 64: pp. 403–408. ISSN: 0001-6519.

113. BRIAN, R., EARL, MARK, E. CHERTOFF. Mapping auditory nerve firing density using high-level compound action potentials and high-pass noise masking. In: *Journal Acoustic Society of America*. 2012 Jan; 131(1): pp. 337–352. doi: 10.1121/1. 3664052. ISSN: 0001-4966.
114. BRITISH PHARMACOPOEIA 2009, pp. 4172-4175, pp. 4776-4778. ISSN: 00071447
115. BRUSCHINI, L., CIABOTTI, A., BERRETTINI S. Chronic tuberculous otomastoiditis: a case report. In: *J Int Adv Otol*. 2016; 12 (2) pp. 219-221. https://doi.org/10.5152/iao.2016.2097 ISSN: 13087649.
116. BUZA, A., LEVITCHI, A., **PARII, S.,** CHIABURU, A., CUROCICHIN, G. Molecular genetic profile of nonsyndromic sensorineural hearing loss. În: *Volum rezumate Conferinţei Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent şi viitor în recuperare"*– Ediţia a-XVI-a. Iaşi, România, 2018, pp. 89-90.
117. CALEFFE-SCHENCK, N. Regenerating Hearing: Researchers Begin First-Ever Study of Stem Cells to Treat Hearing Loss. In: *The ASHA Leader*. 2012, nr. 4. pp. 187-193. ISSN: 10859586.
118. CHANG-HE, WANGA., YU-XUAN,WANGB., HAI, JINGLIU. Validation and application by HPLC for simultaneous determination of vitexin-2"-O-glucoside, vitexin-2"-O-rhamnoside,rutin, vitexin,and hyperoside. In: *Xianyang* 2011, pp. 291-296. ISSN: 20951779.
119. CHENG, A.G., CUNNINGHAM, L.L., RUBEL, E.W. Mechanisms of hair cell death and protection. In: *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg*. 13, 2005, pp. 343–348, ISSN: 10689508.
120. CHERKO, M., HICKSON, L., BHUTTA M. Auditory deprivation and health in the elderly. In: *Maturitas*. 2016;88: pp. 52-57. https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.03.008 ISSN: 18734111.
121. CHOI, Y-H et al. Antioxidant vitamins and magnesium and the risk of hearing loss in US general population. In: *Am J Clin Nutr*. Published online. November 2013. doi: 10.3945/ajcn.113.068437
122. CONLIN, A.E., PARNES, L.S. Treatment of sudden sensorineural hearing loss: A systematic review. In: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007 Jun;133(6): pp. 573-81 ISSN: 08864470.
123. CONNOR, J., RAFTER, N., RODGERS, A. Do fixed-dose combination pills or unit-of-use packaging improve adherence? A systematic review. In: *Bull World Health Organ* 2004;82: pp. 935–9. [PubMed] ISSN: 0042-9686.

124. CROCKETT, R., BAKER, H., UUS, K., BAMFORD, J. AND MARTEAU, T. Maternal anxiety and satisfaction following infant hearing screening: a comparison of the health visitor distraction test and newborn hearing screening. In: *Journal of Medical Screening*, Vol 12, No 2, June 2005, pp. 78-82 ISSN: 09691413.
125. CRYNS, K. A genotype-phenotype correlation for GJB2 (connexin 26) deafness. In: *Journal of Medical Genetics* (2004) 41(3) pp. 147-154 DOI: 10.1136/jmg.2003.013896.
126. DANILENKO, N., MERKULAVA, E., SINIAUSKAYA, M., OLEJNIK, O., LEVAYA-SMALIAK, A., et al. (2012). Spectrum of Genetic Changes in Patients with Non-Syndromic Hearing Impairment and Extremely High Carrier Frequency of 35delG GJB2 Mutation in Belarus. In: *PLoS ONE* 7(5): e36354. doi:10.1371/journal.pone.0036354 ISSN: 19326203.
127. DARRAT, I., AHMAD, N., SEIDMAN, K., SEIDMAN M.D. Auditory research involving antioxidants. In: *Current Opinion in Otolaryngoloy and Head and Neck Surgery, 2007,* 15 pp. 358-363. ISSN: 10689508.
128. DEENADAYAL, D.S., VIDYASAGAR, D., BOMMAKANTI, V., GOEL, K., NAEEM, N. Role of Intratympanic Steroids in the Management of Meniere's Disease — A Review of 151 Cases. In: *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2016;2(5): pp. 108-113. ISSN: 2168-5452
129. DEMARCANTONIO, M., CHOO, D.I. Radiographic Evaluation of Children with Hearing Loss. In: *Otolaryngol Clin North Am.* 2015;48(6): pp. 913-932. ISSN: 00306665
130. DIACOVA, S., DESVINGHES, V., CHIABURU, A., CHIRTOCA, D., **PARII, S.** Tympanostomy and adenoidectomy for treatment of otitis media in children. In: *Abstracts of 4-th Congress of the European Academy of Paediatric Societies*, Archives of disease in childhood. Vol. 97, London, UK, 2012, p. 453. ISSN: 1468-2044
131. ELAHEH, GHOLAMI PARIZAD., HOUSHANG, GERAMI MATIN., ESKANDAR, GHOLAMI PARIZAD., and AFRA, KHOSRAVI. The Prevalence of Hearing Loss in Patients with Hepatitis B Infection Compared with Healthy Volunteers. In: *Iranian. Journal of Otorhinolaryngol* 2017 May; 29(92): pp. 127–132 ISSN 2251-726X
132. EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 6th edition, 2008, p. 2035-2038. Disponibil: http://rims.ruforum.org/317BDC4/european-pharmacopoeia-6th-edition.pdf (accesat 12.06.2019).
133. EWERT, D.L., LU, J., LI, W., DU, X., FLOYD, R., KOPKE, R. Antioxidant treatment reduces blast-induced cochlear damage and hearing loss. In: *Hear Res*. 2012 Mar; 285(1-2): pp. 29-39. doi: 10.1016/j.heares. 2012.01.013. Epub 2012 Feb 6.

ISSN: 03785955.

134. FALUP-PECURARIU, O., LEIBOVITZ, E., MERCAS, A., BLEOTU, L., et al. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines. In: *Int J Infect Dis.* 2013, 17(9), pp.702-706. ISSN: 12019712
135. FAZEL, M.T., JEDLOWSKI, P.M., CRAVENS, R.B JR., ERSTAD, B.L. Evaluation and Treatment of Acute and Subacute Hearing Loss: A Review of Pharmacotherapy. In: *Pharmacotherapy.* 2017, pp.17-22. doi: 10.1002/phar.2044.
136. FELDMAN, L., EFRATI, S., EVIATAR, E., ABRAMSOHN, R., YAROVOY, I., GERSCH, E. et al. *Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine.* Kidney International, 2007, 72(3), pp. 359-36. ISSN: 00852538.
137. FETONI, A. R., GARZARO, M., RALLI, M., LANDOLFO, V., SENSINI, M., PECORARI, G. et al. The monitoring role of otoacoustic emissions and oxidative stress markers in the protective effects of antioxidant administration in noise-exposed subjects: A pilot study. Medical Science Monitor. In: *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2009, 15(11), pp. PR1-8. ISBN: 1643-3750.
138. FJALSTAD, J.W., LAUKLI, E., VAN DEN ANKER, J.N., KLINGENBERG, C. High-dose gentamicin in newborn infants: is it safe? In: *European Journal of Pediatrics*. 2014; pp. 173:4:489-495. https://doi.org/10.1007/s00431-013-2194-1 ISSN: 1432-1076.
139. FRANCIS, S. P. et al. A novel role of cytosolic protein synthesis inhibition in aminoglycoside ototoxicity. In: *J. Neurosci.* 2013, vol. 33, pp. 3079–3093. ISSN: 0270-6474.
140. GADZHANOVA, S., ILOMAKI, J., ROUGHEAD E.E. Antihypertensive use before and after initiation of fixed-dose combination products in Australia: a retrospective study. In: *Int J Clin Pharm* 2013, vol. 35, pp.613–620. ISSN: 22107703.
141. GERALD, M., HAASE, M.A, KEDAR, N. et al. Antioxidant micronutrient impact on hearing disorders: concept, rationale, and evidence. 2009. In: *American Journal of Otolaryngology*. 2011, vol. 32(1), pp. 55-61. DOI: 10.1016/j.amjoto.2009.09.002. ISSN: 01960709.
142. GHIBSON, G.E., ZHANG, H. Interaction of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. In: *Neurochem. Int.*2002, vol.40, nr.6, pp.493-504. ISSN: 0197-0186.
143. GHIRRI, P., LIUMBRUNO, A., LUNARDI, S., FORLI, F., BOLDRINI, A., BAGGIANI, A. Berrettini Universal neonatal audiological screening: experience of the University

Hospital Ital. In: *J Pediatr*. 2011, pp.16-37 ISSN: 17208424.

144. GOPINATH, B et al. Dietary antioxidant intake is associated with the prevalence but not incidence of age-related hearing loss. In: *J Nutr Health Aging*. 2011, vol. 15, pp. 896-900 ISSN: 12797707.
145. *Guide on clinical development of fixed combination medicinal products.* Disponibil: https://www.ema.europa.eu/en/clinical-development-fixed-combination-medicinal-products. (accesat 05.06.2019).
146. HARIHARAN, N., ZHA,I P., & SADOSHIMA, J. Oxidative stress stimulates autophagic flux during ischemia/reperfusion. In: *Antioxid. Redox Signal*. 14, 2011, pp. 2179–2190. ISSN: 1523-0864
147. HATANO, M., URAMOTO, N., OKABE, Y., FURUKAWA, M., AND MAKAOTO, I. Vitamin E and vitamin C in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Acta Oto-Laryngologica*. 2008, vol.128, pp.116-121. ISSN: 00016489
148. HUTCHINS, V., ZHANG, B., FLEURENCE, R.L., et al. A systematic review of adherence, treatment satisfaction and costs, in fixed-dose combination regimens in type 2 diabetes. In: *Curr Med Res Opin*. 2011, vol. 27, pp.1157–1168. ISSN: 0300-7995.
149. JOACHIMS, H.Z., SEGAL, J., GOLZ, A., NETZER, A., AND GOLDENBERG, D. Antioxidants in Treatment of Idiopathic Sudden Hearing Loss. In: *Otology & Neurotolog.* 2003 vol 24, pp. 572-575. ISSN: 15317129.
150. Joint Committee on Infant Hearing (2007) Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. In: *Pediatrics* 120, pp.898-921 doi:10.1542/peds.2007-2333.
151. KASEMODEL, A., COSTA, L., MONSANTO, R, et al. Sensorineural hearing loss in the acute phase of a single episode of acute otitis media. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2019 Jul 2. pp: S1808-8694(19)30059-X. doi: 10.1016/j.bjorl.2019.06.001.
152. KAYA, H., KOC, A.K., SALYN, I., GUNES, S., et. al. Vitamins A, C, E and selenium in the treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Eur Arch Otorhinolaryngol*., 2015 may; 272(5), pp. 1119-1125. ISSN: 14344726
153. KEMP, D., RYAN, S., BRAY, P. *A guide to the effective use of otoacustic emissions // Ear Hear*. 1990, Vol. 11, pp. 93-105. ISSN: 15384667
154. KIM, Y. J., et al. Autophagic flux, a possible mechanism for delayed gentamicin-induced ototoxicity. In: *Sci. Rep*. **7**, pp. 413-456; doi: 10.1038/srep41356 (2017) ISSN: 20452322
155. KILLIAN, S.J. *Vitamine A/retinol and maintenance of pluripotency of stem cells.* Nutrients. 2014, vol 6(3), pp.1209-1222. doi: 10.3390/nu6031209.

156. KOTECHA, B., & RICHARDSON, G. P. Ototoxicity *in vitro*: effects of neomycin, gentamicin, dihydrostreptomycin, amikacin, spectinomycin, neamine, spermine and poly-L-lysine. In: *Hear. Res*. 1994, vol. 73, pp. 173–184. ISSN: 03785955.
157. KOSTAL, M., JAKUB, D. Rheopheresis in treatment of idiopathic sensorineural sudden hearing loss. *Journal Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017, vol. 29(92), pp. 127–132. ISSN: 2251726.
158. LAMM, H., MÜLLER KORTKAMP, C, ATHANASIA WARNECKE et al. *Concurrent hyperbaric oxygen therapy and intratympanic steroid application as salvage therapy after severe sudden sensorineural hearing loss. Clin Case Rep*. 2016, vol 4(3), pp. 287–293. doi: 10.1002/ccr3.510 ISSN: 19160216.
159. LAZAR, C., POPP, R., TRIFA, A., et al. Prevalence of the c35delG and p.W24X mutations in the *GJB2* gene in the patients with nonsyndromic hearing loss from North-West Romania. In: *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2010, vol. 74(4), pp. 351 – 355. ISSN: 01655876
160. LE T.N., STRAATMAN, L.V., LEA, J., WESTERBERG, B. Current Insights in Noise-Induced Hearing Loss: a Literature Review of the Underlying Mechanism, Pathophysiology, Asymmetry, and Management Options. In: *Journal of Otolaryngology — Head&Neck Surgery*. 2017, pp. 41-46. doi:10.1186/s40463-017-0219-x ISSN: 19160216
161. LE PRELL C., HUGHES L.F., MILLERA J.M. Free radical scavengers, vitaminis A, C, and E plus magnesium reduces noise trauma. In: *Free Radic Biol Med*., 2007, vol. 42(9): pp. 1454-1463. ISSN: 08915849
162. LIN, F.R., METTER, E.J., O'BRIEN, R.J., RESNICK, S.M., ZONDERMAN, AB., FERRUCCI, L. Hearing loss and incident dementia. In: *Archives of Neurology*. 2011, vol. 68(2): pp. 214-220. https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.362. ISSN: 00039942.
163. LOKE, W.M., PROUDFOOT, J.M., STEWART, S., MCKINLEY, A.J., NEEDS, P.W., KROON, P.A., HODGSON, J.M., CROFT, K.D. Metabolic transformation has a profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin: lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. In: *Biochem. Pharmacol.* 2008, vol. 75(5), pp.1045-1053. ISSN: 00062952.
164. MAEDA, S., NAKAGAWA, S., SUG,A M., YAMASHITA, E., OSHIMA, A., FUJIYOSHI, Y., TSUKIHARA, T. S*tructure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 A resolution* In: Nature. 2009, vol. 458, pp. 597–602. DOI: 10.1038/nature07869. ISSN: 00280836.

165. MAHDIEH, N, RABBANI, B. Statistical study of 35delG mutation of GJB2 gene: a meta-analysis of carrier frequency. *International Journal Audiol.* 2009, vol.48(6), pp. 363-370. doi: 10.1080/14992020802607449.
166. MAŁGORZATA Nabrdalik., KATARZYNA Grata. Antibacterial activity of Ocimum basilicum L. essential oil against Gram-negative bacteria. In: *Post Fitoter.* 2016, vol. 17(2), pp. 80-86. Disponible: http://www.czytelniamedyczna.pl/5632,antibacterial-activity-of-ocimum-basilicum-l-essential-oil-against-gramnegative.html
167. MARTÍN-SALDAÑA, S., PALAO-SUAY, R., TRINIDAD, A., AGUILAR, M.R. Otoprotective properties of 6?-methylprednisolone-loaded nanoparticles against cisplatin: In vitro and in vivo correlation. In: *Nanomedicine.* 2016, vol. 12(4), pp. 965-976 ISSN: 15499642. DOI: 10.1016/j.nano.2015.12.367
168. MASIDOVA, I., VARGA, L., STANIK, J., et al. Molecular and hereditary mechanisms of sensorineural hearing loss with focus on selected endocrinopathies. In: *Endocrin Regul.*, 2012, vol. 46(3), pp. 167-186. DOI: 10.4149/endo_2012_03_167.
169. MASLARSKA, V. Development and Validation of a Rapid RP-HPLC Method for Estimation of Nicergoline in Tablet Dosage Forms. In: *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars (IJPRS),* 2014, vol.3(1), pp. 284-288. ISSN2277-7873.
170. MORITA, Y., TAKAHASHI, K., IZUMI, S., KUBOTA, Y., OHSHIMA, S., HORII, A. Vestibular Involvement in Patients With Otitis Media With Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis. In: *Otol Neurotol.* 2017, vol. 38(1), pp. 97-101 ISSN: 15374505.
171. *National Institute on Deafness and other Communication Disorders (NIDCD). Statistics and epidemiology.2019* [online] Disponibil: https://www.nidcd.nih.gov/health/statistics/quick-statistics-hearing (accesat 27.07.2019).
172. NEAMȚU, M., ABABEI, D-C., BILA, V. Implicarea stresului oxidativ în afecțiunile neuropsihiatrice. Medicamentul: tradiție și modernitate. Iași, vol 1, 2019, pp. 25-71. ISBN 978-606-544-625-0.
173. OMICHI, R., SHIBATA, S., MORTON C., SMITH, R. Gene therapy for hearing loss. In: *Hum Mol Genet.* 2019,vol.28, pp.65-79. doi: 10.1093/hmg/ddz129.
174. ORLANDO, S., CHIORINI, J.A. et al. Coordinated control of connexin 26 and conexin 30 at the regulatory and functional level in the inner ear. In: *Proc Natl Acad Scietifics.* 2008, vol. 105(48), pp. 18776-81. ISSN: 0027-8424.
175. PARKER, M . Biotechnology in the Treatment of Sensorineural Hearing Loss: Foundations and Future of Hair Cell Regeneration. *Journal of Speech, Language, and*

Hearing Research. 2011, vol. 54(6), pp. 1709–1731. ISSN: 1092-4388.

176. PERZANT, R. et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 1993, vol.4(3), pp.289-294. ISSN 1061-4036
177. PORTER, H.L., NEELY, S.T., GORGA, M.P. *Ear Hear. "Using benefit-cost ratio to select Universal Newborn Hearing Screening test criteria"*. 2009, vol.30(4), pp. 447-457. ISSN: 01960202.
178. RAMBHADE, S., CHAKARBORTY, A., SHRIVASTAVA, A., et al. A survey on polypharmacy and use of inappropriate medications. In: *Toxicol Int.* 2012, vol. 19, pp. 68–73. ISSN: 0971-6580.
179. C. RADULESCU, D. MIRCESCU, A. TOFAN, et al. P12 PLGA Nanoparticles – a promising alternative to improve the biological activity of lutein and vitamin E. In: *Revista Română de Medicină de Laborator.* 2019, vol. 27(1), nr. 2, pp. S34-S35. ISSN 2284-5623.
180. RĂDULESCU, L., MÂRŢU, C., BIRKENHÄGER, R., COZMA, S., UNGUREANU, L., LASZIG, R. Prevalence of mutations located at the DFNb1 locus in a population of cochlear implanted children in eastern Romania. In: *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012, vol. 76(1), pp. 90-94. doi: 0.1016/j. ijporl. 2011.10.07. Epub 2011 Nov 8. ISSN: 01655876
181. RĂDULESCU, L., CUROCICHIN, G., BUZA, A., **PARII S.,** MERIACR,E T., CHIABURU-CHIOSA, D., BUTNARU, C., BIRKENHAGE,R R., MARTU, C. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: „*Revista de Chimie"*. Bucureşti, România, 2018, vol.69, nr.8, pp. 2273-2277. ISSN: 00347752
182. REVOLTELLA, R.., PAPINI, S., ROSELLINI, A., MICHELINI, M., FRANCESCHINI, V., CIORBĂ, A., MARTINI, A. Cochlear repair by transplantation of human cord blood CD133 cells to non-scid mice made deaf with kanamycin and noise. In: *Cell Transplantation*, 2008, vol. 17, pp. 665–678. ISSN: 09636897.
183. ROLAND, P.S., DOHAR, J.E, LANIER, B.J., et al: Topical ciprofloxacin/dexamethasone otic suspension is superior to ofloxacin otic solution in the treatement of granulation tissue in children with acute otitis media with otorrhea through tympanostomy tubes. In: *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004, vol.130(6): pp. 736-41 doi:10.1016/j.otohns.2004.02.037.PMID: 15195060
184. SCHEDLBAUER, A., DAVIES, P., FAHEY, T. *Interventions to improve adherence to lipid lowering medication.* Cochrane Database Syst Rev 2010:CD004371. Scholtz W.

Clinical Drug Investigation, 2012, vol. 32(6), pp. 387-399. doi: 10.1002/14651858.CD004371.pub3.

185. SCHILDER, A.G., MAROM, T., BHUTTA, M.F., CASSELBRANT, M.L., COATES, H,, GISSELSSON-SOLÉN, M., HALL, A.J., MARCHISIO, P., RUOHOLA, A., VENEKAMP, RP., MANDEL, E.M. Otitis Media: Treatment and Complications. In: *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017, vol. 156(4), pp.88-105. https://doi.org/10.1177/0194599816633697
186. SINGLETON, C.K., MARTIN P.R. Molecular mecanisms of Thiamine utilization. In: *Cur.Mol.Med*., 2001, vol 1, nr 2, p.197-207. ISSN: 15665240
187. SIMONS, L.A, ORTIZ, M., CALCINO, G. Persistence with a single pill versus two pills of amlodipine and atorvastatin: the Australian experience, 2006-2010. In: *Med Jour Aust.* 2011, vol. 195, pp.134–137. ISSN: 0025729X
188. SMITH, R..J., BALE, J.F. JR., WHITE, K.R Sensorineural hearing loss in children. In: *Lancet* 2005, vol. 365, pp. 879–890. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71047-3 ISSN: 01406736
189. SMITH, A., GUTTERIDGE, I., ELLIOTT, D., CRONIN, M. Acute otitis media associated bilateral sudden hearing loss: case report and literature review. In: *J Laryngol Otol.* 2017, vol.131 (S2), pp.57-61. https://doi.org/10.1017/S0022215117000779. ISSN: 17485460.
190. SNOECKX, R.L, HASSAN, D.M, KAMAL, N.M., et al. Mutation analysis of the GJB2 (connexin 26) gene in Egypt In:. *Hum Mutat*. 2005, vol.26(1), pp.60-71. DOI: 10.1002/humu.9350.
191. SREEDHAR, D., SUBRAMANIAN, G., UDUPA, N. Combination drugs: are they rational? In: *Current Sci.* 2006, vol. 91, p. 406. ISSN: 00113891
192. SRIKANTH, S., ISAAC, R., REBEKAH, G., RUPA, V. Knowledge, attitudes and practices with respect to risk factors of otitis media in a rural South Indian community. In: *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2009, vol. 73(10), pp. 1394-1398. ISSN: 01655876. doi. 10.1016/j.ijporl.2009.06.024
193. STACHLER, R.J., CHANDRASEKHAR, S.S., ARCHER, S.M., et al. Clinical practice guideline: sudden hearing loss. In: *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012, vol. 146(3), pp.1-35. doi: 10.1177/0194599812436449. ISSN: 01945998.
194. TODIRAŞ, M., RUDIC, V., **PARII, S.,** GUDUMAC, V., RUSNA,C L., GOLOVIN, P., CHIRIA,C T., VALICA, V. Neamon-Hepa on Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Antioxidant properties. În: *Curierul Medical.* Chişinău, 2010, nr. 4, p. 3-6. ISSN 1875-0666

195. TRIPATHI, K.D. *Drugs and fixed dose combinations banned in India*. New Delhi: Jaypee Brothers; 2004. pp. 847–848. DOI: 10.5005/jp/books/12256

196. UMURIGE, A., LEE, S., KIM, D., CHOI, M. et al. Avenanthramide-C prevents noise- and drug-induced hearing loss while protecting auditory hair cells from oxidative stress. *Cell Death Discov.* 2019 vol.5, no.115. doi: 10.1038/s41420-019-0195-1.

197. UUS, K., BAMFORD, J.M., YOUNG, A.M., MCCRACKEN, WM. Readiness of paediatric audiology services for newborn hearing screening: findings and implications from the programme in England. In: *International Journal of Audiology*, 2005, vol. 44, pp. 712-720. ISSN: 14992027

198. VAN DE GRAAFF, K. *Human Anatomy.* Published by Mcgraw-Hill College, 2000, 370 p. ISSN: 1873-3573

199. VANCE, WARNOS, KCAREY J., et all. Genetics evaluation guidelines for the etiologic diagnosis of congenital hearing loss, *Genetics in Medicine*. 2002, vol. 4(3), pp. 162-171. DOI: 10.1097/00125817-200205000-00011.

200. VENEKAMP, R.P., SANDERS, S.L., GLASZIOU, P.P., DEL MAR, C.B., ROVERS, M.M. *Antibiotics for acute otitis media in children.* The Cochrane database of systematic reviews 2015, jun23 (6). DOI: 10.1002/14651858.CD000219.pub4. ISSN: 1469493X.

201. WAGNER, N., CAY-THOMASEN, P., LAURELL, G., et al. Cochlear hair cell loss in single-dose versus continuous round window administration of gentamicin. In: *Acta Otolaryngol*. 2005, vol. 125(4), pp.340 345. ISSN: 00016489.

202. WEIJL, N. I., ELSENDOORN, T. J., LENTJES, E. G., HOPMAN, G. D., WIPKINK-BAKKER, A., ZWINDERMAN, A. H., et al. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapyinduced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. In: *European Journal of Cancer*. 2004, vol. 40(11) pp. 1713-1723. DOI: 10.1016/j.ejca.2004.02.029

203. WILSON, BS., TUCCI, DL., MERSON, MH., O'DONOGHUE, GM. Global hearing health care: new findings and perspectives. In: *Lancet.* 2017, vol. 390 (10111), pp. 2503-2515 https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31073-5 ISSN: 1474547X

204. *World Health Organization.Factsheet №300 – Deafness and hearing loss* (updated March 2015), Disponibil: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs300/en/.

205. WU, BL., KENNA, M., LIP, V., IRONS, M., PLATT, O. Use of a multiplex PCR/sequencing strategy to detect both connexin 30 (GJB6) 342 kb deletion and connexin 26 (GJB2) mutations in cases of childhood deafness. In: *Am J Med Genet.* 2003, vol. 121, pp. A102-108. DOI: 10.1002/ajmg.a.20210

206. YANG, C.H., KO, M.T., PENG, J.P., HWANG, C.F. Zinc in the treatment of idiopatic sudden sensorineural hearing loss. In: *Laryngoscope*. 2011, vol. 121(3), pp. 617-621. ISSN: 0023852X.
207. YOSHINAGA-ITANO C. From Screening to Early Identification and Intervention: Discovering Predictors to Successful Outcomes for Children With Significant Hearing Loss. In: *Journal of Deaf Studies and Deaf Education*, 2003, vol. 8(1), pp. 11-30. DOI: 10.1093/deafed/8.1.11
208. ZHANG, Y., JIANG, Q., WU, X. et al. The Influence of Metabolic Syndrome on the Prognosis of Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss. In: *Otol Neurotol*. 2019, vol.40(8), pp. 994-997. doi: 10.1097/MAO.0000000000002352
209. АБДУЛКЕРИМОВ, Х.Т., БОБОШКО, М.Ю., ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А. и др. *Сенсоневральная тугоухость у взрослых*. Клинические рекомендации. Москва, 2016, 27 с. Disponibil:http://pro-audiologia.ru/categories/recommendations-and-standards/item/212-sensonevralnaya-tugoukhost-u-vzroslykh
210. АЗИЕВА, З.О. Сенсоневральная тугоухость с тоски зрения этиологии и патогенеза. В: *Кубанский научный медицинский вестник.* №2 (157) 2016, с. 161-164. ISSN 1680-6228
211. АФОНЬКИН, В.Ю., ДОБРЕЦОВ, К.Г., СИПКИН, А.В. Новая схема применения кавинтона в лечении хронической нейросенсорной тугоухости. В: *Вестник оториноларингологии.* 2009. № 6, с. 69-70. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
212. БАБИЯК,В.И., ПАЩИНИН А.Н., ТУЛКИН, В.Н. *Лабиринтные нарушения при сосудистых заболеваниях головного мозга.* Disponibil: http://pro-audiologia.ru/item/301-laburinth-breaches-under-a-vascular-disease-of-the-cerebrum (accesat 10.07.2019).
213. БАЗАРОВ, В.Г., РОЗКЛАДКА, А. И. Оценка нарушений слуха при различных формах тугоухости. В: *ЖУНГБ.* 1989, № 3. с. 28-33. ISSN 0044-4650.
214. БАРАШКОВ, Н.А. *Молекулярно-генетическое изучение наследственной несиндромальной сенсоневральной глухоты в Республике Саха.* Автореферат диссертации кандидата биологических наук. Уфа, 2007, 23 с.
215. БАРЫШНИКОВА, М.А., ЗАНГИЕА, М.Т., БАРЫШНИКОВ, А.Ю. Взаимодействие липидных нанокапсул с клеткой. В: *Российский биотерапевтический журнал.* №1/12, 2013, с. 11-15. ISSN: 1726-9794.
216. БОБОШКО, М.Ю., ГАРБАРУК, Е.С. МАРКОВА, Т.Г. и др. *Сенсоневральная тугоухость у детей*. Клинические рекомендации. Москва, 2016, 29 с. Disponibil:

http://pro-audiologia.ru/categories/recommendations-and-standards/item/211-sensonevralnaya-tugoukhost-u-detej

217. БОБОШКО, М.Ю., ЕФИМОВА, М.В., САВЕНКО, М.В. Современные аспекты диагностики ушного шума и его лечение у лиц пожилого возраста. В: *Вестник оториноларингологии.* 2011, № 3, с. 23-25. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
218. БОБОШКО, М.Ю., БЕРДНИКОВА, И.П., ГАРБАРУК, Е.С., САЛАХБЕКОВ, М.А., МАЛЬЦЕВА, Н.В. Влияние центральных слуховых расстройств на разборчивость речи при сенсоневральной тугоухости. В: *Вестник оториноларингологии.* 2018, № 3 83(2), с. 4-8. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
219. ВАЛИКА, В.В., **ПАРИЙ, С.Б.,** РУСНАК, Л.Г., УНГУРЯНУ, А.И., НИКОЛАЙ, Е.С, ТОДИРАШ, М.П. Результаты доклинических исследований нового комбинированного гепатопротектора Neamon-hepa. В: *Фармакологія та лікарська токсикологія.* Киев, Украина, 2014, № 1(37) с. 40-47. ISSN 2227-7943
220. ВАСИЛЬЕВ, В.Г. *Контроль качества лекарственных средств и объектов растительного происхождения методом спектроскопии ЯМР^{1}Н без использования стандартных образцов.* Автореферат диссертации кандидата химических наук. Москва, 2018, 30 с. Disponibil: https://www.sechenov.ru/upload/medialibrary/fdc/avtoreferat-gegechkori-pechat.pdf
221. ВЕСЕЛАГО, О. В. Алгоритмы диагностики и лечения шума в ушах. Нервные болезни. Москва, 2006, № 2, с. 9-16. ISSN 2226-0757.
222. ВИЧКАНОВА, С.А. Данные клинического исследования антимикробного растительного препарата Сангвиритрин. В: *Русский медицинский журнал.* 2012, №2, с. 75-80. ISSN 2225-2282; eISSN 1682-4024.
223. ВИЧКАНОВА, С.А., КОЛХИР, В.К., КРУТИКОВА, Н.М. и др. Сангвиритрин – представитель нового поколения препаратов антимикробного действия. В: *Труды ВИЛАР «Химия, Технология, медицина»*.М., 2000. с.300–309.
224. ГОЛОВАНОВА, Л.Е. Методика оценки эффективности слухопротезирования у людей пожилого возраста. В: *Российская оториноларингология*. 2006, №1, с. 56-60. ISSN 1810-4800.
225. ГУРОВ, А.В., ЛЕВИНА, Ю.В., ГУСЕВА, А.Л., ЕЛЧУЕВА, З.Г., ЕФИМОВА, С.П., ГОРДИЕНКО, М.В. Микробиологические и клинические особенности острого среднего отита. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, 83(1), с. 36-39. ISSN 0042-4668 https://doi.org/10.17116/otorino201883136-39. ISSN 0042-4668

226. ДЬЯКОНОВА, И. Н., РАХМАНОВА, И. В., ИШАНОВА, Ю.С., БУРМИСТРОВА, Д.С. Слуховая функция недоношенных детей после лечения ототоксическими антибиотиками. В: *Вестник оториноларингологии.* 2018, 83(2), с. 9-13. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
227. ЖУРАВСКИЙ, С.Г., ЛОПОТКО, А.И., ТОМПСОН, В.В., ЦЫВЛЕВА, И.Д. Общепатологические аспекты повреждения волосковых клеток спирального органа. В: *Архив патологии.* 2004. №1, с. 44-50. ISSN 0004-1955
228. ЖУРАВСКИЙ, С.Г. *Сенсоневральная тугоухость: молекулярно-генетические, структурные и лечебно-профилактические аспекты (клинико-экспериментальное исследование).* Автореферат диссертации доктора медицинских наук. СПб, 2006, 40 с.
229. ЗОЛОТОВА, Т.В. *Дифференциальный подход к лечению сенсоневральной тугоухости.* Автореферат диссертации доктора медицинских наук. Москва, 2004, 40 с.
230. КАРКИЩЕНКО, Н.Н. и соавт. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Москва. 2010, 358 с. ISBN 978-5-903950-10-2
231. КОВАЛЕВ, А.С., ВОЙНОВСКИЙ, А.Е., ИЛЬИН, В.А. и др. Применение перевязочных гелевых покрытий в лечении больных с ранами и поверхностными ожогами. В: *Материалы 1 международного конгресса "Раны и раневые инфекции"*. Москва, 2012, с. 188-189.
232. КОСЯКОВ, С.Я., МИНАВНИНА, Ю.В., ГУНЕНКОВ, А. В. Оценка качества жизни пациентов с различными формами хронического среднего отита. В: *Вестник оториноларингологии.* 2017, 82(5), с. 26-27. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
233. КУКЕС, В.Г. и соавт. *Новые продходы к оптимизации фармакотерапии некоторых заболеваний внутренних органов с позиции персонализированной медицины.* Монография. Москва, 2010, 168 с.
234. ЛАЛАЯНЦ, М.Р., МАРКОВА, Т.Г., БАХШИНЯН, В.В., БЛИЗНЕЦ, Е.А., ПОЛЯКОВ, А.В., ТАВАРТКИЛАДЗ,Е Г.А. Аудиологическая картина и распространенность GJB2-обусловленной сенсоневральной тугоухости среди младенцев с нарушением слуха. В: *Вестник оториноларингологии*. 2014, № 2, с. 37-43. ISSN 0042-4668.

235. ЛАПОЧКИНА, Н.П. Фармакокинетика. Суспенсия Фламена на здоровых добровольцах (фаза 1) и перспективы ее применения в онкологии. În: *Revista InfoMed*. Chișinău, 2016, nr. 2/1, p. 83-88. ISSN 1810 - 4800.
236. ЛАПОЧКИНА, Н.П., ДЖАЛАЛОВА, П.М. Опыт применения инновационного раневого покрытия Фламена при расхождении швов. В: *Материалы 1 международного конгресса "Раны и раневые инфекции"*. Москва, 2012, с. 188-189.
237. ЛОПОТКО, А.И., ПРИХОДЬКО, Е.А., МЕЛЬНИК, А.М. *Шум в ушах*. Монография. СПб, 2006, 278 с. ISBN 5-8469-0037-2.
238. МАРКОВА, Т.Г. Наследственные нарушения слуха. В кн.: *Оториноларингология/ Национальное руководство* / под ред. В.Т.Пальчуна В.Т. 2-е издание. – М.: Геотар, 2016. 1024 с. ISBN 978-5-9704-3746-9.
239. МАРКОВА, Т.Г., БЛИЗНЕЦ, Е.А., ПОЛЯКОВ, А.В., ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А. 20 лет изучения клинических проявлений GJB2-обусловленной тугоухости в России. В: *Вестник оториноларингологии.* 2018, № 83(4), с. 31-36. ISSN 0042-4668.
240. МАШКОВСКИЙ, М.Д. *Лекарственные средства. 16-ое издание.* Москва: Издательство Новая Волна. 2012, 1117 с. ISBN 978-5-7864-0303-0.
241. МОРОЗОВА, С.В., ШИБИНА, Л.М., ПОЛЯКОВА, Е.П. Шум в ушах как актуальная проблема практической медицины. В: *Вестник оториноларингологии*. 2015, № 80(5), с. 67-70. ISSN 0042-4668.
242. МОРОЗОВА, С.В., ШЕМПЕЛЕВА, Л.Э. Особенности психосоматического статуса у больных с вертеброгенными кохлеовестибулярными нарушениями. В: *Вестник оториноларингологии.* 2017, 82(1) с. 34-37. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
243. РУСНАК, Л.Г., ПАРИЙ, Б.И., **ПАРИЙ, С.Б.** Лекарственная аллергия-супрамолекулярные механизмы. В: *Материалы XVI Российский национальный конгресс „Человек и лекарство"*. Москва. 2009, с. 123.
244. САВЕНКО, И.В., БОБОШКО, М.Ю. Слуховая функция у детей, родившихся недоношенными. В: *Вестник оториноларингологии.* 2015, № 6, с. 71-76. ISSN 0042-4668.
245. СТАХОВСКАЯ, О.А. *Ототоксичность цисплатина и пути ее профилактики при лечении злокачественных опухолей у детей*: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2002. 25 с.
246. ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А. *Руководство по клинической аудиологии.* М., Изд. «Медицина», 2013, 674 с. ISBN 5-93189-023-8

247. ТАВАРТКИЛАДЗЕ, Г.А., МАРКОВА, Т.Г., ЧИБИСОВА, С.С., АЛЬШАРДЖАБ И ,И., ЦЫГАНКОВА, Е.Р. Российский и международный опыт реализации программ универсального аудиологического скрининга новорожденных. В: *Вестник оториноларингологии.* 2016, № 81(2), с. 7-12. https://doi.org/10.17116/otorino20168127-12. ISSN 0042-4668.
248. ТУФАТУЛИН, Г.Ш., БОБОШКО, М.Ю., АРТЮШКИН, С.А. Асимметричная сенсоневральная тугоухость во взрослой популяции. В: *Вестник оториноларингологии*. 2018, № 83(3), с. 20-24. https://doi.org/10.17116/otorino201883320. ISSN 0042-4668.
249. УМИНСКИЙ, А. А., ХАВСТЕЕН, Б. Х., БАКАНЕВА, Б. Ф. *Биохимия флавоноидов и их значение в медицине.* Монография. Пущино, 2007, 262 с. ISBN 978-5-903789-01-6
250. ФРАНЦУЗОВ, Б.Л., ФРАНЦУЗОВА, С.Б. *Лекарственная терапия уха, горла и носа.* Киев, 1988, 169 с. ISBN 5-311-00044-0
251. ХАБРИЕВ Р.У. и соавт. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Москва, 2005, 827 с. ISBN 5-225-04219-8
252. ЧАДХА, Ш. Глобальные действия при нарушениях слуха. В: *Вестник оториноларингологии.* 2018, № 83(4), с. 5-8. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
253. ШВЕЦ, В.И., КРАСНОПОЛЬСКИЙ, Ю.М. Липосомы в фармации. Продукты нанобиотехнологии. *Провизор* 2008; №3 стр. 18-24. Disponibil: http://www.provisor.com.ua/archive/2008/N03/lipos_308.php?part_code=62&art_code=6380
254. ЩЕРБАКОВ, Д.А., РАЕМГУЛОВ, Р.А., БУХАРОВА, К.П., ДЮКОВА, И.А. Эффективность интратимпанального введения метилпреднизолона и гентамицина при болезни Меньера. В:*Вестник оториноларингологии*. 2018, № 83(5), с. 17-20. https://doi.org/10.17116/otorino20188305117. ISSN 0042-4668; eISSN 2309-1274.
255. ЯБЛУЧАНСКИЙ, Н.И, САВЧЕНКО, В.Н, АБДУЕВА, Ф.М., БЫЧКОВА, О.Ю., БОНДАРЕНКО, И.А. *Терапевтическая фармакология.* Москва, 2011, 350 с. https://studfiles.net/preview/3893984/page:/
256. ЯКОВЛЕВ, Д.С. Новый антагонист 5-НТ3-рецепторов: изучение анксиолитических свойств. В: Д.С. Яковлев, Н.А. Колобродова, А.А. Спасов, В.А. Анисимова. В: *Биолог. осн-ы индивид. чувств. к псих-ным ср-вам* 2010. Приложение. с.76-77, 98.
257. ЯКОВЛЕВ, Д.С. Антитромботическая активность производного индола соединения sbt-119 на экспериментальных моделях тромбозов. В: Д.С. Яковлев, А.А. Спасов,

Т.М. Букатина, К.Ф. Суздалев. *Бюллетень экспериментальной фармакологии и медицины*. – 2014., Т.157., №7. с.6-63.

258. ЯКОВЛЕВ, С.В. Рациональная антимикробная терапия [Электронный ресурс]: руководство для практикующих врачей. под ред. С. В. Яковлева. - 2-е изд., перераб. и доп. М. : Литтерра, 2015. 1040 с. (Серия "Рациональная фармакотерапия".) - ISBN 978-5-4235-0171-6.
259. ЯНОВ, Ю. К., КУЗОВКОВ, В. Е., ЛЕВИН, С. В., КОРОЛЕВА И.В. Новые технологии в оториноларингологии: стволомозговая имплантация. В: *Русский медицинский журнал.*2017, №23, с. 1695-1698. ISSN 2225-2282

ANEXE

Anexa 1. Proprietăți fizico-chimice ale produsului medicamentos Flamena, emulsie orală

Descriere

Suspensie omogenă de culoare albă până la galbenă-pal, cu un ușor miros caracteristic. La păstrare, suspensia se stratifică şi la suprafaţă se formează un lichid supernatant, iar sub el – un sediment friabil de culoare albă până la galben-pal, care la agitare se mixează.

Dihidroquercetină

Denumirea chimică:

[2,3-dihidro-3,5,7-trihidroxi-2-(3,4-dihidroxifenil)-4H-1-benzopiran-4-OH]

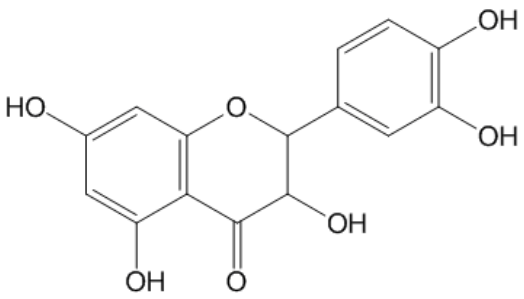


Figura A1.1. Formula de structură a dihidroquercetinei

Formula empirică:

$C_{15}H_{12}O_7$

Masa moleculară:

304,26

Glicină

Denumirea chimică:

Acidul 2 – aminoacetic

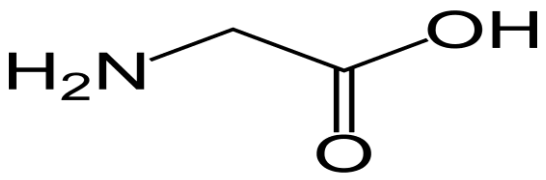


Figura A1.2. Formula de structură a dihidroquercetinei

Formula empirică: $C_2H_5N_1O_2$

Masa moleculară: 75,07

Fosfatidilcolină

Denumirea chimică: 1,2 – dihexadecanoil-sn-glicero-3-fosfocoline

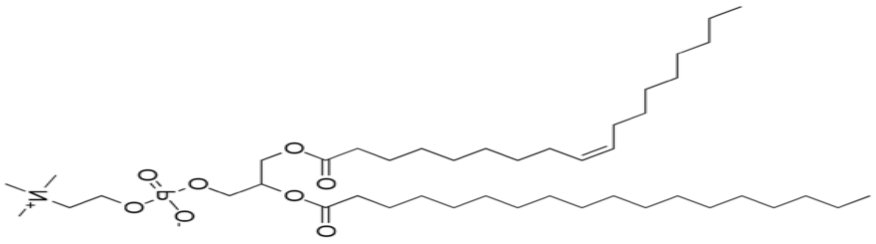


Figura A1.3. Formula de structură a lecitinei (fosfatidilcolinei)

Formula empirică: $C_{42}H_{82}NO_8P$

Masa moleculară: M = 329,1+R + R' (760,22)

Identificarea preparatului:

Dihidroquercetină:

1. Reacţie calitativă cu Zn în mediu acid. 2. Spectroscopie UV. 3. HPLC. 4. CSS.

Glicină:

1. Reacţie calitativă cu ninhidrină. 2. CSS.

Fosfatidilcolină:

1. Reacţie calitativă cu soluţie de bromură de cadmiu. 2. CSS.

Stabilitatea de sedimentare se determină vizual. pH-ul suspenziei se poate stabili potenţiometric. De asemenea se determină puritatea microbiologică a suspensiei.

Determinarea cantitativă:

Dihidroquercetină: HPLC, spectrofotometria UV (trebuie să constituie nu mai puţin de 0,1%).

Glicină: Spectrofotometria UV (trebuie să constituie nu mai puţin de 3%).

Fosfatidilcolină: HPLC (trebuie să constituie nu mai puţin de 1%).

S-a constatat: concentratul fosfolipidic (lecitina) este un sistem multi-component. Primul component caracterizează moleculele de triacilglicerol, care sunt regăsite sub formă de molecule individuale, cel de-al doilea – molecula triacilglicerol, sub formă asociată – dimeri, al treilea – moleculele fosfolipidice sub formă de asociaţii de fosfolipide de grad înalt, iar al patrulea – moleculele fosfolipidice sub formă de micelii, într-o compoziţie ce conţine zece molecule de fosfolipide. Deoarece lecitina, la separarea cromatografică, se manifestă în mai multe vârfuri de componente individuale, pentru a determina conţinutul său a fost ales vârful principal al fosfatidilcolinei, a cărui fracţiune de masă în lecitină constituie aproximativ 73%.

Conţinutul total de fosfor: Spectrofotometria UV (trebuie să constituie nu mai puţin de 1%).

Anexa 2. Rezumatul caracteristicilor produsului (RCP), certificatul de înregistrare și ambalajul preparatului medicamentos Flamena, emulsie orală

1. DENUMIREA COMERCIALĂ A MEDICAMENTULUI
FLAMENA, 150 mg/6 mg/5 ml, emulsie

2. COMPOZIŢIA CALITATIVĂ ŞI CANTITATIVĂ
5 ml emulsie conține:

substanțe active: glicină – 150 mg, dihidroquercetină – 6 mg. Pentru lista tuturor excipienților, vezi pct. 6.1.

3. FORMA FARMACEUTICĂ
Emulsie. Emulsie omogenă de culoare albă până la galben-deschis, cu miros caracteristic uşor.

La stocare se separă un strat de lichid şi unul de sediment de coloare albă până la galben, iar la agitare intensă se omogenizează.

4. DATE CLINICE
4.1 Indicaţii terapeutice
Datorită proprietăţilor detoxifiante şi acţiunii citoprotectoare, este recomandat pentru ameliorarea sindromului de intoxicaţie de diferită geneză, inclusiv în combustii, hepatite toxice, colecistite, colestază de diversă etiologie, în terapia complexă a diareei, enterocolitei și disbacteriozei intestinale. Compoziţia preparatului permite utilizarea eficientă a acestuia în stimularea procesului regenerativ al patologiilor eroziv-ulceroase, inclusiv în leziunile esofagului, stomacului, duodenului. Efectele nootrop și antioxidant permit utilizarea preparatului în: tratamentul complex al intoxicației de etiologie exogenă (alcool, săruri de metale grele, stupefiante); neurite, encefalopatii discirculatorii, hipoacuzie neurosenzorială, acufene; afecțiunile sistemului cardiovascular.

Produsul poate fi utilizat în tratamentul afecțiunilor dermatologice (neurodermatite, diateze) și cele sistemice ale țesutului conjunctiv (lupus eritematos sistemic, sclerodermia sistemică, artrita reumatoidă), procese septice complicate cu intoxicație; neutralizarea efectelor toxice ale terapiei cu citostatice și radioterapiei în afecțiunile oncologice.

Produsul se indică în cadrul terapiei complexe în insuficiența fetoplacentară și gestoza gravidelor.

4.2 Doze şi mod de administrare
Doza pentru administrare zilnică - 20 ml de trei ori pe zi, cu 30 min. înainte de mese.
Durata tratamentului constituie 28 de zile. *Mod de administrare*

Produsul Flamena este disponibil sub formă de emulsie, în flacoane a câte 100 ml. A se agita energic înainte de utilizare!

4.3 Contraindicaţii
Hipersensibilitate la substanțele active sau la oricare dintre excipienții enumerați la pct. 6.1. În caz de hipersensibilitate individuală la preparate, se pot manifesta reacţii alergice, urticarie, greaţă sau prurit. În acest caz, administrarea preparatului este sistată.

Siguranţa şi eficacitatea la copii nu au fost stabilite, de aceea utilizarea preparatului la copii este contraindicată.

4.4 Atenţionări şi precauţii speciale pentru utilizare

Preparatul trebuie prescris cu precauţie în cazul prezenţei afecţiunilor ce predispun la dezvoltarea acidozei şi/sau hiperkaliemiei.

4.5 Interacţiuni cu alte medicamente şi alte forme de interacţiune

La respectarea dozei şi condiţiei că preparatul şi medicamentele concomitente se administrează separat în timp, produsul poate fi utilizat în terapia complexă cu alte preparate pentru profilaxie şi tratament, precum şi cu lacto-, bifidumbacterii, preparate adaptogene, fitopreparate.

4.6 Fertilitatea, sarcina și alăptarea

Se permite administrarea preparatului în timpul sarcinii, conform indicațiilor.

Preparatul este contraindicat în perioada de alăptare.

4.7 Efecte asupra capacităţii de a conduce vehicule şi de a folosi utilaje

Preparatul nu manifestă efecte care influenţează conducerea vehiculelor şi folosirea utilajelor.

4.8 Reacţii adverse

Frecvenţa reacţiilor adverse este determinată în următorul mod, conform convenției MedDRA: frecvente (>1/100, <1/10), mai puțin frecvente (>1/1000, <1/100), rare (>1/10 000, <1/1000), foarte rare (<1/10 000).

Până în prezent nu au fost observate reacţii adverse asociate cu utilizarea preparatului Flamena. În caz de hipersensibilitate individuală la preparate, se pot manifesta reacţii alergice, urticarie, greaţă sau prurit.

Raportarea reacţiilor adverse suspectate

Raportarea reacţiilor adverse suspectate după autorizarea medicamentului este importantă. Aceasta permite monitorizarea în continuare a raportului beneficiu/risc al medicamentului. Profesioniştii din domeniul sănătăţii sunt rugaţi să raporteze orice reacţii adverse suspectate, prin intermediul sistemului naţional de raportare, disponibil pe site-ul oficial al Agenţiei Medicamentului şi Dispozitivelor Medicale la următoarea adresă web: www.amed.md sau e-mail: farmacovigilenta@amed.md.

4.9 Supradozaj

Cazuri de supradozaj nu se cunosc.

5. PROPRIETĂŢI FARMACOLOGICE

5.1 Proprietăţi farmacodinamice

Grupa farmacoterapeutică: Alte produse terapeutice. Antitoxice în tratamentul citostatic.

Codul ATC: V03A F.

Mecanism de acţiune

Preparatul este original prin faptul că la bază are un complex liposomal antioxidant-fosfolipidic, datorită căruia medicamentul posedă proprietăţi biologice unice. Acest produs medicamentos are o acţiune antihipoxică pronunţată, creşte viteza difuziei oxigenului în ţesuturi, normalizează procesele respiraţiei tisulare, îmbunătăţeşte activitatea funcţională a celulelor endoteliale, contribuind la o ameliorare semnificativă a microcirculaţiei şi parametrilor reologici.

Efecte farmacodinamice

Aminoacidul glicina (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor şi reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos central, reduce tensiunea psiho-emoţională, creşte capacitatea de muncă intelectuală. Manifestă acţiune neuroprotectoare, antistres, sedativă,

ameliorează metabolismul cerebral, normalizează somnul, reduce acţiunea toxică a alcoolului, are un efect de normalizare asupra proprietăţilor reologice ale sângelui şi microcirculaţiei. Nu provoacă dependenţă.

Dihidroquercetina, fiind unul dintre cei mai puternici antioxidanţi naturali, asigură nu numai stabilitatea formei tridimensionale a complexului, ci şi neutralizează efectele nocive ale radicalilor liberi, posedă acţiune antitoxică; îmbunătăţeşte performanţa capilarelor şi restabileşte microcirculaţia sângelui. Acţiunea complexă a preparatului asigură normalizarea nivelului de secreţie a mediatorilor imunităţii şi creează condiţii pentru un răspuns imun eficace.

Lecitina este o fosfolipidă şi participă la constituirea membranelor celulare la nivelul creierului şi celulelor nervoase. În cazul deficitului de lecitină, scade eficienţa acetilcolinei în ţesutul nervos. Lecitina participă la restabilirea activităţii funcţionale a celulelor endoteliale, la sinteza şi eliberarea factorului de relaxare endotelial, îmbunătăţeşte microcirculaţia şi proprietăţile reologice ale sângelui. Lecitina inhibă procesele de peroxidare a lipidelor în sânge şi ţesuturi, susţine activitatea sistemelor antioxidante ale organismului, manifestă acţiune membrano-protectoare, creşte imunitatea nespecifică.

Eficacitate şi siguranţă clinică

Studiul clinic a fost efectuat cu scopul demonstrării proprietăţilor citoprotectoare ale emulsiei orale Flamena, 100 ml, la pacientele cu cancer mamar şi cancerul organelor reproductive, supuse chimio- şi radioterapiei. Cercetarea a demonstrate că sindromul astenovegetativ s-a diminuat în grupurile de cercetare cu 40% în grupul bolnavelor cu CGM (cancerul glandei mamare) şi cu 20% în grupul bolnavelor cu CORF (cancerul organelor reproductive la femei). În grupurile de control cu 5 şi, respectiv, cu 5% ($p < 0,05$).

Sindromul dispeptic s-a determinat cu 15% mai mic în grupul bolnavelor cu CGM şi cu 5% în grupul cu CORF. În grupul de control, corespunde diminuării cu 5% la bolnavele cu CGM şi stabilit în grupul CORF ($p < 0,05$).

Sindromul dolor de asemenea a avut o evoluție diferită - diminuare cu 10% în grupul de cercetare a bolnavilor cu CGM şi 10% în grupul bolnavelor cu CORF. În grupul de control nu s-a atestat nicio dinamică ($p < 0,05$). Hemoragia a diminuat în grupurile de studio, iar în cele de control – fără schimbări semnificative.

Administrarea preparatului Flamena, 100 ml, la bolnavii oncologici de profil mamologic şi oncoginecologic, a înregistrat acțiuni benefice – s-a îmbunătățit starea generală a bolnavelor, a crescut pofta de mâncare, s-a majorat masa corporală cu $1,8 \pm 0,2$ kg ($p < 0,05$), statutul psihoemoțional al bolnavelor, atestându-se diminuarea sindromului astenovegetativ cu 30%, a sindromului dispeptic la 10%, diminuarea sindromului dolor.

Preparatul Flamena, 100 ml, dispune de proprietăți dezintoxicante evidențiate prin micșorarea bilirubinei totale cu $1,1 \pm 0,3$ ($p < 0,05$), îmbunătățirea indicilor sistemului de peroxidare a lipidelor glutationperoxidaza cu $1,1 \pm 0,02$, catalaza cu $2,05 \pm 0,07$, ceruloplasmina cu $53,3 \pm 1,2$, dialdehida malonică - $0,7 \pm 0,04$.

Preparatul medicamentos Flamena, emulsie, 100 ml, a avut o acțiune specifică imunomodulatoare, manifestată prin ameliorarea şi ridicarea indicilor imunologici chiar care inițial au fost denaturați, ce argumentează administrarea în combinație şi de sine stătător cu preparatele citostatice, chimioterapeutice şi a radioterapiei în calitate de imunomodulator specific.

5.2 Proprietăţi farmacocinetice

În cadrul studiului clinic desfăşurat cu scopul determinării proprietăților farmacocinetice ale preparatului Flamena, s-a constatat că timpul de înjumătățire a dihidroquercetinei constituie 0,94-1,2 ore. Timpul mediu de menținere a substanței în organism este de 2,15-3,11 ore, iar timpul în care se atinge concentrația plasmatică maximă (T_{max}) este de 0,7-1,2 ore, independent de doza administrată. Concentrația plasmatică maximă (C_{max}) a crescut de la 0,056 mcg/ml pentru doza unică de 25 ml, până la 0,245 mcg/ml pentru doza de 100 ml. Pe măsura creşterii de două ori a dozei

unice de administrare a preparatului de la 25 ml la 50 ml şi de la 50 ml la 100 ml, AUC pentru dihidroquercetină a crescut de 1,80 şi, respectiv, de 1,94 de ori.

5.3 Date preclinice de siguranţă

Rezultatele experimentale au demonstrate faptul că preparatul Flamena, la administrarea unimomentană la animalele de laborator, practic, nu prezintă niciun efect toxic. Administrarea intragastrală şi cea intraperitoneală nu au provocat decesul animalelor şi modificări macroscopice ale organelor interne.

După examinarea toxicității subcronice a produsului Flamena, s-a constatat că pe parcursul utilizării timp de 30 de zile s-a atestat o creştere ponderală mai importantă la animalele din grupurile-martor, fără modificări esențiale ale masei corporale şi masei organelor interne, reflectate prin indicele masă organ/masă corp în cazul cordului, pulmonilor, ficatului, rinichilor, splinei.

Utilizarea sistematică timp de o lună a preparatului sub formă de suspensie la grupul-martor şi grupurile studiate nu au modificat esențial parametrii metabolismelor glucidic, proteic şi lipidic, deşi s-a constatat o creştere nesemnificativă a nivelului proteinei totale şi a colesterolului, care avea caracter dozo-dependent.

Analiza spectrului enzimatic a relevat o micşorare dozo-dependentă a activității transaminazelor. Administrarea timp de o lună a preparatului testat în doze de 100 şi 1000 mg/kg a determinat efectul antioxidant al compuşilor.

6. PROPRIETĂȚI FARMACEUTICE

6.1 Lista excipienţilor

Lecitină din
nou Apă
purificată

6.2 Incompatibilităţi. Nu este cazul.

6.3 Perioada de valabilitate

24 de luni. Perioada de valabilitate după deschiderea flaconului - şapte zile.

6.4 Precauţii speciale pentru păstrare

A se păstra la frigider (2-8 °C).

A se păstra în ambalajul original, pentru a fi protejat de lumină şi umiditate. A se utiliza cel mult şapte zile după prima deschidere a flaconului.

6.5 Natura şi conţinutul ambalajului

Cutie cu 1 flacon din sticlă de culoare brună, cu capacitatea de 100 ml, o linguriță dozatoare gradate, cu volumul de 5 ml, şi prospectul pentru utilizator.

6.6 Precauţii speciale pentru eliminarea reziduurilor

Fără cerinţe speciale.

7. DEȚINĂTORUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE

SRL „STANDARD”, str. Gagarin, nr. 2, or. Reutov, Rusia

8. NUMĂRUL CERTIFICATULUI DE ÎNREGISTRARE – nr. 23972
9. DATA AUTORIZĂRII - 16.11.2017
10. DATA REVIZUIRII TEXTULUI – aprilie 2018.

Informaţii detaliate privind acest medicament sunt disponibile pe site-ul Agenţiei Medicamentului şi Dispozitivelor Medicale (AMDM) http://nomenclator.amed.md/

AGENȚIA MEDICAMENTULUI ȘI DISPOZITIVELOR MEDICALE

GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA

CERTIFICAT
DE ÎNREGISTRARE A MEDICAMENTULUI
MARKETING AUTHORIZATION OF MEDICINAL PRODUCT

în baza ordinului MS RM (nr. 866 din 16 noiembrie 2017)
in accordance with order of MoH RM (nr. 866 from November 16, 2017)

se decide autorizarea produsului:
has been decided the registration of product:

Denumire comercială: Flamena
Name:

Formă farmaceutică, doză, mărimea ambalajului: emulsie orală 150 mg + 6 mg/5 ml 100 ml N1
Dosage form, strength and package size:

Compoziţia: 5 ml conţine
Composition: substanţe active: glicină 150 mg, Dihidroquercetină 6 mg.
excipienţi: anexa 1

Deţinător al Certificatului de Înregistrare: Standart SRL, Rusia
Marketing Autorization Holder:

Producător: Î.C.S. Eurofarmaco S.A., Republica Moldova
Manufacturer:

Clasificare ATC: V03AF
ATC classification:

Termen de valabilitate: 24 luni
Shelf life:

Număr de înregistrare, data emiterei: 23972 din 16 noiembrie 2017
Registration number and date of issue:

Rezumatul caracteristicilor produsului şi prospect anexa 1
Summary of the product and patient information leaflet

sau

Instrucţiunea pentru administrare
Instructions for administration

Informaţii privind etichetarea anexa 2
Information on the labeling

Parametrii de calitate ai produsului sunt cei prevăzuţi în documentaţia care a stat la baza eliberării prezentului Certificat de Înregistrare. Orice modificare a datelor specificate în Certificatul de Înregistrare sau în documentaţia de autorizare trebuie raportată şi aprobată de Agenţia Medicamentului şi Dispozitivelor Medicale. Prezentul Certificat de Înregistrare are o valabilitate de 5 ani de la data emiterii şi nu condiţionează importul.

The quality of the product is that which is stipulated by the documentations which were the basis for giving this particular Marketing Authorization. Any modification of the data stipulated by the Marketing Authorization or documentation must be reported to the Medicines and Medical Divice Agency and have its approval. The Marketing Authorization is valid for 5 years after emission and doesn't guarantee the import of the medicinal product.

Director general **Vladislav Zara**

Figura A 2.1. Certificatul de înregistrare a produsului Flamena, emulsie

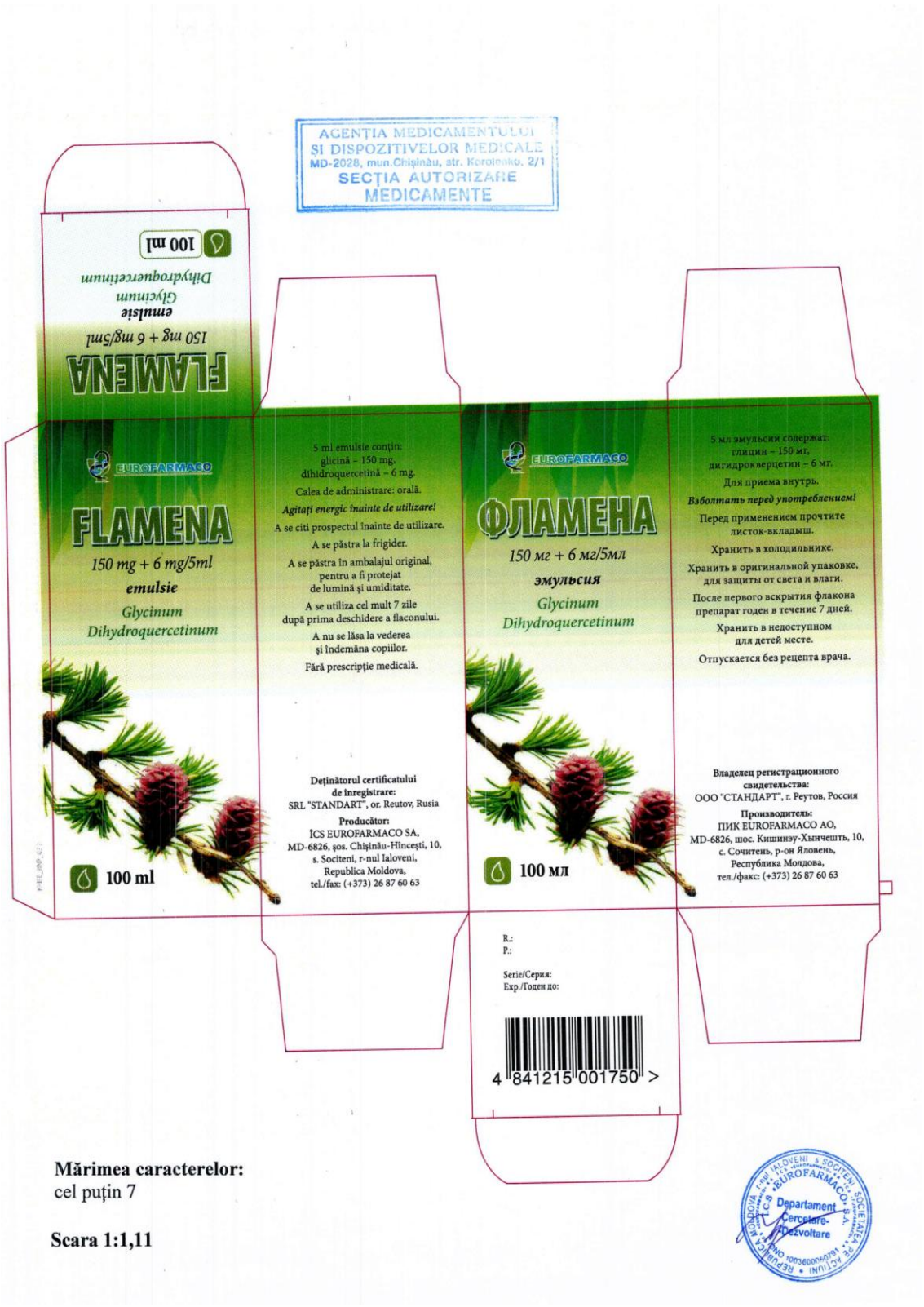


Figura A2.2. Ambalajul secundar al produsului Flamena, emulsie

Anexa 3. Metode de elaborare și raportul încercărilor de laborator ale produsului Merion

Procesul tehnologic de obținere a produsului „Siropul nutrițional administrat în scopul curativo-profilactic al maladiilor oncologice" – MERION, include următoarele etape:

1. Obținerea mixului:

substanţele active cântărite se trec în reactor-malaxor și se amestecă timp de 10 min.

2. Obținerea siropului:

dizolvarea sorbitolului, sorbatului de potasiu în extract.

Extractul filtrat în reactor-malaxor se încălzește până la temperatura 55-65ºC, se încarcă pe rând (cu malaxorul conectat) sorbitolul și sorbatul de potasiu.

Se amestecă până la dizolvarea completă. Indicele de refracție trebuie să fie 1,4486-1,4532. Siropul se dă în aparatul cu vapori - vacuum.

a) obținerea siropului propriu-zis.

Pasteurizarea se face în aparatul cu vapori - vacuum, timp de cel puțin 20 de minute, la temperatura 98-100ºC.

c) adăugarea mixului

Mixul obținut se adaugă în reactor, se amestecă timp de 20-30 de minute și se efectuează controlul fizico-chimic al produsului finit.

3. Condiționarea siropului. Siropul se condiționează în flacoane din polietilen tereftalat cu volumul de 100, 200, 250 ml și se etanșează cu dopuri din polietilenă.

4. Ambalarea și transportarea. Pe flacon se aplică eticheta, pe care se tipărește instrucțiunea de administrare. Fiecare flacon se plasează în cutia individuală din carton.

Cutiile individuale se plasează în cutii colective, înzestrate cu pereți despărțitori din carton gofrat sau în peliculă termoizolatoare. Se permite ambalarea flacoanelor fără plasarea în cutia individuală. Termenul de valabilitate – 3 ani.

Compoziția produsului Merion este prezentată în tabelul A3.1. Caracteristicile organoleptice și parametrii fizico-chimici ai suplimentelor alimentare sub formă de sirop trebuie să corespundă tabelului A3.2.

Tabelul A3.1. Compoziția produsului Merion, suspensie

DENUMIREA		Unitatea de măsură	Doza
Vitamina A -	retinol	µg 0.0008%	800 (0,8 mg)
Vitamina D -	ergocalicferol	µg 0.000005%	5 (0,005)
Vitamina E	acetat de DL-alfa-tocoferil	mg 0.001%	10
Vitamina C	acid L-ascorbic	mg 0.1%	100
Tiamina –	colrhidrat de tiamina	mg 0.0035%	3
Riboflavina	riboflavin-5-phosphat de sodiu	Mg 0.0036%	3,6
Niacină –	niacinamid	mg 0.04%	40
Vitamina B_6	clorhidrat de piridoxina	mg 0.002%	2
Acid folic -		µg 0.0002%	200 (0,2)
Vitamina B_{12}	ciancobolamina	µg 0.000003%	3 (0,003)
Biotină	D-biotina	µg 0.00006%	60
Acid pantotenic	D- phantotenat de calciu	mg 0.0015%	15
Magneziu	sulfat de magneziu	mg 0.375%	375
Cupru	sulfat de cupru	Mg 0.001%	1
Seleniu - ...		µg 0.000055%	55 (0,055)
Crom – clorura de crom (III)		µg 0.00004	40 (0,040)
Nanoparticole Zn+++		Mg 0.004%	4,0/24h

Tabelul A3.2. Caracteristici organoleptice Merion

Caracteristici	Criterii de acceptare pentru suplimentele alimentare sub formă de sirop	Metode de analiză
Descriere	Lichid vâscos, netransparent. Pe parcursul păstrării se admite apariția unui precipitat neesențial	Organoleptic
Culoarea	De culoare galbenă-deschis până la galbenă- închis.	Vizual
Miros și gust	Dulce, cu miros caracteristic vitaminelor.	Idem sau GOST 1936
Uniformitate volum, ml Flacon 100 ml -volumul individual -volumul mediu	 Cel puțin 98 ml și cel mult 102 ml Cel puțin 100 ml	Conform p.8.2.3
Uniformitatea masei unei doze	Cel mult ±10% de la masa medie. Pentru două doze din 20 se admite abaterea cel mult ±20%	Conform p.8.2.4

Metode de testări farmaceutice ale produsului Merion

Cerinţe generale Asigurarea metrologică a încercărilor, conform SM 8-23:2005 „Sistemul Naţional de Metrologie. Asigurarea metrologică a încercărilor produselor în scopul asigurării conformităţii. Principii generale".

Mijloacele de măsurare folosite pentru efectuarea încercărilor trebuie să fie verificate metrologic în conformitate cu RGML 12:2013 „Verificarea metrologică a mijloacelor de măsurare. Organizarea şi modul de efectuare", iar utilajul de încercări trebuie să fie atestat în conformitate cu SM 8-21.

8.1.2 Prelevarea probelor conform GOST 15113.0, pregătirea probelor pentru determinarea elementelor toxice conform GOST 26929, metodele de prelevare a probelor pentru analizele microbiologice conform GOST 26668 pregătirea probelor conform GOST 26669.

8.2. Efectuarea încercărilor

8.2.1. Determinarea caracteristicilor organoleptice se efectuează prin examinare vizuală şi organoleptic.

8.2.2. Determinarea fracţiei masice de umiditate conform GOST 15113.4.

8.2.3. Determinarea uniformităţii volumului conform metodei:

De la fiecare serie de produs se prelevează câte zece flacoane.

Se înlătură eticheta, apoi flaconul se cântăreşte cu precizia 0,01 g. Flaconul se eliberează de conţinut, se spală cu apă fierbinte, se înlătură rămăşiţele de apă prin prelucrare consecutivă cu *etanol (96 %) R* şi *eter R*, se etanşează cu capacul şi din nou se cântăreşte.

Masa conţinutului flaconului se determină prin diferenţa dintre masa flaconului cu conţinut şi masa flaconului gol.

Volumul conţinutului flaconului (V), în mililitri, se calculează conform formulei:

$$V = \frac{m}{d_{20}^{20}}, unde$$

m – masa conţinutului falconului, în grame;

d_{20}^{20} – densitatea relativă.

Determinarea se repetă pe încă nouă flacoane şi se calculează volumul mediu al conţinutului flaconului.

Volumul individual al conţinutului flaconului trebuie să fie cel puţin 98 ml şi cel mult 102 ml.

Volumul mediu al conţinutului flaconului trebuie să fie cel puţin 100 ml respectiv cu volumul declarat pe ambalaj.

8.2.4. Determinarea uniformității masei unei doze conform metodei: 20 de doze a câte 5 ml prelevate cu dispozitivul de măsurat, se cântăresc individual cu exactitatea 0,001 g şi se calculează masa medie.

Abaterea procentuală a masei individuale, faţă de masa medie, nu trebuie să depăşească ±10 %, cu excepţia a două doze, la care se admite abaterea cel mult ± 20 %.

8.2.5. Determinarea substanţelor de bază se efectuează conform Specificaţiei pentru produs în laboratoare acreditate. Verificarea conţinutului substanţelor de bază în flacon se efectuează la şarjarea de referinţă şi se garantează de întreprinderea producătoare.

8.2.6. Determinarea conţinutului de elemente toxice:

−mercur, conform GOST 26927 sau MU 5178;

−plumb, conform GOST 26932 sau GOST 30178, sau GOST 30538;

−cadmiu, conform GOST 26933 sau GOST 30178, sau GOST 30538;

−arsen, conform GOST 26930 sau GOST 30538.

8.2.7. Determinarea caracteristicilor microbiologice:

−cantitatea de microorganisme mezofile aerobe şi facultativ anaerobe, conform GOST 10444.15;

−drojdii şi filamente de mucegai, conform GOST 10444.12;

−Bacillus cereus, conform GOST 10444.8;

−Staphylococcus aureus, conform GOST 10444.2;

−bacterii coliforme, conform GOST 30518;

−bacterii de genul Salmonella, conform GOST 30519;

−bacterii E.coli, conform GOST 30726.

8.3. Verificarea stării ambalării şi etichetării se efectuează prin examinare vizuală. În cadrul verificării defectate se consideră unitatea de ambalaj cu unul din următoarele defecte:

- deteriorarea mecanică a ambalajului;
- denaturarea textului pe etichetă;
- necorespunderea textului cerinţelor prezentelor prescripţii tehnice.

Nu se admite recepţia suplimentelor cu ambalajul defectat, neetichetat sau etichetat.

Conținutul de elemente toxice în suplimente alimentare nu depășește limitele admisibile stabilite conform Hotărârii Guvernului al Republicii Moldova „Cu privire la aprobarea Regulamentului sanitar privind contaminanții din produsele alimentare” nr. 520 din 22.06.2010 și Normele fundamentale de radioprotecție. Cerințe și reguli igienice (NFRP-2000) din 27.02.2001 sau să corespundă normelor stabilite conform «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.1078-01», specificate în tabelul *A3.3*.

Norme de conținut pentru suplimente alimentare **Tabelul A 3.3**

Denumirea	**Caracteristici**	**Limitele de admisibilitate, mg/kg, max.**
Suplimente alimentare pe bază de vitamine și minerale	Elemente toxice:	
	Plumb	5,0
	Arsen	3,0
	Cadmiu	1,0
	Mercur	1,0
	Pesticide*:	
	Hexaclorociclohexan	0,1
	DDT și metaboliți	0,1
	Heptaclor	Nu se admite
	Aldrin	Nu se admite
	Radionucleizi:	
	Ceziu-137	200
	Stronciu-90	100

Caracteristicile microbiologice ale suplimentelor alimentare trebuie să corespundă normelor stabilite conform «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.1078-01» sau indicilor stabilite în Regulile privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare, aprobate prin Hotărârea de Guvern nr. 221 din 16.03.2009; Regulile de igienă a produselor alimentare, aprobate prin Hotărârea de Guvern nr. 412 din 25.05.2010 și specificate în tabelul A3.4.

Tabelul A3.4.

Caracteristici microbiologice

Caracteristici microbiologice	**Limite admise**	**Metoda de analiză**
Numărul de microorganisme aerobe și facultativ-anaerobe, UFC/g, max.	$5*10^4$	GOST 10444.15 GOST 10444.8
Drojdii și mucegai	Cel mult 100 UFC/g	GOST 10444.12
Masa produsului (g), în care nu se admite		
Bacterii coliforme	0,1	GOST 10444.8
E.coli	1,0	GOST 30726
Patogene, Salmonella	10,0	GOST 30519

II. Cercetările microbiologice:
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Mostra a sosit 15 ora 40 min 15 09 2015
Образец поступил час мин

Codul 4876.5.1.1.15
Код

Nr. de înregistrare 507 în registru Nr 507 Procesului – verbal din 22.09.2015
Регистрационный в журнале №. протокола испытаний

	2	3	4	5	6
1.	NGMAFA	< $1x10^2$ UFC/g		1 x 10^6 UFC/g	GOST 10444.15-94
2.	Levuri, micete	< 10 UFC/g		$1x10^2$ UFC/g	GOST 10444.12-88
3.	F.enterobacteriacea	< 3 UFC/g		1 x 10^1 UFC/g	SM SR ISO 21528:1
4.	Salmonela	In 25.0g - absent		In 25.0g - absent	SM EN ISO 6579
5.	E.coli	In 10.0g - absent		In 10.0g - absent	SM ISO 7251:2014
6	Micete, levuri	< $1x10^2$ UFC/g		1 x 10^2 UFC/g	GOST 10444.12-88
7.	S.aureus	In 1.0g - absent		In 1.0g - absent	GOST 10444.2-94

N.P, funcţia persoanei responsabile de oformarea raportului medic igienist Jana Oloinic
Ф.И.О. должность лица ответственного за оформление данного протокола

Concluzie
Заключение
Proba investigată corespunde Regulilor privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare aprobat prin HG nr. 221 din 16.03.2009, Regulamentului Sanitar privind contaminanţii din produsele alimentare aprobat prin HG nr.520 din 22.06.2010, specificaţii tehnice

Amendamente:
-Rezultatul se referă numai la proba analizată. Este strict interzisă reproducerea parţială a rezultatului.
Примечание: Результат распространяется только на анализируемую пробу. Частичное воспрозведение результата строго запрещено.

*- Parametrii cercetaţi nu sunt inclusi în Domeniul de acreditare CÎL aprobat MOLDAC
*- Определяемые показатели не включены в Область акредитации ИЛЦ MOLDAC

Nume, prenume, funcţia vicedirector Radu Cojocaru semnătura
Ф.И.О., должность

MINISTERUL SĂNĂTĂŢII AL REPUBLICII MOLDOVA
CENTRUL NAŢIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ
IDNO 1007601001123
MD-2028, mun. Chişinău, str. ASACHI, 67A

Figura A 3.1. Raportul încercărilor de laborator ale produsului Merion

Anexa 4. Prospectul de administrare, ambalajul şi avizul sanitar pentru materia primă MERION Supliment alimentar

„MERION®" suspensie
Complex de vitamine şi minerale
Un mililitru de suspensie conţine:
Magneziu – 3,75 mg, vitamina C – 1,0 mg, niacină – 0,4 mg, acid pantotenic– 0,15 mg, vitamina E – 0,1 mg, zinc – 0,04 mg, vitamina B2 – 0,036 mg, vitamina B1 – 0,03 mg, vitamina B6 – 0,02mg, cupru – 0,01 mg, vitamina A – 8,0 mkg, acid folic – 2,0 mkg, biotină – 6,0 mkg, seleniu – 0,55 mkg, crom – 0,4 mkg, vitamina D3 – 0,05 mkg, vitamina B12 – 0,03 mkg.
Alte ingrediente: lactoză monohidrat până la 100,00 ml.
* DZR ─ procent din doza zilnică recomandată
Acţiune:
Supliment alimentar **MERION®** prezintă un complex de vitamine şi minerale, care sunt necesare pentru funcţionarea normală a sistemelor şi organelor organismului uman. Datorită prezenţei în complex a vitaminelor A şi C, are un rol important în protejarea celulelor împotriva stresului oxidativ, metabolismul normal al fierului.
Cuprul, vitamina B2 şi acidul pantotenic contribuie la funcţionarea normală a sistemului imunitar şi a metabolismului energetic normal.
Biotina şi cromul contribuie la metabolismul normal al macronutrienţilor şi la menţinerea concentraţiilor normale ale glucozei din sânge.
Magneziul şi vitamina D contribuie la reducerea oboselii şi extenuării şi la funcţionarea normală a sistemului muscular.
Seleniu contribuie la menţinerea sănătăţii părului, unghiilor şi funcţionarea normală a glandei tiroide.
Vitamina B6 contribuie la sinteza normală a cisteinei şi metabolismul normal al proteinelor şi al glicogenilor.
Zincul contribuie la metabolismul normal al carbohidraţilor, acizilor graşi şi macronutrienţilor, la funcţia cognitivă normală, la sinteza normală a proteinelor.
Mod de administrare: intern.
A se agită înainte de întrebuinţare.
Se administrează câte 10 ml de două ori pe zi.
* DZR reieşind din doza de administrare este:
vitamina B1 – 54,5%, vitamina B2 – 51,4%, acid pantotenic – 50%, niacină – 50%, vitamina B6 – 28,6%, vitamina C – 25%, biotină – 24%, vitamina B12 – 24%.
Forma de prezentare:
Flacon din sticlă sau plastic de culoare brună, cu căpăcele din plastic, câte 100 ml de suspensie.
Menţiuni:
Acest produs este un supliment alimentar.
Suplimentele alimentare nu trebuie să înlocuiască un regim alimentar variat şi echilibrat.
A nu se depăşi doza zilnică recomandată.
Ca îndulcitor, conţine lactoză monohidrat. Nu se recomandă persoanelor cu intoleranţă la lactoză.
Consumul excesiv poate avea efecte laxative.
A se păstra la temperaturi sub 25°C, în ambalaj original.
A se consuma de preferinţă până la sfârşitul perioadei de valabilitate, inscripţionate pe ambalaj.

A nu se lăsa la îndemâna copiilor!

Reclamaţii:

Orice reclamaţie trebuie să fie însoţită cu numărul de serie, înscris pe cutie.

Producător

ÎM „FARMACO" SA, Republica Moldova, mun. Chişinău
str.Vadul lui Vodă, 2
tel./fax: (+ 373 22) 87-82-20, e-mail: info@farmaco.md

Deţinător al notificării

ÎM „FARMACO" SA, Republica Moldova, mun. Chişinău
str.Vadul lui Vodă, 2
tel./fax: (+ 373 22) 87-82-20, e-mail: info@farmaco.md

Figura A 4.1. Ambalajul produsului Merion

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
РЕСПУБЛИКА МОЛДОВА
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
SERVICIUL DE SUPRAVEGHERE DE STAT A SĂNĂTĂȚII PUBLICE
СЛУЖБА ГОСУДАРСТВЕННОГО НАДЗОРА ЗА ОБЩЕСТВЕННЫМ ЗДОРОВЬЕМ
CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ
2028, Кишинэу, ул. Г. Асаки 67 а
Тел. +373 22 574501, факс +373 22 726725
IDNO 1007501001123
e-mail: cnsp@cnsp.md; anticamera@cnsp.md

DOCUMENTAȚIE MEDICALĂ / Медицинская документация
FORMULAR / Форма Nr. 303-2/e
APROBAT DE MEAL RM / Утверждена МЗ РМ 31.10.11 Nr. 828
Centrul de încercări de laborator acreditat în Sistemul Național de Acreditare în Domeniul Evaluării Conformității Produselor
Испытательный лабораторный центр аккредитованный Национальным Аккредитационным Центром РМ MOLDAC Certificat nr. LI-044 din 02.06.2014 va abil până la 16.03.2018
Acreditat în Sistemul Ministerului Sănătății RM
Аккредитованный в системе Министерства Здравоохранения РМ Certificat nr. 2294 din 24.10.2014, va abil până la 24.10.2019

AVIZ SANITAR

PENTRU PRODUSELE ALIMENTARE ȘI NEALIMENTARE Nr. 2553

Санитарное заключение для пищевых и непищевых продуктов

din/от "24" septembrie 2015

Prin prezentul aviz sanitar se confirmă că producerea, importul, utilizarea și desfacerea produselor
Настоящим санитарным заключением подтверждается, что производство, ввоз, использование и реализация продукции:
Premix Onco Syrup – mulerie primă alimentară,

sunt conforme Regulamentului (lor) sanitar (e) / соответствуют санитарному (ым) регламенту (ам) (se va indica denumirea completă a Regulamentului (lor) sanitar (e) / указать полное наименование санитарного (ых) регламента (ов)) Regulamentului sanitar privind contaminanții din produsele alimentare aprobat prin HG nr.520 din 22.06.2010, HG nr.221 din 16.03.2009, Regulamentului sanitar privind aditivii alimentari aprobat prin HG nr. 229 din 29.03.2013,

Organizația-producătoare/importatoare, țara de origine / Организация произв./импортер, страна происхождения
"Vitablend Olanda ", Olanda

Destinatarul avizului sanitar / Получатель санитарного заключения
ÎM „FARMACO ", SRL cr. Chișinău, str. Vadul lui Vodă, 2

Ca temei pentru recunoașterea conformității produselor Regulamentului (lor) sanitar (e) menționat (e) au servit / Основанием для признания продукции указанному (ым) санитарному (ым) регламентом (ам) / послужило Demers, contract nr. 122 din 10.12.2013, certificat de înregistrare, analiză, calitate, origine, invoice,

(a enumera documentele de însoțire, buletinele de analiză/перечислить сопроводительные док., протоколы исслед.)
Caracteristica sanitară a produselor / санитарная характеристика продукции:

Parametrii (factorii) / показатели (факторы) Normativul sanitar / санитарный норматив
Conform raportului a încercărilor de laborator nr.4876 din 23.09.2015

Domeniul de utilizare / Область применения: Plasare pe piața, consum

Condițiile necesare de utilizare, depozitare, transportare, măsurile de securitate / Необходимые условия использования, хранения, транспортировки, меры безопасности: Importul și plasarea pe piață în condițiile respectării legislației în vigoare în Republica Moldova, termenii de valabilitate, condițiile de păstrare

AVIZUL SANITAR este valabil până la / Санитарное заключение действительно до: 20 septembrie 2016

ADJUNCTUL MEDICULUI-ȘEF SANITAR DE STAT AL REPUBLICII MOLDOVA
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО САНИТАРНОГО ВРАЧА РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ION BAHNAREL
(numele, prenumele / Ф.И.О.)

(semnătura / подпись)

CNSP/НЦОЗ
Nr. 10XVI25

SSSSP /СГНОЗ
0038777

03

Anexa 5. Proprietățile fizico-chimice, farmacologice ale substanțelor medicamentoase, conținute în picăturile auriculare. Monografia farmacopeică temporară a produsului CB-12

Caracteristica generală a ciprofloxacinei

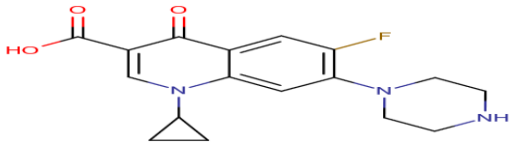


Figura A5.1. Formula chimică a ciprofloxacinei

Denumire: Ciprofloxacină (fig.A5.1.)

Tip: Molecule mici

Descriere: Ciprofloxacina este o carboxifluorochinolină, cu acțiune antimicrobiană și spectru larg. Acțiunea bactericidă a ciprofloxacinei rezultă din inhibarea enzimelor topoizomeraza II și topoizomeraza IV, care sunt necesare pentru replicarea, transcripția, repararea ADN-ului bacterian și recombinarea acestora.

Formula chimică : $C_{17}H_{18}FN_3O_3$

Masa moleculară: 331.341523 g/mol

Denumirea IUPAC: 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid

Cod ATC: J01M A02 [24]

Farmacodinamica: Ciprofloxacina este un agent antimicrobian, cu spectru larg de acțiune din clasa fluorochinolonelor. Are activitate *in vitro* împotriva unei game largi de microorganisme gram-negative și gram-pozitive. Mecanismul de acțiune al chinolonelor, inclusiv al ciprofloxacinei, este diferit de cel al altor agenți antimicrobieni, cum ar fi beta-lactame, macrolide, tetracicline sau aminoglicozide. Prin urmare, organismele rezistente la aceste medicamente pot fi susceptibile la ciprofloxacină. Nu există rezistență încrucișată cunoscută între ciprofloxacină și alte clase de antimicrobiene. [2, 6]

Mecanism de acțiune: Acțiunea bactericidă a ciprofloxacinei rezultă din inhibarea enzimelor topoizomeraza II (giraza ADN) și topoizomeraza IV, care sunt necesare pentru replicarea, transcripția, repararea ADN-ului bacterian și recombinarea ADN-ului bacterian.

Absorbție: Rapid este absorbit din tractul gastrointestinal. Biodisponibilitatea absolută este de aproximativ 70%, fără pierderi semnificative prin metabolizarea primară.

Metabolism: Se metabolizează în ficat. Au fost identificați patru metaboliți în urină umană care împreună reprezintă aproximativ 15% din doza orală. Metaboliții au activitate antimicrobiană, dar sunt mai puțin activi decât ciprofloxacina nemodificată. [7, 24]

Calea de eliminare: Aproximativ de la 40 până la 50% din doza administrată oral este excretată în urină ca medicament nemodificat.

Timpul de înjumătățire: patru ore.

Toxicitatea: efectul advers major în timpul administrării este iritarea gastrointestinală, reacție comună pentru multe antibiotice.

Caracteristica generală a uleiului volatil de busuioc

Uleiul esențial de busuioc *(Basilici Aetheroleum*) este obținut prin antrenarea cu vapori de apă a părților aeriene proaspete de busuioc (*Ocimum basilicum*, fam. *Lamiaceae*, specie care prezintă aproximativ 150 de varietăți). [23]

Descriere: Busuiocul *(Ocimum basilicum)* este o plantă din genul *Ocimum*, familia *Lamiaceae*. Este o plantă ierboasă, originară din Asia tropicală.

Rădăcina este ramificată, situată superficial.

Stem direct, tetraedric, puternic ramificat, de 50-70 cm înălțime, bine frunzit.

Frunzele sunt scurte, alungite-ovate, rar-dințate. Stemul şi frunzele sunt acoperite cu fire de păr.

Flori bilabiate, albe, pal-roz, mai puțin violete, cresc din sinusurile frunzelor apicale, dispuse în racem.

Fructele constau din patru nuci de culoare brun-închis, care după maturizare sunt separate una de alta. Masa la 1000 de semințe este de 0,5-0,8 g. Semințele își păstrează capacitatea de germinare timp de la patru până la cinci ani. [40]

Compoziția chimică: Partea aeriană a plantei conține 1-1,5% ulei esențial, până la 6% taninuri, glicozide, saponine, minerale, acid ascorbic, zahăr, fibre, proteine, vitamina P, provitamina A, camfor. Uleiul esențial conține eugenol, cineol, linalol, camfor, ocimene (fig. A3.2). Eugenolul este o componentă principală a uleiului esențial (până la 70%). Uleiul esențial este în principal în inflorescență. Cea mai mare producție de ulei este observată în faza de înflorire completă. Uscarea reduce foarte mult randamentul uleiului. Semințele conțin 12-20% ulei gras; în frunze se conține 0,003-0,009% caroten. Au mai fost identificate saponozide triterpenice, subsanțe tantante. [10, 22]

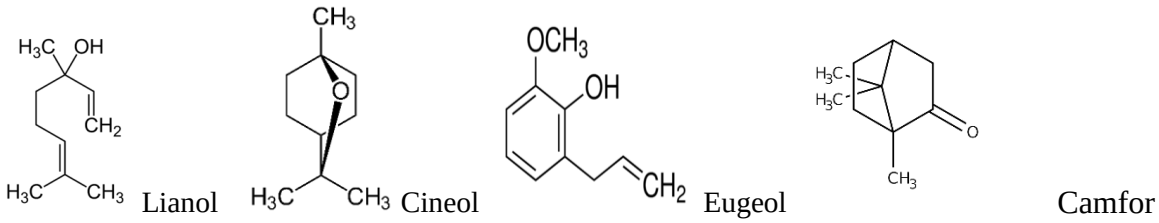


Figura A5.2. Formulele de structură a compușilor uleiului volatil de busuioc

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"
Centrul Ştiinţific al Medicamentului

A p r o b
Director Centrul Ştiinţific al Medicamentului
V.Val *Vladimir VALICA*
"01" MARTIE *2021*

MONOGRAFIA FARMACOPEICĂ TEMPORARĂ

(Proiect)

„CB – 12", picături auriculare **MFT MD-08/**

Pusă în aplicare din
"01" MARTIE 2021

Prezenta Monografie Farmacopeică Temporară reglementează calitatea preparatului farmaceutic cu denumirea „CB – 12", picături auriculare cu conţinut de ciprofloxacină clorhidrat (acide 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-pipérazin-1-yl-quinoline-3-carboxylique) și ulei volatil de busuioc (ocimum basilicum), utilizat pentru uz extern.

Componenţa pentru o capsulă:

Nr.	Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiţii de calitatea
1	Ciprofloxacină clorhidrat	150,0	Ph.Eur
2	Ulei volatil de busuioc	200,0	Ph. Eur.
3	Polisorbat 20	200,0	FR X., Ph. Eur.
4	Polietilenglicol 400	500,0	FR X, Ph. Eur.
5	Nipagină	20,0	FR X, Ph. Eur.
6	Soluţie tampon citrat cu pH=7,8 q.s.	45,0	FR X, Ph. Eur.
7	Apă purificată	până la 50 ml	FR X, Ph. Eur.
	Masa totală	**50,0 ml**	

Ediţie oficială
Fig.A.5.3. Monografia farmacopeică temporară picături auriculare CB-12

Anexa 6. Regulamente farmaceutice ale produsului Neamon-hepa (NH-01)

Figura A.6.1. Monografia Farmacopeică Temporară

EUROFARMACO

str. Vadul lui Vodă,2
mun. Chişinău, Republica Moldova

APROB
Prim-vicedirector al
Agenţiei Medicamentului
Vladimir Safta
"25" noiembrie 2009

MONOGRAFIA FARMACOPEICĂ TEMPORARĂ

Neamon-hepa
capsulae

MFT MD-08/1123 - 11.09

Neamon-hepa
capsule

Se pune în aplicare
prima dată

Pusă în aplicare din
"25" noiembrie 2009

Valabilă până la
"25" noiembrie 2012

Prezenta Monografie Farmacopeică Temporară reglementează calitatea produsul farmaceutic Neamon-hepa *capsule*, cu conţinut de aspartat de arginină ((2S)-2-aminobutandioat de acid (2S)-2-amino-5-guanidinopentanic), spironolacton (7d-(acetilsulfanil)-3',4'-dihidrospiro-[androst-4-en-17,2'(5'H)-furan]-3,5'-dion) şi BioR, fabricat de „Eurofarmaco" SA.

Componenţa pentru o capsulă:

Nr.	Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiţii de calitatea
1	Aspartat de arginină	450,0	Specificaţia producătorului
2	Spironolactonă	24,0	Ph. Eur.
3	BioR, soluţie alcoolică 50 mg/ml (recalculat la substanţa uscată)	9,0	MF MD-08/0544-04.09
4	Lactoza anhidră	240,0	Ph. Eur.
5	Amidon de cartofi	60,0	Ph. Eur.
6	Celuloza microcristalină	45,0	Ph. Eur.
7	Stearat de magneziu	6,0	Ph. Eur.
	Masa totală	**834,0**	

Ediţie oficială — Reproducerea interzisă

Figura A.6.2. Ambalajul primar şi secundar a produsului Neamon-hepa

Anexa 7. Analiza statistică – prognostic scor maxim de inteligibilitate vocală

y1= 0.784*mx102_9 +0.230*mx120_3 - 1.192*x332 -0.214*x213
-0.590*x214 + 51.055; y

dx144pr=abs(((x144-y)*100)/x144) ;
dx144pr1=abs(((x144-y1)*100)/x144) ;
==========

OBS	NANK	MX102_9	MX120_3	X332	X213	X214	X144	Y	DX144PR	Y1	DX144PR1
1	1	0.000	90.000	.	.	.	.	.	.	.	.
2	2	5.625	115.000	.	.	.	.	.	.	.	.
3	3	0.000	90.000	.	.	.	.	.	.	.	.
4	4	0.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	.
5	5	0.000	88.750	.	.	.	.	.	.	.	.
6	6	0.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	.
7	7	0.000	100.000	.	.	.	.	.	.	.	.
8	8	5.000	90.000	.	.	.	.	.	.	.	.
9	9	0.000	92.500	.	.	.	.	.	.	.	.
10	10	0.625	93.750	.	.	.	.	.	.	.	.
11	11	1.875	101.250	.	.	.	.	.	.	.	.
12	12	0.625	91.250	.	.	.	.	.	.	.	.
13	13	0.000	95.000	.	.	.	.	.	.	.	.
14	14	0.000	103.750	.	.	.	40	.	.	.	.
15	15	0.625	97.500	.	.	.	40	.	.	.	.
16	16	5.000	102.500	.	.	.	40	.	.	.	.
17	17	5.000	103.750	.	.	.	45	.	.	.	.
18	18	10.000	98.750	.	.	.	50	.	.	.	.
19	19	10.625	95.000	.	.	.	50	.	.	.	.
20	20	10.000	92.500	.	.	.	40	.	.	.	.
21	21	7.500	92.500	.	.	.	40	.	.	.	.
22	22	10.000	87.500	.	.	.	45	.	.	.	.
23	23	7.500	88.750	.	.	.	45	.	.	.	.
24	24	8.750	95.000	.	.	.	40	.	.	.	.
25	25	6.875	85.000	.	.	.	40	.	.	.	.
26	26	10.000	85.000	.	.	.	45	.	.	.	.
27	27	10.625	87.500	.	.	.	45	.	.	.	.
28	28	5.000	86.250	.	.	.	45	.	.	.	.
29	29	8.750	86.250	.	.	.	45	.	.	.	.
30	30	3.750	88.750	.	.	.	45	.	.	.	.
31	31	56.250	102.500	1	4	54	80	84.8027	6.0033	84.8220	6.0275
32	32	73.125	96.250	1	0	72	.	86.8305	.	86.8505	.
33	33	39.375	82.500	2	49	30	65	70.3103	8.1696	70.3300	8.2000
34	34	61.250	85.000	1	17	60	.	78.3759	.	78.3950	.
35	35	66.875	97.500	1	1	67	.	84.9545	.	84.9740	.
36	36	39.375	82.500	3	37	33	.	69.9182	.	69.9360	.
37	37	73.125	83.333	1	7	55	.	92.3917	.	92.4117	.

Anexa 8. Aparatajul pentru audiologia experimentală preclinică

Figura A8.1. Testerul sonor PA5

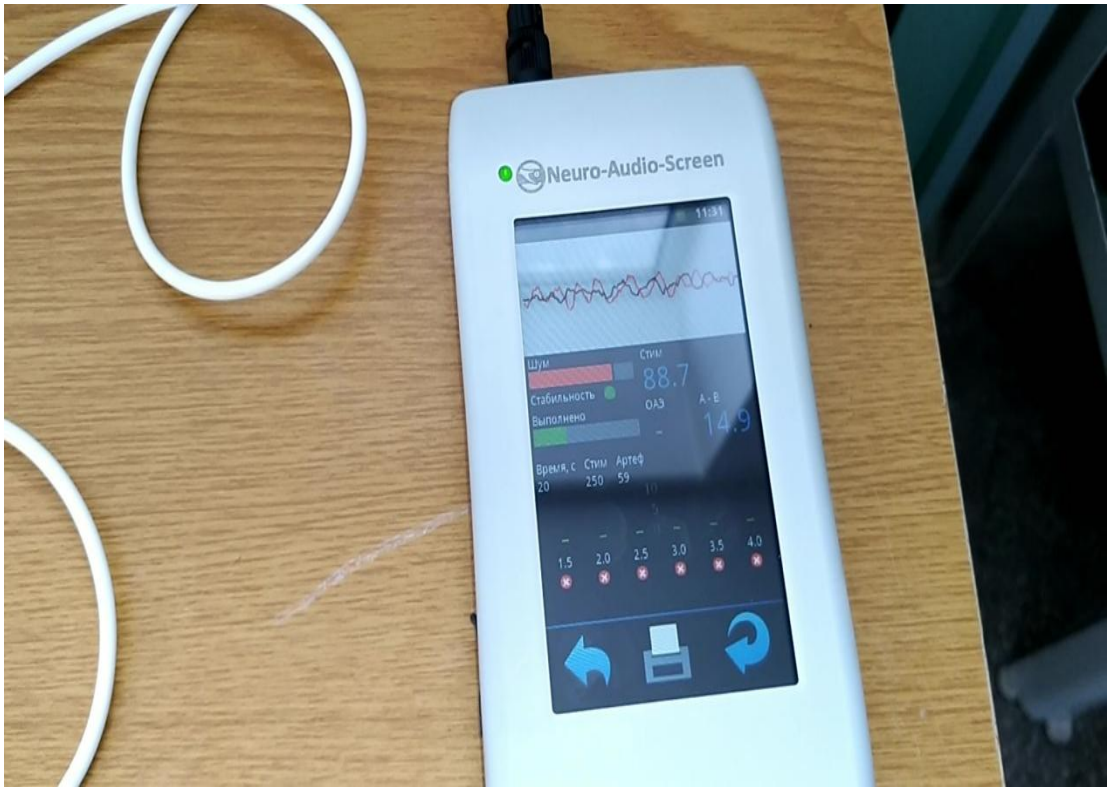


Figura A8.2. Aparatul NeiroAudioScreen pentru determinarea otoemisiunilor acustice (OEA)

Figura A8.3. Otoscop cu set de olive auriculare (pentru introducerea în conductul auditiv extern)

Anexa 9. Brevete de invenţii și cetificate de inovator la tema tezei

Brevete de invenții

1. **I.Ababii, S.Parii, A.Chiaburu, C.Jucovschi.** Metodă de pronostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă. MD 291 Z din 2011.07.16.
2. **S.Parii**, **C.Jucovschi**. Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. MD 792 Z din 2014.09.30.
3. **S.Parii**, **V.Rudic**. Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. MD 4277 C1 din 2014.10.27.
4. **Mereuță I., Valica V., Carauș V., Parii S.** Sirop pentru tratamentul stărilor precanceroase gastrice. MD 4341 C1 din 2015.04.30

Certificate de inovator la tema tezei

1. **Parii B., Valica V., Parii S., Todiraş M., Rusnac L., Golovin P.** Preparat medicamentos Neamon-hepa, capsule. Nr. 5177 din 10.01.2013, USMF „Nicolae Testemiţanu", Chişinău.
2. **Rudic V., Parii S.** BioR în tratamentul acufenelor. Nr. 5207 din 14.03.2013, USMF „Nicolae Testemiţanu", Chişinău.
3. **Parii S**. Optimizarea metodei de screening audiologic. Nr. 5424 din 16.02.2015, IP USMF „Nicolae Testemiţanu", Chişinău.
4. **Parii S**. Metodă de prognostic al eficacității tratamentului farmacologic la bolnavii cu surditate. Nr. 5425 din 16.02.2015, IP USMF „Nicolae Testemiţanu", Chişinău.
5. **Maniuc M., Valica V., Parii S., Uncu L., Ababii P., Rusnac L., Nicolai E.** Picaturi auriculare pentru tratamentul afecţiunilor inflamatorii ale urechii. Nr.5308, din 15.02.2014, IP USMF „Nicolae Testemiţanu", Chişinău.
6. **Parii S.** Metodă de tratament medicamentos al afecțiunilor senzorineurale ale analizatorului auditiv. Nr. 5498 din 06.04.2016, IP USMF „Nicolae Testemiţanu", Chişinău.

Anexa 10. Acte de implementare a invențiilor și inovațiilor şi certificate de înregistrare a preparatelor medicamentoase

Certificate de înregistrare

1. „**Flamena emulsie, 100 ml”,** preparat medicamentos. Certificat de autorizare în Republica Moldova nr. 23972 (conform Ordinului nr. 866 din 16.11.2017 al MS RM). Deținător al certificatului de autorizare – CSK Grup Plus, producător – Eurofarmaco SA (21).
2. „**Merion suspensie, 100 ml”.** Aviz Sanitar pozitiv al MS al RM pentru produsele alimentare și nealimentare (nr. 2253 din 24.09.2015), producător – „Farmaco SA”, deținator al certificatului – SC „CSK Grup Plus” SRL.

Acte de implementare în activitatea științifică și curativă la tema tezei

Acte de implementare a invențiilor

1. **Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi.** Metodă de prognostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă. Act de inplementare în procesul ştiinţifico-practic al Laboratorului ORL al USMF „Nicolae Testemiţanu” din 16.11.2012.
2. **Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi.** Metodă de prognostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă. Act de implementare în activitatea clinică a SCRC „Em.Coţaga” din 16.11.2012.
3. **V. Rudic, S. Parii, V. Cabac, V. Valica, T. Chiriac.** Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. Act de inplementare în activitatea clinică a Centrului medical privat „Neuroscan”, Chișinău, din 2016.
4. **S. Parii**, **C. Jucovschi.** Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Act de inplementare în activitatea clinică a Centrului medical privat „Neuroscan”, Chișinău, din 2016.
5. **Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi.** Metodă de prognostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă. Act de implementare în lucrul curativ profilactic al secției Otorinolaringologie, IMSP Spitalul Clinic Municipal „Sf.Treime” din 2020.
6. **S. Parii**, **C. Jucovschi.** Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Act de implementare în lucrul curativ profilactic al secției Otorinolaringologie, IMSP Spitalul Clinic Municipal „Sf.Treime” din 2020.

7. **S. Parii, V. Rudic.** Metodă de tratament medicamentos al hipoacuziei. Act de implementare în activitatea științifico-practică a Clinicii ORL „Sf.Treime", USMF „Nicolae Testemițanu" din 2020.

Acte de implementare a inovațiilor

1. **Rudic V., Parii S.** BioR în tratamentul acufenelor. Act de inplementare în procesul științifico-practic al Centrului Științific al Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu" din 2013.
2. **Parii S.** Protocol de evaluare a acufenelor la pacienții cu surditate neurosenzorială. Act de inplementare în procesul științifico-practic al Centrului Științific al Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu" din 2013.
3. **Buza A., Parii S., Chiaburu-Chiosa D., Levițchi A., Abdușa-Galea D., Butovscaia C., Maniuc M.** Genotiparea mutației 35delG/rs80338939 în gena GJB2 prin tehnica TaqMan Real Time PCR. Act de implementare în procesul științifico-practic al Laboratorului de genetică al USMF „Nicolae Testemițanu" din 2020.

Acte de implementare în activitatea științifico-didactică

1. **Uncu L., Parii S.** Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacină clorhidrat și ulei volatil de busuioc. Act de implementare în procesul științifico-didactic al Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu" din 2020.
2. **Parii S.** Determinarea efectelor otoprotectoare ale produselor farmacologice Flamena, emulsie, și Neamon-hepa, capsule, prin evaluarea rezultatelor cercetărilor preclinice în surditatea de percepție indusă la animale de laborator. Act de implementare în procesul științifico-didactic al Catedrei de farmacologie și farmacie clinică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu" din 2020.

Anexa 11. Menţiuni, distincţii, diplome obţinute (la tema tezei) la expoziţii de inventică naţionale şi internaţionale

1. **I. Ababii, S. Parii, A. Chiaburu, C. Jucovschi.** Expoziţia Internaţională Specializată INVENTICA, 19-21 iunie, Iaşi, România, 2013. **Medalie de aur.** Expoziţia Internaţională Specializată PRO INVENT, 19-21 martie, Cluj-Napoca, România, 2014. **Medalie de aur.**
2. **V. Rudic, S. Parii, V. Cabac, V. Valica, T. Chiriac.** Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienţilor cu hipoacuzie neurosenzorială. Expoziţia Internaţională Specializată EUROINVENT, 22-24 mai, Iaşi, România, 2014. ***Medalie de argint.*** Expoziţia Internaţională Specializată INVENTICA, 2-4 iulie, Iaşi, România, 2014. ***Medalie de aur.*** Salonul de Invenţii şi Inovaţii INVENTIKA, 15-18 octombrie, Bucureşti, România, 2014. ***Medalie de bronz.*** INFOINVENT, 25-28 noiembrie, 2015. Chişinău, Republica Moldova. ***Medalie de bronz.***
3. **S. Parii**, **C. Jucovschi.** Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală. Expoziţia Internaţională Specializată EUROINVENT, 22-24 mai, Iaşi, România, 2014. ***Medalie de bronz.*** Expoziţia Internaţională Specializată PRO INVENT, 25-27 martie, Cluj-Napoca, România, 2015. ***Medalie de aur cu menţiune specială.***
4. **Mereuţă I., Valica V., Carauş V., Parii S.** Sirop pentru tratamentul stărilor precanceroase. Expoziţia Internaţională Specializată INFOINVENT,
5. 25-28 noiembrie, 2015. Chişinău, Republica Moldova. ***Medalie de aur.***
6. **Parii S., Rudic V., Maniuc M., Valica V., Uncu L., Ababii P., Nicolai E., Jucovschi C.** Expoziţia Internaţională Specializată EUROINVENT, ediţia a VIII-a. Iaşi, România, 19-21 mai 2016. ***Medalie de aur.*** Expoziţia Internaţională Specializată INVENTICA, 29-30 iunie, Iaşi, România, 2016. ***Medalie de aur.***
7. **Parii S., Gonciar V., Curocichin G., Uncu L., Buza A., Nicolai E, Valica V.** Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders. Salonul Internaţional Specializat INVENTICA, editia a 24-a. Iași, România, 29-31 iulie 2020. ***Medalie și diplomă de excelență.***
8. Parii B., Valica V., Parii S., Todiraş M., Rusnac L., Golovin P. Preparat medicamentos Neamon-hepa, capsule. Expoziția națională „Fabricat în Moldova”. Chișinău, 29.01.-02.02.2014. *Diplomă de menţiune.*

9. **S. Parii.** USMF „Nicolae Testemiţanu”. ***Diplomă*** *Cu ocazia Zilei Inventatorului şi Raţionalizatorului pentru rezultate remarcabile în activitatea inovativ-inventivă,* 28 iunie 2012.
10. **S. Parii.** ***Diplomă de excelență*** în semn de apreciere și recunoaștere a competenței și inițiativei în sprijinirea Conferinţei Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare”, ediţia a XVI-a. 12-17 martie 2018, Iaşi, România.

MD 291 Z 2011.07.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 291 (13) Z

(51) Int. Cl.: *A61B 10/00* (2006.01)
A61B 5/12 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENŢIE DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2010 0154
(22) Data depozit: 2010.07.19

(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
2010.11.30, BOPI nr. 11/2010

(67)* Nr. şi data transformării cererii:
a 2010 0082, 2010.09.16

(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIŢANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: ABABII Ion, MD; PARII Sergiu, MD; CHIABURU Anghelina, MD; JUCOVSCHI Constantin, MD

(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIŢANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(74) Reprezentant: VOZIANU Maria

(54) Metodă de pronostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă

(57) Rezumat:

1

Invenţia se referă la medicină, în special la otorinolaringologie.

Esenţa invenţiei constă în aceea că metoda de pronostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă include examenul clinic şi paraclinic ce relevă următorii parametri: varsta pacientului (VP), infecţiile suportate (FS), evoluţia surdităţii (ES), pragul auditiv în limitele 0…120 dB (PA), indicele de articulare

2

(IA), apoi se calculează funcţia discriminantă (F) conform formulei:

$F = -7{,}927 + 0{,}144 \cdot VP - 0{,}476 \cdot FS - 0{,}975 \cdot ES + 0{,}073 \cdot PA + 0{,}065 \cdot IA$, şi în cazul in care $F>0$ se prognozează lipsa riscului de apariţie a efectelor adverse, iar când $F<0$ – riscul apariţiei efectelor adverse.

Revendicări: 1

MD 291 Z 2011.07.31

290

MD 732 Z 2014.09.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 732 (13) Z

(51) Int.Cl: *A61B 5/12* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENŢIE DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2013 0066
(22) Data depozit: 2013.04.12

(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
2014.02.28, BOPI nr. 2/2014

(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIŢANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: PARII Sergiu, MD; JUCOVSCHI Constantin, MD

(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIŢANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(74) Mandatar autorizat: VOZIANU Maria

(54) Metodă de determinare a scorului maxim de inteligibilitate vocală

(57) Rezumat:

Invenţia se referă la medicină, în special la otorinolaringologie şi poate fi utilizată pentru aprecierea inteligibilităţii vocale.

Esenţa metodei constă în aceea că se efectuează examinarea audiometrică tonală cu stabilirea următorilor parametri: media pragului auditiv (PA), media pragului de disconfort (PD), aspectul curbei audiometrice (CA), indicele de articulare (IA), media gradului de surditate (GS), apoi in baza rezultatelor obţinute se calculează scorul maxim de inteligibilitate vocală (y), conform formulei:

$y = 0,784xPA + 0,230xPD - 1,192xCA - 0,214xIA - 0,590xGS + 51,055.$

Revendicări: 1

MD 732 Z 2014.09.30

MD 4277 C1 2014.10.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4277** (13) **C1**

(51) Int.Cl: ***A61K 36/05*** (2006.01)
A61P 27/16 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENŢIE

(21) Nr. depozit: a 2013 0056
(22) Data depozit: 2013.05.24

(67)* Nr. şi data transformării cererii:
s 2013 0090; 2013.08.09

(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
2014.03.31, BOPI nr. 3/2014

(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIŢANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: PARII Sergiu, MD; RUDIC Valeriu, MD

(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIŢANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(74) Mandatar autorizat : VOZIANU Maria

(54) Utilizarea extractului din biomasa tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Getil CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienţilor cu hipoacuzie neurosenzorială

(57) Rezumat:

Invenţia se referă la medicină, în special la otorinolaringologie şi poate fi utilizată pentru tratamentul pacienţilor cu hipoacuzie neurosenzorială.

Conform invenţiei revendicate se utilizează extract din biomasa tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Getil CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienţilor cu hipoacuzie neurosenzorială, câte 5mg, de 2 ori pe zi, înainte de masă, timp de 20 zile.

Revendicări: 1

MD 4277 C1 2014.10.31

MD 4341 C1 2015.11.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenţia de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 4341 (13) C1

(51) Int.Cl: ***A61K 9/08*** (2006.01)
A61K 31/07 (2006.01)
A61K 31/592 (2006.01)
A61K 31/355 (2006.01)
A61K 31/375 (2006.01)
A61K 31/51 (2006.01)
A61K 31/525 (2006.01)
A61K 31/455 (2006.01)
A61K 31/4415 (2006.01)
A61K 31/714 (2006.01)
A61K 31/4188 (2006.01)
A61K 31/197 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 31/695 (2006.01)
A61K 33/04 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)
A61P 1/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENŢIE

(21) Nr. depozit: a 2013 0088 **(22) Data depozit:** 2013.11.21	**(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:** 2015.04.30, BOPI nr. 4/2015

(71) Solicitant: MEREUŢĂ Ion, MD

(72) Inventatori: MEREUŢĂ Ion, MD; VALICA Vladimir, MD; CARAUŞ Vladimir, MD; PARII Sergiu, MD

(73) Titular: MEREUŢĂ Ion, MD

MD 4341 C1 2015.11.30

(54) Sirop pentru tratamentul stărilor precanceroase gastrice

(57) Rezumat:

Invenţia se referă la gastroenterologie, în special la substanţe biologic active în formă de siropuri care pot fi utilizate pentru tratamentul stărilor precanceroase gastrice.

Conform invenţiei, siropul revendicat conţine: vitamina A, vitamina D_2, vitamina E, vitamina C, vitamina B_1, vitamina B_2, niacină, vitamina B_6, vitamina B_{12}, biotină, acid folic, acid pantoteic, oxid de magneziu, oxid de cupru, selenat de sodiu, nanoparticule de oxid de zinc şi argint, luate în raport de 9:1, şi sirop de zahăr, ingredientele fiind luate în următorul raport cantitativ pentru 100 ml:

vitamina A, mg	0,8
vitamina D_2, mg	0,005
vitamina E, mg	10
vitamina C, mg	100
vitamina B_1, mg	3
vitamina B_2, mg	3,6
niacină, mg	40
vitamina B_6, mg	2
vitamina B_{12}, mg	0,003
biotină, mg	0,06
acid folic, mg	0,2
acid pantoteic, mg	15
oxid de magneziu, mg	375
oxid de cupru, mg	1
selenat de sodiu, mg	0,055
nanoparticule de oxid de zinc şi argint, mg	6
sirop de zahăr, ml	restul.

Revendicări: 1

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5177

Pentru inovaţia cu titlul

NEAMON-HEPA

Inovaţia a fost înregistrată pe data de *12.11.2012*
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Parii Boris, Valica Vladimir, Parii Sergiu, Todiraş Mihail, Rusnac Liliana, Golovin Pavel

L.Ş.

Data eliberării **10.01.2013**

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5207

Pentru inovaţia cu titlul

Preparatul BioR în tratamentul acufenelor

Inovaţia a fost înregistrată pe data de 14.01.2013
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

RUDIC VALERIU, PARII SERGIU

L.Ş.

Data eliberării **14.02.2013**

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. **5425**

Pentru inovaţia cu titlul

Metoda de pronostic a eficacităţii tratamentului farmacologic la bolnavii cu surdidate

Inovaţia a fost înregistrată pe data de **16.02.2015**
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Parii Sergiu

Data eliberării **04.03.2015**

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. **5424**

Pentru inovaţia cu titlul

Optimizarea metodei de *screening* audiologic

Inovaţia a fost înregistrată pe data de ***16.02.2015***
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Parii Sergiu

Data eliberării **04.03.2015**

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5497

Pentru inovaţia cu titlul

Picături auriculare pentru tratamentul otitelor şi otomicozelor

Inovaţia a fost înregistrată pe data de 28.03.2016
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Valica Vladimir, Cabac Vasile, Uncu Livia, Parii Sergiu, Ciobanu Nicolae

Data eliberării 25.04.2016

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5498

Pentru inovaţia cu titlul

Metodă de tratament medicamentos al afecţiunilor senzorineurale ale analizatorului auditiv

Inovaţia a fost înregistrată pe data de 06. 04. 2016
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Parii Sergiu

Data eliberării 27. 04. 2016

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5308

Pentru inovaţia cu titlul

Picături auriculare pentru tratamentul afecţiunilor inflamatorii ale urechii

Inovaţia a fost înregistrată pe data de 21.01.2014
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Maniuc Mihail, Valica Vladimir, Parii Sergiu, Uncu Livia, Ababii Polina, Rusnac Liliana, Nicolai Eugeniu

Data eliberării 15.02.2014

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

Republica Moldova
Ministerul Sănătăţii

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr. 5224

Pentru inovaţia cu titlul

Algoritm de explorare şi recuperare auditivă la pacienţii cu surditate

Inovaţia a fost înregistrată pe data de 18.04.2013
la Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie
"Nicolae Testemiţanu"

Se recunoaşte calitatea de autor(i)

Ababii Ion, Maniuc Mihail, Parii Sergiu, Chiaburu Anghelina, Diacova Svetlana, Chirtoca Diana

Data eliberării 16.05.2013

L.Ş.

(Semnătura autorizată)

ANEXA 8. - Acte de implementare a invențiilor, inovațiilor și certificate de înregistrare a preparatelor medicamentoase

Certificate de înregistrare

AGENȚIA MEDICAMENTULUI ȘI DISPOZITIVELOR MEDICALE

GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA

CERTIFICAT
DE ÎNREGISTRARE A MEDICAMENTULUI
MARKETING AUTHORIZATION OF MEDICINAL PRODUCT

în baza ordinului MS RM (nr. 866 din 16 noiembrie 2017)
in accordance with order of MoH RM (nr. 866 from November 16, 2017)

se decide autorizarea produsului:
has been decided the registration of product:

Denumire comercială: Name:	Flamena
Formă farmaceutică, doză, mărimea ambalajului: Dosage form, strength and package size:	emulsie orală 150 mg + 6 mg/5 ml 100 ml N1
Compoziţia: Composition:	5 ml conţine substanţe active: glicină 150 mg, Dihidroquercetină 6 mg. excipienţi: anexa 1
Deţinător al Certificatului de Înregistrare: Marketing Autorization Holder:	Standart SRL, Rusia
Producător: Manufacturer:	Î.C.S. Eurofarmaco S.A., Republica Moldova
Clasificare ATC: ATC classification:	V03AF
Termen de valabilitate: Shelf life:	24 luni
Număr de înregistrare, data emiterei: Registration number and date of issue:	23972 din 16 noiembrie 2017
Rezumatul caracteristicilor produsului şi prospect Summary of the product and patient information leaflet	anexa 1
sau	
Instrucţiunea pentru administrare Instructions for administration	
Informaţii privind etichetarea Information on the labeling	anexa 2

Parametrii de calitate ai produsului sunt cei prevăzuţi în documentaţia care a stat la baza eliberării prezentului Certificat de Înregistrare. Orice modificare a datelor specificate în Certificatul de Înregistrare sau în documentaţia de autorizare trebuie raportată şi aprobată de Agenţia Medicamentului şi Dispozitivelor Medicale. Prezentul Certificat de Înregistrare are o valabilitate de 5 ani de la data emiterii şi nu condiţionează importul.

The quality of the product is that which is stipulated by the documentations which were the basis for giving this particular Marketing Authorization. Any modification of the data stipulated by the Marketing Authorization or documentation must be reported to the Medicines and Medical Divice Agency and have its approval. The Marketing Authorization is valid for 5 years after emission and doesn't guarantee the import of the medicinal product.

Director general **Vladislav Zara**

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ

MD 2028, mun. Chișinău, str. Gh. Asachi 67A, Tel. +373 22 574 501; Fax. + 373 22 729 725,
http://www.cnsp.md, e-mail: anticamera@cnsp.md, cnsp@cnsp.md, IDNO 1007601001123

18.12.2015 Nr 06s-7/ 235

La nr. _____ din_____

AVIZ DE NOTIFICARE

În conformitate cu prevederile Hotărîrii Guvernului nr.538 din 02.09.2009 „Pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind suplimentele alimentare" Ordinului Ministerului Sănătății nr.263 din 30.03.2014 „Cu privire la implementarea Hotărîrii Guvernului nr.538 din 02.09.2009", Ordinului CNSP nr.37 din 09.04.2014 „Cu privire la organizarea notificării și înregistrării suplimentelor alimentare", urmare examinării materialelor prezentate **se autorizează** plasarea pe piața Republicii Moldova următorului produs:

Denumirea produsului: **MERION**
Forma de comercializare: **suspensie, 100 ml**
Domeniu de utilizare: **supliment alimentar**

Compoziția per 100 ml.: Seleniu (selenit de sodiu)- 55,00 µg, Crom (clorură de crom III)- 40, 00 mkg, Zinc (lactat de zinc) nanoparticule- 4,00 mg, Cupru (sulfat de cupru)- 1,00 mg, Magneziu (săruri de magneziu ale acidului citric)- 375,00 mg, Vitamina A (acetat de retinil)- 800, 00 mkg, Niacină (nicotinamidă)- 40,00 mg, Biotină (D-biotină)- 60,00 mkg, Vitamina D_3 (colecalciferol)- 5,00 mkg, Vitamina B_{12} (cianocobolamină)- 3,00 mkg, Vitamina B_6 (clorhidrat de piridoxină)- 2,00 mg, Vitamina B_1 (clorhidrat de tiamină)- 3,00 mg, Vitamina B_2 (riboflavin-5-phosphat de sodiu)- 3,60 mg, Vitamina E (acetat de DL-alfa-tocoferil- 10,00 mg, Acid pantotenic (D-pantotenat de calciu)- 15,00 mg, Acid folic (L-metilfolat de calciu)- 200,00 mkg, Vitamina C (acid L-ascorbic)- 100,00, lactoză monihidrat.

Producător/Deținătorul notificării: **Î.M. FARMACO S.R.L., mun. Chișinău, str. Vadul-lui-Vodă 2, Republica Moldova**

Este interzisă inscripționarea ambalajului/și sau prospectului produsului cu proprietăți de prevenire, tratare sau vindecare a unor boli sau să se facă referire la asemenea proprietăți.

Acest act devine nul în situația modificării compoziției și calității produsului.

Adjunctul medicului șef sanitar de stat al Republicii Moldova **Ion Bahnarel**

Ex.Nicolai Opopol 022574682

Acte de implementare a invenţiilor

Ministerul Sănătăţii al Republicii Moldova
Spitalul Clinic Republican pentru Copii
«EMILIAN COŢAGA»
MD 2009, Chişinău
str.V.Alecsandri nr.3
tel.72-77-76
nr. 176 din 16.11.12

ACT DE IMPLEMENTARE

Denumirea: Metodă de pronostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă

Autori: Ion Ababii, academician al AŞM, dr.hab., profesor universitar; Sergiu Parii, dr. med., conferenţiar cercetător; Anghelina Chiaburu, dr.med., conferenţiar universitar; Constantin Jucovschi.

Locul implementării: IMSP Spitalul Clinic Republican pentru Copii „Em.Coţaga", Centrul de Audiologie, protezare auditivă şi reabilitare medico-pedagogică.

Esenţa metodei aplicate în practică constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariţiei inconvenientelor protezării auditive la pacienţii ce suferă de surditate în baza datelor anamnestice şi investigaţiilor audiologice. Invenţia a fost brevetată (copia brevetului MD 291 Z se anexează). Problema pe care o rezolvă invenţia care este la bază constă în majorarea eficacităţii protezării auditive, datorită unei metode de pronostic a efectelor adverse la utilizărea protezelor auditive. Metodica propusă a fost verificată matematic la 73 pacienţi cu surditate neurosenzorială şi ulterior aplicată în activitatea de recuperare auditivă. Conform datelor obţinute metoda de pronosticare a eficacităţii protezării auditive permite depistarea certă a bolnavilor cu risc de evoluţie a inconvenientelor protezării auditive, facilitînd nu numai pronosticarea apariţiei acestora ci şi conduita ulterioară de reabilitare.

Vicedirector
dr.med., conferenţiar universitar **Tatiana Raba**

MINISTERUL SĂNĂTĂŢII AL REPUBLICII MOLDOVA
SPITALUL CLINIC REPUBLICAN PENTRU COPII "EM. COŢAGA"

"A P R O B"
Prorector pentru activitate științifică
al USMF "Nicolae Testemițanu"
dr.hab., profesor universitar
Viorel Prisacari
"16" noiembrie 2012

ACT

Cu privire la implementarea în procesul ştiinţifico-practic al Laboratorului Patologie ORL al Universităţii de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu"

Denumirea ofertei: **Metodă de pronostic al apariţiei efectelor adverse la protezarea auditivă**
Autorii ofertei: **Ion Ababii,** academician al AŞM, dr.hab., profesor universitar; **Sergiu Parii,** dr. med., conferenţiar cercetător; **Anghelina Chiaburu,** dr.med., conferenţiar universitar; **Constantin Jucovschi,** dr.mat.

Esenţa implementării constă în selectarea factorilor decisivi de pronosticare a apariţiei inconvenientelor protezării auditive la pacienţii ce suferă de surditate în baza datelor anamnestice şi investigaţiilor audiometrice precum vârsta pacientului, infecţiile suportate, evoluţia surdităţii, pragul auditiv, indicele de articulare. Rezultatele implementării constau în creşterea exactităţii pronosticării efectelor adverse ale protezării auditive la pacienţii cu surditate, datorită utilizării în metoda dată a parametrilor clinici şi anamnestici. Metoda propusă permite depistarea precoce a bolnavilor cu risc sporit de dezvoltare a inconvenientelor, fapt ce impune o atenţie majoră pentru categoria respectivă de pacienţi cu corijare a programului de tratament, selectare a protezelor auditive şi reabilitare.

Şef Laborator
dr.hab., profesor universitar **Mihail Maniuc**

ACT DE IMPLEMENTARE

în activitatea medicală a invenției

Denumirea: Utilizarea extractului din biomasa tulpinei cianobacteriei *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacienților cu hipoacuzie neurosenzorială. Brevet nr MD 4277 din 2014.10.27.

Autori: Sergiu Parii, dr. șt. med., conferenţiar cercetător; Valeriu Rudic, academician al AŞM, dr.hab.șt.med., profesor universitar;

Locul implementării: „Cercetări Medicale Private", mun. Chișinău, str.Calea Ieșilor,8.

Anul implementarii: 2016

Esența implementarii invenţiei constă în aceea că pentru tratamentul bolnavilor cu hipoacuzie neurosenzorială se administrează preparatul medicamentos BioR capsule 5 mg, cîte 1 capsulă de 2 ori pe zi înainte de mese timp de 20 zile.

Rezultatul constă în obţinerea unui scor mai înalt de terapie medicamentoasă la pacienţii cu hipoacuzie neurosenzorială. Metoda a fost implementata în activitatea practică a serviciului audiologie.

Eficacitatea implementarii: constă în aceea că preparatul propus contribuie la majorarea eficacităţii tratamentului maladiilor neurosenzoriale analizatorului auditiv.

Director **Alexandr Musteața**

ACT DE IMPLEMENTARE

în activitatea medicală a invenției

Denumirea: Metodă de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală, (brevet nr MD 792 Z din 2014.09.30).

Autori: Sergiu Parii, dr. șt.med., conferențiar cercetător; Constantin Jucovschi.

Locul implementării: „Cercetari Medicale Private", mun. Chișinau, str.Calea Ieșilor,8.

Anul implementarii: 2016

Esența implementarii inventiei consta în selectarea criteriilor de pronostic a scorului maxim de inteligibilitate vocală în baza datelor anamnestice, clinice și audiometrice.

Rezultatul constă în majorarea eficacitatii diagnosticului audiologic prin metoda mai efectivă și operativă. Metoda a fost implementată în activitatea medicală a serviciului audiologie.

Eficacitatea implementarii: Obiectivizarea pronosticării scorului maxim de inteligibilitate vocală. Metoda propusă permite diagnosticul în lipsa testelor de audiometrie vocală, fapt important în reabilitarea electro-acustică și încardrarea în societate a persoanelor cu handicap auditiv.

Director **Alexandr Musteața**

Acte de implementare a inovațiilor

"A P R O B"
Prorector pentru activitate științifică
al USMF "Nicolae Testemițanu"
dr.hab., profesor universitar
membru-corespondent al AȘM
_____Viorel Prisacari
"__" _____2013

ACT
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)

Denumirea ofertei: Metodă de tratament al acufenelor la pacienții cu surditate neurosenzorială

Autorii ofertei: Valeriu Rudic, dr.hab., profesor universitar, academician al AȘM , Sergiu Parii, dr. med., conferențiar cercetător.

Sursa de informație: Prezenta propunere/metodă este elaborată la Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, și se bazează pe un lot de studiu de 20 pacienți ce suferă de surditate neurosenzorială și acufene.

Locul implementării: USMF „Nicolae Testemițanu", Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor

Eficacitatea implementării: Semnificația științifică a implementării metodei propuse în procesul științifico-practic constă în includerea a protocolului de tratament al acufenelor la bolnavii cu surditate neurosenzorială în calitate de remediu antioxidant a preparatului medicamentos BioR.

Obiecții/ propuneri: Valoarea aplicativă a metodei o constitute îmbunătățirea calității și micșorarea timpului necesar pentru investigația pacienților care necesită protezare auditivă.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație, certificată cu nr. 5207

Șef cadedră/laborator (unde este implementată propunerea)	**Semnătura**	**Numele pronumele**
Șef CȘDM dr.hab., profesor universitar,		**Vladimir Valica**
Șef Secție Inovare, Marketing și transfer tehnologic		**Eugenia Groza**

"A P R O B"
Prorector pentru activitate științifică
al USMF "Nicolae Testemițanu"
dr.hab., profesor universitar
membru-corespondent al AȘM
Viorel Prisacari
"__" _____ 2013

ACT

DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI

(în procesul științifico-practic)

Denumirea ofertei: PROTOCOL DE EVALUARE A ACUFENELOR LA PACIENȚII CU SURDITATE NEUROSENZORIALĂ

Autorul ofertei: Sergiu Parii, dr. med., conferențiar cercetător.

Sursa de informație: Prezenta propunere/metodă este elaborată la Centrul Științific în Domeniul Medicamentului

Locul implementării: USMF „Nicolae Testemițanu", Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, Laboratorul evaluare preclinică și clinică a medicamentelor

Eficacitatea implementării: Semnificația implementării metodei propuse în procesul științifico-practic constă în majorarea calității asistenței de reabilitare la pacienții cu tinnitus prin includerea în protocolul de evaluare a noilor metode de investigații (spectrul diapazonului dinamic al auzului, statusului microelementelor), și de recuperare (farmacoterapie)

Obiecții/ propuneri: Valoarea aplicativă a metodei o constitute îmbunătățirea calității și micșorarea timpului necesar pentru investigația pacienților care necesită protezare auditivă.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație, certificată cu nr. 5221

Șef cadedră/laborator (unde este implementată propunerea)	**Semnătura**	**Numele pronumele**
Șef CȘDM dr.hab., profesor universitar,		**Vladimir Valica**
Șef Secție Inovare, Marketing și transfer tehnologic		**Eugenia Groza**

APROB
Director al IMSP Spitalul Clinic
Municipal „Sf.Treime”
dr.șt.med., conf.cercet. Oleg Crudu
„____ _____ 2020

ACT DE IMPLEMENTARE

în lucrul curativ-profilactic al secției otorinolaringologie a Spitalului Clinic Municipal „Sf.Treime” a rezultatelor cercetărilor științifice ale conferențiarului cercetător Parii Sergiu, șef Laborator de evaluare preclinică și clinică a medicamentului, Centrul Științific al Medicamentului, USMF ”Nicolae Testemițanu”

1. *Denumirea ofertei pentru implementare*: Determinarea scorului maxim de inteligibilitate vocală.
2. *Autorul ofertei*: Parii Sergiu, dr.șt.med., conferențiar cercetător, șef laborator, Centrul Științific al Medicamentului, USMF ”Nicolae Testemițanu”
3. *Surse de informație*:
   - Parii S. Surditatea și tratamentul medicamentos. *Monografie.* Chișinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina.* pp. 19-20.
   - Metodă de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală. Brevet de invenție MD 792 Z din 2014.09.30.
4. *Locul și timpul implementării*: Secția Otorinolaringologie în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării*: Comisia în componența șefului Clinicii ORL „Sf.Treime” dr.șt.med., conferențiar universitar Cabac Vasile și medicul secției Otorinolaringologie Popov Alexandru confirmă, că datele clinice despre metoda de determinare al scorului maxim de inteligibilitate vocală la pacienții cu deficiență auditivă sunt binevenite și raționale pentru includerea în diagnosticul afecțiunilor analizatorului auditiv.
6. *Obiecții și propuneri*: nu sunt.

Șef clinică ORL
dr.șt.med., conf. univ. Cabac Vasile

Medic ORL Popov Alexandru

APROB
Directorul IMSP Spitalul Clinic
Municipal "Sf.Treime"
dr.șt.med., conf.cercet. Oleg Crudu
„____" _____ 2020

ACT DE IMPLEMENTARE

în lucrul curativ-profilactic al secției otorinolaringologie a Spitalului Clinic Municipal „Sf.Treime" a rezultatelor cercetărilor științifice a conferențiarului cercetător Parii Sergiu, șef Laborator de evaluare preclinică și clinică a medicamentului al Centrului Științific al Medicamentului, USMF "Nicolae Testemițanu"

1. *Denumirea ofertei pentru implementare*: Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă.
2. *Autorul ofertei*: Parii Sergiu, dr.șt.med., conferențiar cercetător, șef laborator, Centrul Științific al Medicamentului al USMF "Nicolae Testemițanu"
3. *Surse de informație*:
   - Parii S. Surditatea și tratamentul medicamentos. *Monografie.* Chișinău, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*. pp. 19-20.
   - Metodă de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă. Brevet de invenție MD 291 Z din 2011.07.16.
4. *Locul și timpul implementării*: Secția Otorinolaringologie în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării*: Comisia în componența șefului Clinicii ORL "Sf.Treime" dr.șt.med., conferențiar universitar Cabac Vasile și medicul secției Otorinolaringologie Popov Alexandru confirmă, că datele clinice despre metoda de prognostic al apariției efectelor adverse la protezarea auditivă la bolnavii cu hipoacuzie sunt binevenite și raționale pentru includerea în procesul de recuperare auditivă.
6. *Obiecții și propuneri*: nu sunt.

Șef clinică ORL
dr.șt.med., conf. univ. Cabac Vasile

Medic ORL Popov Alexandru

APROB

Rector al USMF „Nicolae Testemițanu”

_____ Emil Ceban,

profesor universitar, dr. hab. șt. med.

ACT DE IMPLEMENTARE

în procesul ştiinţifico-didactic, a rezultatelor cercetărilor ştiinţifice ale conferenţiarului cercetător **Parii Sergiu**, cercetător ştiinţific coordonator, Centrul Ştiinţific al Medicamentului, USMF „Nicolae Testemiţanu”:

1. *Denumirea ofertei pentru implementare*: Elaborarea picăturilor auriculare cu conţinut de ciprofloxacină clorhidrat şi ulei volatil de busuioc.
2. *Autorii ofertei*: Uncu Livia, dr. şt. farm., conferenţiar universitar; Parii Sergiu, dr. şt. med., conferenţiar cercetător.
3. *Surse de informaţie*:
   - **S.Parii,** L.Uncu, V.Valica, E.Nicolai, M.Maniuc. Elaborarea şi evaluarea toxicităţii acute a unui nou produs medicamentos pentru tratamentul otitelor. În: *„Revista Medico-Chirurgicală a Societăţii de medici şi naturalişti din Iaşi”*, România, 2016, vol. 120, nr.2/supl. 1, p. 61-69.
   - L.Uncu, T.Goncear, E.Nicolai, O.Vislouh, **S.Parii.** Evaluarea calitativa a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele Conferinţei ştiinţifice cu participare internaţională* „Farmacia etică: istorie, realităţi si perspective” dedicată memoriei acad. Vasile Procopişin şi a conf. Nadejda Ciobanu. Chişinău, 2018, p.172-173.
   - L. Uncu, E. Donici, V. Valica, O. Vîslouh, V. Gonciar, **S. Parii.** Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova*. Chisinau. 2019, nr. 2(14). ISSN:1857-1727. doi: 10.19261/cjm.2019.607 **(IF: 0,52)**
4. *Locul şi timpul implementării*: Catedra de chimie farmaceutică şi toxicologică a USMF „Nicolae Testemiţanu” în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării*: Comisia, în componenţa şefului Catedrei de chimie farmaceutică şi toxicologică din cadrul USMF „Nicolae Testemiţanu”, dr. hab. şt. farm., profesor universitar, Valica Vladimir şi conferenţiarul universitar, Treapiţina Tatiana, confirmă, că datele ştiinţifice experimentale obţinute în procesul de elaborare, analiză şi standardizare a picăturilor auriculare cu conţinut de clorhidrat de ciprofloxacină şi ulei volatil de busuioc sunt valoroase, originale, fiind binevenite şi raţionale pentru a fi incluse în curriculele disciplinelor de la catedră pentru instruirea didactică a studenţilor Facultăţii de Farmacie şi a rezidenţilor la specialitatea ”Farmacie analitică”. Totodată aceste rezultate pot servi ca premise pentru noi cercetări farmaceutice şi clinice, cu includerea produsului medicamentos combinat elaborat sub formă de picături auriculare în farmacoterapia maladiilor inflamatorii ale urechii.
6. *Obiecţii şi propuneri*: nu sunt.

Şef catedră, Catedra de chimie farmaceutică şi toxicologică
dr. hab. şt. farm., profesor universitar Valica Vladimir

Şef de studii, Catedra de chimie farmaceutică şi toxicologică
dr. şt. farm., conferenţiar universitar Treapiţina Tatiana

APROB
Rector al USMF „Nicolae Testemițanu"
Emil Ceban,
profesor universitar, dr. hab. șt. med.

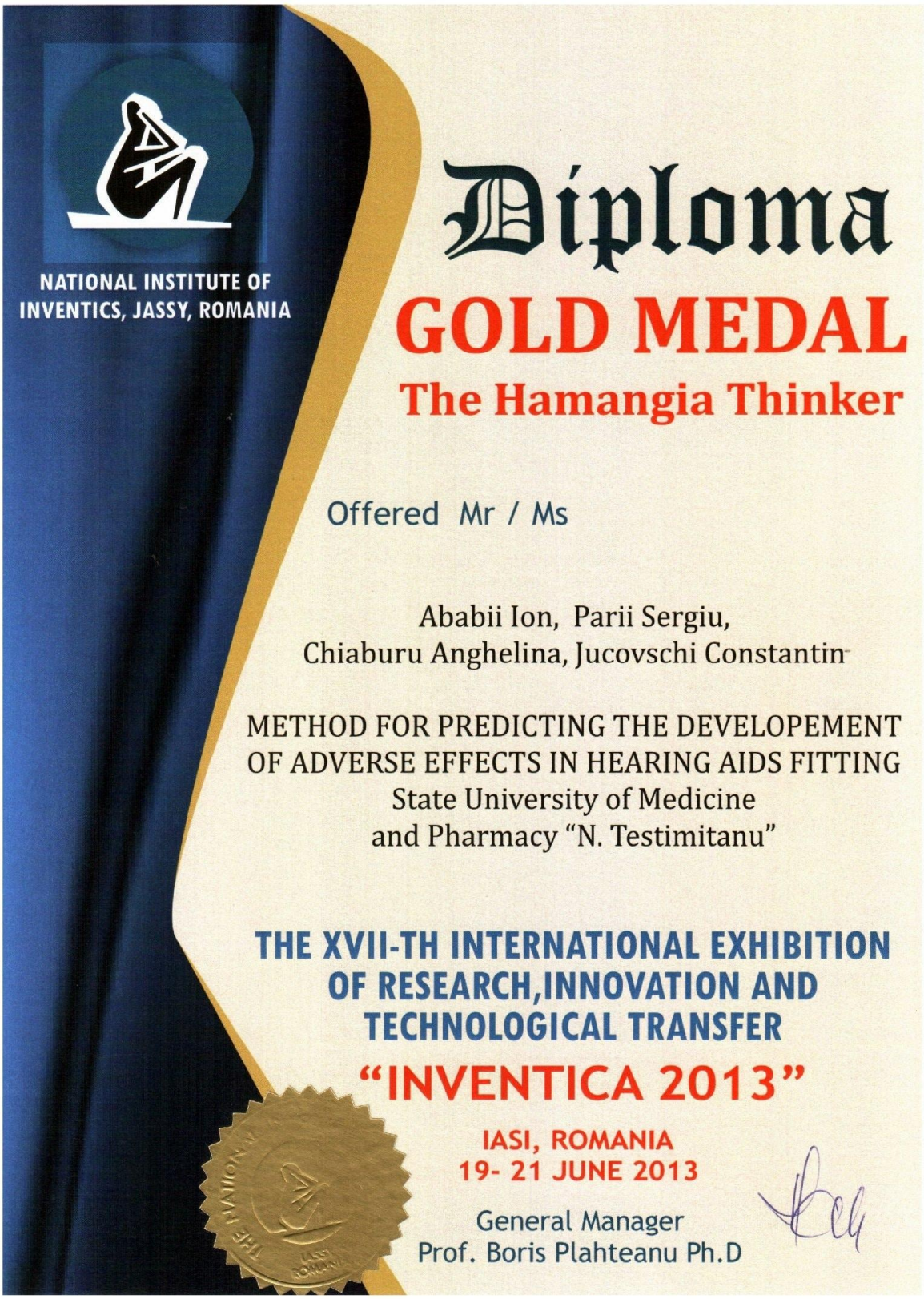
ACT DE IMPLEMENTARE

în procesul științifico-practic, a rezultatelor cercetărilor științifice ale conferențiarului cercetător **Parii Sergiu**, cercetător științific coordonator, Centrul Științific al Medicamentului, USMF "Nicolae Testemițanu":

1. *Denumirea ofertei pentru implementare*: Genotiparea mutației 35delG/rs80338939 în gena GJB2 prin tehnica TaqMan Real Time PCR.
2. *Autorii ofertei:* Curocichin Ghenadie, dr. hab. șt. med., profesor universitar; Buza Anastasia, cercetător științific; Parii Sergiu, dr. șt. med., conferențiar cercetător; Chiaburu-Chiosa Doina, dr. șt. med., asistent universitar; Levițchi Alexei, dr. șt. biol.; Abdușa-Galea Daniela, dr. șt. biol.; Butovscaia Cristina, cercetător științific; Maniuc Mihail, dr. hab. șt. med., profesor universitar.
3. *Surse de informație*:
   - **S.Parii**. Hipoacuzia neurosenzorială genetică: particularităţi clinice şi aspecte diagnostice. În: „Curierul Medical". Chişinău, 2012, nr. 4, p. 50-53.
   - A.Buza, A.Levitchi, **S.Parii,** A.Chiaburu, Gh.Curocichin. Molecular genetic profile of nonsyndromic sensorineural hearing loss. În: Volum rezumate Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare"– Ediția a-XVI-a. Iași, Romania, 2018, pag. 89-90.
   - L.Radulescu, Gh.Curocichin, A.Buza, **S.Parii,** T.Meriacre, D.Chiaburu-Chiosa, C.Butnaru, R.Birkenhager, C.Martu. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: „Revista de Chimie". Bucuresti, Romania, 2018, vol.69, nr.8, p. 2273-2277. (IF: 1,41)
4. *Locul și timpul implementării*: Laboratorul de genetică a USMF „Nicolae Testemițanu" în anul 2020.
5. *Rezultatele implementării*: Comisia, în componența cercetătorului științific coordonator al Laboratorului de genetică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu, dr. șt. biol., conferențiar universitar, Popescu Victor și cercetătorul științific Olșanscaia Melania, confirmă că datele științifice experimentale despre determinarea mutației 35delG în gena GJB2 pentru stabilirea surdității neurosenzoriale nonsindromice sunt binevenite și raționale pentru cercetarea genetică, instruirea didactică a studenților și rezidenților, precum și în diagnosticul genetic în cadrul laboratoarelor medicale.
6. *Obiecții și propuneri*: nu sunt.

Cercetător științific coordonator, Laboratorul de genetică
dr. șt. biol., conferențiar universitar — Popescu Victor

Cercetător științific, Laboratorul de genetică — Olșanscaia Melania


NATIONAL INSTITUTE OF
INVENTICS, JASSY, ROMANIA
Diploma
GOLD MEDAL
The Hamangia Thinker
Offered Mr / Ms
Ababii Ion, Parii Sergiu,
Chiaburu Anghelina, Jucovschi Constantin
METHOD FOR PREDICTING THE DEVELOPEMENT
OF ADVERSE EFFECTS IN HEARING AIDS FITTING
State University of Medicine
and Pharmacy "N. Testimitanu"
THE XVII-TH INTERNATIONAL EXHIBITION
OF RESEARCH,INNOVATION AND
TECHNOLOGICAL TRANSFER
"INVENTICA 2013"
IASI, ROMANIA
19- 21 JUNE 2013
General Manager
Prof. Boris Plahteanu Ph.D

EURO INVENT
EUROPEAN EXHIBITION OF CREATIVITY AND INNOVATION
EXPOZIȚIA EUROPEANĂ A CREATIVITĂȚII ȘI INOVĂRII

IAȘI - ROMÂNIA

DIPLOMA

Treatment of patients with sensorineural deafness using extract of Spirulina platensis (Nordst.) Geitl., CNMN-CB-02 cyanobacterium biomass

RUDIC Valeriu, PARII Sergiu, CABAC Vasile, CHIRIAC Tatiana

SILVER MEDAL

President of International Jury
Dr.Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

President of Exhibition
Prof. Ion SANDU

EUROINVENT 2014

24 May 2014

UNIVERSITATEA TEHNICA DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI NAȚIONALE și
ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ

PRO INVENT **ediția a XII-a**, 2014, Cluj-Napoca, România

DIPLOMA

DE EXCELENŢĂ şi MEDALIA DE AUR

Se acordă: Ababii Ion, academician ASM, profesor universitar, doctor habilitat în medicină; Parii Sergiu, doctor în medicină, conferenţiar cercetător; Chiaburu Anghelina, doctor în medicină, conferenţiar universitar; Jucovschi Constantin, doctor în matematică

Pentru: METODĂ DE PRONOSTIC AL APARIŢIEI EFECTELOR ADVERSE LA PROTEZAREA AUDITIVĂ

PREȘEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU
Rector al
Universitații Tehnice din Cluj-Napoca

PREȘEDINTELE JURIULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

DIPLOMĂ

se acordă

UNIVERSITĂȚII DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA

Utilizarea extractului din biomasa cianobacteriei Spirulina platensis (Nordst) Geitl CNMN-CB-02 pentru tratamentul pacientilor cu hipoacuzie neurosenzorială

Autori

Rudic V., Parii S., Cabac V., Chiriac T.

cu ocazia celei de a 16-a editii a

SALONULUI DE INVENȚII ȘI INOVAȚII

INVENTIKA

15 - 18 OCTOMBRIE 2014 | București, România

MEDALIA DE BRONZ

Mihnea COSTOIU
Ministru delegat

MINISTERUL EDUCAȚIEI NAȚIONALE

Cătălin TRIFU
Director General

ROMEXPO S.A.

AGEPI AGENȚIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELECTUALĂ A REPUBLICII MOLDOVA

Ediția a XIV-a

EIS "INFOINVENT"

DIPLOMĂ

MEDALIA DE BRONZ

se acordă

PARII SERGIU, RUDIC VALERIU, CABAC VASILE, VALICA VLADIMIR, CHIRIAC TATIANA

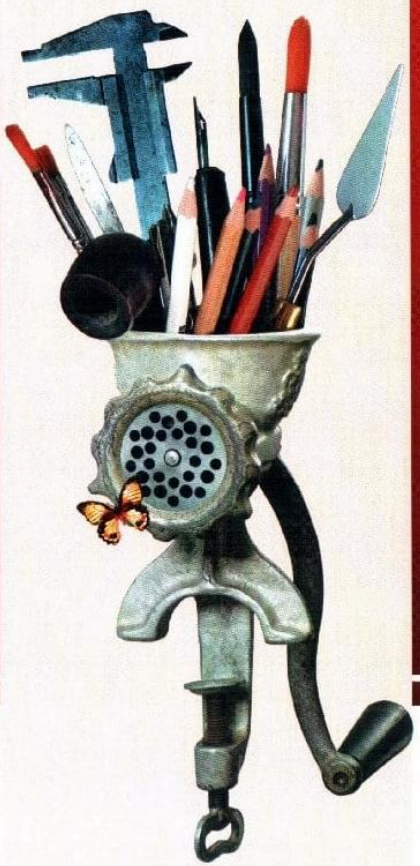
pentru

METODĂ DE TRATAMENT MEDICAMENTOS AL AFECȚIUNILOR ANALIZATORULUI AUDITIV

PREȘEDINTELE COMITETULUI ORGANIZATORIC

PREȘEDINTELE JURIULUI INTERNAȚIONAL

25-28 noiembrie 2015, Chișinău, Republica Moldova



UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAŢIEI ŞI CERCETĂRII ŞTIINŢIFICE
şi ACADEMIEI DE ŞTIINŢE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAŢIONAL DE INVENTICĂ

PRO INVENT, Ediţia a XIII-a, 2015, Cluj-Napoca,România

DIPLOMA

DE EXCELENŢĂ
ŞI MEDALIA DE AUR CU MENŢIUNE SPECIALĂ

Se acordă **SERGIU PARII, JUCOVSCHI CONSTANTIN**

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINA SI FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU"
REPUBLICA MOLDOVA

Pentru METODA DE DETERMINARE AL SCORULUI MAXIM DE INTELIGIBILITATE VOCALA

PREŞEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU
Rector al
Universităţii Tehnice din Cluj-Napoca

PREŞEDINTELE JURIULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

EURO INVENT
EUROPEAN EXHIBITION OF CREATIVITY AND INNOVATION
EXPOZIȚIA EUROPEANĂ A CREATIVITĂȚII ȘI INOVĂRII

IAȘI - ROMÂNIA

DIPLOMA

New methods for audiology diagnosis, predicting the hearing instrument care and pharmacological treatment in ear disorders

PARII Sergiu, RUDIC Valeriu, MANIUC Mihail, VALICA Vladimir, UNCU Livia, ABABII Polina, NICOLAI Eugeniu, JUCOVSCHI Constantin

GOLD MEDAL

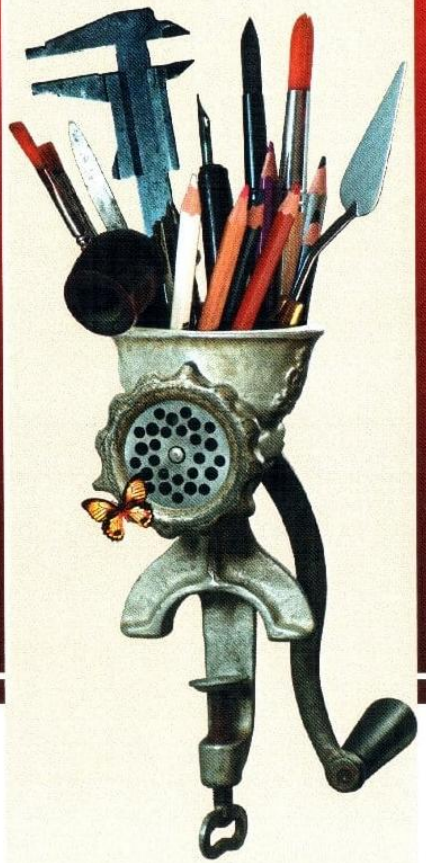
President of International Jury
Dr.Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

President of Exhibition
Prof. Ion SANDU

IFIA
INTERNATIONAL FEDERATION OF INVENTORS' ASSOCIATIONS

EUROINVENT 2016

May 21, 2016



UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI NAȚIONALE ŞI CERCETĂRII ŞTIINȚIFICE
şi ACADEMIEI DE ŞTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ

PRO INVENT, Ediția a XIV-a, 2016, Cluj-Napoca, România

DIPLOMA

DE EXCELENȚĂ
ŞI MEDALIA DE AUR CU MENȚIUNE SPECIALĂ

Se acordă: Parii S, Rudic V, Maniuc M, Valica V, Oncu L, Agabii P, Nicolai E, Jucovschi C.

Pentru: New method of audiology diagnosis, predicting hearing aids effectiveness an drug treatment in ear desorders

PREŞEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. VASILE ȚOPA
Rector al
Universității Tehnice din Cluj-Napoca

PREŞEDINTELE JURIULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

Acordată la Salonul INVENTICA, Iaşi 2016

NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS,
IASI, ROMANIA

Diploma

GOLD MEDAL
INVENTICA 2016

Offered to Mr / Ms

PARII SERGIU, RUDIC VALERIU, MANIUC MIHAIL, VALICA VLADIMIR, UNCU LIVIA, ABABII POLINA, NICOLAI EUGENIU, JUCOVSCHI CONSTANTIN

NEW METHODS OF AUDIOLOGY DIAGNOSIS, PREDICTING HEARING AIDS EFFECTIVENESS AND DRUG TREATMENT IN EAR DISORDERS

in recognition of high scientific contribution and loyalty to the XX-th International Salon of Research, Innovation and Technological Transfer

INVENTICA 2016

Iasi, Romania,
June 29 -July 01, 2016.

PRESIDENT
INVENTICA 2016
Prof. Boris PLAHTEANU PhD

GENERAL MANAGER
NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS
Prof. Neculai SEGHEDIN PhD

43. HRVATSKI SALON INOVACIJA
S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM

14. IZLOŽBA INOVACIJA, PROTOTIPOVA I
STUDENTSKIH POSLOVNIH PLANOVA

43TH INTERNATIONAL INVENTION SHOW

*14TH INVENTION AND PROTOTYPE SHOW AND
STUDENT BUSINESS PLAN COMPETITION*

enterprise europe network

budi uzor inova

GOLD

**MANIUC Mihail, VALICA Vladimir, PARII Sergiu,
UNCU Livia, ABABII Polina,
NICOLAI Eugeniu, STEFARTA Roman**

Republic of Moldova

***MEDICINAL PREPARATION FOR TREATMENT
OF OTITIS***

ZAGREB, CROATIA, November 14-17, 2018

Međunarodni ocjenjivački sud
International Jury
Predsjednik/*President*
Andrej Škrinjar, mr.sc.
Andrej Škrinjar

CROATIAN INVENTORS NETWORK SIM ZAGREB

Savez hrvatskih inovatora
Croatian inventors network
Predsjednica/*President*
Ljiljana Pedišić, mag.ing.cheming.

inova - budi uzor zagreb croatia

"GHEORGHE ASACHI"
TEHNICAL UNIVERSITY, IAŞI
NATIONAL INSTITUTE
OF INVENTICS, IAŞI
Diploma of Excellence
MEDAL INVENTICA 2020
Offered to
PARII SERGIU, GONCIAR VEACESLAV, CUROCICHIN GHENADIE,
UNCU LIVIA, BUZA ANASTASIA, NICOLAI EUGENIU, VALICA VLADIMIR
„Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy
IMPROVEMENT OF DIAGNOSIS AND
PHARMACOTHERAPY OF THE EAR DISORDERS 26.14.11.2016
in recognition of high scientific contribution and loyalty to
the XXIV-th INTERNATIONAL EXHIBITION OF INVENTICS
INVENTICA 2020
Iasi, Romania
29-31 July 2020
GENERAL MANAGER
NATIONAL INSTITUTE OF INVENTICS
Prof. Neculai SEGHEDIN PhD

EXPOZIŢIA NAŢIONALĂ
SUB PATRONAJUL GUVERNULUI REPUBLICII MOLDOVA

FABRICAT ÎN MOLDOVA
2014

DIPLOMĂ

SE DECERNEAZĂ
PARTICIPANTULUI LA EXPOZIŢIE

Domnului dr. Sergiu PARII şi coautorii

GHEORGHE CUCU

PREŞEDINTELE
CAMEREI DE COMERŢ ŞI INDUSTRIE
A REPUBLICII MOLDOVA

29 ianuarie - 02 februarie 2014
• CHIŞINĂU •

DIPLOMĂ

Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie "Nicolae Testemiţanu"

acordă

Dlui *Sergiu PARII*

Cu ocazia Zilei Inventatorului şi Raţionalizatorului pentru rezultate remarcabile în activitatea inovativ-inventivă

Rector **Ion ABABII**

28 iunie 2012, Chişinău

Republica Moldova

UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
GRIGORE T. POPA IAȘI

CLINICA O.R.L
A SPITALULUI CLINIC DE RECUPERARE
IAȘI

DIPLOMĂ DE EXCELENȚĂ

Se acorda doamnei/ domnului

Conf. Univ. Dr. Sergiu PARII

în semn de apreciere și recunoaștere a competenței și inițiativei în sprijinirea
CONFERINȚEI ZILELE SPITALULUI CLINIC DE RECUPERARE IAȘI

Ediția a XVI-a
12-17 martie 2018

Coordonator Program,
Luminița RĂDULESCU

ASOCIAȚIA DE ALGEZIOLOGIE AAR DIN ROMÂNIA

Societatea de Științe Farmaceutice din România

DIPLOMĂ

Se acordă ~~D-nei~~/D-lui

SERGIU PARII

pentru participarea la lucrările Conferinței Naționale

"Medicamentul de la idee la clinică", sub egida **"Zilele Medicamentului",**

ediția a XXVII-a, 10 - 12 octombrie 2019,

Congress Hall - Centrul de Evenimente Palas, Iași, în calitate de

LECTOR INVITAT.

Președinte Conferință,

Prof. Univ. Dr. Veronica Bild

DECLARAŢIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnatul, Parii Sergiu, declar pe proprie răspundere că materialele prezentate în teza de doctorat se referă la propriile activităţi şi realizări, în caz contrar urmând să suport consecinţele, în conformitate cu legislaţia în vigoare.

Parii Sergiu
Data 24.08.2019

Declaration on accountability

I declare the personal responsibility that information presented in this thesis are the result of my own research and scientific achievements. I realize that, otherwise, will suffer the consequences in accordance with law.

Parii Sergiu
Data 24.08.2019

INFORMAŢII PERSONALE

Parii Sergiu

str. O.Ghibu 1, ap.111, cod poştal MD-2051, mun. Chișinau, Republica Moldova
0-22-205-239 +373-69616999
sergiu.parii@usmf.md

Sexul Masculin | Data naşterii 22/10/1974 | Naţionalitatea Republica Moldova

TITLUL ȘTIINȚIFIC

Doctor în științe medicale (2004), conferențiar cercetător (2011). IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”,

CATEGORIA MEDICALĂ

Medic ORL-audiolog, categorie superioară (2007)

EXPERIENŢA PROFESIONALĂ

2010 - prezent

Șef laborator/ cercetător științific coordonator
Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor
Centrul Științific al Medicamentului, USMF “Nicolae Testemiţanu”
Domeniul de activitate: farmacologie și farmacologie clinică,
Tipul sau sectorul de activitate: management studii preclinice și studii clinice, cercetare

2011 – 2020

Medic ORL-audiolog
Spitalul privat „Medpark International Hospital”, Chisinau
Tipul sau sectorul de activitate: practică medicală

2015 - prezent

Lector
Școala Doctorală, USMF ”Nicolae Testemițanu”, modul Bunele Practici de Laborator/Bunele Practici în Studiul Clinic (GLP/GCP)
- elaborarea materialelor didactice pentru doctoranzii anului I-II
- instruirea doctoranzilor Tipul sau sectorul de activitate: didactic

2020 - prezent

Medic ORL-audiolog
AMT-Centru, Chișinău
Tipul sau sectorul de activitate: practică medicală

2004 - 2010

Asistent universitar
USMF “Nicolae Testemiţanu”, catedra Otorinolaringologie
- instruirea studenților
Tipul sau sectorul de activitate: didactic şi de cercetare

2002 - 2009

Medic ORL-audiolog
Centrul republican funcţional de audiologie, protezare auditivă şi reabilitare medico-pedagogică din cadrul IMSP Spitalul Clinic Republican pentru Copii “Emilian Coţaga” al MS RM.

© Uniunea Europeană, 2002-2013 | http://europass.cedefop.europa.eu

Tipul sau sectorul de activitate: practică medicală

EDUCAŢIE ŞI FORMARE

2018-2019 **Curs de perfecționare**
„Metodologia cercetării clinice". Organizator: Universitatea de medicină și farmacie "Gr.T. Popa", Iași, România. Desfășurare: USMF "Nicolae Testemițanu", Chișinău
- Perfecționarea cunoștințelor în domeniul studiului clinic

2012-2013 **Curs de perfecționare**
- Curs acreditat de technician acustician-audioprotezist- Asociatia pentru studiul Auzului, Clinica Urechii, Bucuresti, Romania

Decembrie 2011 **Training practic în cercetare**
- Delbruck Center for Molecular Medicine (Berlin, Germany)
- Necropsia animalelor de laborator, procesarea țesuturilor;
- Interpretarea rezultatelor farmacologice experimentale preclinice.

Februarie 2008 **Curs de Farmacologie**
USMF "Nicolae Testemiţanu", catedra Farmacologie și farmacologie clinică
- Competențe în domeniul farmacologiei clinice

2000 - 2003 **Doctorat** ISCED 8
Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie "Nicolae Testemiţanu"
- Diagnostic audiologic, tratament farmacologic, protezare auditivă la copii și adulți cu maladii ale urechii Colectarea anamnezei, prescripții pre- și post-operatorii pentru pacienții cu limfadenopatii;
- Teza: "Particularitățuile diagnosticului și selectării protezelor auditive la bolnavii cu surditate sensoroneurală" susținută în 2003

1997 - 1999 **Rezidenţiat** ISCED 7
- USMF "Nicolae Testemiţanu", Catedra de otorinolaringologie (bazele clinice: Spitalul Clinic Republican, SCRC "Em.Coțaga", Spitalul Municipal nr. 4)
- Competențe practice și teoretice în diagnosticarea și tratamentul maladiilor organelor din sfera ORL

1991 - 1997 **Medic generalist** ISCED 7
IP USMF "Nicolae Testemiţanu",
- Competențe practice și teoretice necesare medicului generalist

COMPETENTE PERSONALE

Limba maternă **Română, rusă**

Alte limbi străine cunoscute

	INTELEGERE		VORBIRE		SCRIERE
	Ascultare	Citire	Participare la conversaţie	Discurs oral	
Engleza	B2	B1	B1	A2	A2

Competenţe de comunicare	▪ bune competenţe de comunicare dobândite prin muncă didactică și managenială pe parcursul anilor 2002 – 2019.
Competenţe organizaţionale	▪ experiență organizatorică în coordonarea activității Laboratorului de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al CȘM (2010-2019);
Competenţe dobândite la locul de muncă	▪ otorinolaringologie-audiologie, farmacologie
Competenţe informatice	▪ o bună cunoaştere a instrumentelor Microsoft Office™(Word, Excel, Access, Power Point), Adobe Photoshop, statistica medicală.
Permis de conducere	▪ B

INFORMATII SUPLIMENTARE

Publicaţii

210 publicații, 130 în ultimii 5 ani, dintre care **1 monografie monoautor, 3 articole** în reviste de specialitate cotate **WoS și SCOPUS**, 3 lucrări în volume ale unor manifestări științifice internaționale indexate ISI, 7 articole în reviste din străinătate recunoscute, 60 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, **6 brevete** de invenții, 1 ghid, 3 recomandări metodice

1. **S.Parii.** Surditatea si tratamentul medicamentos. Chisinau, 2018. Centrul Editorial-Poligrafic Medicina. 136 p.
2. L.Radulescu, G.Curocichin, A.Buza, **S.Parii,** T.Meriacre, D.Chiaburu-Chiosa, C.Butnaru, R.Birkenhager, C.Martu. Efficiency of SNPs for the Detection of 35DelG Mutation in 50 Cases with Nonsyndromic Hearing Loss. In: „Revista de Chimie". Bucuresti, Romania, 2018, vol.69, nr.8, p. 2273-2277. **(IF 1,6)**
3. L. Uncu, E. Donici, V. Valica, O. Vîslouh, V. Gonciar, S. Parii. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova*. Chisinau. 2019, nr. 2(14). ISSN:1857-1727. doi: 10.19261/cjm.2019.607 **(IF: 0,52)**
4. Парий Б.И., Тодираш М.П., **Парий С.Б.,** Валика В.В., Руснак Л.Г., Унгуряну А.И., Головин П.Б. Гепатопротекторное и антиоксидантное действия многокомпонентного препарата Neamon-hepa при гепатите индуцированном четыреххлористным углеродом. В: журнал "Лекарственные препараты и рациональная фармакотерапия". Москва, Российская Федерация, 2013, № 2, стр. 34-42.
5. **S.Parii,** V.Josanu, M.Ciocanu. Screening-ul auditiv la nou-născuți. În: "Revista specializata ORL.ro". Bucureşti, Romania, nr. 19 (2/2013), p. 42-44. doi: 10.26416/Orl **(Index Copernicus)**
6. I.Ababii, **S.Parii,** A.Chiaburu, C.Jucovschi. Method for predicting the developement of adverse effects in hearing aids. In: *Europe PubMed Central (PMC) Repository*. Disponibil: https://europepmc.org/patents/PAT/MD291Y.
7. **S.Parii**, V.Rudic. Utilizarea extractului *Spirulina platensis* (Nordst) pentru tratamentul pacientilor cu hipoacuzie neurosenzoriala. În : Buletinul Oficial

de Proprietate Industrială. Chişinău, 2014, nr.03, p. 27. MD 4277 C1

Proiecte

Membru de echipă a **12 proiecte** în domeniul *Sănătății și biomedicinei:* 3 proiecte de cercetare instituționale aplicative (cercetător științific superior-2, coordonator -1); 3 proiecte naționale din cadrul Programelor de Stat (cercetător științific superior); 2 proiecte de inovere și transfer tehnologic (cercetător științific superior); 2 proiecte de cercetare bilaterale (Republica Moldova-Romania – 1 - cercetător științific coordonator, 1- director proiect); 1 proiect de cercetare bilateral R.Moldova-R.Belarusi (cercet. șt. superior); 1 proiect internațional de asistență medicală (medic). Cele mai relevante:

- „Deschiderea claselor integrative pentru copiii cu dereglări auditiv-verbale". "Every Child" (USA, UE) Filiala din Moldova în parteneriat cu Guvernul Republicii Moldova, 2011
- "Optimizarea tratamentului cu implant cochlear la copiii cu hipoacuzie senzorineurală autosomal recesivă nonsindromică cu mutații la nivelul genei GJB2". Proiect bilateral de cercetare in domeniul Sanatatii umane. UMF "Gr.T.Popa", Iasi, Romania USMF "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Republica Moldova, 2016-2018
- "Obținerea și cercetarea farmaceutică a derivaților de propiltiodiazolochinazolinonă cu proprietăți biofarmaceutice optimizate". Proiect bilateral de cercetare in domeniul Sanatate si biomedicină. USMF "Nicolae Testemitanu", si Chisinau, Republica Moldova. Universitatea de Stat de Medicină din Belarus 19.80013.80.07.08A/BL, 2018-2020
- "Cercetări complexe în domeniul elaborării şi implimentării de noi forme farmaceutice ale medicamentelor de origine vegetală şi obţinute prin sinteză". ASM/ANCD, USMF "N.Testemitanu"-Proiect institutional aplicativ 15.817.04.44A, 2015-2019

Stagieri

- Audiologie clinică și experimentală. Universitatea de Medicină "acad.I.P.Pavlov" St.Petersburg, Federația Rusă (2013)
- Farmacologie/GLP. Institutul Național de Farmacologie și Toxicologie. Kiev (2011);
- Audiologie. Institutul de Fono-Audiogie si Chirurgie Functionala ORL „D.Hociota". București, Romania (2002)
- Audiologie. Institutul Național de Otorinolaringologie "O.Kolomiicenco", Kiev, Ucraina (2001)

Cursuri

- "Regulile de Bună Practică Medicală GCP. Curs pentru investigatori si monitori, "Verum.edu.", București, Romania, 27 iunie – 10 iulie 2011
- „GCP requirements and their compliance at clinical trials in Ukraine", Course of International Foundation for Clinical Research, 29 -30 ianuarie 2011
- "Actualitati in farmacologia clinica", 01 noiembrie-01 decembrie 2010, USMF "N.Testemiţanu", catedra Farmacologie şi farmacologie clinică
- Training "Tehnici de analiza moleculara", Centrul de Biologie Moleculara, Universitatea ASM, Chișinău, 17-20 septembrie 2013
- Writing and management of innovation and technology transfer projects, Tallinn University of Technology, Estonia, 27-28

February, 2014;
- Curs de instruire: Sisteme de management pentru laboratoarele medicale ISO 15189 – auditori sisteme de management. Business Research Company, Mișcarea Română pentru Calitate. Bucuresti, Romania. Chișinău, 15-17 decembrie 2014
- Work-shop, partnering event: "Oportunitis for Horizon 2020", Estonian Genome Center. Tartu, Estonia, 3-5 decembry 2014
- Cursul: "Patologia echilibrului metode de investigatii si tratament", UMF "Gr.T.Popa", Spitalul Clinic de Recuperare, 19-21 septembrie 2014Seminarul de instruire:"Managementul maladiilor cronice". Proiect UE: Reteaua Est-Europeana de Excelenta CHRONEX-RD". 20-23 mai, 30-31 mai 2014

Apartenență la societăți

- Societatea ştiinţifico-practică a medicilor otorinolaringologi din RM (din 2001)
- Societăţii Române de Cercetare a Magnesiului (2009-2010)
- Societăţii Române de ORL Pediatrie (din 2010)
- Societatea ştiinţifico-practică a farmacologilor şi farmacologilor clinicieni din RM (din 2011)
- Societatea Română de Audiologie și Patologie a Comunicării (din 2016)
- Membru al Comisiei de distribuire a protezelor auditive a MS RM (2006-2008)
- Membru al Asociatiei Copiilor Surzi din Moldova, medic audioprotezist prin voluntariat (2013-2015)
- Membru al colegiului de redactie al revistei „Pharmacology and drug toxicology", Kiev, Ukraina (din 2013)
- Abilitat cu dreptul de conducător/consultant ştiinţific al tezelor de doctorat pe specialitatea 14.00.25 –Farmacologie, farmacologie clinica (din 2013)
- Membru al Comisiei de evaluare a activitatii laboratoarelor stiintifice ale IP USMF „Nicolae Testemitanu" (2014, 2020)
- Membru al grupului de lucru pentru elaborarea si implementarea Manualului Calitatii in unitatile de cercetare ale IP USMF „Nicolae Testemitanu" (2015-2016)
- Membru al Comitetului de Etica a Cercetarii al IP USMF „Nicolae Testemitanu" (2015-2020). *Vice presedinte* (2018-2020).
- Membru al Consiliului Facultatii Farmacie USMF ""Nicolae Testemitanu, (2017 – 2019)

Conferinţe 2001-prezent

Participant la peste **120 manifestari stiintifice** nationale si internationale (40 comunicări)

- Congres Naţional ORL. Iaşi, România. 22-25 septembrie 2010
- II Congres Asociaţiei farmacologilor clinicieni şi farmaciştilor din CSI. Moscova, F. Rusă, 20-21 octombie 2010
- XII International Magnesium Simposium. Iasi, Romania. 23-25 septembrie 2009
- IV Conferinţă Naţională cu participare internaţională. "Clinical trials of medicinal products". Kiev, Ukraina. 4-5 octombrie 2012.
- I Congres a Scoietăţii Române de ORL Pediatrie. Timişoara, România, 21-24 septembrie 2011.
- Congresul Român de ORL şi ChCF. Târgu-Mureş, România, 8-10

iunie, 2012

- A VIII-a Conferinţă Naţională de Bioetică din România. Cluj-Napoca, 13-16 septembrie 2012
- Conferinta "Conclusions of the 7-th Farmework Programme ". Tartu, Estonia, 03.12.2014
- Forumul National „Stiinta-Business", „Dezvoltarea mediului de afaceri prin inovatii". Chisinau, 10- 11 decembrie 2014.
- Final Conference CHRONEX-RD Project. Chisinau, 18-19 decembrie 2015.
- Conferinta Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Continuitate sau contradictie"– Ediţia a XIV-a. Iaşi, Romania, 22-25 martie 2016.
- Al II-lea Congres National de ORL Pediatrie. Iasi, Romania, 18-21 mai 2016
- Al XVI-lea Congres National de Farmacie. Bucuresti, Romania, 29 septembrie-01octombrie 2016.
- al XV-lea Congres European Balkanic "Implantul cohlear – noi solutii in recuperarea auditiva", Iasi, Romania, 19-21 octombrie 2017
- A 3-a Conferinta nationala a Asociatiei de medicină de Laborator din Romania. 5-7 iunie 2019, Iași
- I Congres National al Societății Române de Audiologie și Patologie a Comunicării, 12-14 septembrie 2019, Iași.
- Conferința Națională de Farmacie Clinică, ediția a III-a,"Farmacia Clinică în sec.XXI". Bucuresti, 19-21 septembrie 2019

Distincții

- ***Diploma*** *Cu ocazia Zilei Inventatorului şi Raţionalizatorului pentru rezultate remarcabile în activitatea inovativ-inventivă* 28 iunie 2012. USMF „NicolaeTestemiţanu"
- ***Diploma de onoare*** pntru merite deosebite in activitate. Chisnuau, 25 iunie 2015. USMF „NicolaeTestemiţanu"
- ***Diplomă de excelență*** în semn de apreciere și recunoaștere a competenței și inițiativei în sprijinirea Conferinţei Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Trecut, prezent și viitor în recuperare", ediţia a-XVI-a. 12-17 martie 2018, Iaşi, România.
- ***Diplomă de lector invitat.*** Conferința Națională Zilele Medicamentului - Medicamentul de la idee la clinica". Ediția a XXVI-a. Iasi, Romania. 10-12 octombrie 2019.
- **Medalii la saloanele internaționale de inventică**: aur-18, argint-4, bronz-4 (2013-2020);
- Topul inovațiilor, AGEPI/AȘM *Locul I sectia Sanatate si Biomedicina (2014).*