

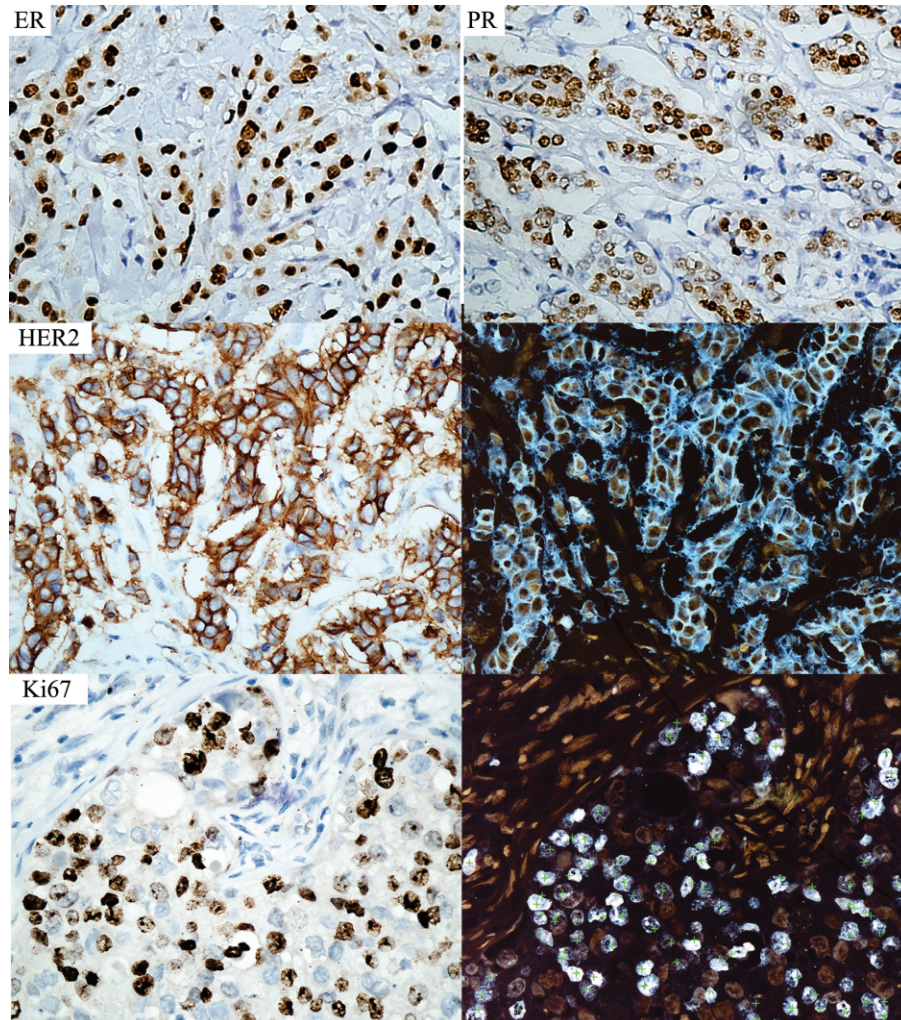
CONTENT HIGHLIGHTS

Veaceslav Fulga *et al.*

Invasive ductal breast carcinoma of no special type: does it have homogenous cell structure?

Gabriel M. Gurman

Closing the gap in Europe through education: a reverse mission



SUMAR

CONTENT

Editorial	Editorial
5 Doctorii de oameni, doctorii de Țară, sau misiunea inversă a unor „complici”	5 Doctors of the patients, doctors of the country, or the reverse mission of some „accomplice”
ARTICOLE DE CERCETARE	RESEARCH ARTICLES
Cristina Marcoci, Vitalie Lisnic, Mihail Gavriiliuc, Olesea Odainic, Marina Sangheli, Anna Belenciuc, Maurizio Leone, Maura Pugliatti	Cristina Marcoci, Vitalie Lisnic, Mihail Gavriiliuc, Olesea Odainic, Marina Sangheli, Anna Belenciuc, Maurizio Leone, Maura Pugliatti
8 Scleroza multiplă în Republica Moldova: studiu descriptiv de prevalență și evoluția manifestărilor clinice	8 Multiple sclerosis in the Republic of Moldova: a descriptive study of prevalence and evolution of clinical manifestations
Vitalii Ghicavii	Vitalii Ghicavii
19 Evaluarea comparativă a inciziei și rezecției transuretrale în cadrul tratamentului endoscopic al sclerozei de col vezical, sclerozei de prostată și hiperplaziei prostatice benigne: studiu retrospectiv, descriptiv, pe serie de cazuri	19 Comparative evaluation of transurethral incision and transurethral prostate resection in endoscopic treatment of bladder neck sclerosis, prostate sclerosis, and benign prostatic hyperplasia: retrospective, descriptive, case-series study
Veaceslav Fulga, Vitalie Mazuru, Valeriu David, Lucian Rudico, Lilian Șaptefrati	Veaceslav Fulga, Vitalie Mazuru, Valeriu David, Lucian Rudico, Lilian Șaptefrati
27 Carcinomul mamar ductal invaziv fără tip histologic special: posedă oare o structură celulară omogenă?	27 Invasive ductal breast carcinoma of no special type: does it have homogenous cell structure?
Oleg V. Lukianchuk, Larisa G. Rosha	Oleg V. Lukianchuk, Larisa G. Rosha
37 Corelația dintre examenul citomorfologic și cel patohistologic în displazia de col uterin	37 Correlation between cytomorphological and pathohistological examination in dysplasia of uterine cervix
OPINIA EXPERTULUI	EXPERT OPINION
Gabriel M. Gurman	Gabriel M. Gurman
44 Acoperim lapsus-ul în Europa prin educație: o misiune inversă	44 Closing the gap in Europe through education: a reverse mission
ARTICOL DE SINTEZĂ	REVIEW ARTICLE
Aurelia Spinei	Aurelia Spinei
61 Influența terapiei fotodinamice antimicrobiene asupra biofilmului cavității orale: revistă de literatură	61 Influence of antimicrobial photodynamic therapy upon oral biofilm: a review
IMAGINI DIN PRACTICA CLINICĂ	IMAGES FROM CLINICAL PRACTICE
Victor Botnaru, Oxana Munteanu, Dumitru Chesov	Victor Botnaru, Oxana Munteanu, Dumitru Chesov
82 Copacul înmugurit vestește nu doar primăvara	82 Tree in bud heralds not only the spring

SCRISOARE CĂTRE REDACȚIE		LETTER TO THE EDITOR
Paul Zilberman	86	Paul Zilberman
Anestezia cu flux redus, explicată simplu		Low flow anesthesia made simple
Lupu Lilia, Crețu Constantin, Ignat Rodica, Filimon Angela, Gavriiuc Alexandru, Curocichin Ghenadie	87	Lupu Lilia, Cretu Constantin, Ignat Rodica, Filimon Angela, Gavriiuc Alexandru, Curocichin Ghenadie
Frecvența înaltă a depresiei și anxietății la debutul studiilor universitare ale studenților-medici: studiu transversal		High frequency of depression and anxiety in medical students at the onset of university training: a cross-sectional study
Ghidul autorului	89	Guidelines for authors
Scrisoare de însoțire	98	Cover letter
Declarația autorilor	100	Authorship statement
Calendarul evenimentelor	102	Events calendar

Revista de Științe ale Sănătății din Moldova

Moldovan Journal of Health Sciences

Ediție bilingvă: română, engleză

Fondator:

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

Redactor-șef:

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

Colectivul redacției:

Liviu Belii, redactor stilist de limbă română

Viorica Cazac, redactor stilist de limbă engleză

Adresa redacției:

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

Founder:

Public Institution „Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy from Republic of Moldova

Redactor-in-chief:

Adrian Belii, PhD, university professor

Editorial staff:

Liviu Belii, Romanian redactor
Viorica Cazac, English redactor

Address of Editorial Office:

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

Editat: Tipografia „Sirius”

Tiraj: 300 ex.

Înregistrat la Ministerul Justiției cu nr. 250 din 01 august 2014

Editorial board

HONORARY MEMBERS

Ababii Ion, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

Ghidirim Gheorghe, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

Gudumac Eva, PhD, university professor, academician of ASM (Republic of Moldova)

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

Balica Ion, PhD, associate professor

Bendelic Eugen, PhD, university professor

Bețiu Mircea, PhD, associate professor

Botnaru Victor, PhD, university professor

Catereniuc Ilia, PhD, university professor

Cernețchi Olga, PhD, university professor

Ciobanu Gheorghe, PhD, university professor

Ciocanu Mihai, PhD, university professor

Ciubotaru Anatol, PhD, university professor

Corcimaru Ion, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Croitor Gheorghe, PhD, university professor

Curocichin Ghenadie, PhD, university professor

Gavriliuc Mihai, PhD, university professor

Ghicavăi Victor, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Gamma Rodica, PhD, MPH, associate professor

Groppa Liliana, PhD, university professor

Groppa Stanislav, PhD, university professor, academician of ASM

Gudumac Valentin, PhD, university professor

Guțu Eugen, PhD, university professor

Holban Tiberiu, PhD, university professor

Hotineanu Vladimir, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Lozan Oleg, PhD, MPH, university professor

Matcovschi Sergiu, PhD, university professor

Mereuță Ion, PhD, university professor

Nacu Anotolie, PhD, university professor

Opopol Nicolae, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Popescu Irinel, PhD, university professor

Popovici Mihai, PhD, university professor, academician of ASM

Prisacari Viorel, PhD, university professor, correspondent member of ASM

Revenco Valerian, PhD, university professor

Rojnoveanu Gheorghe, PhD, university professor

Rudic Valeriu, PhD, university professor, academician of ASM

Safta Vladimir, PhD, university professor

Știuca Svetlana, PhD, university professor

Țăbărnă Gheorghe, PhD, university professor, academician of ASM

Tagadiuc Olga, PhD, university professor

Tănase Adrian, PhD, university professor

Topalo Valentin, PhD, university professor

Țurcan Svetlana, PhD, associate professor

Valica Vladimir, PhD, university professor

Vorojbit Valentina, PhD, associate professor

Vovc Victor, PhD, university professor

Zota Ieremia, PhD, university professor, correspondent member of ASM

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Acalovschi Iurie, PhD, university professor (Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania)

Beuran Mircea, PhD, university professor (Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania)

Beydon Laurent, PhD, university professor (Faculty of Medicine, Angers University, Angers, France)

Bruil Sorin, PhD, university professor (Mayo Clinic, Jacksonville, Florida, USA)

Cebotari Serghei, PhD, researcher (Hanover Medical School, Hanover, Germany)

Kostin Sawa, PhD, university professor (Max Planck Institute for Heart and Lung Research, Giessen, Germany)

Grigoraș Ioana, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)

Gurman Gabriel, PhD, professor emeritus (Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel)

Lebedinsky Konstantin, PhD, university professor (Medical Academy of Postgraduate Studies, Sankt Petersburg, Russia)

Popa Florian, PhD, university professor (Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania)

Raica Marius, PhD, university professor (Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania)

Săndesc Dorel, PhD, university professor (Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania)

Tărcoveanu Eugen, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)

Tinică Grigore, PhD, university professor (Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania)

Todiraș Mihail, PhD, scientist (Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany)

Toma Vasilovski Ian, PhD, university professor (George Washington University Medical Center, Washington, USA)

Zaporozhan Valery, PhD, university professor, academician (Odessa National University of Medicine, Odessa, Ukraine)



ENTEROFURYL®

nifuroxazide

Derivat al 5-nitrofurului, preparat antibacterian cu spectrul larg de acțiune asupra majorității florei patogene intestinale (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus pyogenes*; de asemenea și enterobacteriile gram-negative: *E.coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*)

Enterofuril – acționează local (nu se absoarbe în circuitul sangvin sistemic), ceea ce permite atingerea unei concentrații înalte în lumenul intestinal.

Efect terapeutic înalt începînd cu primele ore de tratament, reduce diareea acută în 24-48 ore.

Practic este lipsit de reacții adverse, datorită acțiunii locale.

Nu contribuie la dezvoltarea coloniilor rezistente de microorganisme patogene.

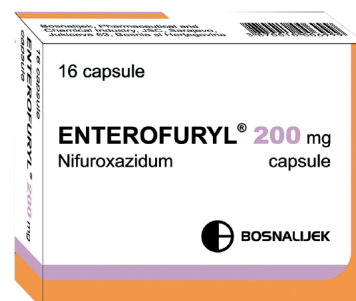
Comod pentru administrare pacienților: capsule (100mg; 200mg) pentru maturi și suspensie pentru copii de la 2 ani.



ALEGEREA EFICIENTĂ ȘI SIGURĂ LA TRATAREA DIAREEI ACUTE

Indicat în:

- Diarei, provocate de infecții alimentare și intoxicații la copii și maturi, îndeosebi cele produse de *Escherichia coli*.
- Diarei cronice în caz de colite.
- Dereglarea fermentației intestinale, dismicrobism.
- Diarei acute și cronice de etiologie nespecifică și nedeterminată, însă fără fenomen invaziv.
- Diarei iatrogene, provocate de administrarea antibioticelor.
- Unele forme de rectocolită hemoragică infecțioasă.
- Unele forme de colonopatie cu bacterii specifice.
- Cazuri de diaree simptomatică la tumori ale intestinului gros.



Nr de Inregistrare 20041 din 20.11.2013
17399 din 28.12.2011
17400 din 28.12.2011

Acesta este un medicament. Citiți cu atenție prospectul.
Dacă apar manifestări neplăcute, adresați-vă medicului sau farmacistului.

EDITORIAL

EDITORIAL

Doctorii de oameni, doctorii de Țară, sau misiunea inversă a unor „complici”

Motto:

– „Auzi, ar trebui să respecti recomandările doctorului-anesteziolog”.
– „Da’ ce, anesteziologul este și el doctor?!”

(Discuție dintre două paciente, auzită în holul Spitalului Clinic Republican)

Fără îndoială, atât colegii de orice specialitate medicală, cât și pacienții (mai ales, cei care interacționează cu specialitățile chirurgicale), știu că în vizorul specialistului de anestezie și terapie intensivă (ATI) intră un spectru enorm (inegalabil) de responsabilități. În primul rând, deoarece „*anesteziologia și medicina perioperatorie este o continuitate a asistenței medicale, acordate pacientului, care implică evaluarea preoperatorie, asistența intraoperatorie și cea postoperatorie, precum și gestionarea sistemelor și resurselor umane, care întrețin activitățile date*” [1]. Apoi, specialistul ATI este responsabil de gestiunea riscului și asigurarea siguranței pacientului, de trecerea de la obiectivul de supraviețuire după intervenție sau procedură la obiectivul de confort, rezultat și calitate optimală garantată. Toate acestea – în condiții de infrastructură precară, presiune de producție, socială, medico-legală și de resurse limitate, în rutina intervențiilor tot mai complexe, pe pacienți din ce în ce mai bătrâni, mai fragili și cu mai multe comorbidități.

Aceste responsabilități sunt, în mare parte, implicite, iar activitățile rămân, aproape întotdeauna, în umbra tumultului spitalicesc. Există, însă, o serie de activități și responsabilități, în care descoperirea specialistului ATI, în vâltoarea lor, este cu totul și cu totul surprinzătoare...

În acest număr al *Revistei de Științe ale Sănătății din Moldova* este publicat, cu permisiunea deținătorului de Copyright, editura *Springer International Publishing Switzerland*, articolul Profesorului Emerit de Anestezie, Gabriel M. Gurman (Israel) [2], care dezvăluie câteva aspecte din rolul anesteziologului în sănătatea globală. Subiectul este, fără îndoială, unul foarte important, altfel celebra editură Springer nu ar fi editat o ditamai carte la tema dată [3].

Atât din articol, cât și din carte, aflăm că problemele (nu și soluțiile) anesteziologiei și terapiei intensive, indiferent de țară Est-europeană, sunt similare – aprovizionare deficitară, infrastructură distrusă, curricule învechite, lipsă de comunicare... Asigurarea unei dezvoltări durabile a sănătății publice, probabil, nu stă în puterea instituțiilor guvernamentale sau a școlilor

Doctors of the patients, doctors of the country, or the reverse mission of some “accomplice”

Motto

– “You know, you should follow the recommendations of the anesthesiologist”.
– “Is he a doctor as well?!”

(Conversation heard in the halls of the Republican Clinical Hospital)

Without doubt, both all fellows from other specialties and patients (especially those who interact with surgical specialties), know that an anesthesiology and intensive care specialist has a vast range of responsibilities. In the first place, because “*anesthesiology and perioperative medicine is a continuity of medical care offered to the patient, that implies preoperative evaluation, intraoperative and postoperative assistance as well as management of human resources and systems that sustain these activities*” [1]. Other than that, an anesthesiology and intensive care specialist is responsible for the risk management and security guarantees of the patient, making it possible to move on from the survival objective after the surgery to comfort, outcome and guaranteed optimal quality goals. All of the above happen under production pressure, poor infrastructure, social and legal pressure, limited resources, complex intervention routine, patients getting older, more fragile and with even more comorbidities.

These responsibilities are mostly implicit, but the activities remain hidden somewhere in the hospital hustle. However, there is a series of activities and responsibilities, in which it is surprising to find a busy enough anesthesiology and intensive care specialist.

This issue of *Moldovan Journal of Health Sciences*, with permission of *Springer International Publishing Switzerland* (the Copyright holder), we have published the article of Gabriel M. Gurman, Professor Emeritus in Anesthesiology (Israel), that reveals several aspects of the anesthesiologist’s role in global health [2]. The subject is a certainly very important one; otherwise the well-known publisher Springer would not have published a huge book about it [3].

Both from the article and from the book we find out that the problems (but not the solutions) of anesthesiology and intensive care, in any East European country are similar: poor supply, destroyed infrastructure, old curriculum, lack of communication... Governmental institutions and medical schools can not ensure a long-lasting public health development as it

medicale; dezvoltarea durabilă a sănătății publice necesită coordonarea, în comun, a eforturilor cu instituții internaționale, experți, specialiști-practicieni din diverse domenii și membrii activi ai societății.

Fiind vizați în mod direct, ca țară și ca specialitate, în articolul și cartea menționate, și simțindu-ne, oarecum, beneficiarii, iar apoi – „complicii” proiectelor WFSA-Ber Sheva și WFSA-ISIA, „deconspirăm”, pe aceste pagini, umila contribuție, adusă de anesteziologi modernizării statului nostru. Totodată, merită să amintim și de rolul important al proiectului ESA-Cluj-Napoca, în cadrul căruia, timp de un deceniu (!), un număr de cca 100 de anesteziologi din Moldova au fost pregătiți timp de 6 luni de zile în Clinica ATI de Excelență a profesorului Iurie Acalovschi (Cluj-Napoca, România).

Pe lângă necazurile obișnuite ale specialității, comune pentru țările fostului lagăr socialist, de la declararea independenței, la 27 august 1991, și până în anul 2007, anesteziologia și terapia intensivă din Moldova mai primise câteva lovituri dure – au părăsit țara trei profesori, iar alți trei (profesorii Valeriu Ghereg, Stanislav Poliuhov și Boris Pârgari), unul după altul, s-au stins prematur din viață.

Totuși, ce fusese semănat de ei, într-un târziu răsărise...

Răsărise sub forma Primului Congres Internațional al Societății de Anesteziologie și Reanimatologie din Republica Moldova (august 2007), la care au participat cca 60% dintre toți specialiștii ATI din Moldova, dar și peste 40 de personalități notorii de peste hotare; în septembrie, 2015, se va desfășura, iată, cea de-a 4-a ediție, la care vor participa colegii și prietenii anesteziologiei moldovenești din țară și de pe mapamond...

Răsărise sub forma programului internațional „*Lista OMS de verificare pentru securitatea chirurgicală*” (l. engl. “*WHO Surgical safety checklist*”), care a condus, în scurt timp, la înjumătățirea complicațiilor și evenimentelor adverse postoperatorii în Republica Moldova.

Răsărise prin renașterea anesteziei pediatrice în Moldova, care a beneficiat, împreună cu cea a adultului, de numeroase donații de echipamente, aparate și consumabile de peste hotare.

Astăzi, specialiștii în anestezie și terapie intensivă din Moldova învață acasă, conform curriculei europene adaptate, timp de 4 ani de zile. La sfârșitul anului trei de studii, toți rezidenții ATI susțin partea întâi a Examenului European de Anestezie (EDA1). Atât subiectele de examinare, cât și întreg procesul de testare și verificare este asigurat de către Societatea Europeană de Anestezie. E cert că, mai sunt rezerve cu scorul obținut la examen, dar – acești rezidenți sunt pionieri!

De două ori pe an, în luna mai și luna octombrie, autocare pline cu specialiști și rezidenți ATI din Moldova participă (inclusiv cu comunicări) la cele mai mari evenimente științifice de specialitate din România – Congresul Societății Române de Anestezie și Terapie Intensivă și Cursul Național de Ghiduri și Protocoale ATI. În mod similar – la Congresele Europene de Anestezie și de Terapie Intensivă. Oamenii revin acasă cu „bateriile încărcate”, cu noi idei, relații, oportunități și... vise.

Deja a devenit o tradiție organizarea Conferinței Științifice de Anestezie și Terapie Intensivă a Tinerilor Specialiști, Rezidenților și Studenților „Valeriu Ghereg”: timp de zece ani,

requires common coordination between international institutions, experts, practicing specialists of several specialties, and active society members.

Being targeted both as a country and as a specialty, in the mentioned article and book, we feel that we benefited and then became accomplices of WFSA-Ber Sheva and WFSA-ISIA projects and now we uncover on these pages the modest contribution brought to our country by our anesthesiologists. At the same time, we would like to mention the important role of the ESA-Cluj-Napoca project, which hosted for a decade (!) about 100 anesthesiologists from Moldova, for a period of 6 months, in the Excellence Clinic of Anesthesiology and Intensive Care of Professor Iurie Acalovschi (Cluj-Napoca, Romania).

Besides the everyday troubles of the specialty, common for all the post-soviet countries, during the period from independence declaration on August 27, 1991 until 2007, anesthesiology and intensive care in Moldova suffered several large losses: three professors left the country, and other three passed away prematurely (Professors Valeriu Ghereg, Stanislav Poliuhov, Boris Pirgari).

However, what has been planted by them finally arose...

Arose in the form of the First International Congress of the Society of Anesthesiology and Reanimatology of the Republic of Moldova (August 2007), attended by 60% of the total number of anesthesiologists from Moldova, as well as by 40 famous personalities from abroad. Here we are today, waiting for the 4th edition of this Congress that will take place in September 2015, and will be attended by friends and colleagues of Moldovan anesthesiology from Moldova and abroad.

Arose in the form of the international program “*WHO Surgical safety checklist*” which led to one half less complications and postoperative side effects in Republic of Moldova.

Arose in the form of pediatric anesthesiology renaissance that benefited along with adult anesthesiology of numerous donations of equipment, devices and supplies from abroad.

Today, anesthesiology and intensive care specialists study at home, for 4 years, according to European adapted curriculum. At the end of year three, all anesthesiology and intensive care residents have to take the first step of Anesthesia European Exam (EDA1). The European Society of Anesthesia monitors both the exam MCQs and the whole process of testing and checking. It is obvious that we remain optimistic regarding the results, but these residents are pioneers.

Twice per year, in May and October, specialists and residents from Moldova participate (some of them with presentations) in two of the biggest scientific events from Romania: Romanian Society of Anesthesia and Intensive Care Congress and National Course of Guidelines and Protocols for Anesthesia and Intensive Care. Likewise – for European Anesthesia and Intensive Care congresses. People return home with “charged batteries”, with new ideas, relations, opportunities and...dreams.

It already became a tradition to organize The Scientific Conference of Anesthesia and Intensive Care for Young Specialists, Residents and Students “Valeriu Ghereg”: for the past 10 years, the “vertical”: specialist-resident-student makes

„verticală” specialist-rezident-student realizează, pe parcursul anului în curs, un studiu clinic sau o revistă sistematizată de literatură. După care, cel mai tânăr dintre ei, comunică rezultatele auditoriului, format din reprezentanți de diverse specialități; tot aici, cei prezenți ascultă un ciclu de lecții de la profesori, invitați de peste hotare anume cu această ocazie. Cei premiați beneficiază de cărți de specialitate, de posibilitatea de a participa gratuit și de a ține o comunicare la Congresul Societății Române de Anestezie și Terapie Intensivă.

Cursurile teoretice ale modulului universitar de anestezie și terapie intensivă și de terapie a durerii sunt ținute conform principiilor ISIA. De asemenea, anestezia și terapia intensivă a fost una dintre primele specialități, care a implementat instruirea prin simulare de înaltă fidelitate a studenților. Menționăm, că Centrul Universitar de Simulare în Instruirea Medicală (CUSIM), este cel mai mare, modern și performant din Europa de Est. De la etapa de proiect și până acum – CUSIM în plină activitate, o considerabilă contribuție a adus și... specialistul în anestezie, membru al grupului de lucru.

Astfel, ieșind din sala de operație, anesteziologul moldovean a contribuit substanțial la ameliorarea condițiilor sale de muncă, la îmbunătățirea sănătății publice, iar prin modernizarea propriei specialități, ajută, în prezent, la modernizarea tuturor celorlalte specialități chirurgicale partenere. Plecat pe o habă de vreme din țară, anesteziologul moldovean se întoarce acasă cu mentalitate și viziune nouă, creativă, liberă și europeană – tocmai ceea de ce ducem lipsă acum.

Mai rămân de făcut și de îmbunătățit încă multe, însă, putem afirma cu certitudine, că specialistul ATI de la noi nu este astăzi doar un doctor de oameni, dar, fără îndoială, și un doctor de Țară.

Lucendo allis ego ipse ardeo!
O primăvară frumoasă tuturor!

Adrian Belîi, dr. hab. șt. med., prof. univ.,
specialist ATI,
Redactor-șef

throughout the year a clinical research or a systematic literature review. After that, the youngest of them, communicates the results to the audience consisted of representatives from different specialties. The participants listen to a series of classes held by professors, invited from abroad for this special occasion. The winners are rewarded with specialty books, or the possibility to participate, free of charge, at the Congress of Romanian Society of Anesthesia and Intensive Care.

Theoretic courses of university block of anesthesia and intensive care and pain management are held according to the ISIA principles. Anesthesia and intensive care was one of the first specialties that implemented education through high fidelity simulation for students. It is worth mentioning, that the University Center for Simulation in Medical Training (CUSIM), is the biggest, most modern and of high performance center of this kind in Eastern Europe. From the project stage until now – full working stage of the Center, a considerable contribution was brought by anesthesia specialist, member of the crew.

This is how, by exiting the operation room, the Moldovan anesthesiologist contributed substantially to the improvement of his working conditions, improvement of public health, and by modernization of his own specialty, the anesthesiologist helps to modernize all other surgical specialties as well. Being away for a certain period of time, the Moldovan anesthesiologist returns with a new mentality and a new, creative, free and European vision – exactly what we lack at this very moment.

A lot still has to be made and improved, but we can certainly affirm that, anesthesia and intensive care specialist from Moldova is not just a doctor of patients, but doubtless, a doctor of the Country.

Lucendo allis ego ipse ardeo!
I wish you all a beautiful spring!

Adrian Belîi, PhD, university professor,
Anesthesia and Intensive Care specialist,
Editor-in-chief

Referințe / references

1. American Board of Anesthesiology. Booklet of Information. *Raleigh, NC. ABA*, 2004;
2. Gurman G. Closing the gap in the Europe through education: a reverse mission. *MJHS*, 2015; 1: p. 44-60.
3. Roth R. *et al.* (eds.). The role of anesthesiology in global health: a comprehensive guide. *Springer International Publishing Switzerland*, 2015; 432 p. ISBN 978-3-319-09422-9.

Scleroza multiplă în Republica Moldova: studiu descriptiv de prevalență și evoluția manifestărilor clinice

Cristina Marcoci^{+1,2}, Vitalie Lisnic^{+1,2}, Mihail Gavriliuc^{+1,2}, Olesea Odainic⁺², Marina Sangheli^{+1,2}, Anna Belenciuc^{+1,2}, Maurizio Leone⁺³, Maura Pugliatti⁺⁴

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

²Institutul de Neurologie și Neurochirurgie, Chișinău, Republica Moldova;

³Structura Complexă de Neurologie, Institutul de Tratament și Recuperare cu Caracter Științific, Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni, Rotondo, Italia;

⁴Departamentul de Medicină Clinică și Experimentală, Universitatea din Sassari, Italia.

Autor corespondent:

Dr. Cristina Marcoci

Catedra de neurologie a USMF „Nicolae Testemițanu”

Institutul de Neurologie și Neurochirurgie

Str. Korolenko, 2, Chișinău, Republica Moldova, MD-2028

e-mail: cristina.marcoci27@gmail.com

Multiple sclerosis in the Republic of Moldova: a descriptive study of prevalence and evolution of clinical manifestations

Cristina Marcoci^{+1,2}, Vitalie Lisnic^{+1,2}, Mihail Gavriliuc^{+1,2}, Olesea Odainic⁺², Marina Sangheli^{+1,2}, Anna Belenciuc^{+1,2}, Maurizio Leone⁺³, Maura Pugliatti⁺⁴

¹ Department of Neurology, State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”, Chisinau, Republic of Moldova;

² Institute of Neurology and Neurosurgery, Chisinau, Republic of Moldova;

³ Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Sassari, Italy;

⁴ Complex Structure of Neurology, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni, Rotondo, Italy.

Corresponding author:

Dr. Cristina Marcoci

Chair of neurology, „Nicolae Testemițanu” SMPHU,

Institute of Neurology and Neurosurgery

2, Korolenko street, Chisinau,

Republic of Moldova, MD-2028

e-mail: cristina.marcoci27@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Etiologia sclerozei multiple rămâne necunoscută, însă interacțiunea factorilor genetici și de mediu este implicată în patogenia acesteia. Actualmente, există tratamente care modifică evoluția bolii, dar acestea nu pot preveni în totalitate recurențele și nu există nicio medicație eficientă pentru formele progresive ale bolii. Prevalența maladiei nu a fost, deocamdată, studiată în Republica Moldova.

Ipoteza de cercetare

Studierea prevalenței sclerozei multiple în Republica Moldova și compararea ei cu cele din țările vest-europene, precum și cercetarea evoluției manifestărilor clinice a patologiei.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Cercetarea actuală este primul studiu neuroepidemiologic național, bazat pe mai multe surse de date, inclusiv înregistrări medicale și statistici oficiale de sănătate ale populației. A fost efectuată o estimare mai exactă a prevalenței sclerozei multiple în Republica Moldova, inclusiv, în funcție de vârstă și pe sexe.

Rezumat

Introducere. Scleroza multiplă (SM) este o boală inflamatorie cronică a sistemului nervos central, care poate duce la invaliditate permanentă la adulții tineri. Investigarea epidemiologiei SM în Republica Moldova prezintă interes, luând în

What is not known yet, about the topic

The etiology of the disease is still unknown, however, the interaction of genetic and environmental factors is involved in its pathogenesis. So far, were discovered disease-modifying treatments, but which can not completely prevent and impede the occurrence of relapses and there is no effective medication for the progressive forms of the disease.

Research hypothesis

MS epidemiology investigation in the Republic of Moldova shows interest, taking into account the fact that the natural evolution of the disease still is not affected by the use of disease modifying drugs.

Article's added novelty on this scientific topic

This research is the first national neuroepidemiologic study based on multiple data sources, including medical records and statistics of population health. It was awarded a broader and more detailed analysis of the prevalence of age-specific and gender in patients with MS in the Republic of Moldova, a study that is also standardized to European population.

Abstract

Introduction. Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system, which can lead to standing disability in young adults. Investigation of MS epidemiology in the Republic of Moldova shows interest, taking

considerație și faptul că evoluția naturală a bolii încă nu este influențată de utilizarea medicamentelor modificatoare a bolii.

Material și metode. În studiu au fost incluși pacienții diagnosticați cu SM conform criteriilor McDonald 2010, formele clinice și imagistice definite. Sursele epidemiologice au fost colectate din înregistrările medicilor de familie din diferite regiuni ale țării, ale neurologilor din spitalele raionale, municipale și orașenești, din arhivele centrelor de diagnostic republicane de imagistică prin rezonanță magnetică (IRM), din registrele administrative (centralizate). Au fost înregistrați parametrii demografici ai pacienților și cei clinici ai maladei.

Rezultate. Șapte sute patruzeci și șapte de pacienți cu SM locuiau în Republica Moldova la ziua de prevalență (31 decembrie 2012). Astfel, prevalența estimată a SM în Republica Moldova este de 21,0 la 100.000 de locuitori (95% CI: 14,8–27,1). Din 724 de cazuri de SM, 460 (63,5%) au fost de sex feminin (vârsta medie – 42,1±11,9 ani) și 264 (36,5%) – de sex masculin (vârsta medie – 40,8±12,8 ani); în cele 23 de cazuri de SM restante, sexul pacienților nu a putut fi identificat în documentele medicale originale. Prevalența maximă a SM a fost identificată la grupul de vârstă de 40-49 de ani: la femei – 57,0 la 100.000 locuitori, la bărbați – 29,0 la 100.000 locuitori. Distribuția a 721 de cazuri prevalente pe zone administrative în Republica Moldova, a fost următoarea: 32% – Centru, 13,9% – municipiul Chișinău, 33,8% – Nord, 11,1% – Sud, 2,1% – Unitățile teritoriale din stânga Nistrului și 7,1% – UTA Găgăuzia.

Concluzii. Prevalența brută estimată a sclerozei multiple în Republica Moldova a fost de 21,0 cazuri la 100.000 de locuitori, care s-a dovedit a fi mai mică decât în țările din Europa. Cel mai probabil, prevalența SM în Republica Moldova este subestimată din cauza ignorării simptomatologiei precoce a maladei de către pacient, adresării tardive la neurolog sau, deoarece diagnosticul dat nu este stabilit la adresarea pacientului simptomatic.

Cuvinte cheie: scleroză multiplă, studiu descriptiv, epidemiologie, prevalență.

Introducere

Scleroza multiplă (SM) este cea mai frecventă cauză de dizabilitate neurologică la adulții tineri din întreaga lume și, aproximativ, jumătate din cei afectați sunt din Europa [1-3]. Distribuția geografică a SM este eterogenă, dar e bine cunoscut faptul, că boala este mai răspândită în zonele temperate decât în zonele tropicale. O distribuție geografică eterogenă a fost raportată și între diferite grupuri etnice și, de asemenea, în cadrul comunităților mici. SM are o prevalență ridicată în rândul populațiilor care locuiesc la latitudini mari. Studiile epidemiologice, efectuate în ultimele decenii, au arătat o creștere a prevalenței SM, cu variații semnificative între zonele de la aceeași latitudine, chiar și în aceeași țară.

Deși etiologia acestei boli este încă necunoscută, Compston A. și coaut. (2006) demonstrează că persoanele cu o interacțiune specifică a factorilor genetici și a celor de mediu sunt mai predispuse la dezvoltarea SM [1]. Cercetătorii sunt de acord că, indiferent de acești factori, se constată o incidență și preva-

into account the fact that the natural evolution of the disease is still not affected by use of the disease modifying drugs.

Material and methods. The study included patients diagnosed with MS according to the McDonald criteria 2010, clinical and imagistic defined forms. Epidemiological sources were collected from records of family doctors from different regions of the country, neurologists from district, municipal and city hospitals, investigations archives of magnetic resonance imaging (MRI) of republican diagnostic centers, administrative records (centralized). Collection of cases included: questionnaire of patient assessment with inclusion of demographic and clinical data.

Results. 747 MS patients were living in the study area, on the prevalence day, 31 December 2012. A crude prevalence was 21.0 per 100.000 inhabitants (95% CI: 14.8–27.1). From 724 prevalent cases, 460 (63.5%) were females with a mean age of 42.1±11.9 years and 264 (36.5%) were males, mean age of 40.8±12.8 years. The highest estimates were observed in the age group 40-49, for women, 57.0 per 100.000 inhabitants and, for men, 29.0 per 100.000 inhabitants. The distribution of 721 prevalent cases by administrative areas in the Republic of Moldova was the following: Center – 32%, Chisinau – 13.9%, North – 33.8%, South – 11.1%, Transnistria – 2.1% and UTA Gagauzia – 7.1%.

Conclusion. The estimated prevalence of multiple sclerosis in the Republic of Moldova was 21.0 per 100.000 inhabitants. This proved to be lower than in European countries. Also the patient's neglect of the first appeared signs and symptoms lead to a late addressing to the neurologist doctor. On the other hand, when the patient addresses in time to a doctor, the reason why MS is not detected would be underestimating the diagnosis, which in some cases is established with delay and in the other cases it is not set at all.

Keywords: multiple sclerosis, descriptive study, epidemiology, prevalence.

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is the most common cause of neurological disability in young adults worldwide and about half of those affected are from Europe [1-3]. The geographical distribution of MS is heterogeneous, but it is well known that the disease is more prevalent in temperate zones than in the tropics. A heterogeneous geographical distribution has been also reported between different ethnic groups, and also within small communities. MS has a high prevalence in populations living at high latitudes. Epidemiological studies conducted during the last decades have shown an increased prevalence of MS, with significant variations between regions of the same latitude, even in the same country.

Although the etiology of this disease is still unknown, some studies show that people with a specific interaction of environmental and genetic factors are more likely to develop MS as indicated by Compston and coauthors (2006) [1]. Researchers agree that, regardless of these factors, there is a growing

lență tot mai mare a SM într-o varietate de arealuri, cum ar fi Sardinia (Italia), Norvegia, Suedia, Marea Britanie [6, 7, 8]. Epidemiologia SM nu a fost, deocamdată, estimată cu exactitate în Europa de Est. Cu toată penuria de referințe bibliografice est-europene, există, totuși, anumite estimări statistice raportate în Bulgaria, Republica Cehă, Federația Rusă, Polonia, Ungaria, Slovacia, România și Belarus [9]. Principalele registre naționale s-au efectuat în următoarele state: Italia, Norvegia, Suedia, Germania, Franța, Danemarca, Statele Unite ale Americii, Noua Zeelandă și Japonia [10-17]. Conform ultimelor date din Atlasul Federației Mondiale al Sclerozei Multiple (MSIF) [18], numărul estimat de persoane cu SM a crescut de la 2,1 milioane, în 2008, la 2,3 milioane, în 2013, cu un raport F:B de 2:1.

În această ordine de idei, scopul studiului nostru a fost estimarea prevalenței sclerozei multiple în Republica Moldova, cu precizarea ei pe sexe și grupuri de vârstă, ținând cont și de faptul, că evoluția naturală a maladiei nu este influențată farmacologic de către medicamentele disponibile.

Material și metode

În studiu au fost incluși toți pacienții din Republica Moldova, diagnosticați cu SM către ziua de prevalență (31 decembrie 2012). Drept referință pentru calcule s-a luat populația Republicii Moldova de 3.559.541 de locuitori (date oficiale) [2]. Diagnosticul s-a făcut în conformitate cu criteriile McDonald din 2010, idem – clasificarea (Tabelul 1) [3-5]. Pacienții cu alte boli demielinizante au fost excluși din studiu. Diagnosticarea maladiei, pe lângă simptomatologia clinică, s-a bazat pe teste de laborator și investigații neuroimagingistice.

Sursele epidemiologice pentru studiu le-au constituit pacienții cu diagnostic relevant, stabilit până în anul 2014. Acestea au inclus: (a) pacienți internați în secțiile Institutului de Neurologie și Neurochirurgie din Chișinău (INN) în perioada anilor 2008-2014, cei examinați ambulatoriu în policlinica INN, cei internați în alte spitale din Chișinău, cum ar fi: serviciile de neurologie ale Institutului de Medicină Urgentă, Spitalului Clinic Militar Central, Spitalului Ministerului Afacerilor Interne, precum și în spitalele raionale din Republica Moldova; (b) bazele de date de la neurologii din țară; (c) rezultatele investigațiilor din arhivele de imagistică prin rezonanță magnetică (IRM) cu diagnosticul de „patologie demielinizantă”; (d) lista pacienților cu SM, înregistrați la Ministerul Sănătății al Republicii Moldova.

Toată informația de la sursele menționate mai sus au fost analizate pentru a verifica și confirma diagnosticul și clasificarea SM. Drept referință a fost utilizată clasificarea ICD-10-CM, unde SM a fost notată cu codul G35. Formele evolutive ale SM au fost clasificate după Lublin F. și coaut. (1996) [4]:

- (1) SM recurent-remisivă (SM-RR);
- (2) SM secundar-progresivă (SM-SP);
- (3) SM primar-progresivă (SM-PP);
- (4) SM progresivă-recidivantă (SM-PR).

Informația, provenită din sursele menționate mai sus, a fost introdusă într-o bază de date unificată. Materialele duplicate pe bază de nume, gen, dată și locul nașterii, domiciliu stabil al pacienților la debutul clinic al bolii, au fost excluse. Au fost prelucrate informațiile referitoare la semnele clinice

incidence and prevalence of MS in a variety of spreading areas such as Sardinia, Norway, Sweden, United Kingdom [6, 7, 8]. MS has not yet been thoroughly researched in Eastern Europe, so there is not enough literature on epidemiological data in this region, but is nevertheless a statistical basis from some countries in the region, including Bulgaria, Czech Republic, Russian Federation, Poland, Hungary, Slovakia, Romania and Belarus [9]. The main national registries have been conducted in the following countries: Italy, Norway, Sweden, Germany, France, Denmark, United States of America, New Zealand and Japan [10-17]. According to the latest data from MSIF Atlas [18], the estimated number of people with MS increased from 2.1 million in 2008 to 2.3 millions in 2013, with a Women:Men ratio of 2:1.

This research was aimed at investigating the multiple sclerosis in the Republic of Moldova, including gender and age specific trends, taking into account the fact that the natural evolution of the disease is not yet influenced by the use of disease-modifying drugs.

Material and methods

Patients diagnosed with MS by the prevalence day, December 31, 2012, were included in the study. Reference data for calculations was the population of Republic of Moldova of 3.559.541 inhabitants (official data) [2]. Diagnosis was made according to McDonald criteria in 2010 (Table 1) [3, 4, 5]. This and the classification are also made on the basis of epidemiological studies on MS guidelines. Patients with other demyelinating diseases were excluded from the study. Patient diagnosis was based on laboratory tests and neuroimaging investigations.

The epidemiological sources for the study were the patients with relevant diagnosis established by 2014. These included: (a) patients admitted to the departments of the Institute of Neurology and Neurosurgery (INN) in the 2008-2014 period, examined in the outpatient clinic of INN, admitted to other hospitals in Chisinau, such as: neurology services at the Institute of Emergency Medicine, at the Central Military Hospital, at the Hospital of the Ministry of Internal Affairs, as well as at other hospitals in Republic of Moldova outside Chisinau; (b) databases from neurologists in the country; (c) scans from the archives of magnetic resonance imaging (MRI) with diagnosis of “demyelinating pathology”; (d) the list of MS patients from the Ministry of Health.

All clinical and preclinical data from the above mentioned sources were analyzed to make the diagnosis and classification of MS. The hospital records used the classification ICD-10-CM to specify the diagnosis of MS. All patients with the established disease were marked with the code G35. According to Lublin and coauthors (1996) [4], MS has been classified into four types:

- (1) recurring-remitting MS (RR-MS);
- (2) secondary-progressive MS (SP-MS);
- (3) primary-progressive MS (PP-MS), and
- (4) progressive-recidivist MS (PR-MS).

The statistical analysis of the collected material of MS began with the establishment of a single set of data, including

Tabelul 1

Criteriile de diagnostic ale sclerozei multiple conform McDonald W. (2010), actualizate de Polman C. *et al.* (2011) [3, 5]

Prezentare clinică	Date adiționale, necesare diagnosticului de scleroză multiplă
≥2 puseuri; semne clinice obiective pentru ≥2 leziuni, sau semne clinice obiective pentru 1 leziune, asociată cu semne anamnestice justificate pentru un puseu anterior	Niciuna
≥2 puseuri; semne clinice obiective pentru 1 leziune	Diseminarea în spațiu (DIS), demonstrată prin: ≥1 leziune în T2 în cel puțin 2 din 4 regiuni ale SNC, tipice pentru SM (periventriculară, juxtacorticală, infratentorială sau medulară); sau, se așteaptă un ulterior puseu, implicând alte localizări în SNC
1 puseu; semne clinice obiective pentru ≥2 leziuni	Diseminarea în timp (DIT), demonstrată prin: prezența concomitentă a leziunilor asimptomatice gadolinium-captante și noncaptante în orice moment; sau, o nouă leziune(i) în T2 sau/și gadolinium-captantă pe IRM de monitorizare, indiferent de momentul apariției acesteia, cu referire la explorarea imagistică de bază; sau, se așteaptă cel de-al doilea puseu
1 puseu; semne clinice obiective pentru 1 leziune (sindrom clinic izolat)	Diseminarea în timp și în spațiu, demonstrată prin: (1) Pentru DIS: ≥1 leziune în T2, în cel puțin 2 din 4 regiuni ale SNC, tipice pentru SM (periventriculară, juxtacorticală, infratentorială sau medulară); sau, se așteaptă cel de-al doilea puseu, implicând alte localizări în SNC; (2) Pentru DIT: prezența concomitentă a leziunilor asimptomatice gadolinium-captante și noncaptante în orice moment; sau, o nouă leziune(i) în T2 sau/și gadolinium-captantă pe IRM de monitorizare, indiferent de momentul apariției acesteia, cu referire la explorarea imagistică de bază; sau, se așteaptă cel de-al doilea puseu
Progresia neurologică insidioasă, sugestivă pentru SM (SM-PP)	Progresie a bolii timp de 1 an (documentată retrospectiv sau prospectiv), plus 2 din următoarele 3 criterii: (1) semne pentru DIS în creier, bazată pe ≥1 leziune în T2 în regiunile caracteristice pentru SM (periventriculară, juxtacorticală sau infratentorială); (2) semne pentru DIS în măduva spinării, bazată pe ≥2 leziuni în T2 medulare; (3) LCR pozitiv (semne izoelectrice focalizate ale benzilor oligoclonale și/sau indexul IgG mărit)

obiective, debutul maladiei, data primei vizite la neurolog, datele de diagnostic, a evoluției clinice a bolii și scorul de evaluare a dizabilității pacientului (l. engl. *Expanded Disability Status Scale, EDSS*) [19].

Pentru analiza statistică a fost utilizat softul SPSS, versiunea 21 (SPSS Inc., IBM, New York, Statele Unite ale Americii).

Rezultate

În ziua de prevalență (31 decembrie 2012), au fost înregistrate 747 de persoane cu reședința în Republica Moldova, care suferă de SM în conformitate cu criteriile McDonald 2010 [3], populația țării la această dată fiind de 3.559.541 de locuitori [2]. Prevalența brută estimată a fost de 21,0 la 100.000 de locuitori (95% CI: 14,8-27,1). Sexul și vârsta la momentul

Table 1

Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria by Polman and co-authors 2011 [3, 5]

Clinical presentation	Additional data needed for MS diagnosis
≥ 2 attacks; objective clinical evidence of ≥ 2 lesions or objective clinical evidence of 1 lesion with reasonable historical evidence of a prior attack	None
≥ 2 attacks; objective clinical evidence of 1 lesion	Dissemination in space, demonstrated by: ≥ 1 T2 lesion in at least 2 of 4 MS-typical regions of the CNS (periventricular, juxtacortical, infratentorial, or spinal cord); or await a further clinical attack implicating a different CNS site
1 attack; objective clinical evidence of ≥ 2 lesions	Dissemination in time, demonstrated by: Simultaneous presence of asymptomatic gadolinium-enhancing and non-enhancing lesions at any time; or a new T2 and/or gadolinium-enhancing lesion(s) on follow-up MRI, irrespective of its timing with reference to a baseline scan; or await a second clinical attack
1 attack; objective clinical evidence of 1 lesion (clinically isolated syndrome)	Dissemination in space and time, demonstrated by: (1) For DIS: ≥ 1 T2 lesion in at least 2 of 4 MS-typical regions of the CNS (periventricular, juxtacortical, infratentorial, or spinal cord); or await a second clinical attack implicating a different CNS site; (2) For DIT: simultaneous presence of asymptomatic gadolinium-enhancing and non-enhancing lesions at any time; or a new T2 and/or gadolinium-enhancing lesion(s) on follow-up MRI, irrespective of its timing with reference to a baseline scan; or await a second clinical attack
Insidious neurological progression suggestive of MS (PPMS)	1 year of disease progression (retrospectively or prospectively determined) plus 2 of 3 of the following criteria: (1) evidence for DIS in the brain based on ≥ 1 T2 lesions in the MS-characteristic (periventricular, juxtacortical, or infratentorial) regions (2) evidence for DIS in the spinal cord based on ≥ 2 T2 lesions in the cord (3) positive CSF (isoelectric focusing evidence of oligoclonal bands and/or elevated IgG index)

data from different epidemiological sources and disposal of duplicates based on name, gender, date and place of birth, and residence of patients at clinical onset of the disease. Was processed the information on objective clinical signs, the onset of the disease, the date of first visit to the neurologist, the diagnostic and the clinical course of the disease data, and the patient disability assessment scale – Expanded Disability Status Scale (EDSS) [19].

For the statistical analysis was used the SPSS soft, version 21, (SPSS Inc., IBM, New York, USA).

Results

On prevalence day (31 December 2012), 747 MS patients, which suffer from MS according to McDonald criteria 2010 [3],

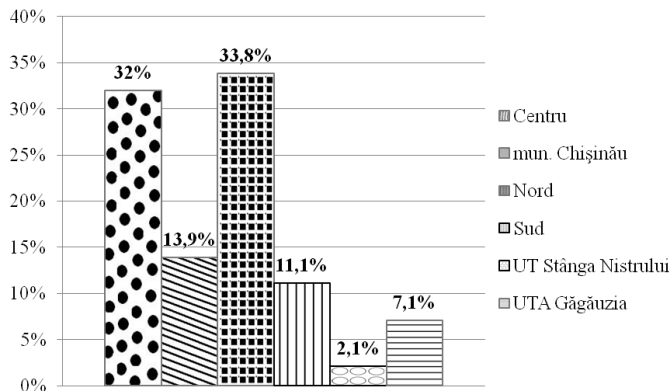


Fig. 1 Distribuția celor 721 de cazuri de scleroză multiplă în regiunile administrative ale Republicii Moldova

studiului au fost cunoscute pentru 724 de cazuri, obținându-se, astfel, o prevalență brută de 24,9 la 100.000 de locuitori (95% CI: 19,8 – 30,0) la femei și de 16,4 la 100.000 de locuitori (95% CI: 11,9 – 18,9) la bărbați, cu un raport F:B de 1,62. Din 724 de cazuri prevalente, 460 (63,5%) au fost de sex feminin, cu vârsta medie de 42,1±11,9 ani și 264 (36,5%) au fost de sex masculin, cu vârsta medie de 40,8±12,8 ani. Prevalența maximă a SM a fost identificată la grupul de vârstă de 40–49 de ani: la femei – 57,0 la 100.000 locuitori, la bărbați – 29,0 la 100.000 locuitori.

Distribuția celor 721 de cazuri prevalente pe zone administrative în Republica Moldova, a fost următoarea: 32% – Centru, 13,9% – municipiul Chișinău, 33,8% – Nord, 11,1% – Sud, 2,1% – Unitățile teritoriale din stânga Nistrului și 7,1% – UTA Găgăuzia (Figura 1).

Evoluția clinică a SM, evaluată retrospectiv, a fost recurent-remisivă la 419 (89,7%) de pacienți și progresivă – în restul cazurilor.

Distribuția după manifestările clinice, pe subsisteme funcționale, la debut și în ziua de prevalență, este prezentată în Figura 2. Cele mai frecvente simptome la debut au fost cele piramidale (55,6%), senzoriale (31%), din partea trunchiului cerebral (26,1%) și vizuale (24,6%). Manifestările SM la debutul bolii nu diferă semnificativ între bărbați și femei. În ziua de

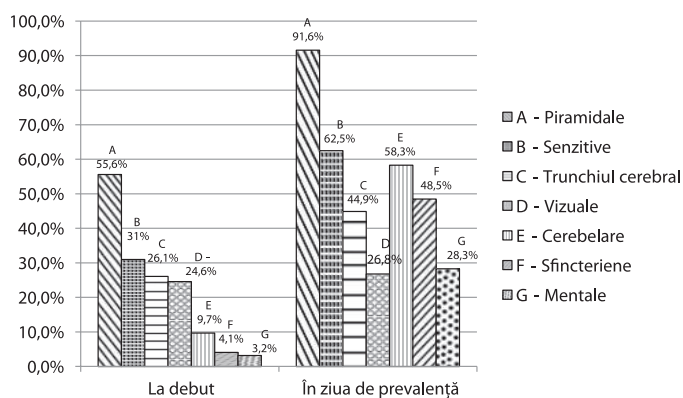


Fig. 2 Distribuția specifică ambelor sexe a simptomelor sclerozei multiple la debut și în ziua de prevalență (n=464)

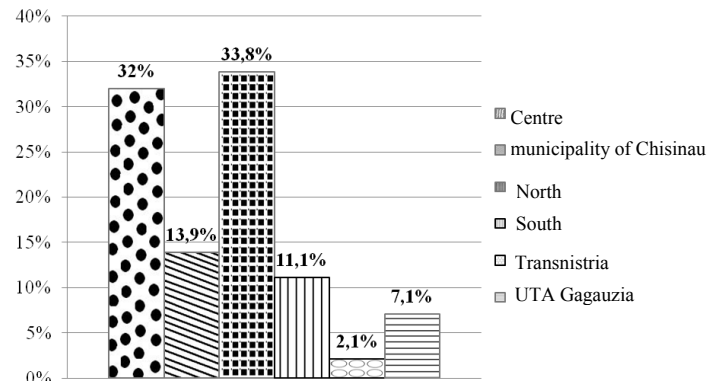


Fig. 1 The distribution of 721 prevalent cases by administrative areas in the Republic of Moldova

were living in the study area. On that day, the country population was 3.559.541 inhabitants [2]. An estimated crude prevalence was 21.0 per 100.000 inhabitants (95% CI: 14.8 – 27.1). Sex and age at the time of the study were known in 724 cases, with a crude prevalence of 24.9 (95% CI: 19.8 – 30.0) in women and 16.4 (95% CI: 11.9 – 18.9) in men, with a ratio W:M of 1.62. From 724 prevalent cases, 460 (63.5%) were females with a mean age of 42.1±11.9 years and 264 (36.5%) were males, mean age of 40.8±12.8 years. The highest estimates were observed in the age group 40-49, for women, 57.0 per 100000 inhabitants and, for men, 29.0 per 100.000 inhabitants. Mean (SD) age on prevalence day was 42.1 (11.9) years in women and 40.8 (12.8) years in men with no significant difference.

Distribution of 721 prevalent cases by administrative areas in the Republic of Moldova was the following: Center – 32%, Chisinau – 13.9%, North – 33.8%, South – 11.1%, Transnistria – 2.1% and UTA Gagauzia – 7.1% (Fig. 1).

The clinical evolution at onset, retrospectively evaluated, was RR in 419 patients (89.7%) and progressive in the rest of the cases.

The distribution by clinical manifestations of functional subsystems at onset and on prevalence day is shown in Figure 2. The most common symptoms at onset were the pyramidal

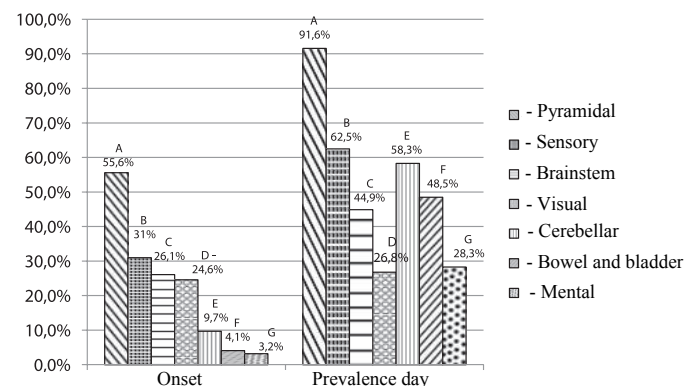


Fig. 2 Gender-specific distribution in both sexes (464 patients) of MS symptoms at onset and on prevalence day

Tabelul 2

Proporția specifică sexului a cazurilor prevalente de SM, potrivit Kurtzke's Expanded Disability Status Scale (EDSS) la debut și în ziua de prevalență (31 decembrie 2012)

EDSS	debut			în ziua de prevalență		
	Ambele sexe n (%)	Bărbați n (%)	Femei n (%)	Ambele sexe n (%)	Bărbați n (%)	Femei n (%)
0-3,5	462 (99,1)	164 (100)	298 (98,7)	267 (56,9)	90 (54,2)	177 (58,4)
4,0-6,5	4 (0,9)	0	4 (1,3)	173 (36,9)	66 (39,8)	107 (35,3)
7,0+	0	0	0	29 (6,2)	10 (6,0)	19 (6,3)

prevalență, frecvența tuturor manifestărilor a fost mai mare decât la debut, în special a disfuncțiilor sfincteriene, mentale și cerebeloase, atât la bărbați, cât și la femei.

Conform EDSS, evaluate la debut, 462 (99,1%) din cazurile prevalente de SM au arătat un grad de dizabilitate ușoară (EDSS 0-3,5) (Tabelul 2). În ziua de prevalență, scorurile de invaliditate pentru cei 469 de pacienți cu SM evaluați, au fost repartizate astfel: 267 (56,9%) de pacienți – cu dizabilitate ușoară, 173 (36,9%) – cu dizabilitate moderată și 29 (6,2%) – cu dizabilitate severă.

Discuții

Cercetarea actuală este primul studiu neuroepidemiologic național, bazat pe mai multe surse de date, inclusiv înregistrări medicale și statistici oficiale de sănătate ale populației. În 1996, Baltag R. a efectuat prima încercare de studiere a prevalenței SM în Republica Moldova. El a obținut un indice de prevalență de 7,5 la 100.000 locuitori. În opinia noastră, aceste date nu reflectă realitatea, deoarece studiul a fost realizat până la implementarea metodei de examinare prin IRM în Republica Moldova. Atât în studiul nostru, cât și în cel precedent, prevalența sclerozei multiple în Republica Moldova s-a dovedit a fi mai mică decât în țările din Europa. O explicație ar putea fi poziționarea geografică a țării noastre. Altă explicație ar fi neglijarea de către pacient a primelor semne și simptome apărute, iar drept consecință – adresarea tardivă la medicul neurolog. Pe de altă parte, atunci când pacientul se adresează la timp, diagnosticul corect, de scleroză multiplă, fie este stabilit cu întârziere, fie nu este stabilit deloc. Un rol important în diagnosticare îl joacă abordarea corectă a pacientului suspectat cu SM. Evaluarea minuțioasă a tuturor semnelor clinice obiective, colectarea anamnezei, efectuarea detaliată a examenului neurologic și la timp – al celui imagistic, cunoașterea criteriilor McDonald 2010, vor duce la depistarea cazurilor, probabil omise, de SM. Or, nu în ultimul rând, numărul mai mic al cazurilor prevalente de SM în Republica Moldova, este cauzat de rata ridicată a migrației în străinătate, mai ales a populației tinere, cu vârsta între 20-50 de ani, la care, preponderent, apare această maladie.

Distribuirea populației generale din Republica Moldova după vârstă și pe sexe a demonstrat faptul, că nu există diferențe semnificative față de statele europene în structura populației. Caracteristicile clinice ale SM în Republica Moldova indică un număr considerabil de cazuri „benigne” de la debut

Table 2

Gender-specific proportion of prevalent MS cases according to Kurtzke's Expanded Disability Status Scale (EDSS) at onset and prevalence day (December 31, 2012)

EDSS	onset			prevalence day		
	Both sexes n (%)	Men n (%)	Women n (%)	Both sexes n (%)	Men n (%)	Women n (%)
0-3.5	462 (99.1)	164 (100)	298 (98.7)	267 (56.9)	90 (54.2)	177 (58.4)
4.0-6.5	4 (0.9)	0	4 (1.3)	173 (36.9)	66 (39.8)	107 (35.3)
7.0+	0	0	0	29 (6.2)	10 (6.0)	19 (6.3)

(55.6%), sensory (31%), of the brainstem (26.1%) and visual (24.6%). The distribution of clinical events at onset did not differ significantly between men and women. On prevalence day, frequency of all events was higher than at onset, especially bowel and bladder, mental and cerebellar functions for both men and women.

According to EDSS assessed at baseline, 462 (99.1%) of prevalent cases of MS showed mild disability (EDSS 0-3.5) (Table 2). On prevalence day, disability scores for 469 MS patients were distributed as follows: patients 267 (56.9%) with mild disability, 173 (36.9%) with moderate disability, and 29 (6.2%) with severe disability.

Discussion

This research is the first national neuroepidemiologic study based on multiple data sources, including medical records and statistics of population health. In 1996 R. Baltag made the first attempt to study the prevalence of MS in the Republic of Moldova. He obtained an estimated prevalence of 7.5 per 100.000 inhabitants. In our opinion, these data do not reflect reality because the study was conducted before the implementation of MRI examination method in the Republic of Moldova. Both, our study and the previous one, the prevalence of multiple sclerosis in the Republic of Moldova proved to be lower than in European countries. The geographical position of our country could be an explanation of the obtained prevalence data. Another explanation could be the patient's neglect of the first appeared signs and symptoms lead to a late addressing to the neurologist doctor. On the other hand, when the patient addresses on time to a doctor, the reason why MS is not detected would be underestimating the diagnosis, which in some cases is established with delay and in the other cases it is not set at all. An important role in diagnosing is played by the correct approach to patients with suspected MS. Thorough evaluation of all objective clinical signs, history collection, conducting detailed neurological examination and, in time, examination of imaging, knowledge of McDonald criteria 2010, will increase the professionalism and detection of probably omitted cases of MS in our country. And last but not least, the smaller number of prevalent cases of MS in the Republic of Moldova is the reason for high rates of migration abroad, especially of young people, aged between 20-50 years, in who mainly appears this disease.

și o frecvență mult mai mare a tuturor manifestărilor clinice în ziua de prevalență. Gradul dizabilității la data prevalenței este crescut statistic semnificativ de la ușor la moderat și sever.

În 2006, Pugliatti M. și coaut. au efectuat o analiză detaliată a epidemiologiei sclerozei multiple în Europa [9]. Astfel, prevalența estimată a SM pentru ultimele decenii a fost de 83 la 100.000 de locuitori, cu valori mai mari în țările nordice ale Europei, preponderent în Norvegia, Marea Britanie și Elveția. Date din 1996 au raportat, în Norvegia, cea mai mare prevalență – de 164 la 100.000 de locuitori. Pentru nordul Angliei, a fost estimată o prevalență de 97 la 100.000 de locuitori. În 1995, o prevalență de 187 la 100.000 de locuitori a fost raportată în sud-estul Scoției. Rate și mai mari, de aproape 200 de cazuri la 100.000 de locuitori, au fost estimate pentru insulele Scoției (Shetland și cele ale arhipelagului Orkney), dar acestea au fost bazate pe populații mici și criteriile vechi de diagnostic. În Marea Britanie, raportul F:B variază între 2,2 și 2,8 în Scoția și, respectiv, nordul Angliei. Cele mai ridicate valori ale incidenței anuale a SM au fost de 12,0 la 100.000 de locuitori/an pentru Scoția și de 5,1 la 100.000 de locuitori/an, în Anglia. În Suedia, studiile epidemiologice au arătat o creștere de prevalență de la 125 la 100.000 de locuitori, în 1990, la 154 la 100.000 de locuitori, în 1997 [9, 18].

Pentru celelalte țări ale Europei, conform datelor studiilor epidemiologice din anii 1990-1999, prevalența estimată este următoarea: Finlanda – 188 la 100.000 de locuitori, în 1993 (doar cazurile certe, conform criteriilor Poser, au fost luate în considerație); Danemarca – de la 112 la 100.000 de locuitori, în 1990, la 122 la 100.000 de locuitori, în 1996; Islanda – 119 la 100.000 de locuitori, în 1999; Irlanda – 121-185 la 100.000 de locuitori; Germania – 83-127 la 100.000 de locuitori (variație în funcție de regiunile țării); Elveția – 110 la 100.000 de locuitori; Austria – 98 la 100.000 de locuitori; Olanda – 76 la 100.000 de locuitori; Belgia – 88 la 100.000 de locuitori; Croația – 50 la 100.000 de locuitori; Cipru – 39 la 100.000 de locuitori; Estonia – 51 la 100.000 de locuitori; Franța – 50 la 100.000 de locuitori; Italia – 53-81 la 100.000 de locuitori, inclusiv, Sardinia – 144 la 100.000 de locuitori; Letonia – 55 la 100.000 de locuitori; Malta – 17 la 100.000 de locuitori; Portugalia – 47 la 100.000 de locuitori; Spania – 32-58 la 100.000 de locuitori; Republica Macedonia – 16 la 100.000 de locuitori; Slovenia – 83 la 100.000 de locuitori; fosta Iugoslavie – 51 la 100.000 de locuitori [9, 18].

În *România*, referitor la epidemiologia SM, sunt disponibile doar datele publicate în anii 1980. În 1984, un studiu epidemiologic a fost realizat în baza datelor provenite din 34 de județe din România, care a inclus 76% din populația țării. Acest studiu a estimat o prevalență medie de 26 la 100.000 de locuitori, cu raportul femei:bărbați de 1,2:1 și cu cele mai ridicate rate de prevalență în grupul de vârstă de 30-50 de ani, pentru ambele sexe [20, 21]. În 1986, o rată de 21 la 100.000 de locuitori a fost raportată pentru regiunea Transilvania, cu raportul femei:bărbați de 1,3:1 [22]. Pentru intervalul de timp 1977-1986, a fost constatată o incidență medie de 0,9 la 100.000 de locuitori pe an. Datele dintr-un raport local, cu privire la distribuția pacienților cu SM după evoluția bolii, afirmă că 61% dintre ei au avut SM-RR, 24% au avut SM-SP și 15% au avut

Standardization of the population of Europe by the general population distribution by age and sex, showed that there are no significant differences between the population structure of the Republic of Moldova and the EU. The clinical characteristics of MS in the Republic of Moldova indicates a considerable number of cases of benign onset and greater frequency of all clinical manifestations on prevalence day. The degree of disability at the time of prevalence is statistically significantly increased from mild to moderate and severe.

In 2006 Pugliatti and coauthors conducted a detailed analysis of the epidemiology of multiple sclerosis in Europe [9]. Thus the estimated prevalence of MS for decades was 83 per 100.000 inhabitants with higher values in the Nordic countries of Europe, primarily in Norway, the UK and Switzerland. Data from 1996 reported in Norway, the most prevalent of 164 per 100.000 inhabitants. To the north of England, was estimated a prevalence of 97 per 100.000 inhabitants. In 1995 the prevalence of 187 per 100.000 inhabitants was reported in south-east Scotland. Even higher rates of nearly 200 cases per 100000 were found for Islands of Scotland (Shetland and the Orkneys), but these were based on small populations and old diagnostic criteria, prevalence data higher than in England and Wales. In the United Kingdom, the W:M ratio varies between 2.2 and 2.8 in Scotland and northern England. The highest values of annual incidence of MS was 12.0 per 100.000 inhabitants/year for Scotland and 5.1 to 100.000 inhabitants/year for England. In Sweden epidemiological studies have shown an increased prevalence of 125 per 100.000 inhabitants in 1990 to 154 per 100.000 inhabitants in 1997 [9, 18].

For other European countries, according to epidemiological studies from the 1990-1999 years, the estimated prevalence is the following: Finland – 188 per 100.000 inhabitants in 1993 (only clear cases according to Poser criteria were taken into account); Denmark – from 112 per 100.000 inhabitants in 1990 to 122 per 100.000 inhabitants in 1996; Iceland – 119 per 100.000 inhabitants in 1999; Ireland – 121-185 per 100.000 inhabitants; Germany – 83-127 per 100.000 inhabitants in different regions of the country; Switzerland – 110 per 100.000 inhabitants; Austria – 98 per 100.000 inhabitants; Netherlands – 76 per 100.000 inhabitants; Belgium – 88 per 100.000 inhabitants; Croatia – 50 per 100.000 inhabitants; Cyprus – 39 per 100.000 inhabitants; Estonia – 51 per 100.000 inhabitants; France – 50 per 100.000 inhabitants; Italy – 53-81 per 100.000 inhabitants; Sardinia – 144 per 100.000 inhabitants; Latvia – 55 per 100.000 inhabitants; Malta – 17 per 100000 inhabitants; Portugal – 47 per 100.000 inhabitants; Spain – 32-58 per 100.000 inhabitants; Republic of Macedonia – 16 per 100.000 inhabitants; Slovenia – 83 per 100.000 inhabitants; Yugoslavia – 51 per 100.000 inhabitants [9, 18].

Only the data published in the local specialized literature on the epidemiology of MS in *Romania* is available. In 1984, an epidemiological study was conducted in a county through the review of the hospital's medical records from 34 counties in Romania (76% of the entire Romanian population). This study estimated an average prevalence rate of 26 per 100.000 inhabitants, with the W: M ratio of 1.2:1 and the highest prevalence rates in the age group of 31–50 years for both sexes [20, 21].

SM-PP. Nu sunt disponibile date privind distribuția cazurilor în funcție de severitatea bolii.

Studiile de prevalență de SM, efectuate în *Federația Rusă* și alte țări din fosta Uniune Sovietică după 1970, au fost revizuite de Boiko A. și coaut [23, 24]. Interpretarea datelor, care provin dintr-un teritoriu atât de vast, a fost deosebit de dificilă din cauza diferențelor semnificative în structura etnică a populației, a diversității caracteristicilor geografice și sociale din zonele studiate, a ratei ridicate de migrație și a calității slabe a studiilor epidemiologice. În *Federația Rusă*, a fost estimată o prevalență de aproximativ 30 la 100.000 de locuitori (date valabile pentru anii 1970 și 1990). Între anii 1996-2001, un nou studiu epidemiologic a fost desfășurat în întreaga țară; astfel prevalența a variat de la 31 la 100.000 de locuitori, în Ufa, la 60 la 100.000 de locuitori, în Novosibirsk. Același studiu a estimat o incidență de 3 la 100.000 de locuitori/an în orașul Iaroslavl [23].

În anul 2001, pentru *Ucraina* centrală și de sud-vest, a fost posibil de estimat o prevalență a SM de 41 la 100.000 de locuitori, cu un raport femei:bărbați de 2,1:1 [25]. Într-un sondaj anterior, în aceeași zonă, cele mai ridicate rate de prevalență au fost raportate în grupul de vârstă cuprins între 30-49 de ani [26]. Incidența medie anuală, pentru perioada 1990-1994, a fost de 0,7 la 100.000 de locuitori/an. În ceea ce privește repartizarea conform evoluției bolii, au fost prezentate, în 52% de cazuri, SM-RR, în 37% – SM-SP și în 11% de cazuri – SM-PP [25].

În *Belarus*, datele epidemiologice de prevalență a SM au fost obținute la începutul anului 1980, cu valori estimate între 20 și 55 la 100.000 de locuitori [24].

Sondaj de prevalență și incidență a SM în *Polonia* a fost realizat în regiunea din Szczecin, în 1995, și publicat în literatura științifică locală (în limba poloneză) [27]. Autorul a constatat o prevalență de 55 la 100.000 de locuitori, cu un vârf de 110 la 100.000 de locuitori într-un focar de sud al regiunii. O prevalență de 51 la 100.000 de locuitori a fost estimată în regiunea Poznan în 1982, cu cele mai mari valori în grupul de vârstă de 45-59 de ani [28]. Cu toate acestea, în studiul dat, criteriile de diagnostic au fost selectate arbitrar, în consecință, estimările efectuate, precum și posibilitatea de comparare a datelor fiind îndoielnică. Valoarea medie a ratei anuale de incidență pentru perioada anilor 1993-1995 a fost de 2,2 la 100.000 de locuitori pe an, în regiunea Szczecin; o rată de 3,4 la 100.000 de locuitori pe an a fost estimată pentru perioada anilor 1960-1992, cu o tendință de scădere în timp, până la o rată medie de 1,4 la 100.000 de locuitori pe an, între anii 1987-1992. Pe baza cazurilor incidente din anii 1960-1992, pentru regiunea Szczecin, raportul femei:bărbați a fost de 1,2:1. Un raport recent, din Lodz, relatează că din 2500 de pacienți, urmăriți în Centrul de SM, 60% au SM-RR, 32% au SM-SP și 8% au SM-PP. Nu există date recente pentru prevalența maladiei în funcție de vârstă și sexe, precum și pentru distribuirea după EDSS [28].

Ratele de prevalență pentru SM în *Republica Cehă* sunt inegal distribuite. Cele mai recente sondaje arată o prevalență de 71 la 100.000 de locuitori în vestul fostei Republici Cehoslovacia, în 1984 [29] și între 78 și 160 la 100.000 de locuitori – în populațiile mici din trei raioane din Boemia, în partea

1986, a rate de 21 per 100.000 inhabitants was reported for the region of Transylvania, with the W:M ratio of 1.3:1 [22]. For the period 1977-1986, medium incidence rate was attested, equal to 0.9 per 100.000 inhabitants per year. The data from a local report about the distribution of MS patients after evolution of the disease states that 61% of them had RR-MS, 24% had SP-MS and 15% had PP-MS. There is no data on the distribution of cases depending on the severity of the disease.

MS prevalence studies conducted in the *Russian Federation* and other countries of the ex-Soviet Union, after 1970, were reviewed by Boiko and coauthors [23, 24]. Interpretation of such data on this vast territory was particularly difficult because of the relevant differences of the population's ethnicity, of the diversity of geographical and social characteristics of the areas studied, because of the high rate of migration and weak organization of epidemiological studies. In the Russian Federation, the estimated prevalence was 30 per 100.000 inhabitants, between 1970 and 1990. In 1996-2001, a new epidemiological study was conducted throughout the country, so the prevalence ranged from 31 per 100.000 inhabitants in Ufa, to 60 per 100.000 inhabitants in Novosibirsk. The same study showed an incidence of 3 per 100.000 inhabitants/year in Yaroslavl [23].

In 2001, for central and southwest *Ukraine* was possible to estimate the prevalence of MS of 41 per 100.000 inhabitants, with a W:M ratio of 2.1:1 [25]. In an earlier survey in the same area, the highest prevalence rates were reported in the age group between 30-49 years [26]. The average annual incidence for the period 1990-1994 was of 0.7 per 100.000 inhabitants/year. Regarding the distribution by disease progression, were presented 52% RR-MS, 37% SP-MS and 11% PP-MS [25].

And in *Belarus*, epidemiological data on the prevalence of MS were obtained in early 1980 with estimated values between 20 and 55 per 100.000 inhabitants [24].

The survey of the prevalence and incidence of MS in *Poland* was carried out within the area of Szczecin in 1995 and published in the scientific literature in Polish [27]. The author has found a prevalence of 55 per 100.000, with a top of 110 into a hotbed in the south of the region. A prevalence of 51 per 100.000 was in the Poznan area in 1982, with the highest rates in the age group 45-59 years [28]. However, in this study, the diagnostic criteria have been selected arbitrarily, thereby making comparisons and standardization with the other unreliable populations. The average value of the annual incidence rate for the period 1993-1995 was 2.2 per 100.000 in the Szczecin region, and a rate of 3.4 per 100.000 inhabitants/year has been estimated for the period 1960-1992, with a tendency to decrease over time to an average rate of 1.4 in 1987-1992. On the basis of the incident cases, the W:M ratio was 1.2 for the Szczecin region in 1960-1992. A recent report shows that in Lodz from 2500 patients followed by the MS Center, 60% have RR-MS, 32% have SP-MS and 8% have PP-MS. There is no recent evidence for prevalence by age and sex, as well as by distribution after EDSS [28].

MS prevalence rates in the *Czech Republic* are unequally distributed. The latest polls show a prevalence of 71 per 100.000 inhabitants in western ex-Republic of Czechoslovakia

de nord a Republicii Cehe (anul 1992). Raportul femei: bărbați a fost de 1,5:1. Rate anuale medii de incidență între 4 și 8 la 100.000 de locuitori pe an au fost raportate pentru perioada anilor 1985-1990. Nu există date de prevalență în funcție de vârstă și nici date privind distribuția după severitatea bolii. În funcție de evoluția bolii, datele locale indică 55-70% - SM-RR, 28-35% - sunt SM-RP și SM-SP și 2-10% - sunt SM-PP [30].

Ratele de prevalență a SM în Ungaria, între anii 1992 și 1996, au variat între 32-79 la 100.000 de locuitori, cu cele mai mici rate în județul Baranya și cele mai înalte rate - în județul Fejer [31]. La populația rromă din Ungaria, prevalența SM a variat între 5 la 100.000 de locuitori în județul Baranya și 98 la 100.000 de locuitori - în județul Fejer. În 1999, pentru județul Csongrad, a fost estimată o prevalență totală de 62 la 100.000 de locuitori, cu raportul femei:bărbați de 2,7:1 [32, 33]. Nu sunt disponibile date recente cu privire

la distribuția după prevalență de vârstă. Rata medie de incidență a fost estimată la 5,5 la 100.000 de locuitori pe an pentru anii 1997-1998. Distribuția în funcție de cursul bolii a fost de: 69% - pentru SM-RR și formele benigne, de 20% - pentru SM-RP și SM-SP, și de 11% - pentru SM-PP. Din același studiu, 58% dintre pacienți au avut o dizabilitate ușoară, 22% - moderată și 20% au fost pacienți cu handicap sever.

Mai multe evaluări epidemiologice privind SM din Bulgaria au fost raportate în literatura de specialitate. Cele mai recente studii sunt bazate pe populația din două comunități mici, de circa 55.000 de locuitori; acestea au arătat o prevalență de 39 la 100.000 de locuitori (în 1995), cu un raport femei:bărbați de 2,0:1 [34]. În regiunea urbană a Sofiei și orașul rural Somokov, prevalența SM a fost mai mică la rromi [35], datele fiind similare cu cele raportate pentru județul ungar Baranya [31]. Prevalența SM în funcție de vârstă a fost raportată într-un studiu mai vechi, bazat pe datele anului 1992, provenite din zona Plovdiv, cu un maxim de 18 la 100.000 de locuitori în gru-

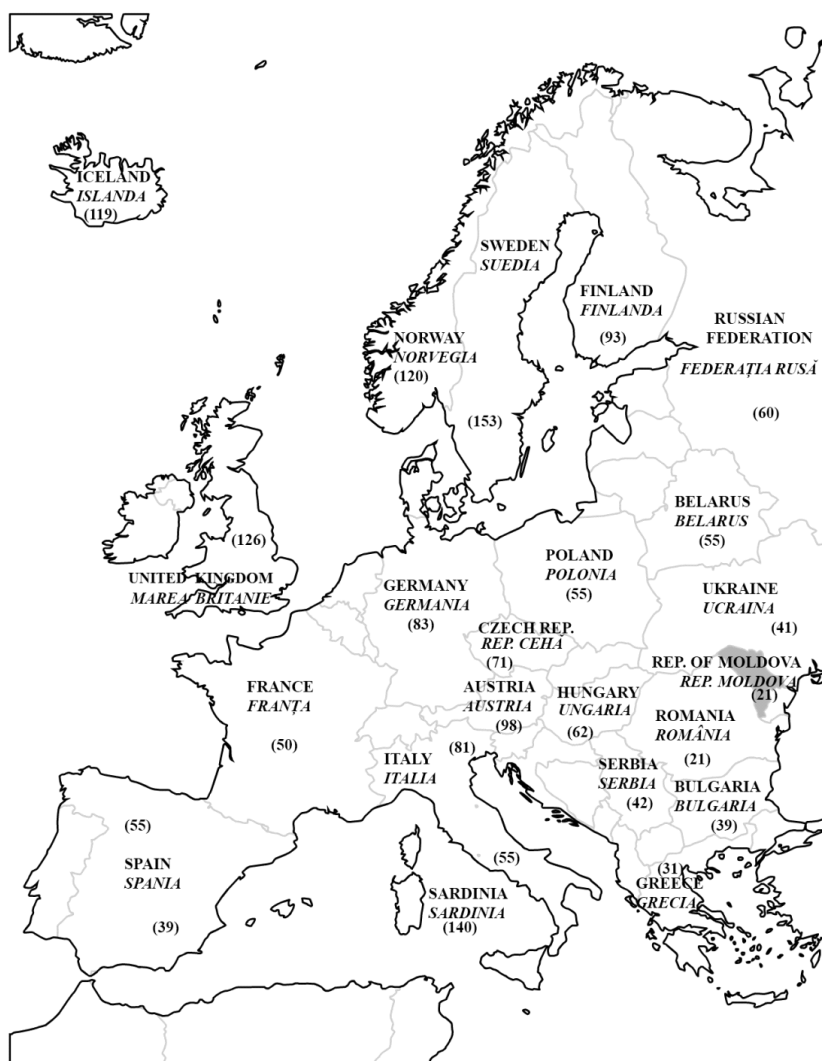


Fig. 3 Prevalența sclerozei multiple în Republica Moldova, comparativ cu unele țări europene

Fig. 3 The prevalence of multiple sclerosis in Republic of Moldova (compared to some European countries)

prevalence of age. The average incidence rate was estimated at 5.5 per 100.000 inhabitants for the years 1997-1998. The distribution according to the course of the disease was 69% - for RR-MS and benign forms, 20% - for RP-MS and SP-MS, and 11% - for PP-MS. In the same study, 58% of the patients had a mild disability, 22% had moderate disability and 20% were severely disabled patients.

Several epidemiological assessments on MS in Bulgaria have been reported in the specialized literature. The most recent population-based studies conducted in two small communities with nearly 55.000 inhabitants showed an overall average prevalence rate of 39 per 100.000 inhabitants in 1995, and the W:M ratio of 2.0:1 [34]. In the Sofia's urban region and the rural town of Somokov, the MS prevalence was lower at the rroma [35], similar data with those reported for the Hungarian Baranya County [31]. The distribution of the prevalence cases of age was reported in an earlier study conducted in the Plovdiv area based on the data from 1992, when the total

in 1984 [29] and between 78 and 160 in small populations in three districts of Bohemia, in the north of Czech Republic in 1992. The W:M ratio was 1.5:1. Average annual incidence rates between 4 and 8 per 100.000 inhabitants were reported for 1985-1990. There is no prevalence data by age and neither by distribution of the disease severity, and for the course of the disease local data shows that 55%-70% are RR-MS, 28%-35% are RP-MS and SP-MS, and 2%-10% are PP-MS [30].

Prevalence rates of MS in Hungary between 1992 and 1996 ranged from 32-79 per 100.000 inhabitants, with the lowest rates in Baranya County and the highest rates in Fejer County [31]. At rroma population, the prevalence ranged from 5 to 100.000 in Baranya County and 98 in Fejer County. In 1999, for the Csongrad County was obtained a total prevalence rate of 62 per 100.000 inhabitants, with the W:M ratio of 2.7:1 [32, 33]. There is no recent data on the distribution by prevalence

pul de vârstă de 40-49 de ani. Nu sunt disponibile informații actualizate despre incidența și distribuția SM în funcție de severitate. În schimb, datele despre evoluția bolii arată că în 32%, 50% și 18% din cazuri au fost SM-RR, SM-SP și, respectiv, SM-PP [35]. Prevalența sclerozei multiple în Europa, inclusiv în Republica Moldova, este prezentată în Figura 3.

Studiul nostru oferă o analiză mai largă și mai detaliată a prevalenței specifice vârstei și genului la pacienții cu SM în Republica Moldova. Informațiile obținute din această cercetare ar putea fi utile pentru instituirea unui registru al bolii, la planificarea unor servicii de sănătate de calitate, care ar oferi pacienților cu SM din Republica Moldova acces mai ușor la medicamentele imunomodulatoare necesare.

Ar trebui efectuate cercetări suplimentare, care să estimeze incidența SM pentru cel puțin ultimii zece ani, ceea ce ar permite completarea Registrului European pentru SM în Barometru. De asemenea, un studiu al factorilor de risc sau celor asociați cu SM ar fi foarte binevenit pentru populația din Republica Moldova.

Concluzii

Prevalența brută estimată a sclerozei multiple în Republica Moldova a fost de 21,0 cazuri la 100.000 de locuitori, care s-a dovedit a fi mai mică decât în țările din Europa. Cel mai probabil, prevalența SM în Republica Moldova este subestimată din cauza ignorării simptomatologiei precoce a maladiei de către pacient, adresării tardive la neurolog sau, deoarece diagnosticul dat nu este stabilit la adresarea pacientului simptomatic.

În ziua de prevalență, frecvența tuturor manifestărilor a fost mai mare decât la debutul bolii, în special, a disfuncțiilor sfincteriene, mentale și cerebeloase, atât la bărbați, cât și la femei.

Conflict de interese

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

VL, MP, ML și CM au conceput studiul și au participat la elaborarea design-ului cercetării. VL, MG, MS, OO, CM și AB au participat la examinarea clinică a pacienților și la colectarea datelor. CM, VL, MS și AB au contribuit la redactarea manuscrisului. MP, CM și ML au efectuat analiza statistică a datelor. Manuscrisul final a fost aprobat de către toți autorii.

Referințe / references

1. Compston A., Wekerle H., McDonald I. The origin of multiple sclerosis: a synthesis. In: Compston A. *et al. McAlpine's Multiple Sclerosis*, New York, Churchill Livingstone, Fourth Edition, 2006; 273-284.
2. StatBank. Number of population (online). Available at: www.statistica.md (accessed on 29.11.2014).
3. Polman C., Reingold S., Banwell B. *et al.* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology*, 2011; 69: 292-302.

prevalence was 18 per 100.000 and the highest rates were in the age group 40-49. There is no updated information about the incidence and distribution by severity degree of disease. Information about the progress of the disease shows that 32% are RR-MS, 50% are SP-MS and 18% are PP-MS [35]. The prevalence of multiple sclerosis in Europe, including the Republic of Moldova, is shown in Figure 3.

This study provides a broad and detailed analysis of age-specific and gender prevalence in patients with MS in the Republic of Moldova, a study that is at the same time standardized to European population. Multiple sclerosis averaged at a lower rate in the Republic of Moldova than in the rest of Europe. Information from this survey will be used to plan qualitative health services, disease registry and to provide patients with MS in the Republic of Moldova the access of immunomodulatory drugs.

More research must be conducted to estimate the incidence of MS for at least the past decade to include complete data in the European Register for MS, the barometer, and to provide a study on environmental risk factors for MS in the Republic of Moldova.

Conclusions

The estimated prevalence of multiple sclerosis in the Republic of Moldova was 21.0 per 100.000 inhabitants. This proved to be lower than in European countries. Also the patient's neglect of the first appeared signs and symptoms lead to a late addressing to the neurologist doctor. On the other hand, when the patient addresses in time to a doctor, the reason why MS is not detected would be underestimating the diagnosis, which in some cases is established with delay and in the other cases it is not set at all.

On prevalence day, frequency of all events was higher than at onset, especially bowel and bladder, mental and cerebellar functions for both men and women.

Conflict of interest

Nothing to declare.

Authors contribution

VL, MP, ML and CM conceived the study and participated in the development of design research. VL, MG, MS, OO, CM and AB participated in the clinical examination of patients and data collection. CM, VL, MS and AB contributed to drafting the manuscript. MP, CM and ML were performed statistical analysis. The final manuscript was approved by all authors.

4. Lublin F., Reingold S. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*, 1996; 46(4): 907-11.
5. McDonald W., Compston A., Edan G. *et al.* Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 2001; 50:121-127.
6. Rosati G. Descriptive epidemiology of multiple sclerosis in Euro-

- pe in the 1980s: a critical overview. *Annals of Neurology*, 1994; 36 (Suppl. 2): S164-S174.
7. Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurological Sciences*, 2001; 22: 117-139.
 8. Pugliatti M., Sotgiu S., Rosati G. The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 2002; 104: 182-191.
 9. Pugliatti M., Rosati G., Carton H. *et al.* The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *European Journal of Neurology*, 2006; 13: 700-722.
 10. Lo A., Hadjimichael O., Vollmer T. Treatment patterns of multiple sclerosis patients: a comparison of veterans and non-veterans using the narcoms registry. *Multiple Sclerosis*, 2005; 11(1): 33-40.
 11. Taylor B., Pearson J., Clarke G. *et al.* Multiple sclerosis prevalence in New Zealand: an ethnically and latitudinally diverse country. *Multiple Sclerosis*, 2010; 16(12): 1422-1431.
 12. Osoegawa M., Kira J., Fukazawa T. *et al.* Temporal changes and geographical differences in multiple sclerosis phenotypes in Japanese: nationwide survey results over 30 years. *Multiple Sclerosis*, 2009; 15(2): 159-173.
 13. Trojano M., Paolicelli D., Lepore V. *et al.* Italian multiple sclerosis database network. *Neurological Sciences*, 2006; 27 (Suppl. 5): 358-361.
 14. Fromont A., Binquet C., Sauleau E. *et al.* Geographic variations of multiple sclerosis in France. *Brain*, 2010; 133(7): 1889-1899.
 15. Bronnum-Hansen H., Koch-Henriksen N., Stenager E. The Danish multiple sclerosis registry. *Scand J Public Health*, 2011; 39(Suppl. 7): 62-64.
 16. Midgard R. Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Norway. *Acta Neurol Scand Suppl*, 2012; (195): 36-42.
 17. Ahlgren C., Oden A., Lycke J. High nationwide prevalence of multiple sclerosis in Sweden. *Multiple Sclerosis*, 2011; 17(8): 901-908.
 18. MSIF Atlas of MS, 2013 (online: <http://www.msif.org/about-us/advocacy/atlas/atlas-of-ms/>).
 19. Kurtzke J. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 1983; 33: 1444-52.
 20. Petrescu A., Verdes F. Epidemiology of multiple sclerosis in Romania. *Neurologie et Psychiatrie (Bucuresti)*, 1989; 27: 261-271.
 21. Petrescu A. Epidemiology of multiple sclerosis in Romania. In: Firnhaber W., Lauer K. (eds.) *Multiple Sclerosis in Europe: An Epidemiological Update*. Darmstadt: Leuchtturm-Verlag/LTV Press, 1994; pp. 287-293.
 22. Becus T., Popoviciu L. Epidemiologic survey of multiple sclerosis in Mures County, Romania. *Romanian Journal of Neurology and Psychiatry*, 1994; 32: 115-122.
 23. Boiko A., Zavalishin I., Spirin N. *et al.* Epidemiology of MS in Russia: first data of united study of multiple sclerosis epidemiology in Russia. *Multiple Sclerosis*, 2004; 10 (Suppl. 2): 157.
 24. Boiko A. Multiple sclerosis prevalence in Russia and other countries of the former USSR. In: Firnhaber W., Lauer K. (eds.) *Multiple Sclerosis in Europe: An Epidemiological Update*. Darmstadt: Leuchtturm-Verlag/LTV Press, 1994; pp. 219-230.
 25. Korbut A., Korniychuk A. Multiple sclerosis in the population of Vinnytsya City, Central Ukraine. *Neurologia and Neurochirurgia Polska*, 2001 (Suppl. 2): 1-60.
 26. Korniychuk A., Zheliba O. Epidemiology of multiple sclerosis in Vinnytsya Oblast, South-West Ukraine. *Journal of Neuroimmunology*, 2005; 41 (Suppl. 1): 56-63.
 27. Potemkowski A., Walczak A., Nocon D., Fabian A., Nowacki P. Epidemiological analysis of multiple sclerosis in the Szczecin Region, North-Western part of Poland. In: Firnhaber W., Lauer K. (eds.) *Multiple Sclerosis in Europe: An Epidemiological Update*. Darmstadt: Leuchtturm-Verlag/LTV Press, 1994; pp. 249-254.
 28. Wender M., Pruchnik-Grabowska D., Hertmanowska H. *et al.* Epidemiology of multiple sclerosis in Western Poland – a comparison between prevalence rates in 1965 and 1981. *Acta Neurologica Scandinavica*, 1985; 72: 210-217.
 29. Jedlicka P., Benes B., Hron B. *et al.* Epidemiology of multiple sclerosis in the Czech Republic. In: Firnhaber W., Lauer K. (eds.) *Multiple Sclerosis in Europe: An Epidemiological Update*. Darmstadt: Leuchtturm-Verlag/LTV Press, 1994; pp. 261-265.
 30. Jedlicka P. Epidemiology of multiple sclerosis in Czechoslovakia. In: Battaglia M., Crimi G. (eds.) *An Update on Multiple Sclerosis*. Monduzzi Editore, Bologna, 1989; pp. 253-255.
 31. Guseo A., Jofeu E., Kocsis A. Epidemiology of multiple sclerosis in Western Hungary 1957-1992. In: Firnhaber W., Lauer K. (eds.) *Multiple Sclerosis in Europe: An Epidemiological Update*. Darmstadt: Leuchtturm-Verlag/LTV Press, 1994; pp. 279-286.
 32. Bencsik K., Rajda C., Fuvesi J. *et al.* The prevalence of multiple sclerosis, distribution of clinical forms of the disease and functional status of patients in Csongrad County, Hungary. *European Neurology*, 2001; 46: 206-209.
 33. Bencsik K., Rajda C., Klivenyi P. *et al.* The prevalence of multiple sclerosis in the Hungarian city of Szeged. *Acta Neurologica Scandinavica*, 1998; 97: 315-319.
 34. Milanov I., Georgiev D., Kmetska K., Jordanova L., Topalov N. Prevalence of multiple sclerosis in Bulgaria. *Neuroepidemiology*, 1997; 16: 304-307.
 35. Milanov I., Topalov N., Kmetska T. Prevalence of multiple sclerosis in Gipsies and Bulgarians. *Neuroepidemiology*, 1999; 18: 218-222.

Evaluarea comparativă a inciziei și rezecției transuretrale în cadrul tratamentului endoscopic al sclerozei de col vezical, sclerozei de prostată și hiperplaziei prostatice benigne: studiu retrospectiv, descriptiv, pe serie de cazuri

Vitalii Ghicavii¹

¹Catedra de urologie și nefrologie chirurgicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

Autor corespondent:

Vitalii Ghicavii, dr. șt. med., conf. univ.

Catedra de urologie și nefrologie chirurgicală

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, MD-2004, Chișinău, Republica Moldova

e-mail: vghicavii@yahoo.com

Comparative evaluation of transurethral incision and transurethral prostate resection in endoscopic treatment of bladder neck sclerosis, prostate sclerosis, and benign prostatic hyperplasia: retrospective, descriptive, case-series study

Vitalii Ghicavii^{1*}

¹Department of Urology and Surgical Nephrology, "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author:

Vitalii Ghicavii, PhD, assoc. prof.

Department of Urology and Surgical Nephrology

"Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy

Ave. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: vghicavii@yahoo.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Implementarea pe larg a metodelor endoscopice în tratamentul patologiilor obstructiv-obliterante a căilor urinare inferioare a generat apariția unor complicații specifice. Nu este elucidat, deocamdată, care din modalitățile chirurgicale endoscopice sunt cele mai indicate în tratamentul patologiilor urinare inferioare obstructive.

Ipoteza de cercetare

Fiind o tehnică mai puțin invazivă decât rezecția transuretrală de prostată, incizia transuretrală de prostată oferă rezultate postoperatorii mai bune în cazul patologiilor obstructiv-obliterante neavansate ale căilor urinare inferioare.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

A fost demonstrat, că în cazul hiperplaziei prostatice benigne de volum mic, al sclerozei de prostată și sclerozei de col urinar, utilizarea inciziei transuretrale în locul rezecției transuretrale oferă rezultate postoperatorii mai bune în termeni de simptomatologie, recuperare funcțională și calitate a vieții.

Rezumat

Introducere. Patologiile obstructiv-sclerozate ale colului vezicii urinare și prostatei se întâlnesc la 35%-40% dintre bărbații trecuți de 60 de ani. Tratamentul minim invaziv en-

What is not known yet, about the topic

Implementation of a vast number of endoscopic treatment methods of obstructive-obliterant pathologies of inferior urinary tract has generated specific complications. It is still unknown which endoscopic surgical method is the most preferred one.

Research hypothesis

Being a less invasive method than transurethral resection, transurethral incision offers better postoperative results in patients with mild obstructive-obliterant pathology of inferior urinary tract.

Article's added novelty on this scientific topic

It has been proved that, transurethral incision used in small volume benign prostate hyperplasia, prostate sclerosis and bladder neck sclerosis, offers better results in symptomatology, functional recovery and quality of life.

Abstract

Introduction. Prostate and bladder neck obstructive-sclerotic pathologies are found in 35%-40% of men older than 60 years old. During the last decade, minimal invasive endoscopic

dosopic, în ultimul deceniu, a devenit metoda principală de tratament a patologiilor date, prin care s-au înlocuit operațiile clasice, tradiționale. Totodată, indicațiile pentru operațiile respective, tehnica de efectuare, cauzele de apariție a complicațiilor și modul de rezolvare a acestora rămân să fie discutate intens în literatura de specialitate.

Material și metode. Studiu retrospectiv, descriptiv, pe serie de cazuri. Au fost incluși 153 de pacienți cu obstrucție infravezicală, care au fost repartizați în două loturi: 95 de pacienți cu hiperplazie prostatică benignă (HPB), de volum mic, cărora li s-a efectuat fie incizie transuretrală de prostată (ITUP), fie rezecție transuretrală de prostată (TURP), și 58 de pacienți cu scleroză de col de vezică urinară (SCVU), cărora li s-a efectuat ITUP. Au fost comparate rezultatele postoperatorii în termeni de simptomatologie, calitate a vieții și complicații. Datele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative.

Rezultate. La cei 153 de pacienți li s-au efectuat 192 de intervenții: ITUP – 109, TURP – 44, cistolitotripsie – 25, uretrotomie – 14. Durata medie de supraveghere postoperatorie: 6-24 de luni. Dintre cei 51 de pacienți cu HPB, beneficiari de ITUP, rezultate pozitive au fost obținute la 44 (86,3%); dintre cei 44 de pacienți cu HPB, beneficiari de TURP, rezultate pozitive au fost obținute la 39 (88,6%). Dintre cei 58 de pacienți cu scleroză de col vezical, beneficiari de incizie de col, rezultate pozitive au fost obținute la 54 (93,1%) de persoane.

Concluzii. În cazul hiperplaziei prostatice benigne de volum mic, sclerozei prostatice și sclerozei de col vezical, incizia transuretrală de prostată, comparativ cu rezecția transuretrală de prostată, se caracterizează printr-o rată de succes similară, dar cu o evoluție postoperatorie mai favorabilă, cu un număr mai mic de complicații hemoragice, inflamatorii, obstructive și de incontinență urinară.

Cuvinte cheie: scleroză de prostată, hiperplazie benignă de prostată, scleroză de col vezical, rezecție transuretrală de prostată, incizie transuretrală de prostată, complicații.

Introducere

La pacienții vârstnici și senili, scleroza prostatei și a colului vezicii urinare (SCVU) ocupă al doilea loc printre patologii obstructive ale căilor urinare inferioare, după hiperplazia prostatică benignă (HPB) [1-3]. Conform datelor lui Hoekstra R. (2010) [4], Fitzpatrick J. (2011) [5], Nașivochnicova N. (2011) [6], Moldoveanu C. (2013) [7], prevalența SCVU este de 15% la bărbații cu vârsta până la 45 de ani și de 35%-40% – la cei cu vârsta de peste 60 de ani. În ultimul deceniu, odată cu creșterea longevității vieții, se observă o creștere a numărului pacienților, care suferă de SCVU [5, 8, 9, 10].

Actualmente, metoda principală de tratament a patologiilor date rămâne cea endoscopică (rezecția transuretrală de prostată, TURP, sau incizia transuretrală de prostată, ITUP), prin care s-au înlocuit operațiile clasice, tradiționale [11-13]. Totodată, progresul tehnico-științific, dezvoltarea medicinei fundamentale, creșterea numărului pacienților vârstnici și senili au încurajat apariția noilor tehnologii de tratament a patologiilor respective (laser, plasma vaporizare ș. a.) [4, 6, 14].

treatment became the leading method, replacing classic and traditional surgeries. Also, indications for this type of surgery, technique, reason of complications and ways of their treatment are widely discussed in specialty literature.

Material and methods. Retrospective, descriptive, case-series study that included 153 patients with infravesical obstruction. Patients were divided into 2 groups: 95 patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) of small volume, that underwent transurethral incision of the prostate (TUIP) or transurethral resection of the prostate (TURP), and 58 patients with bladder neck sclerosis (BNS), that underwent TUIP. Postoperative results regarding symptomatology, complications and quality of life have been compared. The data are presented by absolute and relative values.

Results. 152 patients underwent 192 surgeries: TUIP – 109, TURP – 44, cystolithotripsy – 25, urethrotomy – 14. The mean postoperative observation period was 6-24 months. Among 51 patients with BPH, that underwent TUIP, positive results were achieved in 44 patients (86.3%); 44 patients with BHP, that underwent TURP, positive results were achieved in 39 patients (88.6%). Among 58 patients with bladder neck sclerosis, positive results after surgical incision were obtained in 54 patients (93.1%).

Conclusions. Patients with BPH of small volumes, BNS and prostate sclerosis that undergo transurethral resection have the same rate of success as patients that undergo transurethral incision. The difference is that, transurethral incision is characterized by a better evolution, with less hemorrhagic, inflammatory, obstructive complications and a smaller rate of urinary incontinence.

Keywords: prostate sclerosis, benign prostatic hyperplasia, bladder neck sclerosis, transurethral resection of the prostate, transurethral incision of the prostate, complications.

Introduction

In elderly and senile patients, bladder neck sclerosis and prostate sclerosis occupy the second place among obstructive diseases of inferior urinary tract, after benign prostatic hyperplasia (BPH) [1-3]. According to data provided by Hoekstra R. (2010) [4], Fitzpatrick J. (2011) [5], Nașivochnicova N. (2011) [6], Moldoveanu C. (2013) [7], the prevalence of bladder neck sclerosis is 15% in 45 years old men, and 35-40% in men aged 60 and older. In the last decade, along with the increase of longevity, it was noticed an increase in the number of patients that suffer from bladder neck sclerosis [5, 8, 9, 10].

Nowadays, the endoscopic way of treatment of this kind of pathologies remains to be the leading method transurethral resection of the prostate (TURP) and transurethral incision of the prostate (TUIP), that has replaced classical and traditional surgeries [11-13]. Also, technical and scientific progress, development of medicine, the increase of the number of elderly and senile patients has encouraged the appearance of new methods of treatment of these pathologies (laser, plasma vaporization etc.) [4, 6, 14].

Prostate sclerosis and bladder neck sclerosis are two pa-

Scleroza prostatei și colului vezicii urinare sunt două patologii, care au aceiași factori etio-patogenetici [15, 16]. Ele se pot manifesta atât ca patologii primare, cât și ca patologii secundare, în special, după intervenții chirurgicale pentru adenomul de prostată, inclusiv, TURP [7, 17, 18]. E de menționat faptul, că una din complicațiile de bază după TURP este SCVU, care se manifestă de la 3% până la 32% de cazuri. Printre alte complicații tardive, apărute după operațiile endoscopice transuretrale, se numără și strictura uretrei, cu o frecvență de 8%-32% din cazuri, ejacularea retrogradă – 60% din cazuri, incontinența de urină 0,3%-2% din cazuri [19, 20]. În prezent, metodele de tratament endoscopic ale SCVU sunt folosite pe larg, cu rezultate destul de bune [21, 22, 23]. Cu toate acestea, rămân discutabile indicațiile pentru operațiile respective, tehnicile operatorii, cauzele de apariție a complicațiilor și modul de rezolvare a lor. În unele publicații se menționează lipsa analizei insucceselor operatorii și modul lor de prevenire. De asemenea, nu este definitiv elucidată cauza lipsei îmbunătățirii parametrilor urodinamici după incizia transuretrală a prostatei și colului vezicii urinare [4, 6, 24, 25].

Material și metode

Într-un studiu retrospectiv, realizat în Clinica de urologie și nefrologie chirurgicală a USMF „Nicolae Testemițanu” din Chișinău, au fost incluși 153 de pacienți cu obstrucție infravezicală (OIV).

Din studiu au fost excluși pacienții suspecți de cancer al prostatei (nivelul antigenului specific al prostatei, PSA >4 ng/ml; din l. engl. – *prostate-specific antigen*). Ulterior, pacienții suspecți de cancer de prostată, au urmat un protocol diagnostic, conform recomandărilor internaționale [8, 14, 22].

Cei 153 de pacienți, au fost împărțiți în 2 loturi: primul, cu 95 de pacienți, cu HPB de volum mic, și al doilea – din 58 de pacienți, cu SCVU. Primul lot a inclus 2 subloturi: unul constituit din 44 de pacienți cu HPB mic, ce aveau o vârstă cuprinsă între 47 și 70 de ani (media – 62,5 de ani) și al doilea, de 51 de pacienți cu HBP mic, cu vârstă cuprinsă între 42 și 80 de ani (media – 61 de ani), cărora li s-a efectuat, respectiv, TURP și ITUP. În lotul doi au fost incluși 58 de pacienți cu SCVU (vârsta medie 55,5 ani), la care li s-a efectuat ITUP.

Intervențiile endoscopice s-au efectuat în sala specializată de operații urologice. Operațiile se începeau standard, printr-o uretrocistoscopie, ce permitea, în funcție de volumul prostatei, de acuzele pacientului și de recomandările GIU, alegerea metodei de tratament: TURP sau ITUP [19].

În cazul prezenței lobului mediu, creșterii intravezicale, prezenței lobilor laterali, se efectua o rezecție transuretrală de prostată. Uretrocistoscopia a permis, de asemenea, depistarea unei eventuale stricturi de uretră, iar în cazul sclerozei colului vezicii urinare – de a identifica deformarea și îngustarea lui.

Incizia transuretrală în SCVU s-a efectuat la orele 5 și 7. Proximal, incizia începea la 1 cm de la meaturile ureterale și continua, prin colul vezicii urinare, spre coliculul seminal. În unele cazuri, o incizie suplimentară se efectua la orele 12, pentru a permite deschiderea maximală a colului vezicii urinare. Profunzimea inciziei ajungea până la capsula prostatei, fără perforarea ei, evitând, astfel, hemoragia din sinusurile venoa-

thologies that have the same ethio-pathological factors [15, 16]. They can present as primary pathologies as well as secondary ones, especially after surgeries for prostate adenoma, including TURP [7, 17, 18]. It should be mentioned that one of the complications after TURP is bladder neck sclerosis, with manifestations in 3%-32% of cases. Among late complications of transurethral surgeries are: urethral stricture in 8%-32%, retrograde ejaculation in 60%, urinary incontinence in 0.3%-2% of cases [19, 20]. Today, endoscopic methods of treatment bladder neck sclerosis are widely used, with quite good results [21, 22, 23]. Nevertheless, the indications and techniques of this type of surgeries, the cause and treatment of certain complications are still to be discussed. Some publications mention the lack of surgical failure analysis and their prevention. Also, it is not definitively known why urological dynamic parameters don't improve after transurethral incision of the prostate or bladder neck [4, 6, 24, 25].

Material and methods

One hundred fifty-three patients with infravesical obstruction were included in a clinical retrospective study, held at the Clinic of Urology and Surgical Nephrology, of "Nicolae Testemitanu" SUMPh from Chisinau.

Patients suspected for prostatic cancer were excluded from the study (level of PSA >4 ng/ml; PSA – prostate specific antigen). Subsequently, patients suspected for prostatic cancer followed a diagnostic protocol, according to international recommendations [8, 14, 22].

The total number of patients was divided into 2 groups: the first group consisted of 95 patients with BPH of small volumes; the second group consisted of 58 patients with BNS. The first group was divided into two subgroups: 44 patients in the first subgroup (patients with BPH of small volumes, aged from 47 to 70 years old, mean age 62.5 years), and 51 patients in the second subgroup (patients aged from 42 to 80 years old, mean 61 years) that underwent TURP and TUIP accordingly; 58 patients with BNS from the second group, with mean age 55.5 years, underwent TUIP.

Endoscopic surgeries were held in a specialized operating room for urologic surgeries. The surgeries had a standard beginning with an urethrocystoscopy, that allowed according to prostate volume, patient complains and UIG recommendations, to choose the method of treatment: TURP or TUIP [4].

If medium lobe, lateral lobes or growth into the bladder were attested, transurethral resection was performed. Uretrocystoscopy allowed diagnosing urethral stricture and identifying deformations and strictures of bladder neck.

Transurethral incision in BNS was made at 5 and 7 o'clock. Proximally, the incision started at 1 cm from the urethral meatus, and continued to the seminal colliculus through the neck of the bladder. In some cases, an additional incision was performed at 12 o'clock, in order to allow a maximal opening of the neck of the bladder. The incision deepness approached the prostate capsule without its perforation, in order to avoid bleeding from venous sinuses and leakage of irrigation fluid. The incisions allowed examining the structure of bladder neck

se și extravazarea lichidului de irigare. Prin inciziile efectuate, a fost examinată structura țesutului colului vezicii urinare care, la necesitate, s-a rezecat. La sfârșitul intervenției, pacienților li se introducea sonda uretrală.

În cazul HBP, complicată cu calculi vezicali sau strictură de uretră, se efectua cistolitotripsia sau uretrotomia internă.

Postoperatoriu, conform uzanțelor, la toți pacienții s-a efectuat examenul morfologic al țesutului rezecat al prostatei și colului vezicii urinare.

La pacienții incluși în studiu li s-a apreciat Scorul Internațional al Simptomelor Prostatei (l. engl. *International Prostatic Symptom Score*, IPSS) și Scorul Calității Vieții (l. engl. *Quality of Life*, QOL), conform recomandărilor Ghidului Internațional în Urologie din 2014 [19]. S-au colectat datele referitoare la dereglările de micțiune, disfuncția erectilă, prezența ejaculării retrograde, antecedentele chirurgicale la organele urogenitale, volumul prostatei, viteza medie a jetului urinar și caracterul simptomelor obstructive.

Rezultatele studiului sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative.

Rezultate

Caracterizarea loturilor de pacienți studiați este redată în Tabelul 1.

Tabelul 1

Repartizarea pacienților incluși în studiu

Sublot	Intervenție	Volumul prostatei, cm ³	Viteza jetului urinar, ml/s	IPSS [§] puncte	QOL ^{**} puncte
HBP [†] (n=44)	TURP [*]	39,6	11,5	26,0	5,8
HBP (n=51)	ITUP [#]	36,8	9,7	25,8	4,6
SCVU [†] (n=58)	ITUP și CV	25,9	10,8	26,7	5,2

Notă: [†]- hipertrofie benignă de prostată; [‡]- scleroza colului vezicii urinare; ^{*}- rezecție transuretrală de prostată; [#]- incizie transuretrală de prostată; ^{||}- incizia transuretrală a prostatei și colului vezical; [§]- scorul internațional al simptomelor prostatei; ^{**}- calitatea vieții. Datele sunt prezentate sub formă de medie.

Comorbidități urologice s-au înregistrat la 25,4% (39) de pacienți: în lotul 1 – la 13 (13,7%) pacienți, în lotul 2 – la 26 (44,8%) de pacienți.

Din toți cei 153 de pacienți, calculi ai vezicii urinare au avut 25 (16,3%) de bolnavi, iar strictură de uretră – 5 (3,3%) persoane. Leucociturie și bacteriurie au prezentat, respectiv, 28% și 25,3% de pacienți. Un pacient era purtător de cistostomie. Urină reziduală a fost identificată la 76 (49,6%) de pacienți și avea un volum cuprins între 50 și 300 ml. La cei 153 de pacienți s-au efectuat 192 de intervenții: ITUP – 109, TURP – 44, cistolitotripsie – 25, uretrotomie – 14.

Dintre cei 58 de pacienți ai lotului 2, au fost operați anterior 18 (transvezical – 9, TURP – 7, cistostomie – 1, cistolitotomie – 1). Volumul prostatei pacienților din ambele loturi era cuprins între 30 și 42 cm³.

Comparând evoluția postoperatorie a bolnavilor cu HBP și scleroză de col de vezică urinară (Tabelul 2), beneficiari de TURP sau ITUP, pot fi menționate următoarele aspecte:

tissue that was resected if necessary. At the end of the surgery, an urethral catheter was placed.

In case of BPH and vesical calculus or urethral stricture, cistolitotripsy or internal urethrotomy was performed.

International Prostatic Symptom Score (IPSS) was assessed in patients included in the study as well as Quality of Life Score (QOL), according to the Urological International Guideline 2014 [19]. Data about urination, erectile dysfunction, retrograde ejaculation, history of urological surgeries, prostate volume, mean speed of urine jet and obstructive symptoms was collected.

The results of the study are presented in absolute and relative values.

Results

Characteristics of the groups of patients are presented in Table 1.

Table 1

Distribution of patients included in the study

Subgroup	Surgery	Prostate volume, cm ³	Urinary jet speed, ml/s	IPSS [§] points	QOL ^{**} points
BPH [†] (n=44)	TURP [*]	39.6	11.5	26.0	5.8
BPH (n=51)	TUIP [#]	36.8	9.7	25.8	4.6
BNS [†] (n=58)	TUIP & BN	25.9	10.8	26.7	5.2

Note: [†]- benign prostate hyperplasia; [‡]- bladder neck sclerosis; ^{*}- transurethral resection of the prostate; [#]- transurethral incision of the prostate; ^{||}- transurethral incision of the prostate and the neck of the bladder; [§]- international prostate symptoms score; ^{**}- quality of life. Data are presented by mean values.

Urological comorbidities were present in 25.4% (39) of patients: 13.7% (13) patients from group one and 44.8% (26) patients from group two.

Among 153 patients, vesical calculus was present in 25 (16.3%) patients, urethral stricture was present in 5 (3.3%) patients. Leucocytes and bacteria in urine were present in 28% and 25.3% accordingly. One patient had cystostomy. Residual urine was attested in 76 (49.6%) of patients, and its volume ranged from 50 ml to 300 ml. All 153 patients underwent a total of 192 surgeries: TUIP – 109, TURP – 44, cistolitotripsy – 25, urethrotomy – 14.

Among 58 patients from the second group, 18 of them had previous surgeries (transvesical – 9, TURP – 7, cystostomy – 1, cistolitotomy – 1). Prostate volume in patients from both groups ranged between 30-42 cm³.

Comparing postoperative evolution of patients with BPH and BNS (Table 2) that underwent either TURP or TUIP, the following aspects can be mentioned:

- (1) hematuria and bleeding after TUIP were less common and less active than after TURP;
- (2) shorter duration of TUIP, smaller trauma and limited maintenance of the urethral catheter resulted in a smaller number of complications;

Tabelul 2

Evoluția postoperatorie a pacienților cu hipertrofie prostatică benignă și scleroză de col de vezică urinară

Evenimente	hipertrofie prostatică benignă		scleroza colului vezicii urinare (ITUP) (n=58)
	TURP* (n=44)	ITUP# (n=51)	
Hematurie	24 (54,6%)	11 (21,6%)	8 (13,8%)
Hemoragie	8 (18,2%)	2 (3,9%)	1 (1,7%)
Febră	9 (20,5%)	3 (5,9%)	2 (3,4%)
Semne de OIV [†]	16 (36,4%)	11 (21,6%)	8 (13,8%)
Vezică hiperactivă	9 (20,5%)	5 (9,8%)	2 (3,4%)
Durată de spitalizare, zile	4-5	2-3	2

Notă: * – rezecție transuretrală de prostată; # – incizie transuretrală de prostată; † – obstrucție infravezicală.

- (1) hematuria și hemoragia după ITUP au fost mai rare și mai puțin abundente decât după TURP;
- (2) datorită duratei mai scurte de realizare a ITUP, a traumatismului mai mic și a menținerii limitate a cateterului uretral, numărul de complicații a fost și el, respectiv, mai mic;
- (3) menținerea *in situ* >48 de ore a cateterului uretral crește semnificativ riscul de dezvoltare al complicațiilor inflamatorii;
- (4) după ITUP, s-au înregistrat mai puține cazuri de vezică hiperactivă.

De menționat că manifestările vezicii hiperactive (disurie, instabilitate, incontinență parțială, chemări imperative ș. a.) au fost mai frecvente după TURP, decât după incizie în cazul HPB mic și SCVU.

Pacienții studiați au beneficiat de supraveghere postoperatorie prelungită, cuprinsă între 6 și 24 de luni. Rezultatele acestei supravegheri sunt prezentate în Tabelul 3.

Din cei 51 de pacienți cu HBP, beneficiari de ITUP, rezultate pozitive au fost obținute la 44 (86,3%) dintre ei. Scorul IPSS s-a redus, în medie, de la 25,8 la 6,8 puncte, iar scorul calității vieții (QOL) s-a ameliorat, în medie de la 4,6 înaintea intervenției chirurgicale la 1,6 puncte după aceasta. Viteza maximă a jetului urinar a crescut în medie de la 9,4 ml/s la 16,8 ml/s. Trei (5,9%) pacienți după ITUP, însă 18 (40,9%) – după TURP, au acuzat ejaculare retrogradă. Un rezultat nesatisfăcător a fost obținut la 7 (13,7%) pacienți din sublotul HBP-ITUP, care peste 2-3 luni au prezentat acuzele de până la internare. Patru din cei șapte au fost operați repetat, 3 refuzând continuarea tratamentului. La 3 pacienți din cei patru reoperați, li s-a efectuat incizia suplimentară a prostatei la orele 12, cu obținerea unui efect bun, iar la 1 pacient s-a aplicat TUR al lobului mediu. Complicații obstructive, precum strictura de uretră și scleroza colului vezical nu s-au înregistrat.

Dintre cei 44 de bolnavi cu HBP, cărora li s-a efectuat TUR, rezultate pozitive au fost obținute la 39 (88,6%) de pacienți.

Table 2

Postoperative evolution of patients with benign hyperplasia of the prostate and bladder neck sclerosis

Events	Benign prostatic hyperplasia		Bladder neck sclerosis (TUIP) (n=58)
	TURP* (n=44)	TUIP# (n=51)	
Hematuria	24 (54.6%)	11 (21.6%)	8 (13.8%)
Hemorrhage	8 (18.2%)	2 (3.9%)	1 (1.7%)
Fever	9 (20.5%)	3 (5.9%)	2 (3.4%)
Signs of IVO [†]	16 (36.4%)	11 (21.6%)	8 (13.8%)
Hyperactive bladder	9 (20.5%)	5 (9.8%)	2 (3.4%)
Length of stay, days	4-5	2-3	2

Note: * – transurethral resection of the prostate; # – transurethral incision of the prostate; † – infravesical obstruction.

- (3) maintenance *in situ* >48h of the urethral catheter rises significantly the risk of inflammatory complications;
- (4) less cases of hyperactive bladder were registered after TUIP.

It is worth mentioning that symptoms of hyperactive bladder (dysuria, partial incontinence, imperative urge to urinate etc.) were more frequent attested after TURP comparing to patients with HPB and BNS that underwent TUIP.

Patients included in the study were monitored for a long postoperative period from 6 to 24 months. The results of this monitoring are presented in Table 3.

Positive results were achieved in 44 (86.3%) patients out of 51 patients with BPH that underwent TUIP. IPS Score decreased from a mean value of 25.8 to 6.8 points. QOL Score improved from 4.6 before surgery to 1.6 after surgery. Maximum urinary jet speed increased from 9.4 ml/s to 16.8 ml/s. Three patients (5.9%) after TUIP complained of retrograde ejaculation, comparing to 18 (40.9%) patients after TURP. Unsatisfactory results were present in 7 patients from the BPH-TUIP group that presented the same complaints as before surgery after 2-3 months. Four of these patients were operated repeatedly, three of them refused to continue the treatment. Three patients out of 4 re-operated, an additional incision was made at 12 o'clock with good results afterwards, and one patient underwent TUR of medium lobe. Obstructive complications such as urethral stricture and bladder neck sclerosis were not attested.

Out of 44 patients with BPH, that underwent TUR, positive results were obtained in 39 patients (88.6%). IPS Score decreased from a mean value of 26.0 to 9.2 points. QOL Score improved from 5.8 before surgery to 1.6 after surgery. Maximum urinary jet speed increased from 8.7 ml/s to 14.5 ml/s. Obstructive complications were noticed at 8 (5.2%) patients. In 3 cases we attested the development of sclerosis of the neck of the bladder, in 4 cases – stricture of membranous segment of the urethra. In all these cases, additional surgeries were performed (TUIP – for bladder neck sclerosis and internal

Tabelul 3

Rezultatele tardive ale tratamentului endoscopic al hipertrofiei prostatice benigne și sclerozei colului vezicii urinare

Evenimente	hipertrofie prostatică benignă		scleroza colului vezicii urinare (ITUP) (n=58)
	TURP* (n=44)	ITUP# (n=51)	
Scor IPSS [§] , puncte până la tratament (după tratament)	26,0 (9,2)	25,8 (6,8)	26,7 (17,0)
Scor QOL** [§] , puncte până la tratament (după tratament)	5,8 (1,6)	4,6 (1,6)	5,2 (1,8)
Viteza maximă a jetului, ml/s până la tratament (după tratament)	8,7 (14,5)	9,4 (16,8)	8,5 (17,8)
Simptomatică ameliorată din prima intervenție	39 (88,6%)	44 (86,3%)	54 (93,1%)
Ejaculare retrogradă	18 (40,9%)	3 (5,9%)	1 (1,7%)
Complicații obstructive	8 (18,2%)	0 (0%)	2 (3,4%)
Reintervenție	7 (15,9%)	4 (7,8%)	0 (0%)

Notă: * - rezecție transuretrală de prostată; # - incizie transuretrală de prostată; § - scorul internațional al simptomelor prostatei; ** - calitatea vieții. Datele sunt prezentate drept cifre absolute și (relative).

IPSS s-a redus, în medie, de la 26,0 la 9,2 puncte. Scorul calității vieții s-a ameliorat, în medie, de la 5,8 (înaintea intervenției) la 1,6 puncte, după. Viteza maximă a jetului urinar a crescut, în medie, de la 8,7 ml/s la 14,5 ml/s. Complicațiile obstructive s-au manifestat la 8 (5,2%) bolnavi. În 3 cazuri s-a constatat dezvoltarea sclerozei de col vezical, iar la 4 pacienți - strictura segmentului membranos al uretrei. În aceste cazuri s-au efectuat intervenții chirurgicale repetate (ITUP - pentru scleroza de col vezical și uretrotomie internă - pentru strictura uretrei). Un pacient a refuzat continuarea tratamentului.

Rezultatele tratamentului au fost studiate și la 58 de pacienți cu scleroza de col vezical, cărora li s-a efectuat incizia colului (Tabelul 3). Rezultate pozitive au fost obținute la 54 (93,1%) persoane. Scorul IPSS s-a redus, în medie, de la 26,7 la 17,0 puncte. Scorul calității vieții s-a ameliorat, în medie, de la 5,2 puncte (înaintea intervenției) la 1,8 puncte, după. Viteza maximă a jetului urinar a crescut, în medie, de la 8,5 ml/s la 17,8 ml/s, după intervenție. La 1 pacient care suferea de prostatită calculoasă, în pofida lichidării obstrucției infravezicale, s-a menținut o disurie pronunțată datorită simptomelor iritative. La un pacient, beneficiar anterior de adenomectomie transvezicală, s-a înregistrat incontinență urinară temporară de stres. Un pacient (1,7%) a acuzat ejaculare retrogradă. Nimeni nu a acuzat reducerea funcției sexuale. Doi pacienți din acest lot au avut recidive de scleroză de col vezical, dar au refuzat tratamentul repetat.

Discuții

Datele obținute demonstrează că incizia transuretrală a prostatei de dimensiuni mici are o eficiență cel puțin similară TURP, uneori prezentând rezultate superioare prin prisma creșterii vitezei maxime a jetului urinar și scorului QOL, re-

Table 3

Late results of endoscopic treatment of benign prostatic hyperplasia and bladder neck sclerosis

Events	benign prostatic hyperplasia		bladder neck sclerosis (ITUP) (n=58)
	TURP* (n=44)	ITUP# (n=51)	
IPS Score [§] , points before treatment (after treatment)	26.0 (9.2)	25.8 (6.8)	26.7 (17.0)
QOL Score** [§] , points before treatment (after treatment)	5.8 (1.6)	4.6 (1.6)	5.2 (1.8)
Maximum jet speed, ml/s before treatment (after treatment)	8.7 (14.5)	9.4 (16.8)	8.5 (17.8)
Symptomatic improvement after the first surgery	39 (88.6%)	44 (86.3%)	54 (93.1%)
Retrograde ejaculation	18 (40.9%)	3 (5.9%)	1 (1.7%)
Obstructive complications	8 (18.2%)	0 (0%)	2 (3.4%)
Repeated surgery	7 (15.9%)	4 (7.8%)	0 (0%)

Note: * - transurethral resection of the prostate; # - transurethral incision of the prostate; § - international prostate symptoms score; ** - quality of life. Data are presented in absolute values and (relative).

urethrotomy - for urethral stricture). One patient refused to continue the treatment.

Treatment results were studied in 58 patients with bladder neck sclerosis that underwent neck incision (Table 3). Positive results were obtained in 54 (93.1%) patients. IPS Score decreased from a mean value of 26.7 to 17.0 points. QOL Score improved from 5.2 points before surgery to 1.8 points after surgery. Maximum urinary jet speed increased from 8.5 ml/s to 17.8 ml/s. One patient suffering of calculous prostatitis, regardless the resection of infravesical obstruction complained of severe dysuria caused by irritative symptoms. One patient that underwent previously transvesical adenomectomy, complained of temporary stress urinary incontinence. One patient (1.7%) complained of retrograde ejaculation. Nobody complained of decrease of sexual activity. Two patients from this group had relapse of sclerosis of neck of the bladder, but refused repeated treatment.

Discussion

The obtained data proves that transurethral incision of the prostate of small volumes has a similar efficiency with TURP, sometimes even with superior results in increasing of maximum urine jet, increasing QOL Score and decreasing IPS Score. Also, results obtained by us and the opinion of other authors [1, 2, 5, 14] confirm that electric-surgical methods give us the possibility to achieve better results thanks to a better visualization, a shorter time of surgery, that, all in all, lead to less intraoperative blood loss.

Without doubt, TURP remains the leading method of treatment of BHP. But, in young patients, interested in preserving an anterograde ejaculation, as well as in patients with a high surgical risk, TUIP is a feasible option. Thus, in patients with

ducerii scorului IPSS. Totodată, rezultatele obținute de noi și păreriile altor cercetători din domeniu [1, 2, 5, 14] confirmă că implementarea diferitor metode electro-chirurgicale noi, în mare măsură, permit de a ameliora rezultatele electro-rezecției datorită sporirii vizualității, reducerii timpului de executare a intervenției și, în consecință, micșorarea pierderii de sânge intraoperatoriu.

Fără îndoială, TURP rămâne principala metodă de tratament al HBP. Dar, la pacienții tineri, interesați de menținerea ejaculării antegrade, precum și la pacienții cu un grad sporit de risc operator, ITUP reprezintă o opțiune fezabilă. Astfel, la pacienții cu scleroză de col vezical și a prostatei, după ITUP, au fost obținute rezultate mai bune decât în cazul HBP. Un fapt deosebit de important a fost lipsa cazurilor de recidivă a maladiei, iar numărul de complicații a fost mai mic decât după TURP. În contextul celor expuse și conform datelor bibliografice [6, 8, 15, 23, 25], studiul retrospectiv a arătat că incizia transuretrală asigură rezultate de tratament al pacienților cu scleroză de col vezical și a prostatei comparabile, iar în unele cazuri – superioare TURP.

Considerăm că avantajele metodei pe care am aplicat-o, sunt următoarele: (1) incizia se efectuează după liniile firești ale hotarelor dintre lobi prostatei, unde cantitatea de țesut glandular este mai mică, fapt care permite să se ajungă mai rapid la capsula glandei și la vase, evitând traumatizarea excesivă a parenchimului acesteia; (2) posibilitatea efectuării unei hemostaze mai sigure; (3) incizia în limitele capsulei prostatei evită formarea colecției de urină și hemoragiile masive. Rezultate similare au fost menționate în literatură și de alți specialiști [2, 3, 20, 17, 14, 25].

Am constatat, de asemenea, că incizia unilaterală nu oferă o deschidere suficientă a colului vezical, în schimb metoda bilaterală și trilaterală creează un fel de pâlnie în regiunea colului vezical, determinând o evacuare mai liberă a urinei. Incizia la orele 6, în cazul lobului mediu, produce disocierea lui cu crearea supapei uretrei posterioare, în plus, aceasta este periculoasă prin posibilitatea de lezare a rectului. Considerăm că motivele nereușitelor a fost prezența lobului mediu și deschiderea insuficientă a colului vezical. Totodată rezultatele obținute de noi sunt similare cu păreriile altor cercetători din domeniu [4, 16, 18, 19, 23, 24] conform cărora, perfecționarea intervențiilor electro-chirurgicale, elaborarea și, mai ales, implementarea noilor metode, prezintă un interes deosebit atât pentru ameliorarea rezultatelor tratamentului, cât și pentru extinderea indicațiilor pentru efectuarea lor.

Concluzii

În cazul hiperplaziei prostatice benigne de volum mic, sclerozei prostatice și sclerozei de col vezical, incizia transuretrală de prostată, comparativ cu rezecția transuretrală de prostată, se caracterizează printr-o rată similară de succes, dar cu o evoluție postoperatorie mai favorabilă, cu un număr mai mic de complicații hemoragice, inflamatorii, obstructive și de incontinență urinară.

Conflict de interese

Nimic de declarat.

prostatic sclerosis and bladder neck sclerosis, better results were achieved after TUIP comparing to patients with BPH. A very important fact is the absence of relapse cases, and the number of complications was smaller than after TURP. The above mentioned, literature data and data obtained from this study show that transurethral incision provides better results for the patients with bladder neck sclerosis and prostate sclerosis, in some cases even better results than TURP.

We consider that the advantages of the method are the following: (1) the incision is made on the anatomical lines between the prostate lobes, where there is less glandular tissue, fact that allows faster to reach the prostatic capsule without traumatizing the gland; (2) the possibility of a better hemostasis; (3) incision that do not exceed the capsule avoid urine collection and massive hemorrhages. Similar results were mentioned by other authors as well [2, 3, 14, 17, 20, 25].

We also attested that, unilateral incision does not offer a sufficient opening of the neck of the bladder; instead, bilateral and trilateral method creates a so-called funnel effect that makes urine evacuation easier. Incision at 6 o'clock in patients with medium prostate lobe creates a valve for the posterior urethra, plus it has a great risk of perforating the rectum. We consider that the causes of failure were the presence of medium lobe and insufficient opening of the neck of the bladder. At the same time, our results match the opinion of other authors and data [4, 16, 18, 19, 23, 24] according to which, improvement of electric-surgical methods, elaboration and implementation of new methods represent a huge interest for practitioners in order to achieve better treatment results and extend the range of indications for particular types of treatment.

Conclusions

In cases of benign prostatic hyperplasia of small volume, prostatic sclerosis and bladder neck sclerosis, transurethral incision of the prostate is characterized by a similar rate of success, but has a better postoperative evolution, a smaller number of hemorrhagic, inflammatory, obstructive and urine incontinence complications.

Conflict of interests

Nothing to declare.

Referințe / references

1. Burke N., Whelan J., Goeree L. Systematic review and meta-analysis of transurethral resection of the prostate versus minimally invasive procedures for the treatment of benign prostatic obstruction. *Urology*, 2010; 75(5): 1015-1022.
2. Lopatkin N. (ed.) *Urology: national leadership* [article in Russian]. Moscow, GEOTAR-Media, 2009.
3. Doluoglu O., Gokkaya C., Aktas B., Oztekin C., Bulut S., Memis A., Cetinkaya M. Impact of asymptomatic prostatitis on re-operations due to urethral stricture or bladder neck contracture developed after TURP. *Int. Urol. Nephrol*, 2012; 44(4): 1085-1090.
4. Hoekstra R., Van Melick H., Kok E., Ruud Bosch J. A 10-year follow-up after transurethral resection of the prostate, contact laser prostatectomy and electrovaporization in men with benign prostatic hyperplasia; long-term results of a randomized controlled trial. *BJU Int*, 2010; 106(6): 822-826.
5. Fitzpatrick J. Minimally invasive and endoscopic management of benign prostatic hyperplasia (chapter 93). In: Wein A. (ed). *Campbell-Walsh Urology*, 10th ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2011.
6. Nashivochnikova N., Krupin V., Klochay V., Artifeksova A. Pathological and morphological features of bladder neck sclerosis [article in Russian]. *Saratov' Scientific Medical Journal*, 2011; 7(4): 768-771.
7. Moldoveanu C., Geavlete B., Jecu M., Stanescu F., Adou L., Bulai C., Ene C., Geavlete P. Bipolar plasma vaporization versus monopolar TUR and „cold-knife” TUI in secondary bladder neck sclerosis – an evidence based, retrospective critical comparison in a single center clinical setting. Show abstract. *Journal of Medicine and Life*, 2014; 7(1): 94-99.
8. Djavan B., Eckersberger E., Handl M., Brandner R., Sadri H., Lepor H. Durability and retreatment rates of minimally invasive treatments of benign prostatic hyperplasia: a cross-analysis of the literature. *Can J. Urol*, 2010; 17(4): 5249-5254.
9. Alyaev Y., Dyakonov V. Chronic prostatitis and BPH [article in Russian]. Plenum materials of the Russian Society of Urologists. Perm, 1994; 17-18.
10. Gorilovsky L. (ed.) *Selected chapters of geriatric urology* [article in Russian]. Moscow, Nyudiamed, 2000; p. 274.
11. Pfalzgraf D., Beuke M., Isbarn H., Reiss C., Meyer-Moldenhauer W., Dahlem R., Fisch M. Open retro pubic reanastomosis for highly recurrent and complex bladder neck stenosis. *J. Urol*, 2011; 186(5): 1944-1947.
12. Ramirez D., Simhan J., Hudak S., Morey A. Standardized approach for the treatment of refractory bladder neck contractures. *Urol. Clin. North Am*, 2013; 40(3): 371-380.
13. Ramirez D., Zhao L., Bagrodia A., Scott J., Hudak S., Morey A. Deep lateral transurethral incisions for recurrent bladder neck contracture: promising 5-year experience using a standardized approach. *Urology*, 2013; 82(6): 1430-1435.
14. Spahn M., Kocot A., Loeser A., Kneitz B., Riedmiller H. Last resort in devastated bladder outlet: bladder neck closure and continent vesicostomy – long-term results and comparison of different techniques. *Urology*, 2010; 75(5): 1185-1192.
15. Martov A., Gorilovskii M., Kamalov A., Gushchin B. Transurethral endoscopic dissection of the bladder neck and prostate [article in Russian]. *Urol Nefrol*, 1995; 4: 29-30.
16. Tasci A., Ilbey Y., Tugcu V., Cicekler O., Cevik C., Zoroglu F. Transurethral resection of the prostate with monopolar resectoscope: single-surgeon experience and long-term results of after 3589 procedures. *Urology*, 2011; 78(5): 1151-1155.
17. Moldoveanu C., Geavlete B., Stănescu F., Jecu M., Adou L., Bulai C., Ene C., Geavlete P. „Tips and tricks” in secondary bladder neck sclerosis' bipolar plasma vaporization approach. Show abstract. *Journal of Medicine and Life*, 2013; 6(3): 272-277.
18. Tynaliev M., Onkar V., Myrzaliev D. Treatment of benign prostatic hyperplasia [article in Russian]. Russian Scientific Society of Urology. Plenum Materials. Kursk, 1993, p. 196-197.
19. European Association of Urology. Guidelines. 2014. <http://www.uroweb.org>
20. Geavlete B., Moldoveanu C., Iacoboaie C., Geavlete P. Bipolar plasma vaporization versus standard transurethral resection in secondary bladder neck sclerosis: a prospective, medium-term, randomized comparison. Show abstract. *Therapeutic Advances in Urology*, 2013; 5(2): 75-83.
21. Geavlete B., Stănescu F., Niță Gh., Jecu M., Moldoveanu C., Geavlete P. Bipolar plasma vaporization in secondary bladder neck sclerosis – initial experience with a new technique. Show abstract. *Journal of Medicine and Life*, 2012; 5(1): 120-125.
22. Jocius K., Sukys D. Treatment of bladder neck obstruction (sclerosis): personal experience and literature review. [article in Lithuanian] *Medicina (Kaunas)*, 2002, 38(Suppl. 1): 48-55.
23. Martov A., Kornienko S., Gushchin B., Ergakov D., Sazonov O. Intraoperative urological complications in transurethral surgical interventions on the prostate for benign hyperplasia [article in Russian]. *Urology*, 2005; 4:3-8.
24. Sataa S., Yassine N., Horchani A. Bladder neck sclerosis after surgical or transurethral resection of the prostate: a report of 40 cases. *Tunis Med*, 2009; 87(12): 810-813.
25. Simonato A., Ennas M., Benelli A., Gregori A., Oneto F., Daglio E., Traverso P., Carmignani G. Comparison between two different two-stage transperineal approaches to treat urethral strictures or bladder neck contracture associated with severe urinary incontinence that occurred after pelvic surgery: report of our experience. *Adv Urol*, 2012: 481943.

Carcinomul mamar ductal invaziv fără tip histologic special: posedă oare o structură celulară omogenă?

Veaceslav Fulga^{1*†}, Vitalie Mazuru^{1†}, Valeriu David^{1†}, Lucian Rudico^{1†}, Lilian Saptefrați^{1†}

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

Autor corespondent:

Veaceslav Fulga, dr. șt. med., conf. univ.

Catedra de histologie, citologie și embriologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Bd. Stefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: vmfulga@usmf.md

Invasive ductal breast carcinoma of no special type: does it have homogenous cell structure?

Veaceslav Fulga^{1*†}, Vitalie Mazuru^{1†}, Valeriu David^{1†}, Lucian Rudico^{1†}, Lilian Saptefrați^{1†}

¹Department of Histology, Cytology and Embryology, “Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author:

Veaceslav Fulga, MD, PhD, Associate professor

Department of Histology, Cytology and Embryology

„Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy

Ave. Stefan cel Mare si Sfânt 165, Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: vmfulga@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Cancerul mamar este o patologie cu un polimorfism etiologic binecunoscut, cu o evoluție clinică extrem de complexă și impact dramatic asupra structurii morbidității și mortalității oncologice. Clasificările histologice propuse de societățile morfologice internaționale reprezintă rezultatul realizărilor diagnostice clasice, însă cu un potențial prognostic limitat și oportunități clinice modeste. Această patologie manifestă particularități de rasă, areal geografic.

Ipoteza de cercetare

Arealul geografic, susținut de factori de mediu și stilul de viață, poate influența structura profilului molecular al carcinomului mamar.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Folosind metoda imunohistochimică, am determinat o eterogenitate celulară sporită a tipului ductal invaziv de carcinom mamar. În Republica Moldova se determină toate profilurile moleculare descrise în literatura de specialitate, iar grupul majoritar îl constituie formele moleculare luminale, caracterizate prin rată înaltă de proliferare.

What is not known yet, about the topic

Breast cancer represents a pathology with a well-known etiological polymorphism, with an extreme complex clinical evolution, and dramatic impact upon oncological morbidity and mortality. International morphology societies offer cancer classifications made on classic methods of diagnosis, but with a very low prognosis potential and few clinical options. This particular pathology has race and geographic features.

Research hypothesis

Geographic area, supported by environmental factors and life style can influence the molecular profile of breast carcinoma.

Article's added novelty on this scientific topic

Using the immunohistochemical method of diagnosis, an increased heterogeneity of invasive ductal breast carcinoma has been determined. All described molecular profiles are found in the Republic of Moldova, the most frequent one is the luminal molecular form, characterized by a high proliferation rate.

Rezumat

Introducere. În pofida faptului că în literatura de specialitate formele histologice de carcinom mamar sunt foarte bine descrise, mortalitatea feminină cauzată de această maladie este în continuă ascensiune. Scop: evaluarea caracterului populațiilor celulare în carcinomul mamar ductal invaziv fără

Abstract

Introduction. Despite the fact that histological types of breast cancer are very well described and a lot of markers are used, this type of cancer remains the main cause of death among women. Aim: the goal of this study was to evaluate cellular population of invasive breast carcinoma of no special

tip histologic special (NST) prin interpretarea expresiei markerilor surogate imunohistochimici, propuși pentru identificarea subtipurilor moleculare pe material morfologic colectat în Republica Moldova.

Material și metode. Materialul morfologic reprezintă tumori primare a 84 de paciente diagnosticate cu carcinom mamar ductal invaziv. Prin metoda imunohistochimică a fost studiată expresia receptorilor pentru estrogen (ER), progesteron (PR), factorul de creștere uman epidermal (HER2), citokeratinei bazală CK5 și proteinei nucleare Ki67.

Rezultate. În tipul NST de carcinom mamar, majoritatea cazurilor cercetate au prezentat fenotip molecular luminal (85%), în special, Luminal B (45 [54%] de cazuri). Analiza statistică a scos în evidență corelații semnificative între markerii surogate și subtipurile moleculare. Majoritatea tumorilor au avut un grad histologic de diferențiere G2 (45 [54%] de cazuri) și G3 (34 [40%] de cazuri) și au corelat statistic cu Ki67.

Concluzii. Formele NST de carcinom mamar ductal invaziv sunt caracterizate printr-o eterogenitate celulară marcată și multiple particularități moleculare. În materialul morfologic analizat, grupul majoritar l-au constituit formele moleculare luminale, cu rată înaltă de proliferare.

Cuvinte cheie: carcinom mamar tip NST, markeri surogate, Er, Pr, HER2, Ki67, CK5

Introducere

Carcinomul mamar este cea mai răspândită boală oncologică, care afectează, cu predilecție, populația feminină. Respectiva patologie este descrisă ca un grup de afecțiuni eterogene, diferite ca și evoluție clinică, aspect morfologic și sensibilitate terapeutică [1]. Morfologia clasică a separat carcinomul mamar în multiple grupuri. Baza acestei segregări a servit-o interacțiunea dintre ineficiența terapeutică și diversitatea morfologică, în rezultat constatându-se, că cele mai răspândite forme histologice de carcinom mamar sunt cele ductal invazive (75-85%).

Deoarece clasificările anterioare nu au putut satisface pe deplin necesitățile terapeutice, au fost dezvoltate metode mult mai fine, bazate pe interpretarea expresiei genelor ce determină evidențierea diferitor fenotipuri de carcinom mamar, prin intermediul statutului receptorilor hormonalni [2, 3]. În prezent, statutul receptorilor de estrogen, progesteron și HER2 în carcinoamele mamare poate fi determinat, aplicând markeri imunohistochimici surogate, astfel, cazurile de cancer mamar pot fi clasificate în cel puțin 5 subtipuri moleculare: Luminal A, Luminal B, *Basal-like*, 5-Negative phenotype (5-NP) și HER2 pozitiv.

Studiul profilului expresiei genice a dezvăluit eterogenitatea marcată a factorilor moleculari în structura carcinomului mamar ductal invaziv, care era asociat cu rezultate clinice variabile. Weighelt B. și coaut. (2008) consideră că formele NST de carcinom mamar ar putea include toate caracteristicile moleculare, descrise inițial de Perou C. și coaut. (2000), drept subtipuri intrinseci, spre deosebire de tipurile histologice speciale de carcinom mamar (cu excepția carcinomului apocrin), care sunt omogene și aparțin doar unui subtip molecular [2,

type (NST) by expression of main surrogate markers used to define molecular subtypes.

Material and methods. The specimens of primary tumors of 84 patients were immunostained for estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor (HER2), basal cytokeratin CK5 and nuclear protein Ki67.

Results. In the structure of breast carcinoma of NST type the Luminal group is dominating (84.52%) and the majority rate had Luminal B subtypes (45 cases [54%]). The statistical analysis revealed a significant correlation between surrogate markers and molecular subtypes. The majority of tumors had G2 (45 cases [54%]) and G3 grades (34 cases [40%]), and correlated statistically to Ki67 marker.

Conclusions. Ductal invasive carcinoma of no special type is a heterogeneous disease with many molecular features. The highest rate was determined in the Luminal group. The majority of tumors with such histological structure have a high rate of proliferation.

Keywords: breast cancer NST type, surrogate markers, Er, Pr, HER2, Ki67, CK5

Introduction

Breast cancer is the most common cancer in women worldwide. It is described as a group of heterogeneous disease, different in clinical course, pathological aspects and therapeutic sensibility [1]. Classical pathology has segregated this carcinoma into multiple groups, based on their overall morphology. The most common type reported is invasive ductal carcinoma, not otherwise specified (75%-85%).

Because previous classifications could not fully capture the diversity of the disease, other classification system based on hormone receptor status and gene expression profiling of breast cancers has been developed [2, 3]. Nowadays, estrogen receptor, progesterone and HER2 receptor status of breast tumors can be determined by immunohistochemical markers and the breast cancer cases can be accordingly classified into at least five molecular subtypes including Luminal A, Luminal B, Basal-like, 5-Negative phenotype (5-NP) and HER2 positive.

Gene expression profiling has revealed a high degree of molecular heterogeneity in the structure of invasive ductal carcinoma, which is associated with variable clinical outcomes. Weighelt B. *et al.* (2008) consider that carcinoma of NOS type could have all molecular features described by Perou C. *et al.* (2000) as intrinsic subtypes, whereas histological special-type cancers, apart from apocrine carcinoma, are homogeneous and only belong to one molecular subtype [2, 4]. Contrary to the historical view of low-to-high grade tumor progression model, the recent data indicate that low-grade and high-grade of ductal carcinomas are different diseases, with distinct genetic alterations. But obtaining information of gene expression by microarray techniques it's quiet laborious and expensive, therefore Goldhirsch A. *et al.* (2011, 2013) pur-

4]. Contrar viziunilor istorice, bazate pe modelul progresiei stadiale a tumorilor, studiile recente au demonstrat faptul că, carcinoamele ductale cu grad înalt și cele cu grad scăzut de diferențiere sunt patologii diferite, cu modificări genetice distincte. Însă, obținerea informației privind expresia genelor prin tehnici *microarray* (tehnici bazate pe hibridizarea acizilor nucleici, l. engl. *microarray image processing*) este laborioasă și costisitoare. Din acest considerent, Goldhirsch A. și coaut. (2011, 2013), au propus stabilirea unui algoritm de standardizare al examenului imunohistochimic, ce ar servi la stabilirea diagnosticului molecular de cancer mamar și anume – imunomarcarea receptorilor hormonal pentru estrogen (ER), progesteron (PR), factorul de creștere uman epidermal (HER2) și a indicelui de proliferare Ki67 [5, 6].

Din cauza incidenței sporite a carcinomului mamar ductal invaziv, am considerat oportună descrierea acestui tip de cancer prin prisma clasificării moleculare, folosind markeri surrogat. În prezentul studiu, am determinat că structura celulară a carcinomului mamar invaziv de tip NST este eterogenă, grupul majoritar îl constituie formele moleculare luminale, caracterizate prin rată înaltă de proliferare.

Material și metode

Pacienți

În acest studiu retrospectiv, au fost cercetate tumori primare, colectate de la 84 de paciente diagnosticate cu cancer mamar, care nu au fost supuse tratamentului preoperatoriu chimio- și radioterapeutic, cu vârste cuprinse între 33-86 de ani. Gradul histologic de diferențiere a fost evaluat conform sistemului de gradare Scarff-Bloom-Richardson [7]. Toate cazurile selectate au fost diagnosticate de doi morfologi ca forme NST de carcinom mamar invaziv.

Procesarea primară, examenul imunohistochimic

Materialul biologic a fost fixat în formalină de 10%, neutră, tamponată, și ulterior – inclus în parafină (*Paraplast High Melt*, Leica Biosystems, Nußloch, Germania). Evaluarea

posed to use immunohistochemical definition of estrogen and progesterone receptor, the detection of overexpression of the human epidermal growth factor receptor 2 and Ki67 labeling index [5, 6].

Because the invasive ductal cancer is the most frequent breast tumor in oncology, we considered opportune to describe this type of cancer from molecular classification position by using surrogate markers. In the present work we found, that cellular structure of invasive breast cancer of no special type is not homogeneous. The highest rate in its structure has Luminal group and the majority of tumors with such histological structure had a high rate of proliferation.

Material and methods

Patients

In this retrospective study were analyzed primary breast carcinomas of 84 patients, aged 33-86 years old. In all cases no chemo- and radiotherapy were applied. Histological grade was scored by the Bloom-Richardson grading system. Histopathological diagnosis was assessed by two pathologists and cases suitable for immunohistochemistry were carefully selected. All selected cases have been diagnosed as invasive ductal carcinoma of NST (no special type) type.

Specimen processing and immunohistochemistry

The biological material was fixed in 10% phosphate buffered formalin and paraffin embedded (*Paraplast High Melt*, Leica Biosystems, Nußloch, Germany). The immunohistochemical assessment included 5 surrogate markers, for ER (Er/6F11), PR (Pr16), human epidermal growth factor receptor 2 (HER2 polyclonal), marker of proliferation Ki67 (Ki67/K2), basal cytokeratin CK5 (CK5/XM26) (Table 1). Slides were processed automatically on Leica Bond-Max autostainer (*Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany*). Hematoxylin solution, Harris modified (HHS32, Sigma-Aldrich) was used for

Table 1

Anticorprii, metoda de demascare și sistemul de vizualizare

Receptor	Clona anticorpului	Sursa/timpul de incubare/diluția	Metoda de demascare/timp	Sistemul de vizualizare/timp
ER PR	6F11 16	Leica Biosystem, Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne, UK/15 min/RTU*	Bond Epitope Retrieval Solution 1, (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK)/20 min	Bond Polymer Refine Detection System (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK)/15 min
HER2	polyclonal	Dako Glostrup Denmark/30 min/RTU*	Dako Target Retrieval Solution, pH6/20 min	EnVision-HER/30 min
Ki67 CK5	K2 XM26	Leica Biosystem Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne, UK/15 min/RTU*	Bond Epitope Retrieval Solution2, (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK)/20 min	Bond Polymer Refine Detection System (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK)/15min

Notă: * – gata de utilizare (l. engl. *ready to use*).

Table 1

Antibodies, systems of retrieval and detection used for immunohistochemical assays

Receptor	Anti-body clone	Source/incubation time/ dilution	Retrieval system/ time	Detection/time
ER PR	6F11 16	Leica Biosystem, Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne, UK/15 min/RTU*	Bond Epitope Retrieval Solution1, (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK)/20 min	Bond Polymer Refine Detection System (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK), 15 min
HER2	polyclonal	Dako Glostrup Denmark/30 min/RTU	Dako Target Retrieval Solution, pH6/20 min	EnVision-HER/30 min
Ki67 CK5	K2 XM26	Leica Biosystem Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne, UK/15 min/RTU	Bond Epitope Retrieval Solution2, (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK)/20 min	Bond Polymer Refine Detection System (Leica Biosystems, Newcastle Upon Tyne, UK), 15 min

Note: * – ready to use.

imunohistochimică a inclus 5 markeri surogate: pentru ER (Er/6F11), PR (Pr16), factorul de creștere uman epidermal-2 (HER2 policlonal), markerul proliferării celulare Ki67 (Ki67/K2), citokeratina bazală CK5 (CK5/XM26) (Tabelul 1). Lamele au fost procesate automat, utilizând Leica Bond-Max autostainer (*Leica Microsystems GmbH*, Wetzlar, Germania). Pentru contracolorarea nucleelor, a fost folosită hematoxină modificată după Harris (*HHS32*, Sigma-Aldrich) (Fig. 1).

Evaluarea microscopică

Receptorii hormoni au fost cuantificați în funcție de procentaj. S-a evaluat reacția nucleară pozitivă la cel puțin 1000 de celule tumorale în 10 câmpuri de vedere. Am folosit ghidul de evaluare al rezultatelor, propus de Allred D. și coaut. (1998), care combină procentajul celulelor pozitive cu intensitatea expresiei nucleare [8]. Cazurile evaluate cu [+1] – [+3] au fost considerate pozitive. Pragul minim acceptat pentru interpretarea pozitivă a reacției a fost de 10%.

Pentru evaluarea markerului HER2, a fost utilizat sistemul Leica Bond Oracle HER2 IHC System (*Leica Biosystems*, Nußloch, Germania). Statutul HER2 a fost interpretat în conformitate cu recomandările Societății Americane de Oncologie Clinică (Tabelul 2) [9]. Cazurile interpretate cu [+2] și [+3] au fost considerate pozitive.

Tabelul 2

Evaluarea markerului HER2 în conformitate cu recomandările Societății Americane de Oncologie Clinică [9]

Scor HER2	Expresie membranară (pattern circumferențial și intensitate)	Celule tumorale colorate, %
0	-/+	<10
+1	-/+	>10
+2	++/+++	>10
+3	++++	>10

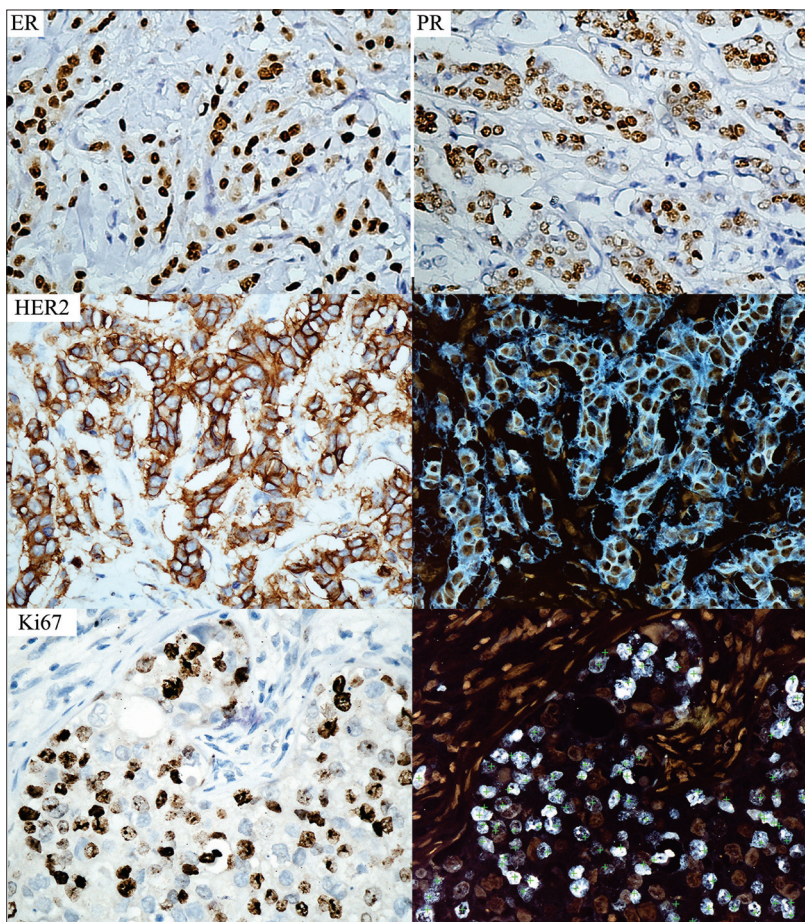


Fig. 1 Imagini reprezentative ale expresiei ER, PR, HER2, Ki67, colorate prin metoda imunohistochimică (carcinom mamar, tumora primară). Imagine-negativ, interpretată cantitativ folosind soft-ul *Nis-elements BR 2.30* (x400), pentru evaluarea expresiei HER2 și Ki67.

Fig. 1 Representative images of ER, PR, HER2, Ki67, immunohistochemical staining in primary breast carcinomas. Cases evaluated for HER2 and Ki67 were inverted and counted by *Nis-elements BR 2.30* software (x400).

counterstaining the nucleus (Fig. 1).

Microscopic evaluation

The hormonal receptors were scored depending on the percentage of stained cells. Was evaluated positive nuclear reaction for at least 1000 tumor cells in 10 fields of view. We followed the guidelines suggested by Allred D. *et al.* (1998), which are combining the percentage of positive cells with intensity of nuclear staining [7]. Cases scored [+1] – [+3] were considered positive. The threshold of positivity was 10%.

The HER2 assessments were made on Leica Bond Oracle HER2 IHC System (*LeicaBiosystem*, Nußloch, Germany). The HER2 status was interpreted in accordance with American Society of Clinical Oncology recommendations (Table 2) [9]. Cases interpreted as [+2] and [+3] were considered positive.

Ki67 marker was counted using a semi-quantitative method performed by Suciuc *et al.* (2014) [10]. A 14% threshold was used based

on Goldhirsch A. *et al.* (2013) recommendation [6].

CK5 cyokeratin was interpreted in accordance with Azoulay S. *et al.* (2005) (Table 3). Cases evaluated as [+1] – [+3] were considered positive (Fig. 2).

Based on St. Gallen (2013) recommendation molecular subtypes we clustered, as follows: ER⁺ and/or PR⁺, HER2⁻, CK5⁻, Ki67<14% as Luminal A; ER⁺ and/or PR⁺, HER2⁺, CK5⁻ as Luminal B/HER2; ER⁺ and/or PR⁺, HER2⁻, CK5⁻, Ki67>14% as

Table 2

HER2 evaluation according to recommendations of American Society of Clinical Oncology [9]

HER2 score	Intensity and circumference (membranous expression)	Colored cancer cells, %
0	-/+	<10
+1	-/+	>10
+2	++/+++	>10
+3	++++	>10

Markerul Ki67 a fost cuantificat folosind metoda semi-cantitativă, propusă de Suciuc C. și coaut. (2014) [10]. În baza recomandărilor lui Goldhirsch A. și coaut. (2013), a fost folosit ca barem al pozitivității pragul de 14% [6].

Expresia citokeratinei CK5 a fost interpretată în conformitate cu recomandările lui Azoulay S. și coaut. (2005), Tabelul 3 [11]. Cazurile asociate cu [+1] și [+3] au fost considerate pozitive (Fig. 2).

Urmând recomandările consorțiului oncologilor de la St. Gallen (2013), subtipurile moleculare au fost grupate, după cum urmează: ER⁺ și/sau PR⁺, HER2⁻, CK5⁻, Ki67<14% – drept Luminal A; ER⁺ și/sau PR⁺, HER2⁺, CK5⁻ – drept Luminal B/HER2; ER⁺ și/sau PR⁺, HER2⁻, CK5⁻, Ki67>14% – drept Luminal B/Ki67; ER⁺ și/sau PR⁺, HER2⁺, CK5⁻, Ki67>14% – drept Luminal B/HER2/Ki67; ER⁻, PR⁻, HER2⁺, CK5⁻ – ca și HER2-supraexprimat; ER⁻, PR⁻, HER2⁻ și CK5⁺ – denumit *Basal-like*; ER⁻, PR⁻, HER2⁻ și CK5⁻ – ca și 5-NP (subtip 5 negativ) [6].

Tabelul 3

Evaluarea expresiei citokeratinei CK5 în baza recomandărilor lui Azoulay S. și coaut. (2005) [11]

Gradul expresiei	Celule tumorale pozitive, %
0	0
+1	<10
+2	10-50
+3	>50

Captarea imaginilor și analiza statistică

Evaluarea microscopică a fost efectuată folosind microscopul Nikon Eclipse 80i, înzestrat cu cameră Nikon DS-Fi1 și soft-ul de imagini Nis-elements BR 2.30 (Nikon Instruments Europe BV, Amsterdam, Olanda). Pentru interpretarea statistică (media și eroarea standard a mediei) și corelarea Spearman a rezultatelor, a fost aplicat soft-ul WinStat 2012.1 (R. Fitch Software, Bad Krozingen, Germania). Valoarea $p < 0,05$ a fost considerată statistic semnificativă pentru toate rezultatele. Pentru evaluarea corelațiilor statistice, subtipul 5-NP a fost marcat cu „1”, *Basal-like* – cu „2”, HER2⁺ – cu „3”, Luminal B/HER2 – cu „4”, Luminal B/HER2/Ki67 – cu „5”, Luminal B/Ki67 – cu „6” și Luminal A – cu „7”.

Aspecte etice

Studiul a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova (proces-verbal nr. 21/13 din 31.03.2014, președinte CEC – Mihail Gavriliuc, dr. hab. șt. med., prof. univ.).

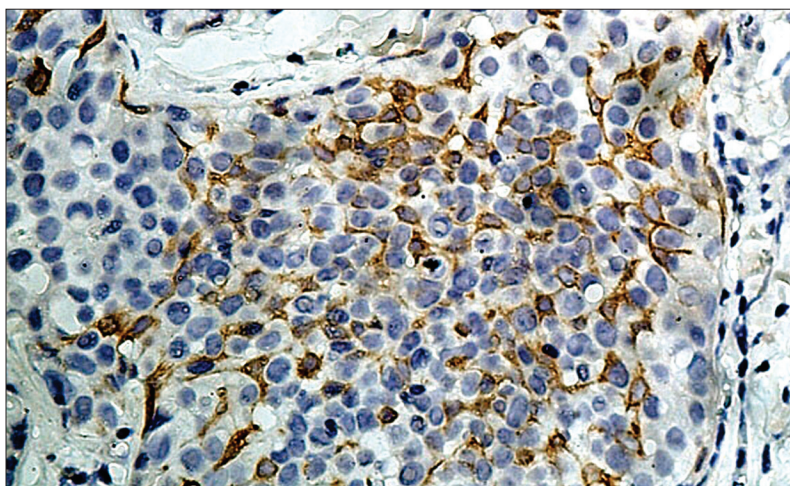


Fig. 2 Carcinom mamar ductal invaziv de tip NST, evaluat imunohistochimic pentru markerul CK5. Intensitatea expresiei cuantificată [+2] (×400).

Fig. 2 Breast carcinoma of NOS type evaluated immunohistochemically for CK5 as [+2] (×400).

Luminal B/Ki67; ER⁺ and/or PR⁺, HER2⁺, CK5⁻, Ki67>14% as Luminal B/HER2/Ki67; ER⁻, PR⁻, HER2⁺, CK5⁻ as HER2-overexpressed; ER⁻, PR⁻, HER2⁻ and CK5⁺ as *Basal-like*; ER⁻, PR⁻, HER2⁻ and CK5⁻ as 5-NP (five negative subtype) [6].

Image acquisition and statistical analysis

A Nikon Eclipse 80i microscope with Nikon DS-Fi1 camera and Nis-elements BR 2.30 imaging software were used for microscopic evaluation (Nikon Instruments Europe BV, Amsterdam, Netherlands). For descriptive statistics (mean and standard error of the mean) and Spearman's correlation was used WinStat 2012.1 software (R. Fitch Software, Bad Krozingen, Germany). For all the tests a value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. In order to evaluate data correlation, the unclassified subtype (or 5-NP) was assigned as „1”, *Basal-like* as „2”, HER2⁺ as „3”, Luminal B/HER2- „4”, Luminal B/HER2/Ki67 – „5”, Luminal B/Ki67 – „6” and Luminal A was equated with „7”.

Table 3

Evaluation of CK5 expression according to Azoulay S. et al. (2005) recommendations [11]

Degree of expression	Positive cancer cells, %
0	0
+1	<10
+2	10-50
+3	>50

Ethical issues

This study was approved by the Ethics Committee of the “Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy from Chisinau, Republic of Moldova (approval number 21/13/31.03.2014, president of EC – Mihail Gavriliuc, MD, PhD, University professor).

Results

In our study the majority of tumors were graded G2 (45 cases [54%]) and G3 (34 cases [40%]). Respectively, G1 grade was a rare one, determined in 5 cases (6%) only.

ER receptor was determined positive in 68 cases, from which the majority was scored as [+3] (56 cases). PR marker was positive in 58 cases, HER2 in 18 cases and CK5/6, respectively in 11 cases. In accordance to Ki67 marker positivity, tu-

Rezultate

În acest studiu, majoritatea tumorilor au fost evaluate cu gradul de diferențiere celulară G2 (45 cazuri [54%]) și G3 (34 cazuri [40%]). Respectiv, G1 a fost rar întâlnit, determinat doar în 5 cazuri, ceea ce a constituit 6% din lotul studiat.

Receptorul ER a fost evaluat pozitiv în 68 de cazuri, dintre care majoritatea au fost cuantificate ca [+3] (56 cazuri). Markerul PR a fost pozitiv în 58 de cazuri, HER2 – în 18 cazuri și respectiv, CK5 – în 11 cazuri. Evaluând expresia markerului Ki67, am determinat tumori cu grad înalt de proliferare (>14% din celule pozitive) în 48 de cazuri.

În urma analizei frecvenței subtipurilor moleculare, s-a determinat că grupul luminal este dominant, iar cota majoritară i-a revenit subtipului Luminal B (45 cazuri [54%]) (Tabelul 4).

În relație cu gradul histologic de diferențiere, am realizat că G1 este comun doar pentru grupul molecular luminal (Tabelul 5).

Tabelul 4

Frecvența subtipurilor moleculare în carcinomul mamar ductal invaziv de tip NST

Grupul	Subtip	n	%	%
Bazal, hormon-independent	5-NP	3	3,57	
	<i>Basal-like</i>	2	2,38	15,48
	HER2	8	9,53	
Luminal, hormon-dependent	Luminal A	26	30,95	
	Luminal B/HER2	3	3,57	
	Luminal B/HER2/Ki67	7	8,33	84,52
	Luminal B/Ki67	35	41,67	

Tabelul 5

Frecvența subtipurilor moleculare în relație cu gradul histologic de diferențiere.

Subtip	Grad	n	%
5-NP	G2	2	2,38
5-NP	G3	1	1,19
<i>Basal-like</i>	G3	2	2,38
HER2	G2	3	3,57
HER2	G3	5	5,95
Luminal A	G1	3	3,57
Luminal A	G2	15	17,87
Luminal A	G3	8	9,52
Luminal B/HER2	G2	3	3,57
Luminal B/HER2/Ki67	G1	1	1,19
Luminal B/HER2/Ki67	G2	5	5,95
Luminal B/HER2/Ki67	G3	1	1,19
Luminal B/Ki67	G1	1	1,19
Luminal B/Ki67	G2	17	20,24
Luminal B/Ki67	G3	17	20,24
Total		84	100

mors were considered as a high proliferative one (more than 14% of positive cells) in 48 cases.

By analyzing the frequency of subtypes we determined that Luminal group is dominating and the majority rate had Luminal B subtypes (45 cases [54%]) (Table 4).

Table 4

Molecular subtypes frequency in invasive ductal carcinoma of NST type.

Group	Subtype	n	%	%
Basal, hormone-negative	5NP	3	3.57	
	Basal-like	2	2.38	15.48
	HER2	8	9.53	
Luminal, hormone-positive	Luminal A	26	30.95	
	Luminal B/HER2	3	3.57	
	Luminal B/HER2/Ki67	7	8.33	84.52
	Luminal B/Ki67	35	41.67	

In correlation to histological grade we realized that G1 is common only for Luminal group (Table 5).

Table 5

The frequency of molecular subtypes in correlation to histological grade

Subtype	Grade	n	%
5NP	G2	2	2.38
5NP	G3	1	1.19
Basal-like	G3	2	2.38
HER2	G2	3	3.57
HER2	G3	5	5.95
Luminal A	G1	3	3.57
Luminal A	G2	15	17.87
Luminal A	G3	8	9.52
Luminal B/HER2	G2	3	3.57
Luminal B/HER2/Ki67	G1	1	1.19
Luminal B/HER2/Ki67	G2	5	5.95
Luminal B/HER2/Ki67	G3	1	1.19
Luminal B/Ki67	G1	1	1.19
Luminal B/Ki67	G2	17	20.24
Luminal B/Ki67	G3	17	20.24
<i>Total</i>		84	100

The statistical analysis revealed a significant correlation between surrogate markers and subtypes (Table 6). Histological grade had a single significant value in correlation to Ki67 marker.

Tabelul 6

Markerii surogate raportați la subtipul molecular și gradul histologic de diferențiere

	ER*	PR [†]	HER2 [‡]	Ki67 [§]	CK5 [#]	Subtip [§]	Grad
ER							
r		0,56	-0,35	-0,22	-0,38	0,58	-0,14
p		0,0001	0,001	0,022	0,0001	0,0001	0,102
PR							
r	0,56		-0,25	-0,09	-0,36	0,39	-0,15
p	0,0001		0,011	0,207	0,0001	0,0001	0,085
HER2							
r	-0,35	-0,25		0,02	0,19	-0,60	-0,05
p	0,001	0,011		0,444	0,038	0,0001	0,329
Ki67							
r	-0,22	-0,09	0,02		0,34	-0,51	0,23
p	0,022	0,21	0,44		0,001	0,0001	0,018
CK5							
r	-0,38	-0,36	0,19	0,34		-0,31	0,09
p	0,0001	0,0001	0,038	0,001		0,002	0,20
Subtip							
r	0,58	0,39	-0,60	-0,51	-0,31		-0,13
p	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,002		0,11
Grad							
r	-0,14	-0,15	-0,05	0,23	0,09	-0,13	
p	0,10	0,09	0,33	0,018	0,20	0,11	

Notă: * – receptor pentru estrogen; † – receptor pentru progesteron; ‡ – factorul de creștere uman epidermal 2; § – marker de proliferare; # – citokeratine bazale; § – subtip molecular; || – grad histologic de diferențiere; r – coeficient de corelație Spearman. Prag de semnificație statistică: p<0,05.

Analiza statistică a scos în evidență corelații semnificative între markerii surogate utilizați și subtipurile moleculare (Tabelul 6). Gradul histologic de diferențiere a corelat semnificativ doar cu markerul Ki67.

Discuții

În pofida faptului că tipurile histologice de carcinom mamar sunt foarte bine descrise și mulți markeri sunt propuși spre utilizare, acest tip de cancer rămâne a fi principala cauză de mortalitate în rândul populației feminine. Particularitățile histologice ale tumorii, precum tipul morfologic, gradul și invazia limfo-vasculară, sunt utilizați ca markeri de prognostic ai evoluției tumorale, fără a influența răspunsul terapeutic. Callagy G. și coaut. (2006), consideră că gradul histologic devine util ca valoare prognostică și predictivă în asociere cu gradul de invazie a nodulilor limfatici, gradul și dimensiunile tumorii – combinație cunoscută drept *Nottingham Prognostic Index* (NPI) [12]. Autorii consideră că NPI reprezintă un puternic factor independent de predicție al evoluției neoplasmului mamar, capabil de a oferi un scor prognostic individualizat fiecărui pacient în parte. Ținem să menționăm că, în lotul nostru, majoritatea tumorilor erau slab diferențiate, iar gradul histologic a corelat statistic semnificativ doar cu marker-ul Ki67.

În prezent, tot mai multe rezultate pledează în defavo-

Table 6

Surrogate markers reported to molecular subtypes and histological grade

	ER*	PR [†]	HER2 [‡]	Ki67 [§]	CK5/6 [#]	Subtype ^{&}	Grade
ER							
r		0.56	-0.35	-0.22	-0.38	0.58	-0.14
p		0.000	0.001	0.022	0.000	0.000	0.102
PR							
r	0.56		-0.25	-0.09	-0.36	0.39	-0.15
p	0.000		0.011	0.207	0.000	0.000	0.085
HER2							
r	-0.35	-0.25		0.02	0.19	-0.60	-0.05
p	0.001	0.011		0.444	0.038	0.000	0.329
Ki67							
r	-0.22	-0.09	0.02		0.34	-0.51	0.23
p	0.022	0.21	0.44		0.001	0.000	0.018
CK5/6							
r	-0.38	-0.36	0.19	0.34		-0.31	0.09
p	0.000	0.000	0.038	0.001		0.002	0.20
Subtype							
r	0.58	0.39	-0.60	-0.51	-0.31		-0.13
p	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002		0.11
Grade							
r	-0.14	-0.15	-0.05	0.23	0.09	-0.13	
p	0.10	0.09	0.33	0.018	0.20	0.11	

Note: * – estrogen receptor; † – progesterone receptor; ‡ – human epidermal growth factor receptor 2; § – marker of proliferation; # – basal cytokeratin; & – molecular subtype; || – histological grade; r – Spearman rank. Significance level: p<0.05.

Discussion

Despite the fact that histological types of breast cancer are very well described and a lot of markers are used, this type of cancer remains the main cause of death among women. Histological features of the tumor, such as morphological type and grade, lymphovascular invasion are used as prognostic markers, which provide information about the patients' overall cancer outcome regardless of the therapeutic response. Callagy G. *et al.* (2006) consider that the histological grade becomes more useful if associated with lymph node stage, tumor grade and tumor size, combination known as *Nottingham Prognostic Index* (NPI) [12]. Authors consider that NPI remain the strongest independent predictors of outcome, to give an individualized prognostic score for each patient. We have to mention that in our assays the majority of tumors tend to have a poor differentiation and the histological grade had a statistical significant correlation only in relation to Ki67 marker.

Nowadays it seems that the traditional standard of treatment "one-dose-fits-all" it is ineffective, as it incurs all risks of subsequent drug toxicities and treatment failures. The key to success in personalized medicine is to uncover molecular biomarkers that drive individual variability in clinical outcomes or drug responses [13].

In order to personalize the treatment, Perou C. *et al.* (2000)

rea standardului tradițional de tratament „o doză pentru toți”, deoarece această abordare nu ia în calcul toate riscurile potențiale ale toxicității citostatice și, implicit, eșecul tratamentului adjuvant. Cheia succesului în tratamentul personalizat îl reprezintă punerea în evidență a markerilor moleculari, responsabili de variabilitatea individuală a evoluției clinice și răspunsul față de citostatice [13].

Pentru a personaliza tratamentul, Perou C. și coaut. (2000) propune de a determina profilul molecular al tumorilor mamare [2]. Însă, obținerea profilului genetic prin tehnici *microarray* este foarte costisitoare, motiv pentru care Goldhirsch A. și coaut. (2013) au propus identificarea imunohistochimică a receptorilor pentru estrogen și progesteron, detecția supraexpresiei receptorului HER2 și evaluarea indexului Ki67 [6].

Korsching E. și coaut. (2002) consideră că în tumorile glandei mamare coexistă diferite celule maligne, ce determină apariția subgrupelor de carcinom mamar, caracterizate prin expresia diferitor clustere proteice și alterări ale pattern-ului citogenetic [14]. Unele studii aduc argumente certe în favoarea existenței celulelor canceroase, ce poartă caracter individual și co-există într-o anumită tumoare, respectiv, diferă în aspectul abilității de metastazare. Mai mult, unele celule tumorale sunt non-metastatice [15]. La moment, profilul expresiei genice relevă un grad înalt de eterogenitate moleculară în structura carcinomului mamar ductal invaziv, asociat cu variabilitatea evoluției clinice. Aproximativ 80% dintre paciente dezvoltă tumori hormon-pozitive [16]. Aceste date corespund rezultatelor obținute de noi, unde majoritatea cazurilor au fost clasate drept grup molecular luminal.

Statutul ER este utilizat pentru a identifica tumorile sensibile la tratamentul hormonal. Pe de altă parte, statutul PR, care în linii generale corelează cu cel al ER, are un impact clinic mai puțin semnificativ, de o importanță predictivă relativă și nu presupune existența beneficiilor terapeutice în urma tratamentului hormonal. În plus, cazurile evaluate ca ER și PR pozitive nu presupun careva beneficii pentru tratamentul hormonal în comparație cu cazurile ER pozitive/PR negative [17, 18]. Acest grup a inclus, de la bun început, formele moleculare Luminal A și B [3]. Tumorile Luminal A sunt caracterizate prin expresia marcată a genelor estrogen-reglatoare și markerilor moleculari ai receptorilor de ER, în asocieră cu celulele diferențiate ale epitelului mamar. Aceste trăsături sunt mai puțin specifice pentru subtipul Luminal B și improprie pentru grupul hormon-negativ, caracterizat prin expresie marcată a genelor ce determină amplificarea proliferării celulare și, respectiv, presupun un prognostic rezervat. Rezultatele studiului nostru demonstrează predominarea tumorilor cu fenotip Luminal B. Tumori de acest subtip au fost cele mai frecvente și în datele prezentate de El Fatemi H. și coaut. (2012) [19].

Datorită faptului că markerul Ki67 este considerat crucial în estimarea prognosticului pacientelor diagnosticate cu carcinom mamar, am considerat oportună evaluarea acestuia în structura subtipului Luminal B/HER2. În consecință, acest grup a fost subdivizat în 2 subgrupuri – cu activitate proliferativă intensă (Luminal B/HER2/Ki67 și Luminal B/Ki67) și slabă (Luminal B/HER2). În prezentul studiu am determinat că acest subtip tinde să aibă o activitate proliferativă intensă (42

purposed to determine molecular profile of breast tumors [2]. But, obtaining information of gene expression by microarray techniques is quiet laborious and expensive, therefore Goldhirsch A. *et al.* (2013) suggested to use immunohistochemical definition of estrogen and progesterone receptor, the detection of overexpression of the human epidermal growth factor receptor 2 and Ki-67 labeling index [6].

Korsching E. *et al.* (2002) consider that different tumor cells co-exist in the female breast which give rise to subgroups of breast carcinomas characterized with different protein expression and cytogenetic alteration patterns [14]. Some studies have provided direct proof that individual cancer cells, co-existing within a given tumor, differ greatly in metastatic capacity, moreover some of them are non-metastatic [15]. Nowadays gene expression profiling has revealed a high degree of molecular heterogeneity in the structure of invasive ductal carcinoma, which is associated with variable clinical outcomes. Approximately 80% of patients develop hormone positive tumors [16]. This data are in line with our results, where the majority of cases were considered as Luminal one too.

ER status is utilized to identify tumors sensitive to anti-estrogen, endocrine therapy. PR status, which generally correlated with ER status, has less clinical significance and seems not to predict relative benefit from specific types of endocrine therapy. Moreover, cases evaluated as ER and PR positive may not receive additional benefit from endocrine therapy compared with ER positive/PR negative cases [17, 18]. This group was subdivided into Luminal A and Luminal B [3]. Luminal A tumors are characterized by a greater expression of estrogen-regulated genes and markers associated with differentiated breast epithelial cells. Such features are less apparent in Luminal B tumors and are not characteristic for hormone-negative group, which have a greater expression of proliferation-associated genes and poorer prognosis. In our results Luminal B tumors had the majority part. Similar data was reported by El Fatemi H. *et al.* (2012) which determined Luminal B tumors to be the most frequent molecular subtype [19].

Because Ki67 is considered as a crucial marker in defining the patients' future, we considered opportune to describe its activity inside of Luminal B/HER2 cases too. That's why this group was subdivided in 2 subgroups, with low (Luminal B/HER2) and high activity of proliferation (Luminal B/HER2/Ki67 and Luminal B/Ki67). We determined that such subtype, unfortunately, has a high proliferative activity (42 out of 45 cases) (Table 5). Our results are in line and with Cheang's M. *et al.* (2009) data concerning high aggressiveness of Luminal B/HER2 subtype [20].

There are some limitations of our study. The tumors were classified in accordance according to ER, PR, Ki67, CK5 and HER2 status determined by IHC surrogates, which is only an approximation of the genotype-based breast cancer subtype. But, IHC assays are cost-effective and have been accepted as useful clinical tests by many scientific communities.

In accordance to Carey L. *et al.* (2006) the immunohistochemical definition of Basal-like subtype is “ER negative, PR

din 45 cazuri), ceea ce se răsfrânge dramatic asupra evoluției bolii și, respectiv, asupra speranței de viață a pacientei (Tabelul 5). Rezultatele obținute în acest studiu coincid cu cele relatate de Cheang M. și coaut. (2009), astfel încât se certifică gradul înalt de agresivitate al subtipului Luminal B/HER2 [20].

Studiul nostru are și câteva restricții. Tumorile au fost clasificate în concordanță cu statutul imunohistochimic al markerilor surogate pentru receptorii ER, PR, Ki67, CK5 și HER2, ceea ce reprezintă doar o aproximație a studiilor genetice de determinare a fenotipului de carcinom mamar. Însă testele IHC sunt atractive în aspect financiar și utilitatea lor în clinică a fost certificată de majoritatea specialiștilor în domeniu.

În concordanță cu Carey L. și coaut. (2006), subtipul *Basal-like* este definit prin următoarea combinație a markerilor surogate „ER negativ, PR negativ, HER2 negativ, citokeratina 5/6 pozitivă și/sau *HER1* pozitiv” [21]. Datorită faptului că în studiul nostru nu a fost folosit markerul pentru *HER1*, este posibil ca unele cazuri *5-NP*, *de facto*, să aparțină subtipului molecular *Basal-like*. Subtipul molecular negativ pentru toți 5 markeri s-a descris a fi mai puțin agresiv decât *Basal-like*, dar mult mai periculos în cazul evoluției bolii decât tumorile cu subtip Luminal A [21, 22]. Mai mult decât atât, e posibil ca alte subtipuri moleculare din grupurile non-luminale să fie cuantificate ca tumori *Basal-like*. Acestea sunt subtipurile *Claudin-low* (ce se referă histologic la cancerul mamar metaplastic, cu particularități genetice similare celui cu celule stem-linkat și prin tranziție epitelio-mezenchimală), precum și subtipul molecular apocrin, caracterizat prin reacție pozitivă la receptorii de androgeni [23, 24]. Oricum, la moment, nu este trasată o abordare standardizată a conduitei terapeutice pentru cazurile ER, PR și *HER2* negative, aceasta reprezentând un domeniu științific ce rămâne a fi explorat pe viitor.

Concluzii

Formele NST de carcinom mamar ductal invaziv sunt caracterizate printr-o eterogenitate celulară marcată și multiple particularități moleculare. În Republica Moldova se determină toate profilurile moleculare descrise în literatura de specialitate, iar grupul majoritar îl constituie formele moleculare luminale, cu rată înaltă de proliferare. Evaluarea imunohistochimică a subtipurilor moleculare de carcinom mamar aduce relevanță, selectivitate diagnostică și are o deosebită importanță în elaborarea unui tratament personalizat.

Abrevieri și notații convenționale

NST – fără tip histologic special (l. engl. *no specific type*); ER – estrogen; PR – progesteron; HER2 – receptorul factorului de creștere uman epidermal; Ki67 – markerul nuclear de proliferare; CK5 – citokeratina bazală; 5-NP – fenotip 5 negativ; NPI – indice de prognostic Nottingham (l. engl. *Nottingham Prognostic Index*).

Declarația de conflict de interes

Autorii nu au indicat potențiale conflicte de interes.

Contribuția autorilor

VF a contribuit la *design*-ul studiului, colectarea și procesarea materialului primar, analiza statistică, scrierea articolului.

negative, HER2 negativ, cytokeratin 5/6 pozitiv and/or HER1 pozitiv” [21]. Because we did not use the last marker, HER1 it is possible that some of 5-NP cases in fact, could be Basal-like. The 5 negative phenotype molecular subtype (negative for all five markers) was proven to be less aggressive than Basal-like, but more aggressive in clinical outcome than Luminal A tumors [21, 22]. More than that, it is possible that other molecular subtypes within non-luminal group are included in our study as Basal-like. These is *Claudin-low* subtype (linked to metaplastic breast cancer, which shows similarity to stem cell-linked and epithelial-to-mesenchymal transition-linked signatures) and the molecular Apocrine subtype, which is displaying positivity for androgen receptor [23, 24]. Anyway, there is currently no standard targeted therapy for cases assessed as ER, PR and HER2 negative by IHC, although this represents an intensive area of further research.

Conclusions

Ductal invasive carcinoma of no special type is a heterogeneous disease with many molecular features. All described molecular profiles can be attested in the Republic of Moldova, but Luminal forms are the most common, having the highest rate of proliferation. Immunohistochemical evaluation of molecular subtypes of breast carcinoma has a particular high relevance in personalized therapy and selectiveness of diagnosis.

Abbreviations and conventional notations

NST – no specific type; ER – estrogen; PR – progesteron; HER2 – human epidermal growth factor receptor; Ki67 – marker of proliferation; CK5 – cytokeratin 5; 5-NP – five negative phenotype; NPI – Nottingham Prognostic Index.

Conflict of interests

Authors declare no financial or non-financial conflict of interests.

Authors' contribution

VF contributed to the design of the study, collected and processed the basic material, made the statistical analysis and wrote the article. VM, VD, LR participated in processing the data. LȘ conceived the research and contributed in writing the manuscript. The manuscript was read and approved by all authors.

VM, VD, LR au participat la procesarea datelor. LŞ a conceput studiul și a contribuit la redactarea manuscrisului. Materialul a fost citit și aprobat de către toți autorii.

Referințe / references

- Huber K., Carey L., Wazer D. Breast cancer molecular subtypes in patients with locally advanced disease: impact on prognosis, patterns of recurrence, and response to therapy. *Semin Radiat Oncol*, 2009; 19: 204-10.
- Perou C., Sorlie T., Eisen M., van de Rijn M., Jeffrey S., Rees C. *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2000; 406(6797): 747-752.
- Prat A., Perou C. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Molecular Oncology*, 2011; 5(1): 5-23.
- Weigelt B., Horlings H., Kreike B., Hayes M., Hauptmann M., Wessels L. *et al.* Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types. *J Pathol*, 2008; 216(2): 141-50.
- Goldhirsch A., Wood W., Coates A., Gelber R., Thürlimann B., Senn H. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. *Ann Oncol*, 2011; 22(8): 1736-47.
- Goldhirsch A., Winer E., Coates A., Gelber R., Piccart-Gebhart M., Thürlimann B., Senn H. Panel members. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*, 2013; 24(9): 2206-23.
- Elston C., Ellis I. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 2002; 41(3A): 154-61.
- Allred D., Harvey J., Berardo M., Clark G. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*, 1998; 11: 155-168.
- Wolff A., Hammond M., Hicks D., Dowsett M., McShane L., Allison K. *et al.* American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol*, 2013; 31(31): 3997-4013.
- Suciu C., Muresan A., Cornea R., Suciu O., Dema A., Raica M. Semi-automated evaluation of Ki67 index in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncol Lett*, 2014; 7: 107-114.
- Azoulay S., Laé M., Fréneaux P., Merle S., Al Ghuzlan A. KIT is highly expressed in adenoid cystic carcinoma of the breast, a *Basal-like* carcinoma associated with a favorable outcome. *Mod Pathol*, 2005; 18(12): 1623-31.
- Callagy G., Pharoah P., Pinder S., Hsu F., Nielsen T., Ragaz J., Ellis I., Huntsman D., Caldas C. Bcl-2 is a prognostic marker in breast cancer independently of the Nottingham Prognostic Index. *Clin Cancer Res*, 2006; 12(8): 2468-2475.
- Spear B., Heath-Chiozzi M., Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med*, 2001; 7: 201-204.
- Korsching E., Packeisen J., Agelopoulos K., Eisenacher M., Voss R., Isola J. *et al.* Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Lab Invest*, 2002; 82(11): 1525-33.
- Urquidí V., Sloan D., Kawai K., Agarwal D., Woodman A., Tarin D., Goodison S. Contrasting expression of thrombospondin-1 and osteopontin correlates with absence or presence of metastatic phenotype in an isogenic model of spontaneous human breast cancer metastasis. *Clin Cancer Res*, 2002; 8(1): 61-74.
- Engstrøm M., Opdahl S., Hagen A., Romundstad P., Akslen L., Haugen O., Vatten L., Bofin A. Molecular subtypes, histopathological grade and survival in a historic cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, 2013; 140(3): 463-73.
- Stotter A., Walker R. Tumour markers predictive of successful treatment of breast cancer with primary endocrine therapy in patients over 70 years old: a prospective study. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2010; 75(3): 249-256.
- Bartlett J., Brookes C., Robson T., van de Velde C., Billingham L., Campbell F. *et al.* Estrogen receptor and progesterone receptor as predictive biomarkers of response to endocrine therapy: a prospectively powered pathology study in the Tamoxifen and Exemestane Adjuvant Multinational trial. *J Clin Oncol*, 2011; 29(12): 1531-1538.
- El Fatemi H., Chahbouni S., Jayi S., Mounna K., Melhouf M., Bannani A., Mesbahi O., Amarti A. Luminal B tumors are the most frequent molecular subtype in breast cancer of North African women: an immunohistochemical profile study from Morocco. *Diagn Pathol*, 2012; 7: 170.
- Cheang M., Chia S., Voduc D., Gao D., Leung S., Snider J. *et al.* Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2009; 101(10): 736-50.
- Carey L., Perou C., Livasy C., Dressler L., Cowan D., Conway K. *et al.* Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*, 2006; 295: 2492-2502.
- Huo D., Ikpat F., Khramtsov A., Dangou J., Nanda R., Dignam J. *et al.* Population differences in breast cancer: survey indigenous African women reveal over-representation of triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2009; 27(27): 4515-21.
- Farmer P., Bonnefoi H., Becette V., Tubiana-Hulin M., Fumoleau P., Larsimont D. *et al.* Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene*, 2005; 24(29): 4660-4671.
- Hennessey B., Gonzalez-Angulo A., Stemke-Hale K., Gilcrease M., Krishnamurthy S., Lee J. *et al.* Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res*, 2009; 69(10): 4116-4124.

Corelația dintre examenul citomorfologic și cel patohistologic în displazia de col uterin

Oleg V. Lukianchuk¹, Larisa G. Rosha^{1*}

¹Universitatea Națională de Medicină din Odessa, Odessa, Ucraina

Autor corespondent:

Larisa G. Rosha, dr. șt. med., asist. univ.

Centrul de Medicină Reconstructivă și Reabilitare

Universitatea Națională de Medicină din Odessa

Str. Valikhovskiy, 2, Odessa, Ucraina, 65000

Correlation between cytomorphological and pathohistological examination in dysplasia of uterine cervix

Oleg V. Lukianchuk¹, Larisa G. Rosha^{1*}

¹Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Corresponding author:

Larisa G. Rosha, PhD, Assistant Professor

Center for Reconstructive and Rehabilitation Medicine

Odessa National Medical University

2, Valikhovskiy str., Odessa, Ukraine, 65000

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Testele *screening* (testul Papanicolau și examenul histopatologic) de identificare a stărilor precanceroase și a cancerului *in situ* de col uterin nu sunt bazate pe criterii de diagnostic foarte exacte și lasă loc de interpretare subiectivă a rezultatelor. Cazurile de rezultate fals-negative sunt destul de frecvente.

Ipoteza de cercetare

Colorația Papanicolau și Romanovski a frotiurilor, combinate cu examenul histopatologic, reduc probabilitatea rezultatelor fals-negative ale *screening*-ului pentru stările precanceroase ale colului uterin.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Se reconfirmă avantajul testului Papanicolau față de alte metode diagnostice. Se constată, că rezultatele fals-negative, în mare parte, sunt determinate de efectul Koss. În cazurile suspecte sau neclare, se recomandă reevaluarea probelor colectate anterior.

What is not known yet, about the topic

Screening tests (Papanicolau test and histopathological examination) used to identify precancerous states and *in situ* cancer of uterine cervix are not based on very exact diagnostic criteria and thus results interpretation are very subjective. False negative tests are very common.

Research hypothesis

Papanicolau and Romanovski coloration of the smears, combined with histopathological tests, reduce the probability of false negative results of precancerous states of uterine cervix.

Article's added novelty on this scientific topic

The advantage of Papanicolau test is reconfirmed compared to other diagnostic methods. False negative tests are attested in the majority of the cases due to Koss effect. In suspicious or unclear cases it is recommended to re-evaluate previously collected material.

Rezumat

Introducere. O problemă comună în diagnosticarea stărilor precanceroase și a cancerului de col uterin prin examene citologice și histologice este interpretarea, în mare parte subiectivă, rezultatelor. Scopul lucrării a fost de a compara între ele metodele citomorfologică și patohistologică de diagnostic al leziunilor-precursor și a cancerului de col uterin, de a estima capacitatea descriptivă a diferitor tehnici de colorare a probelor citomorfologice.

Material și metode. Studiul a inclus 960 de paciente cu vârsta cuprinsă între 17-67 de ani, consultate (clinic, colposcopie, examinare citomorfologică și patohistologică) la Cen-

Abstract

Introduction. The common problem in diagnostics of uterine cervical cancer is the difference in interpretation of the specimen using cytological and histological methods. The goal of this work was to perform the comparison of cytomorphological and pathohistological methods of diagnostics of precancer and cancer pathology of uterine cervix, estimation of informative capabilities of various types of staining of cytomorphological specimens.

Material and methods. During the study, 960 patients aged from 17 to 67 years underwent diagnostic procedures in the Center of reconstructive and rehabilitation medicine. The

trul de Medicină Reconstructivă și Reabilitare din Odessa. Frotiurile preparate obișnuit, colorate după Papanicolau și Romanovski. Conform indicațiilor medicale, a fost efectuată biopsia de col uterin sau conizarea electrică, cu examinarea patohistologică ulterioară a probelor. Diagnosticile citologice și histopatologice au fost, apoi, confruntate.

Rezultate. Studiul a demonstrat că testul Papanicolau are o sensibilitate diagnostică semnificativ mai mare decât examenul citologic, colorație Romanovski. Cauzele cele mai frecvente ale rezultatelor fals-negative au fost induse de fenomenul Koss.

Concluzii. (1) Testul Papanicolau, comparativ cu colorația Romanovski, are o sensibilitate sporită în depistarea modificărilor asociate cu infecția cu virusul papilomului uman și a stadiilor de manifestare a discariozei (81,2% vs. 78,1%, respectiv). (2) În cazul cervicitei cronice manifeste și a koilocitozei, examenul citomorfologic arată un stadiu inferior de displazie tisulară, decât este în realitate. (3) Rezultatele fals-negative ale examenului patomorfologic, în cadrul instituțiilor de nivel III, ar putea fi identificate prin examinarea repetată a probelor citomorfologice, colectate în trecut.

Cuvinte cheie: stări precanceroase, sistemul Bethesda, displazie de col uterin, examen citomorfologic, examen histopatologic, cancer *in situ* de col uterin.

Introducere

Cancerul de col uterin (CCU) face parte din grupul celor mai răspândite și social importante boli oncologice. Deoarece, în majoritatea cazurilor, CCU are localizare accesibilă vizualizării directe, stabilirea diagnosticului nu necesită echipamente costisitoare și metode complexe. În prezent, metodele citologică și histologică sunt cele mai accesibile și răspândite mijloace de diagnostic ale neoplasmelor de col uterin, fiind considerate drept „standard de aur”.

Cel mai frecvent, CCU este înregistrat la persoane vârstnice (60-70 de ani și peste), însă, tot mai multe comunicări se referă atât la diagnosticarea patologiei date, cât și la constatarea de leziuni cervicale severe la femeile de vârstă reproductivă, care au mai puțin de 30-35 de ani [1, 2]. Creșterea frecvenței de CCU la femeile de vârstă reproductivă timpurie și mijlocie este un semn social alarmant, mai ales în contextul unui număr tot mai mare de femei, care planifică nașterea după vârsta de 30 de ani, deoarece tratamentul specific al CCU deseori este asociat cu dezadaptare socială și, uneori, infirmitate [3].

Există, de asemenea, studii care constată „întinerirea” patologiilor de col uterin (CU), acestea din urmă fiind diagnosticate chiar și la femeile gravide, mai tinere de 24 de ani [3, 4]. Este de remarcat faptul, că femeile gravide, mai tinere de 24 de ani și cu patologie de col uterin, au o prevalență dublă a afecțiunilor inflamatorii și a comorbidităților.

Metoda citologică este standardul de depistare precoce, la etapa preclinică, a CCU. În consecință, *screening*-ul citologic a contribuit semnificativ la reducerea morbidității și mortalității de CCU în țările, unde acest program a fost implementat. Cu

procedurile incluse examinarea clinică, colposcopia, și smears preparate folosind tehnica standard și colorate după Papanicolau și Romanovski. Ulterior, în funcție de indicații medicale, au fost efectuate biopsii țintite ale cervixului uterin sau conizări electrice cu examinarea patohistologică ulterioară a probelor. Diagnosticile citologice și histopatologice au fost, apoi, confruntate.

Final cytological and histopathological diagnoses were compared.

Results. The study showed that staining after Papanicolau method increases the effectiveness of cytological investigation compared to staining after Romanovski method. Causes of false negative results were studied and found to be related to the Koss phenomenon.

Conclusion. (1) Papanicolau staining of the smears is recommended for improvement of positive detection of pathologic changes in cervical epithelium associated to human papilloma virus changes and dyskaryosis stage (81.2% and 78.1% respectively). (2) In patients with chronic cervicitis and koilocytosis, cytomorphological exam shows an inferior degree of dysplasia than in reality. (3) False negative results of pathomorphological investigation, made at level III institutions, can be identified by reviewing previous cytological specimen.

Keywords: precancerous states, Bethesda system, cervical dysplasia, cytomorphological exam, histopathological exam, uterine cervix *in situ* cancer.

Introduction

Cancer of uterine cervix (CUC) belongs to the group of the most wide-spread and socially significant oncological diseases. CUC can be localized visually, and does not require costly equipment and complex methods, since it can be performed using well-known and widely available morphological and endoscopic methods. Nowadays cytological and histological methods of diagnostics are still the “golden standard”, the most affordable and widespread of all the methods of diagnostics of uterine cervix neoplasms (UC).

CUC is most frequently found in older age (60-70 years and older), but recently many announcements were published that describe cases of this pathology in women of reproductive age. The reports of heavy lesions of uterine cervix in young women aged less than 30-35 years become more frequent [1, 2]. Increased frequency of CUC in early and medium reproductive age is a threatening social sign, especially considering the increased quantity of women that plan childbirth after 30 years, because special treatment of CUC often leads to social inadequacy and sometimes invalidization of the woman [3].

There are studies of “rejuvenescence” of pathologic processes of the UC in pregnant women with established prevalence of patients aged less than 24 years [3, 4]. It’s worth noticing that the inflammatory and background pathology has almost double prevalence in pregnant women aged less than 24 years with UC pathology.

The standard of early (pre-clinical) detection of CUC is the cytological method. The cytology screening helped decrease

toate acestea, sensibilitatea metodei citologice este insuficientă, fiind de doar până la 83,3% [5].

Pe de altă parte, și rezultatele metodelor morfologice de diagnostic nu sunt întotdeauna clare, în special, în cazul etapei de displazie de epiteliu scuamos și în definirea formelor inițiale ale CCU [1]. Există numeroase cazuri de interpretare diferită a aceluși probe de către patologi și citologi înalt calificați. Criteriile morfologice existente pentru diagnosticul diferențiat al etapelor de progresie al tumorilor de col uterin sunt mai mult subiective și posedă reproductibilitate joasă între specialiști. Metodele auxiliare moderne, care sunt utilizate în diagnosticarea neoplaziei scuamoase intraepiteliiale de col uterin (microscopia electronică, imunohistochimie și imunocitochimie, tehnici de biologie moleculară), au o precizie diagnostică redusă și costuri înalte [1].

Conform observațiilor lui Bochman Y. B., diagnosticul tardiv al CCU nu este cauzat numai de o supraveghere oncologică necalitativă (asigurată, în Ucraina, de medici generalişti), de *screening*-ului citologic, care nu acoperă populația feminină țintă, de greșelile de interpretare a rezultatelor examenului citologic, dar și de faptul că în 7%-20% dintre toate cazurile, neoplazia este localizată în canalul cervical, astfel, devenind inaccesibilă pentru metodele de *screening*.

Este cunoscut dinamismul modificărilor de epiteliu displazic: în doar 6% din cazuri acesta demonstrează o regresie inversă [10]. Uneori, modificările odată produse devin staționare, însă, în aproximativ în 30% din cazuri ele progresează, ulterior, în 40% din cazuri, se transformă în carcinom preinvasiv [6-7].

Date recente, care estimează capacitatea de diagnostic al citologiei cervicale, demonstrează o sensibilitate joasă a metodei, de la 30% la 83%, iar rata de rezultate fals-negative atinge cifra de 13%-70%; idem – pentru rezultatele fals-pozitive [5, 8]. Este cunoscut faptul, precum că o parte semnificativă a pacienților cu cancer invaziv de col uterin, au fost, în anamneză, „negativi pentru atipii celulare” în frotiurile cervicale [5, 8, 9].

O condiție indispensabilă pentru o interpretare morfologică corespunzătoare, este prelevarea corectă a frotiului. Din toate cazurile de cancer de col uterin, care nu a fost depistat la timp în timpul *screening*-ului, 30% au avut la origine prelevarea frotiului și pregătirea greșită a probelor, care a condus, drept consecință, la interpretări eronate [8].

Validarea metodelor citologice de diagnostic se face prin compararea rezultatelor lor cu cel al examenului histologic programat, luat drept referință. Astfel, concordanța diagnostică a metodelor este de 75%-90% [1]. Discordanțele diagnostice, constatate în 3%-24% din cazuri, sunt cauzate de locurile diferite de prelevare a probei, de prelevarea incorectă sau de nimerirea unei porțiuni neinformative de țesut [1, 7].

O concluzie citologică modernă nu se limitează doar la constatarea cancerului, dar precizează tipul histologic al tumorii și stadiul ei de diferențiere, în conformitate cu clasificările internaționale comune ale ICD-O și OMS. Specialiști în morfologie utilizează clasificarea Papanicolau și clasificarea patologică internațională TBS (din l. engl. *the Bethesda system*), elaborată în anul 1988 în Bethesda (SUA) și modificată, ulterior,

the morbidity and mortality rates of CUC in every country where respective program has been introduced. Nevertheless, the sensitivity of cytological method stays insufficient, up to 83.3% [5].

However the results of morphologic methods of investigation are not always well-defined, especially when it comes to estimation of stages of dysplasia of squamous epithelium and definition of initial forms of CUC [1]. There are frequent cases of different interpretation of the same specimen by highly qualified pathologists and cytologists. The suggested morphological criteria for differential diagnostics of various manifestations of tumor progression in uterine cervix stay subjective and do not suggest a high reproducibility of diagnosis by different researchers. The modern auxiliary methods that are used in diagnostics of squamous neoplasia of uterine cervix (electronic microscopy, immunohisto- and immunocytochemistry, molecular biologic methods) do not allow solving the diagnostic questions of this pathology because of their insufficient accuracy and high costs [1].

As noticed by Y. B. Bochman, the reason of late exposure of CUC lies not only in bad oncological observation of the doctors of common medical network, insufficient coverage of female population by cytological screening, mistakes of the screening and mistaken interpretation of the results of cytological investigation, but also in the fact that in 7%-20% of all cases neoplasia is localized in cervical channel, which lets it “slip away” from screening measures.

There's known dynamism of the changes of dysplastic epithelium, only 6% of which demonstrate reverse regression [10]. In some other cases the processes after a while are characterized by static character, in about 30% dysplasia is progressing, and in 40% it transforms into pre-invasive carcinoma [6-7].

Analysis of modern state of effectiveness of cervical cytological diagnostics, according to foreign references, demonstrates limited sensitivity of the method, which, according to data of various authors, varies from 30% to 83% [8]. The percentage of false negative results makes 13%-70%, equal for false positive results [5, 8]. It is known that a significant percentage of the patients with invasive cervical cancer have “negative for cellular atypia” cervical smears in anamnesis [5, 8, 9].

The necessary conditions for precise estimation of cellular morphology in cytological investigations are high quality and adequacy of the smear; 30% of cervical cancer cases that have not been recognized on time are the cases in which mistakes in taking and preparation of specimens and their interpretation during cytological screening investigation have been made [8].

The criteria of validity of cytological methods are based on the results of the scheduled histological investigation. The validity of cytological diagnostics of cervical pathology is up to 75%-90% [1]. About 3%-24% of the total numbers of investigations (depending on the localization and the way of acquiring the specimen) are unsuccessful due to inadequate, non-informative acquired material [1, 7].

Modern cytological conclusion not only verifies the presence of cancer, but also specifies that histological type of tumor and stage of differentiation according to common inter-

în 1991 și 2001 [11]. Clasificarea TBS se centrează pe descrierea leziunilor scuamoase intraepiteliale de grad scăzut (l. engl. *low grade squamous intraepithelial lesion*, LSIL), de grad înalt (respectiv, HSIL) și cancer invaziv. LSIL include modificările asociate cu infecția cu virusul papilomului uman și displazia ușoară (CIN I); HSIL include CIN II, CIN III și carcinomul *in situ*.

Conform criteriilor OMS, displazia de gradul I corespunde cu CIN I; displazia de gradul II – cu CIN II; displazia de gradul III și carcinom *in situ* – cu CIN III. Hiperplazia glandulară atipică cu atipie ușoară corespunde cu CIN I al epitelului glandular; hiperplazia glandulară atipică cu atipie moderată – cu CIN II, iar hiperplazia glandulară atipică cu atipie semnificativă – cu CIN III al epitelului glandular.

De multe ori, apar probleme de diagnostic citologic al leziunilor epiteliale, care includ leziuni reactive și neoplazii, fapt ce a condus la introducerea termenului de „celule scuamoase atipice, cu semnificație nedeterminată” (l. engl. *atypical squamous cells of undetermined significance*) – ASCUS, în clasificarea TBS.

Astfel, scopul acestei lucrări a fost de a compara între ele metodele citomorfologică și patohistologică de diagnostic al leziunilor-precursor și a cancerului de col uterin, de a estima capacitatea descriptivă a diferitor tehnici de colorare a probelor citomorfologice.

Material și metode

În studiu au intrat toate pacientele (n=960), care în perioada ianuarie 2013 – noiembrie 2014 au fost îndreptate cu diagnosticul sau diagnosticate cu patologii de col uterin în Centrul de Medicină Reconstructivă și Reabilitare (cu statut de Clinică Universitară) a Universității Naționale de Medicină din Odessa. Vârsta pacientelor a fost cuprinsă între 17-67 de ani. Pe lângă examenul clinic, a fost efectuată colposcopia și examenul citomorfologic. O serie de frotiuri au fost pregătite standard, colorare Papanicolau. O altă serie de frotiuri obișnuite au fost colorate după Romanovski (tehnică Pappenheim modificată); toate au fost examinate în conformitate cu practica citologică standard, printr-un studiu orb, în scopul stabilirii diagnosticului citologic.

Ulterior, conform indicațiilor medicale, a fost efectuată biopsia de col uterin sau conizarea electrică, cu cercetarea patohistologică ulterioară a probelor.

În total, s-au selectat 124 de cazuri de pacienți cu frotiuri cervicale satisfăcătoare (în termeni de estimare) și diagnostic histologic verificat, pentru cercetare ulterioară.

Drept metodă de referință a fost luat examenul histologic al probelor colectate din colul uterin prin biopsie sau după conizare electrică; aceste probe au fost fixate în formalină tamponată de 10%, prelucrate și studiate conform practicii histopatologice standard.

Diagnosticul morfologic (cel citologic și cel histopatologic) s-a efectuat în mod orb, pentru a evita *bias*-ul produs de diagnosticul „propus”. Diagnosticul citomorfologic a fost efectuat conform sistemului Bethesda și clasificării Papanicolau. Pacientele cu LSIL și leziunile cu semne de infecție cu virusul papilomului uman (CIN I), HSIL (CIN II), carcinomul *in situ* (CIN III) și cu cancer invaziv au format grupuri separate.

national classifications (ICD-O and WHO). Morphologists use Papanicolau classification and international pathologic classification developed in 1988 in Bethesda (USA) – TBS, with the changes introduced in 1991, 2001, in their practice [11]. The TBS classification single out squamous intraepithelial lesions of low (LSIL) and high (HSIL) stages and invasive cancer. LSIL includes the changes associated with human papilloma virus infection and weak dysplasia (CIN I); HSIL includes CIN II, CIN III, carcinoma *in situ*.

According to WHO criteria, dysplasia of I stage corresponds with CIN I; dysplasia of II stage – CIN II; dysplasia of III stage and carcinoma *in situ* – CIN III. Atypical glandular hyperplasia with weak atypia corresponds with CIN I of glandular epithelium, atypical glandular hyperplasia with moderate atypia – with CIN II of glandular epithelium, atypical glandular hyperplasia with significant atypia – with CIN III of glandular epithelium.

Often problems occur in cytological diagnostics of epithelial lesions, which are connected with reactive changes and neoplasia, which led to introduction of the term “atypical squamous cells of undetermined significance – ASCUS” into TBS classification.

Thus, the goal of this work was to perform the comparison of cytomorphological and pathohistological methods of diagnostics of pre-cancer and cancer pathology of uterine cervix, estimation of self-descriptiveness of various types of staining of cytomorphological specimens.

Material and methods

The study included 960 patients that, during the period from January of 2013 to November of 2014, addressed or were referred to the cervical pathology consulting room of the Center for Reconstructive and Rehabilitation Medicine (University Clinic) of the Odessa National Medical University. The patients were aged from 17 to 67 years. The complex of diagnostic measures included obligatory colposcopy and cytomorphological investigation, besides clinical examination. The smears were prepared using standard technique and stained after Papanicolau. Traditional smears were also stained after Romanovski (modified Pappenheim’s technique) and examined according to standard cytological practice, through a blind study in order to establish the histological diagnosis.

Afterwards, by medical indications, target biopsy of uterine cervix or electric conization with consequent pathohistological examination of the uterine cervix material was performed.

In total, 124 cases of patients with satisfactory (in terms of estimation) cervical smears and verified histological diagnosis were picked for consequent investigation.

Histological investigation of the material of uterine cervix that was acquired by target biopsy and electric conization was picked as the referential method and used in all cases. The acquired material was fixed in 10% buffered formalin, processed and studied according to standard histopathological practice.

Morphological diagnoses (cytological and histopathological) were established using a blind study, to avoid mistakes of “bias towards suggested diagnosis”. Interpretation of cytomorphological diagnoses was performed according to Bethes-

Diagnosticul citologic definitiv a fost comparat cu diagnosticul histopatologic.

Rezultate

Cel mai important prag de sensibilitate al metodei citologice de diagnostic al leziunilor scuamoase intraepiteliale, în general și, în particular, al HSIL, este considerată prezența oricăror semne de atipie scuamoasă, atât timp cât sub masca ASCUS se pot ascunde LSIL și, în special, HSIL [7].

Interpretarea imaginii citologice a început cu estimarea calității frotiului. Frotiuri „nesatisfăcătoare pentru evaluare” au fost obținute în 3,6% din cazuri; restul de 96,4% au fost examinate. Motivul de obținere a frotiurilor neinformativ a fost fie contaminarea cu elemente inflamatorii sau sânge, fie – cu grăsime și surplus de celule. Frotiurile singulare au fost considerate necorespunzătoare din cauza unei cantități insuficiente de celule în eșantionul de analiză (absența epiteliului cilindric în toate cele 17 cazuri, dintre care 16 cazuri au provenit de la pacienți cu vârsta de peste 50 de ani, posibil din cauza deplasării zonei de transformare în sus, în canalul cervical.

Rezultatele diagnosticului de pe frotiurile cervicale cu colorație Papanicolau au fost comparate cu cele colorate prin metoda Romanovski. S-a constatat că sensibilitatea colorației Papanicolau este cu 3,1% mai mare la scara tuturor patologiilor cervicale, iar în grupul CIN I (leziunile cu semne de infecție cu virusul papilomului uman) – cu 5,5% ($p > 0,05$).

Un supra-diagnostic a fost prezent doar într-un singur caz (0,8% din materialul de cercetare), atunci când o neoplazie de epiteliu cilindric de gradul III a fost suspectată pe fundalul inflamației cronice a endometriozei colului uterin. Totuși, de atunci, pacienta este reexaminată la fiecare 6 luni.

Rezultatele identice a examenului citologic cu cel histologic au fost obținute la 111 (89,5%) paciente, divergențe – în 13 (10,5%) cazuri, fals-negative – în 7 (5,6%) cazuri și în 4 (3,2%) cazuri – rezultate fals-pozitive. Frecvența medie a rezultatelor fals-negative în studii similare, descrise în literatură, a fost de 7,5%.

Retrospectiv, motivul de divergență în diagnostic a fost: în 5 cazuri din cele 7 fals-negative a fost fenomenul Koss de „caracter înșelător de frotiu repetat” [6]. Fenomenul Koss se întâlnește în practica cotidiană destul de frecvent (de ex., în frotiuri repetate, luate după mai puțin de 3 luni de la primul frotiu, deseori se identifică un grad mai scăzut de atipii a epiteliului, sau chiar lipsa atipiei, comparativ cu prima investigație). Explicația este că pacienta cu patologie de col uterin este mai întâi îndreptată spre clinica prenatală, apoi – la cabinetul de patologie a colului uterin sau la un oncolog. În unele cazuri, pacientele decid de sine stătător să apeleze la o altă instituție medicală, pentru a avea o „a doua opinie”. Prin urmare, într-o perioadă scurtă de timp, procedura de obținere a mostrelor pentru investigație de la o femeie, poate fi efectuată de mai multe ori.

În trei cazuri de diagnostic patomorfologic fals-negativ, examenul patohistologic al biopsiei conice a explicat motivul de divergență (Fig. 1).

În examenul citomorfologic negativ, atunci când există date

da system and Papanicolau classification. Squamous low stage intraepithelial lesions included signs of human papilloma virus infection and CIN I; squamous high stage intraepithelial lesions – CIN II and CIN III; patients with invasive cancer formed separate groups.

Final cytological diagnoses were compared with histopathological diagnoses.

Results

The most important threshold of sensitivity of cytological method for diagnostics of squamous intraepithelial lesions in general and specifically high stage lesions is usually considered to be the presence of signs of any squamous atypia in the smears, since the “mask” of “atypical squamous cells of undetermined significance” diagnosis may hide both low stage and, what’s especially important, high stage intraepithelial lesions [7].

The interpretation of cytological picture started with estimation of quality and adequacy of the smear. “Unsatisfactory for estimation” smears were acquired in 3.6%. In 96.4% of all cases cytological specimen were adequate. The reasons of non-informative smears were contamination with inflammatory elements, blood, or fat smear with surplus amount of cells in the specimen. Singular smears were considered inadequate because of insufficient amount of cells in the specimen for analysis (absence of cylindrical epithelium – all 17 cases, 16 of them were patients after 50 years of age, with possible shifting of the transformation zone higher into cervical channel.

Staining of cervical smears after Papanicolau was estimated in comparison with Romanovski method. The estimation showed that staining after Papanicolau increases the effectiveness of cytological investigation: sensitivity in the diagnostics of all the cervical pathology increased by 3.1%, and in the group of CIN I with signs of human papilloma virus infection by 5.5% ($p > 0.05$).

Hyper diagnostics was present in one case (0.8% of the material investigated during our study), when neoplasia of cylindrical epithelium of IIIrd grade was suspected on background of chronic inflammation and endometriosis of uterine cervix. However, the patient is observed dynamically every 6 months.

Concurrent results of cytological and histological investigations were found in 111 (89.5%) patients, divergence was found in 13 (10.5%) cases; 7 false-negative (5.6%) (the average index according to literature is 7.5%) and 4 (3.2%) false-positive results were attested.

Retrospectively, in 5 out of 7 false-negative cases the reason of divergent diagnoses was the Koss phenomenon of “de-lusiveness of repeated smear” [6]. The Koss phenomenon is found in casual practice frequently (in repeated smears that were taken after less than 3 months after the first smear quite often lesser stage of atypia of the epithelium, or no atypia at all, is found in comparison with the first investigation). This is explained by the fact that the patient with uterine cervical pathology is first directed to antenatal clinic, then to the cervical pathology consulting room or to the oncologist. In some cases, the patients decide to address another medical institution in order to have a “second opinion”. Therefore, during a short

precedente de modificări neoplazice, este posibil de a examina repetat speci-menele citomorfologice, colectate anterior.

Discuții

O problemă majoră a citologiei este diagnosticul diferențiat al diferitor stadii de modificări displazice și a cancerului intraepitelial. În eșantionul nostru de paciente, în urma examenului citomorfologic, la 4 dintre ele a fost suspectat un cancer, confirmat, ulterior, la 3 persoane. În 5 cazuri, examenul patohistologic a schimbat diagnosticul citomorfologic din displazie de grad înalt în carcinom *in situ*, dar, care în plan de tratament, nu a produs schimbări. Cu toate acestea, deocamdată nu există criteriile citologice exacte pentru un diagnostic diferențiat al acestor patologii.

Modificările reactive ale epiteliului (în special, tablou inflamator sau țesut în fază de regenerare) de asemenea, pot induce erori de diagnostic citologic. CCU rareori se dezvoltă pe fundalul epiteliului nemodificat. Conform datelor lui Sumenco V. (2007), leziunile de fond constituie 10%-15% din structura bolilor ginecologice la femeile de vârstă reproductivă [3]. Până la 94% din toate cazurile de tumori de col uterin sunt consecința modificărilor patologice preexistente ale epiteliului cervical.

În probele citologice și histologice examinate cu modificări CIN I-III, au fost constatate koilocite în 59 (47,6%) din cazuri, tablou inflamator cronic – în 51 (41,1%) din cazuri. La pacientele cu patologie de fundal manifestă, între diagnosticul citomorfologic și cel patohistologic au fost documentate 11 (18,6%) cazuri de divergență, majoritatea dintre care au fost din rândul CIN I-II, iar investigațiile patohistologice au avut o tendință de subestimare a gradului de modificări patologice. De exemplu, investigația patohistologică a identificat doar koilocitoza și tabloul inflamator asociat, nu și modificările CIN I din probele care aveau, pe lângă modificări patologice, și fond inflamator. Toate cele 5 cazuri de diagnostic citomorfologic de displazie de grad II al epiteliului pe fond patologic preexistent, au fost evaluate ca și CIN I în cadrul examenului patohistologic.

Concluzii

Testul Papanicolau, comparativ cu colorația Romanovski, are o sensibilitate sporită în depistarea modificărilor asociate cu infecția cu virusul papilomului uman și a stadiilor de manifestare a discariozei (81,2% vs. 78,1%, respectiv).

În cazul cervicitei cronice manifeste și a koilocitozei, exa-

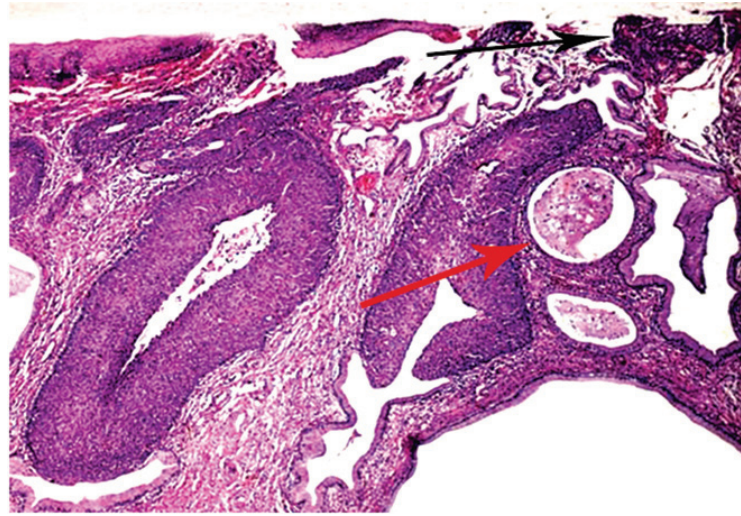


Fig. 1 Modificări displazice în epiteliul scuamos metaplastic al glandelor epidermizate (săgeata roșie); microfocalizare pe epiteliul displazic tegumentar (săgeata neagră). Colorație: hematoxilină și eozină (×100)

Fig. 1 Dysplastic changes in the metaplastic squamous epithelium of epidermized glands (red arrow), micro focus on dysplastic integumentary epithelium (black arrow). Stained with hematoxylin and eosine (×100)

period of time the procedure of taking the specimens from the woman for the cytological investigation is performed several times.

In three cases of false-negative pathomorphological result, the pathohistological investigation of cone biopsy explained the reason of divergence of diagnoses (Fig. 1).

In negative cytomorphological investigation, and if there are data of previous neoplastic changes, it is possible to review the previous cytomorphological specimens.

Discussion

A big problem of cytology is the differential diagnostics of various stages of dysplastic changes and intraepithelial cancer. During our study, cancer

was suspected in 4 cases based on cytomorphological investigation data, and in 3 cases it was proven. In 5 cases pathohistological investigation changed the diagnosis of cytological investigation of high stage dysplasia into *in situ* cancer, which did not affect the amount of planned treatment. However, even today there are no developed cytological criteria of differential diagnostics for this pathology.

The reactive changes of epithelium (especially in significant inflammation, regeneration) also are the cause of inadequate cytological diagnostics. CUC rarely develops on background of unchanged epithelium. According to Sumenco V. (2007) background lesions take 10%-15% in the structure of gynecological diseases of women of reproductive age [3]. Up to 94% of all cases of tumor are preceded by various pathological changes of cervical epithelium (background diseases).

In the investigated cases of CIN I-III, both in cytological smears and histological specimen, koilocytes were found in 59 (47.6%) cases, cellular elements of chronic inflammation – in 51 (41.1%) cases. Between the cytomorphological and pathohistological diagnoses in significant background pathology 11 (18.6%) cases of divergence were documented, all of which were connected with CIN I-II, and pathohistologic investigation resulted in “lowered” stage of neoplasia. For example, in CIN I and koilocytosis on background of chronic inflammation pathohistological investigation resulted in proving only koilocytosis with inflammation. All 5 cases of cytomorphological diagnosis of dysplasia of epithelium of IInd stage on background of stated pathology were estimated as CIN I in pathohistological investigation.

Conclusions

In order to improve the positive detection of signs of human papilloma virus infection and stage of manifestation of

menul citomorfologic arată un stadiu inferior de displazie tisulară, decât este în realitate.

Rezultatele fals-negative ale examenului patomorfologic, în cadrul instituțiilor de nivel III, ar putea fi identificate prin examinarea repetată a probelor citomorfologice, colectate în trecut.

Abrevieri și notații convenționale

ASCUS – celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată; CIN – neoplazie cervicală intraepitelială; CCU – cancer de col uterin; HSIL – leziune intraepitelială scuamoasă de risc înalt; ICD-O – clasificarea internațională a maladiilor pentru oncologie; LSIL – leziuni scuamoase intraepiteliale de grad redus; TBS – sistemul Bethesda; CU – col uterin; OMS – Organizația Mondială a Sănătății.

Contribuția autorilor

OL a conceput studiul, a efectuat prelucrarea probelor și analiza comparativă a diferitelor metode de examinare. LR a efectuat examenul histologic de specimene. Manuscrisul final a fost citit și aprobat de către ambii autori.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interese.

Referințe / references

1. Глухова Ю. К. Сравнительная цитологическая и гистологическая диагностика новообразований шейки матки. Диссертационная работа. М., 2004; 119 с.
2. Parkin D., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 2005; 55: 74-108.
3. Суменко В. В. Цитологічна діагностика і прогнозування малігнізації епітелію шийки матки у вагітних. *Морфологія*, 2007; 1(2): 75-81.
4. Boardman L., Goldman D., Cooper A. et al. CIN in pregnancy: antepartum and postpartum cytology and histology. *J Reprod Med*, 2005; 50(1): 13-8.
5. Родионова О. М. Цитологический скрининг рака шейки матки. Автореферат диссертации. Владивосток, 2007; 139 с.
6. Бохман Я. В. Руководство по онкогинекологии. Л.: Медицина, 1989, 464 с.
7. Скрининговый этап диагностики онкологических заболева-

dyskaryosis it is recommended to stain the smears after Papanicolau (sensitivity using Papanicolau staining is 81.2%; sensitivity using Romanovski staining is 78.1%).

In cases of significant chronic cervicitis and koilocytosis the cytomorphological picture usually “anticipates” the stage of histological dysplasia.

False negative results of pathomorphological investigation on IIIrd stage of medical help can possibly be leveled by reviewing cytomorphological preparations from previous stages.

Abbreviations

ASCUS – Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance; CIN – Cervical Intraepithelial Neoplasia; CUC – Cancer of Uterine Cervix; HSIL – High-grade Squamous Intraepithelial Lesion; ICD-O – International Classification of Diseases – Oncology; LSIL – Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion; TBS – The Bethesda System; UC – Uterine Cervix; WHO – World Health Organization.

Author's contributions

OL conceived the study, performed the processing of specimens and comparative analysis of different methods of examination. LR performed the histological examination of specimen. Final manuscript was read and approved by both authors.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

ний женской половой сферы. Анализ результатов цитологического скрининга 2004-2008 гг. *Заместитель главного врача*, 2009; 7: 92-110.

8. Чепурная Ю. Ю. Клиническое значение жидкостной цитологии в диагностике заболеваний шейки матки. Диссертационная работа. М., 2004; 161 с.
9. Сельков С. А., Рищук С. В., Костючек Д. Ф., Веденева Г. Н. Ранняя диагностика и лечение предраковых состояний шейки матки. *Акушерство и гинекология*, 2005; 3: 17-20.
10. Минкина Г. Н., Минкина О. В., Чепурная Ю. Ю., Поросова Е. Н. Сравнительная эффективность традиционной цитологии и кольпоскопии в скрининге заболеваний шейки матки. Материалы VI Российского форума «Мать и дитя», 12-15 октября 2004. Москва, 2004. с. 420.
11. Solomon D., Nayar R. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Second edition. *NY Springer-Verlag Telos*, 2004; 191 p.

Acoperim lapsus-ul în Europa prin educație: o misiune inversă

Gabriel M. Gurman^{1*}

¹Profesor Emerit de Anestezie și Terapie Intensivă, Universitatea Ben Gurion din Negev, Beer Sheva, Israel

Pentru corespondență:

Gabriel M. Gurman, Profesor Emerit
Departamentul de anestezie
Centrul Medical Mayney Hayeshuah
B'nai Brak, Israel
e-mail: gurman@bgu.ac.il

Retipărit cu permisiunea scrisă a deținătorului de Copyright din: Roth R., Frost E. A. M., Gevirtz C., Atcheson C. (editori). Rolul anesteziei în sănătatea globală. Un ghid complet. Editura Springer International Publishing Switzerland, 2015.

Dezintegrarea Uniunii Sovietice, în 1989, la 20 de ani după emigrarea mea în Israel din România, a avut loc când eu deja eram cetățean israelian. La momentul emigrării mele în Israel, situația în România era admisibilă, iar medicina era practică la un nivel nu foarte înapoiat față de Israel, o țară în deplină dezvoltare. În ambele țări, medicina se afla la un nivel între statele dezvoltate ale lumii și Europa de Est comunistă.

Căderea Uniunii Sovietice a oferit un indiciu pregnant despre eșuarea întregului sistem medical. Deoarece el, sistemul nu mai era în stare să facă față necesităților mari ale populației. Contradicțiile dintre nivelul de entuziasm și dedicație a lucrătorilor medicali și disponibilitatea metodelor contemporane de tratare a pacienților erau evidente. În contextul dat, situația în anestezie și terapie intensivă nu a fost o excepție. Necesitatea în echipament modern și medicamente era deosebit de acută. Aprovizionarea cu rechizite, produse în țările pactului de la Varșovia, acopereau doar parțial necesitățile. Ajutorul sporadic din țările Europei de Vest nu erau suficiente pentru a rezolva problema. Era, de asemenea, foarte dificil de a obține careva contacte cu partea medicală din vestul Uniunii Sovietice. Lipsa resurselor materiale, cunoașterea slabă a limbilor moderne de către tinerii specialiști și teama permanentă a autorităților de dezertarea populației în „lumea liberă” au contribuit la restricții serioase în privința călătoriilor peste hotarele Uniunii Sovietice de atunci.

Accesibilitatea manualelor și revistelor medicale varia de la o țară la alta. Materialele didactice nu puteau ajunge la centrele medicale periferice și izolate. În contrast, unii practicieni, oameni de știință și profesori din partea de vest a continentu-

Closing the gap in Europe through education: a reverse mission

Gabriel M. Gurman^{*1}

¹Professor Emeritus, Anesthesiology and Critical Care, Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel

Corresponding author:

Gabriel M. Gurman, Professor Emeritus
Department of Anesthesia
Mayney Hayeshuah Medical Center
B'nai Brak, Israel
e-mail: gurman@bgu.ac.il

Reprinted with permission from: Roth R., Frost E. A. M., Gevirtz C., Atcheson C. (Eds.). The Role of Anesthesiology in Global Health: A Comprehensive Guide. Cham: Springer International Publishing Switzerland, 2015.

The fall of the Soviet Union in late 1989, almost 20 years after immigration to Israel from Romania, found me as an Israeli citizen. At the time I emigrated, the overall situation in Romania was bearable and medicine was practiced at a level not too far behind what I found in Israel, a country in a stage of full development. In both countries medicine was somewhere on a level between the wealthy parts of the world and communist Eastern Europe.

The fall of the Soviet Union offered a glimpse into the overall failure of health care. The system was unable to answer the huge needs of the population. There was a clear discrepancy between the degree of enthusiasm and dedication of the medical staff and the availability of modern modalities to treat patients. The situation in anesthesiology and critical care was no exception. There was a desperate need for modern equipment and drugs. Supplies produced in the Warsaw pact countries only partially covered the needs. The scarce aid coming from Western Europe was not enough to solve the problem. Contacts with medicine west of the Soviet bloc were difficult to achieve. The lack of funds, a very inconsistent command of foreign languages among young physicians, and the authorities' permanent fear of manpower defection to the free world, contributed to serious restrictions of free travel. Availability of textbooks and medical journals varied in different countries. Material could not reach remote, peripheral medical centers. In contrast, some physicians, scientists, and teachers from the western side of the continent regularly visited countries of the communist world, offering the local healthcare providers a

lui, vizitau cu regularitate țările comuniste, oferind furnizorilor medicali o șansă de a învăța despre noile realizări în medicină și domeniile apropiate acesteia.

În același timp, anesteziologia în țările de vest ale Europei avea un rol tradițional, de frunte, în domeniul unei îngrijiri mai bune a pacientului. În a doua jumătate a secolului XX, realizările în anesteziologie au contribuit la îmbunătățirea semnificativă a regulamentelor de securitate a pacientului, echipamentelor și arsenalului de medicamente în sala de operație, saloanelor de terapie intensivă (de exemplu: monitoare, aparate de anestezie, laborator expres, disponibilitatea radiografiilor). Organizațiile internaționale au implementat coduri de principii etice; studii fundamentale și clinice se desfășurau în centrele medicale mari, facilitate de acces la informație ușor și continuu. Totodată, influența încurajatoare a progreselor de pe continentul Americii de Nord s-a făcut resimțită și în partea de vest a Europei.

Un contrast simțitor, uneori, chiar izbitor, observat în decursul scurtelor mele vizite în unele țări ale imperiului Sovietic, m-au determinat să caut posibilități de a ajuta colegii și prietenii mei din această parte a lumii, în vederea scurtării căilor spre medicina modernă.

Federația Mondială a Societăților de Anesteziologie (WFSA) – proiectul Beer Sheva

Federația Mondială a Societăților Anesteziologilor (l. engl. *World Federation of Societies of Anesthesiologists*, WFSA) era la curent, de la bun început, cu problemele ce reieșeau din lipsa continuă de contact între aceste două părți ale continentului. Pe parcursul anilor, înainte și după abolirea Cortinei de Fier, diverse organizații mondiale au încercat să faciliteze procesul de armonizare a nivelului de profesionalism printre medicii anesteziologi pe întregul continent; WFSA nu a fost o excepție. După căderea blocului comunist, mulți anesteziologi de frunte din Europa au vizitat țările post sovietice. Ei au participat la congrese naționale, cursuri practice organizate, au predat noi tehnici și au invitat specialiști tineri să petreacă anumite perioade de timp în secțiile de anestezie, bine organizate și echipate, din țările apusene [1]. Tabelul 1 reprezintă o listă

Tabelul 1

Activitățile în anesteziologie, promovate de către persoane individuale și organizații internaționale profesionale în Europa, în decursul primului an după căderea Cortinei de Fier

Proiect	Avantaje	Dezavantaje
Centre de instruire în unele țări	Economic. Instruirea în concordanță cu realitatea existentă.	Nu s-a utilizat echipament de ultimă oră. Insuficientă de profesori.
Cursuri de perfecționare	Număr nelimitat de participanți. Actualizarea cunoștințelor teoretice.	Nu a avut impact imediat asupra activităților zilnice.
Granturi educaționale pentru diverse perioade de timp în diverse domenii ale specialității	Contact de excepție cu medicina modernă.	Emigrarea specialiștilor din țara de origine.

chance to learn of new achievements in medicine and related fields of science.

At the same time, anesthesiology in the western part of Europe was leading the way to better patient care. In the second part of the twentieth century advances in anesthesia led to improvement in patient safety regulations, equipment and drug arsenals in the operating room (OR) and intensive care units (ICU), e.g., monitors, anesthesia machines, bedside lab, and X-ray availability. International organizations developed codes of ethical principles; significant basic and clinical research was taking place in large hospital centers, facilitated by easy and continuous access to information. The beneficial influence of developments on the North American continent was felt in the western part of Europe.

A palpable contrast, noticed during my short trips to some countries of the former Soviet empire, led me to search for a way to assist colleagues and friends to shorten the path towards modern medicine.

The World Federation of Societies of Anesthesiologists (WFSA) – Beer Sheva Project

WFSA was aware of the problems arising from the continuous lack of contact between the two parts of the continent. In the years preceding and following the fall of the Iron Curtain, different world organizations including the WFSA tried to facilitate the process of harmonizing the level of the profession of anesthesia throughout the continent. After the fall of the communist bloc, many of Western Europe's leading anesthesiologists found their way to countries of the communist system. They took part in national congresses, organized teaching courses, taught new techniques, and invited young local specialists to spend periods of time in well-organized and equipped anesthesia departments [1]. Table 1 presents a short list of educational activities organized by various international organizations or individuals, with advantages and drawbacks delineated.

Based on this partially successful experience, we initiated two projects with different scopes. The aim of the first project was to expose a large number of young Eastern European

Table 1

Educational activities in anesthesiology promoted by individuals and professional international organizations in Europe in the first years after the fall of the Iron Curtain

Project	Advantages	Drawbacks
Training centers in some countries	Economic. Teaching in accordance with the existing reality.	No use of up-to-date equipment. Paucity of teachers.
Refresher courses	Unlimited number of participants. Updating theoretical knowledge.	No immediate impact on the daily activity.
Educational grants for various periods of time in various domains of the profession	Wonderful contact with modern medicine.	Brain drain from the country of origin.

scurtă a activităților educaționale, organizate de către diverse organizații internaționale sau individuale, cu avantajele și dezavantajele acestora.

Bazându-ne pe această experiență parțial de succes, noi am inițiat, chiar de la început, două proiecte cu scopuri diferite. Primul scop a fost de a expune un număr mare de tineri specialiști din Europa de Est la aspectele moderne ale profesiei, mai întâi de toate, prin oferirea posibilității de a vedea „pe viu” activitățile zilnice ale specialiștilor într-un spital modern, cu flux mare de pacienți. Proiectul a fost plasat în Beer Sheva, cea mai mare localitate urbană din sudul Israelului. Beer Sheva este un oraș universitar, aici se află Universitatea Ben Gurion (BGU) din Negev, care instruieste circa 21.000 de studenți în cadrul diverselor facultăți, inclusiv Facultatea de Științe ale Sănătății (FOHS). FOHS reprezintă o școală medicală bine dezvoltată, care are elaborate baze teoretice și clinice pentru aproape toate domeniile medicinei.

Baza principală de instruire a fost Centrul Medical Soroka (SMC), un spital cu 1100 de paturi, amplasat în nemijlocită apropiere de FOHS. Toate departamentele din această instituție instruiesc studenți și au stabilite diverse programe de post-absolvire și programe de rezidențiat. Astfel, la momentul inițierii acestui program, Departamentul de Anestezie și Terapie Intensivă din cadrul SMC-FOHS a angajat 30 de specialiști și 35 de rezidenți, absolvenți ai BGU.

Proiectul a fost propus Comitetului pentru Educare al WFSA și a fost aprobat în 1992 [2]. Întrebarea în contextual dat e cât se poate de firească: de ce Israel? De ce anume Beer Sheva? Răspunsul merită o explicație aparte. La acel moment, medicina din Israel ocupa un loc special în lumea medicală mondială. Rafinamentul acesteia a fost bine stabilit. La fel, calitatea sistemului medical era înaltă. Deși caracterizată prin acces facil și modern la tratament pentru fiecare cetățean în parte, costul respectiv era simțitor mai mic decât în multe alte țări dezvoltate. Chiar și astăzi, sistemului de sănătate din Israel îi revin 8% din produsului național brut, în comparație, bunăoară, cu 17,6%, în Statele Unite (2012) [3].

Rezoluția comună dintre BGU, FOHS și SMC pentru a fi gazdă programului, îmbinată cu dorința specialiștilor din Departamentul local de Anestezie de a antrena colegii de breaslă străini, au creat climatul corespunzător pentru implementarea proiectului în Beer Sheva. Un detaliu remarcabil în acest sens, a fost faptul că majoritatea personalului cunoștea multiple limbi străine, pe lângă ebraică și engleză. Unii își aveau țările de origine peste hotarele Israelului și erau vorbitori nativi de limba rusă, română, arabă, bulgară, ungară, spaniolă, italiană, franceză și portugheză. În fine, tinerii specialiști, care au vizitat SMC, au avut șansa să cunoască un nivel respectabil de medicină, practicat la un cost rezonabil. Indiscutabil, sistemul israelian poate fi o bună sursă de informație pentru acei care încearcă să îmbunătățească sistemele lor medicale, în speță, în țările în care bugetul alocat medicinei este mic.

E cazul, în această ordine de idei, să menționăm un detaliu în legătură cu regulamentele israeliene: un practician care se află în vizită cu scopul de a se perfecționa, nu are dreptul de a rămâne în țară. Acești specialiști pot activa doar pentru o perioadă fixată de timp, și doar sub supervizarea continuă de către

anesthesiologiști la aspectele moderne ale profesiei prin oferirea lor a direct view of daily activities at a busy, up-to-date hospital. The project was situated in Beer Sheva, the largest city in the south of Israel. Beer Sheva is a university city, home to Ben Gurion University (BGU) of the Negev, which accommodates some 21,000 students in various faculties and research centers, including the Faculty of Health Sciences (FOHS). The FOHS includes a well-developed medical school that has clinical and teaching facilities for almost all fields of healthcare.

The main teaching base was Soroka Medical Center (SMC), a 1,100-bed hospital, located in the immediate vicinity of FOHS. All its departments and clinics educate medical students and have established post-graduate and residency programs. At the time of initiation of this project, the SMC-FOHS Division of Anesthesiology and Critical Care employed 30 specialists and 35 residents, many of them holding academic degrees from BGU.

The project was proposed to the Committee for Education of the WFSA and was approved in 1992 [2]. The questions: Why Israel? And why Beer Sheva? Deserve special clarification. At that time Israeli medicine had an interesting place in the world of modern medicine. Its sophistication was well established. The quality of health care was high. Although characterized by easy access to up-to-date treatment for every citizen, cost was significantly less than that of many other developed countries. Even today health care accounts for a mere 8% of the gross national product compared to 17.6% in the USA (2012) [3].

The resolution of the BGU, FOHS, and SMC to host the program, together with the eagerness of the Division of Anesthesiology staff to teach and train, created the proper climate for implementing the project in Beer Sheva. One noteworthy detail is that the majority of the staff spoke numerous languages; in addition to Hebrew and English. Several were born in countries outside Israel and afforded native speakers of Russian, Romanian, Arabic, Hungarian, Bulgarian, Spanish, Italian, French, and Portuguese. In short, the young foreign anesthesia specialists visiting SMC were offered a chance to observe a reputable level of medicine, practiced at reasonable cost.

The Israeli system could be a source of inspiration for those who would try to improve the healthcare level in their own countries where the budget allocated to medicine was still low.

Another point is that according to Israeli regulations, a visiting physician is not allowed to remain in the country. They may only practice medicine with the necessary permits for a fixed and limited period of time and they require continuous supervision by an Israeli physician. This regulation was an assurance that the visitor would go back home after completing the training period. There would be no drain of qualified personnel from the countries involved in the project.

Implementation

As a result of the WFSA arrangement to sponsor the project, we approached the national anesthesiology societies of

un specialist israelian. Acest regulament a fost adoptat pentru a se asigura de faptul, că medicul care se află în vizită temporară se va întoarce în țara de origine după finalizarea stagiului practic. În așa mod, nu va avea loc migrarea de cadre medicale în decursul acestui proiect.

Implementare

După ce WFSA a dat acordul în privința sponsorizării proiectului, noi ne-am adresat la societățile naționale de anesteziologi și am planificat interviuri cu candidații nerăbdători de a lua parte în program. Implicarea lucrătorilor societăților locale în comitetele de selecție era vitală. Conducătorii locali trebuiau să cunoască candidații și să participe în alegerea persoanelor cu cel mai înalt potențial de beneficiere în urma perioadei de aflare în SMC.

Întrevederile erau organizate, de obicei, concomitent cu convențiile anuale ale societăților naționale de anesteziologie și se desfășurau în limba engleză, o bună cunoaștere a acesteia era primul criteriu de selecție a candidaților. La fel de important era faptul în care, tinerii specialiști erau rugați să explice ce așteptări au de la acest proiect. În majoritatea cazurilor, numărul persoanelor, care au aplicat pentru participare, era mai mare decât numărul alocat pentru țara anumită. Astfel, decizia finală se lua după evaluarea de către membrii comitetului, printre care se afla, obligatoriu, cel puțin un membru al SMC.

WFSA a decis să acopere cheltuielile de aflare în Beer Sheva a medicilor din străinătate. BGU a acceptat rolul de manager al fondurilor financiare primite de la WFSA, prin deschiderea unui cont aparte, dedicat în întregime acestui proiect. Președintele BGU a donat, la rândul său, o sumă substanțială pentru a ușura inaugurarea proiectului. FOHS a contribuit la proiect prin cazarea specialiștilor de peste hotare în imediata vecinătate a SMC, în incinta căminelor studențești. Distanța mică dintre locul de cazare și spital a ușurat participarea la activitățile speciale, care au avut loc în zilele de week-end și în turele de noapte. Medicii de gardă telefonau și informau despre cazurile interesante, ce meritau atenție. La fel, s-a ajuns la o înțelegere cu FOHS, ca participanții proiectului să aibă acces liber și gratuit la biblioteca facultății și la sala de sport.

Am decis, de asemenea, ca fiecare participant să își acopere cheltuielile de transport. Această decizie a fost făcută, reieșind din principiul, că tânărul specialist ar trebui să investească la fel de mult ca și sponsorul, pentru participarea sa în program. După discuțiile cu colaboratorii societăților naționale, am ajuns la concluzia că achitarea costului biletelor de avion nu va fi o sumă insurmontabilă pentru participanți. Această presupunere, până la urmă, s-a dovedit a fi corectă. Pe parcursul a 14 ani de desfășurare a proiectului în Beer Sheva, nu a fost nicio anulare de participare din cauza costului călătoriei.

Hotărârea de a aduce în Beer Sheva specialiști în grupuri ce provin din aceeași țară s-a luat după tratative intense cu membrii WFSA. Alternativa a fost să adunăm la un loc participanții din diferite țări și să le oferim specialiștilor șansa de a acumula informație despre modul de organizare a activităților medicale în diferite părți ale Europei de Est. Acest fapt ar fi facilitat și îmbunătățirea limbii engleze, unica limbă de comunicare pentru toți participanții. Însă, într-un final, s-a luat decizia

interested countries and planned interviews with candidates eager to take part in the program. Involvement of local society officers participating in the selection committee was vital. The local leaders were expected to know the candidates and assist in the process of selecting individuals with the highest potential to benefit from the observation period at SMC.

The interview, usually scheduled during an annual convention of the national anesthesia society, was in English and good command of this language was the first criterion in the selection of candidates. Equally important, the young anesthesia specialist was expected to explain what he/she anticipated from the observation period in Israel. In most cases the number of candidates exceeded the number of positions allocated to that specific country. The final decision was made after review by the committee members, which always included at least one SMC staff member.

WFSA decided to cover the cost of the foreign physicians' stay in Beer Sheva. BGU accepted the role of controlling the funds received from WFSA by opening a special account dedicated solely to this project. The BGU president at that time donated a substantial sum of money in order to ease the inauguration of the program. FOHS assisted the project by arranging accommodations for the foreign physicians in the immediate vicinity of SMC, in the premises of student dormitories. The walking distance between the apartments and the hospital eased the participants' approach to the special activities during the nights and weekends. The staff on duty would call and inform them about a special case or treatment deserving interest. Also, an agreement was reached with FOHS stipulating the right of the project participants to freely access the faculty library as well as the sport facilities of BGU.

We decided to ask each participant to cover his or her own travel expenses. This decision was based on the principle that the young physician involved in the program was supposed to be as invested as the sponsor in obtaining a place in the project. In discussions with the officers of the national societies we reached the conclusion that paying for the airplane ticket would not be too heavy a burden for any of the participants. The reality proved that this supposition was correct. During the 14 years of the project in Beer Sheva there have been no cancellations due to travel costs.

The decision to bring to Beer Sheva specialists in groups belonging to the same visiting country was taken after an intense discussion with WFSA officers. The alternative was to mix participants from different countries and offer everybody a chance to get information about other kinds of organizations in different parts of Eastern Europe. This would have also facilitated better command of English, the only common language for all. But the accepted idea was not to separate members of the same national group, and thus to accelerate their acclimatization with the new atmosphere and better organize their free time (weekends and afternoons) activities.

The observation period

The participants arrived in Beer Sheva in groups of three or four when the project included only 1 month of observa-

să nu separăm membrii din același grup național, în așa mod accelerând aclimatizarea lor cu noua atmosferă și o mai bună organizare a activităților din timpul lor liber (weekend-uri și serile după serviciu).

Perioada de observare

Participanții au ajuns la Beer Sheva în grupuri a câte 3-4 persoane, când stagiul era preconizat pentru o lună de observație, și în grupuri a câte 2 persoane – în partea a doua a proiectului, când participanților li s-a oferit o perioadă mai lungă de observație; astfel, fiecare participant a avut ocazia să se familiarizeze cu una dintre ramurile specialității – terapie intensivă, anestezie obstetricală, anestezie cardio-toracică, managementul durerii etc.

Fiecare participant a fost integrat în activitățile zilnice ale Departamentului de Anestezie și Terapie Intensivă din cadrul SMC. Ziua de lucru începea la orele 7.00 cu o întrevedere scurtă, care includea raportul gărzii de noapte, o mică introducere în planul lucrului pentru ziua următoare și un raport scurt, de 10 minute, efectuat de către un rezident. Traducere simultană din ebraică în engleză a fost efectuată de către un lucrător SMC prin intermediul căștilor. Membrii grupului erau repartizați în dependență de activitatea de dimineață: fie ea în sala de operație sau în altă parte (cum ar fi clinica durerii, policlinica de evaluare preanestezică sau terapie intensivă). Participanții au luat, în același timp, parte la consultațiile din secție și la oricare proces didactic sau instructiv al rezidenților. Când a fost posibil, specialiștii de peste hotare au avut șansa să participe la evenimente educative în afara Beer Sheva, cum ar fi congrese naționale sau cursuri de perfecționare în anestezie și alte domenii apropiate. O atenție deosebită a fost acordată acelor arii de activitate, în care specialiștii erau cointeresați cel mai mult. Interesele acestora varia de la an la an și de la un grup la altul. Principala explicație a acestor diversificări în interese a fost faptul că, pe parcursul anilor, Europa de Est se obișnuise cu noile realizări în profesie. Astfel, unele instituții medicale din Europa de Est încep să procure echipament modern și medicamente; or, procesele de reorganizare a activităților zilnice erau evidente în multe spitale. Plus la aceasta, un nou sistem de educație continuă se implementa gradat în Europa de Est, cu scopul de a oferi tinerilor specialiști o șansă de a îmbunătăți cunoștințele teoretice și aplicarea lor în activitatea zilnică.

Tabelul 2 arată schimbările gradate în lista de preferințe printre specialiștii tineri, participanți la proiect. El reflectă progresul profesiei în diverse țări participante la acest proiect, pe parcursul primului deceniu de piață liberă și eliberarea de limitele sistemului comunist. Tabelul denotă unele momente interesante.

E de menționat faptul, că participanții nu au simțit nevoia de prezentări clinice teoretice la nici o etapă a programului. Informația electronică devenea, progresiv, mai ușor de accesat în toate țările implicate în program și tinerii specialiști aveau șansa de a-și îmbunătăți cunoștințele teoretice, bazate pe un simplu proces de auto instruire. Un interes specific a început la tematica monitoringului obligator în sala de operație

tion, and then in pairs in the second part of the project, when the participants were offered a longer period of observation, thus giving each visiting physician a chance to become more familiar with one of the specialty fields: critical care, obstetrical anesthesia, cardiothoracic anesthesia, pain management, etc.

Each participant was integrated in the daily activity of the Division of Anesthesiology at SMC. It started with participation in the 7:00 a.m. meeting, which included the previous night's report, a quick glance into the morning schedule, and a 10-min presentation by one of the residents. A simultaneous translation from Hebrew to English through headphones was provided by one of the staff.

Then members of the group were assigned to the activities of the morning, either in the OR or non-OR areas such as the pain clinic, pre-anesthesia assessment clinic, or ICU. They also took part in the consultations on the floor and in any teaching activity involving the anesthesiology residents.

When possible, the foreign physicians were given a chance to take part in educational events outside Beer Sheva, such as a national convention or a refresher course in anesthesiology and related domains. Special attention was given to those areas that interested the foreign physicians. Their interest varied from one year to another and from one group to another. The main explanation for varying interest in new knowledge was that gradually, the average Eastern Europe anesthesiologist became accustomed to new achievements in the profession. Hospitals in various countries of the eastern part of the continent started purchasing modern equipment and drugs, and a process of reorganization of the daily activity was evident in many medical centers. Additionally, a new system of continuous education was gradually implemented in many Eastern countries, with the aim of offering young physicians a chance to improve theoretical knowledge and apply it to the daily work.

Table 2 shows the gradual changes in the list of some topics of interest among the participants in the project. It reflects the progress made by the profession in various participating countries during the first decade of the free market system and liberation from the communist system limits. The table reveals some interesting points. At no stage of the project did the average participant feel a need for clinical theoretical presentations. The access to electronic information became progressively easier in every country involved in the program and the young specialist was able to improve his/her theoretical knowledge base by a simple process of self-learning.

The specific interest started with items belonging to compulsory monitoring in the OR, a demand difficult to achieve in the absence of the necessary equipment. Once the visiting specialist became accustomed to this basic equipment in his/her own hospital, the general interest switched to more complicated practical items, most of them originating from the personal subspecialty interest. Also some of the foreign specialists had the opportunity to visit and work in other developed medical centers (abroad and even in their own countries and cities). There they encountered modern equipment and all necessary

Tabelul 2

Tematica intereselor deosebite, manifestate de către participanții la proiectul WFSA-Beer Sheva pe parcursul anilor de existență a acestuia

Anul	Domeniul de interes
1992	Oximetria Capnografia Anestezia caudală la copii
1994	Neurostimularea Cateterizarea arterei pulmonare Monitorizarea invazivă a TA
1997	Acele tip <i>pencil-point</i> pentru anestezie spinală Înlocuirea în anestezia inhalatorie a halotanului cu isofluran
2000	Monitorizarea presiunii intracraniene Managementul durerii postoperatorii la copii Hemofiltrarea în secțiile de terapie intensivă Clinica de evaluare preoperatorie
2001	Intubarea traheală cu fibră optică Terapia intensivă pediatrică Organizarea sălii de trezire (PACU)
2002	Masca laringiană Anestezia combinată spinală-epidurală Anestezia spinală continuă Traheostomia percutană Organizarea serviciului de durere acută

– o cerință greu de asigurat în lipsa echipamentului necesar. Odată ce specialistul în vizită se obișnuia cu echipamentul de bază, interesul său se manifesta către itemi mai practici și mai complicați, majoritatea reieșind din interesul personal, legat de subspecialitatea sa. În același timp, mulți dintre ei au avut ocazia să activeze peste hotarele țării de origine sau în spitale moderne din țara sa de baștină. Acolo ei s-au confruntat cu echipament și cu medicamentele necesare pentru o anestezie modernă. Pe lângă acestea, stagiarii au avut ocazia să participe la convenții științifice internaționale și să contacteze cu colegi din țări mai dezvoltate. Odată reveniți acasă, ei puteau să implementeze, fără nici o ezitare, unele tehnici văzute și învățate peste hotare.

Această nouă realitate a creat temelia pentru o schimbare a direcției procesului de educație. Am simțit necesitatea de a căuta noi idei, care ar putea servi mai bine procesul de lichidare a lăpsusului între cele două părți ale continentului (*vide infra*).

Pe parcursul anilor 1992-2005, 148 de specialiști în anestezie din 9 țări – toți cu vârsta mai mică de 40 de ani, au participat la proiectul WFSA-Beer Sheva și au petrecut 1-6 luni în SMC (Tabelul 3).

Mulți dintre ei doar au avut calitatea de observator, dar acei care au avut o perioadă mai lungă de ședere, au avut ocazia să participe direct în activitățile zilnice atât în sala de operație, cât și în afara ei, sub supervizare continuă. Astfel, ei au fost implicați mai mult decât un specialist în anestezie poate oferi pacienților săi. Observatorul nu a fost implicat în lucrul cu pacientul, el doar a supravegheat tratamentul, grija și atitudinea oferită pacientului. În cazul când specialistul-oaspete avea o durată de ședere mai mare de 6 luni în SMC (foarte puține cazuri), Ministerul Sănătății din Israel emitea o licență

Table 2

Topics of special interest to the WFSA-Beer Sheva project participants in different years of its existence

Year	Topic
1992	Oximetry Capnography Caudal anesthesia for children
1994	Neurostimulator Pulmonary artery catheter Invasive blood pressure monitoring
1997	Pencil-point needles for spinal anesthesia Isoflurane replacing halothane for inhalation anesthesia
2000	Intracranial pressure monitoring Postoperative pain relief in children Hemofiltration in ICU Pre-anesthesia outpatient clinic
2001	Fiber-optic tracheal intubation Pediatric critical care Organization of a recovery (PACU) room
2002	Laryngeal mask Combined spinal-epidural anesthesia Continuous spinal anesthesia Percutaneous tracheostomy Organization of an acute pain service

drugs for modern anesthesia. They also were offered the opportunity to participate in international scientific conventions and contact colleagues from more developed countries. Once back home, they could implement some of the things seen and learned.

This rather new reality created the basis for changing the direction of the educational process. We felt the obligation to search for other ideas that could better serve the purpose of closing the gap between the two parts of the old continent (*vide infra*).

During 1992–2005, 148 foreign specialists in anesthesia, from nine countries, all younger than 40 years old, took part in the WFSA-Beer Sheva project, spending between 1 and 6 months, at SMC (Table 3). Most of them were allowed only to observe, but those who spent longer time in the hospital got the opportunity to directly participate in the daily activity in the OR and outside it, under continuous supervision. Thus they got more exposure than an average specialist in anesthesia is able to offer his/her patients. The observer was not involved in patient care; he/she just observed the treatment offered to the patient. But when the guest spent at least 6 months at SMC (very few cases), an educational license was issued by the Israeli Ministry of Health, thus the foreign physician was allowed to take part in patient care under direct and permanent supervision of an Israeli physician.

Did this first project significantly contribute to the process of closing the gap between the two parts of Europe? The answer is unclear. The project created a practical base for a young specialist to become familiar with modern equipment and an approach to the specific needs of the surgical patient. Some ethical aspects of our clinical activities and judgment

Tabelul 3

Țările și numărul de participanți în proiectul WFSA-Beer Sheva în perioada anilor 1992-2005

An/țară	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
România	2	4	4	4	4	4	2	
Moldova						4	4	4
Slovacia								
Bulgaria						4	4	4
Slovenia							2	4
Serbia								
Macedonia								
Ungaria						4	2	
Belarus								
<i>Total</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>16</i>	<i>14</i>	<i>14</i>
An/țară	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Total	
România						1	27	
Moldova	4	4	4	4	4	4	36	
Slovacia	4	4	2	2	2	2	16	
Bulgaria	3	3	4	4	4	4	34	
Slovenia	2	3					11	
Serbia						4	4	
Macedonia			2		8		10	
Ungaria			3				9	
Belarus			1				1	
<i>Total</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>16</i>	<i>10</i>	<i>18</i>	<i>15</i>	<i>148</i>	

educațională care permitea specialistului de peste hotare să fie implicat în lucrul direct cu pacientul, bineînțeles, sub supraveghere directă și permanentă de către un specialist israelian.

Oare acest proiect a contribuit, într-o oarecare măsură, la procesul de lichidare a lapsusului dintre cele două părți ale Europei? Răspunsul prompt este neclar. Indiscutabil e, însă, faptul, că el, proiectul, a creat o bază practică pentru tinerii specialiști de a face cunoștință cu echipamentul modern și cu tactica corespunzătoare în tratamentul unui pacient chirurgical. Unele aspecte etice ale activității clinice zilnice și a raționamentului nostru au contribuit la o înțelegere mai bună a limitelor îngrijirii medicale și a drepturilor pacientului.

Odată reveniți acasă, participanții au transmis colegilor conceptele învățate în cadrul SMC și au încercat să modifice practica medicală în țara de origine. Această permanentă dorință pentru progres a fost amplificată de procesul continuu de îmbunătățire a condițiilor de muncă în Europa de Est, reînnoirea echipamentului, apariția medicamentelor noi, disponibilitatea utilajului de unică folosință, la fel, simplificarea accesului la informație.

Pe de altă parte, observația minuțioasă a acestui proces, a dezvăluit unele defecte încă existente în sistemul de sănătate din țările participanților. Aceste defecte se explică, parțial, prin reminiscențele obstacolelor și limitelor sistemului vechi. Programele de rezidențiat erau obligate să meargă în pas cu schimbările continue în activitatea de zi cu zi în sala de operație și în afara ei, dar în unele țări, acest proces a fost întârziat semnificativ. Unele părți ale organizării departamentelor de anestezie continuau să fie neglijate, precum, spre exemplu, clini-

Table 3

Countries and number of participants in the WFSA-Beer Sheva project during 1992-2005

Year/country	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Romania	2	4	4	4	4	4	2	
Moldova						4	4	4
Slovakia								
Bulgaria						4	4	4
Slovenia							2	4
Serbia								
Macedonia								
Hungary						4	2	
Belarus								
<i>Total</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>16</i>	<i>14</i>	<i>14</i>
Year/country	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Total	
Romania							1	27
Moldova	4	4	4	4	4	4	36	
Slovakia	4	4	2	2	2	2	16	
Bulgaria	3	3	4	4	4	4	34	
Slovenia	2	3					11	
Serbia							4	4
Macedonia			2		8		10	
Hungary			3				9	
Belarus			1				1	
<i>Total</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>16</i>	<i>10</i>	<i>18</i>	<i>15</i>	<i>148</i>	

contributed to a better understanding of the limits of health-care and the rights of the patient.

Once back home, participants transmitted to colleagues concepts learned at SMC and also tried to change practice at home. This permanent desire for progress was amplified by a continuous process of improving the Eastern European conditions for work, better equipment, better drugs, availability of disposable items, as well as a much easier approach to information.

On the other hand, a close observation of this improvement process uncovered some of the still existing flaws of the system in the participants' countries. These flaws are partially explained by the reminiscence of old regime obstacles and limits. The residency track was supposed to keep pace with the continuous changes in daily activity in and out of the OR, but in some countries this process was significantly delayed. Parts of the organization of an anesthesia department were still neglected, such as the pre-anesthesia outpatient clinics, acute pain service, or recovery rooms. Finally, the paucity of resources did not allow the involvement of the project "graduates" into clinical and basic sciences research.

Overall, the feedback obtained both at the end of each observation period and during various occasions visiting the involved countries proved, that the WFSA-Beer Sheva project was worthwhile. The demonstrated personal development of the participants and the improvement of care in their home countries were definitely positive and justified the financial cost covered by the world organization.

The project did not include a follow-up system to deter-

cele de evaluare preoperatorie, managementul durerii acute, sălile de recuperare (trezire). Lipsa resurselor financiare nu a permis implicarea „absolvenților” proiectului în studii clinice și științifice ulterioare.

În mare parte, feedback-ul obținut atât la sfârșitul fiecărei perioade de observație, cât și pe parcursul mai multor vizite în țările implicate în proiect, au demonstrat că proiectul WFSA-Ber Sheva a fost unul de bun augur. Dezvoltarea evidentă a personalului și îmbunătățirea serviciilor medicale în țările participante la proiect au justificat cheltuielile financiare, suportate de către WFSA.

Proiectul nu a inclus sisteme de follow-up pentru a determina ce s-a întâmplat cu fiecare anesteziolog în parte, dar noi știm că, odată cu întoarcerea lor acasă, mulți dintre ei au devenit șefi ai departamentelor de anesteziologie, șefi ai unităților de personal calificat și organizatori ai congreselor și convențiilor. La fel, noi cunoaștem că, circa 20%-25% dintre ei, sunt angajați la moment, în Europa de Vest.

În anul 2005, proiectul și-a mutat sediul, pentru următorii 7 ani, la Wolfson Medical Center în Holon, Israel, sub conducerea Prof. Tiberiu Ezri. Până în anul 2012, acesta a inclus 23 de anesteziologi din Europa de Est precum și din Asia Mijlocie (Slovia, România, Moldova, Bulgaria, Serbia, Republica Cehă, Uzbekistan). La inițiativa WFSA, s-au alăturat proiectului 14 specialiști din Africa. Pe parcursul acestei perioade, participanților li se oferea o durată de stagiu de 6 luni. Fiecare participant a avut ocazia să aleagă unul dintre domeniile respective: terapie intensivă, anestezie pediatrică, anestezie obstetricală, anestezie în chirurgia cardiacă. Specialiștilor de peste hotare li s-a permis să participe direct prin obținerea unei licențe educaționale, emisă de către Ministerul Sănătății din Israel și au fost incluși în activitățile zilnice, sub supravegherea specialiștilor din această țară. O bursă simbolică a fost onorată de către WFSA, iar cazarea, ca și anterior, a fost oferită de către spitalul-gazdă.

O nouă direcție în procesul de lichidare a lapsus-ului dintre Est și Vest

Proiectul WFSA-Israel a fost un pas important în încercarea de eliminare a lapsus-ului dintre cele 2 părți, foste 2 popuri, ale Europei. Dar, în același timp, noi am observat două fenomene importante, ce impuneau schimbări în planificarea proiectelor ulterioare.

Primul fenomen a fost noua realitate, constituită în majoritatea țărilor post-sovietice. Medicina se transforma treptat, în special, anesteziologia; ea își schimba caracteristica și încorpora noi aspecte ale medicinei moderne din Vest. O nouă generație de specialiști și-au asumat direcțiile specialității și au fost expuși deja noilor tendințe în organizarea sistemelor medicale. Ei au implementat principii de securitate a pacientului în cadrul instituțiilor unde activau. Noua generație de anesteziologi posedau, din ce în ce mai bine, abilitățile tehnice și cunoștințele necesare pentru a oferi o anestezie de calitate în sala de operație și în afara ei. Însă, noua atmosferă de entuziasm, care a revigorat Europa de Est, ducea lipsă de un element crucial: deprinderile educaționale. Internetul și acce-

mine what happened to individual anesthesiologists, but we do know that upon their return home some became directors of anesthesia departments, chiefs of professional units, and organizers of congresses and conventions. We also know that some 20%-25% of them found their way to Western Europe and are currently employed in foreign departments.

The WFSA-Ber Sheva project moved in 2005 to the Wolfson Medical Center in Holon, Israel under the leadership of Prof. Tiberiu Ezri for 7 more years. Up to 2012 it included 23 young anesthesiologists from eastern European countries, such as: Slovakia, Romania, Moldova, Bulgaria, Serbia, the Czech Republic, and Uzbekistan. At the initiative of WFSA, 14 specialists from Africa also joined the project.

The Wolfson leg of the project offered participants a 6-month period of training within the framework of the department of anesthesia. Each participant could select one of the following fields of interest: critical care, pediatric anesthesia, obstetrical anesthesia, and cardiac anesthesia. Foreign physicians were permitted “hands-on” experience by obtaining a temporary educational license from the Israel Ministry of Health and were involved in clinical practice on daily basis, under the close supervision of an Israeli specialist. A small stipend was offered by WFSA and lodging was provided by the host hospital.

A new direction in the process of closing the gap between East and West

The WFSA-Israel project was an important step in trying to close the gap between the two sides of Europe. But at the same time, we became aware of two important facts that demanded a change in planning for further projects.

The first was the new reality in the vast majority of the former communist countries. Gradually medicine in general and anesthesiology in particular was changing its characteristics and incorporating some of the features of modern, Western medicine. A new generation of specialists assumed the destinies of the specialty and had already been exposed to new trends in organization of healthcare. They had implemented the principles of patient safety in their places of work. The new generation of anesthesiologists possessed the necessary skills and knowledge to provide a good level of anesthesia practice in the OR and also outside it. But the new atmosphere and enthusiasm that invigorated Eastern Europe anesthesiology lacked one item: educational skills. Internet and easy approaches to electronic information could not offer the young physician the necessary knowledge in experience regarding training in the domain of teaching.

Permanent contact with our profession all over Eastern Europe very clearly showed that one of the weak points of educating the new generation of specialists was the use of old methods to teach new things. Once the need for basic equipment and drugs had been, at least partially, solved and access to up-to-date information ceased to be a problem, we felt that we had to take care of the system of teaching.

During our frequent visits to those countries in the first years of the new millennium, we found that the *teaching system and methods* had been less influenced by the permanent

sul ușor la informație electronică, deși foarte binevenite, nu puteau oferi tânărului specialist cunoștințele necesare pentru antrenarea în domeniul dat.

Contactul permanent în cadrul profesiei noastre cu Europa de Est, a demonstrat limpede și răspicat: unul dintre punctele slabe în educarea noii generații de specialiști este *utilizarea metodelor vechi de predare a tehnicilor noi*. Odată ce problema echipamentului a fost, cel puțin parțial, rezolvată, accesul la informație nu mai era o problemă; noi am simțit nevoia de a avea grijă de sistemul educațional.

Pe parcursul vizitelor frecvente în decursul primilor ani ai mileniului nou, noi am observat că sistemul de predare și metodele respective au fost mai puțin influențate de contactul permanent cu alte părți ale continentului. Un simplu exemplu va demonstra acest fapt. Cum este, bunăoară, predată o temă clinică precum edemul pulmonar acut? Cu mulți ani în urmă, profesorii erau să dezbătă această întrebare prin stabilirea definiției, etiologiei, prin explicarea fiziopatologiei procesului și, spre sfârșit, prin atragerea atenției studentului/rezidentului la metode de prevenire și tratament. Însă astăzi, atitudinea s-a schimbat. Cu scopul de a facilita înțelegerea tabloului clinic, noi am creat un scenariu clinic, în care pacientul ajunge în secția de urgență cu simptome de dispnee și cianoză, cu anamneză de patologie cardiacă și îmbinată cu o masă copioasă, bogată în sare (de pildă). Studentul este rugat să ia în dezbateri datele pacientului, să ia în considerație și datele examenului clinic, să propună un diagnostic diferențial, să ceară teste suplimentare, cum ar fi radiografia sau datele gazelor sangvine și, în atare mod, să ajungă la un diagnostic corect. Din acest moment, calea spre tratament și prognoză devine una eminaamente ușoară.

În multe centre universitare, acest tip de învățământ era absent și așa numita tehnica bazată pe „probleme de situație” (l. engl. *problem-based learning*, PBL) nici nu fusese cunoscută sau, cel puțin, nu se utiliza. Explicația este simplă. Introducerea problemelor de situație în programele medicale de studiu necesită pregătirea profesorilor și, implicit, monitorizarea performanțelor acestora [4]. Această metodă necesită profesori calificați, care nu pot fi pregătiți spontan, ci doar prin crearea unui grup nou profesoral, care au fost instruiți cum să predea și cum să utilizeze corect metode de predare pentru a facilita procesul de înțelegere a temei. Crearea unui profesor bun și de succes nu este deloc un lucru ușor. În unele țări, au fost utilizate cu succes lecții de simulare, însă costul acestora rămâne a fi o problemă pentru mulți ani înainte.

Azer S. (2005) [5] a alcătuit o lista din 12 calități, pe care trebuie să le întrunească un profesor bun: *devotamentul față de muncă, abilitatea de a interacționa și comunica cu respect, capacitatea de a încuraja gândirea clinică, ambianța corespunzătoare pentru procesul de învățământ, interes față de lucrul în echipă, la fel ca și abilitatea de a accepta feedback-ul și critica*.

Unele studii recente au dezvăluit calitățile pe care trebuie să le poseze un profesor de materie clinică pentru a crea condiții corespunzătoare pregătirii altor cadre clinice. Masunga H. și Hitchcock M. (2010) [6] au chestionat, între lunile aprilie 2001 și iulie 2008, 205 de rezidenți și 148 de specialiști în medicina de familie, care au completat online Chestionarul

contact with the other part of the continent. A simple example would help demonstrate this statement. How does one teach a clinical item such as acute pulmonary edema? Many years ago teachers would have approached such a subject by defining the disease and its etiology, explaining the pathophysiology, presenting the symptoms, and finally bringing to the attention of the student/resident the methods of prevention and treatment. But today attitudes have changed. In order to facilitate understanding the clinical framework of such an acute situation, we created a clinical scenario, in which a patient arrives to an emergency room with symptoms of dyspnea and cyanosis, and with cardiac pathology in the past, after – let’s say – a copious meal that included a too salted main course. The student is asked to discuss the data, inquiring about the clinical examination results, proposing a differential diagnosis, asking for adjuvant tests, such as an X-ray and arterial blood gases, and then gradually reaches the correct diagnosis. From that moment the path to treatment and prognosis becomes an easy one.

In many university centers this kind of teaching was absent, and the so-called “problem-based learning” (PBL) unheard of or not used as a teaching tool. The explanation is simple. The introduction of PBL in undergraduate and postgraduate medical courses necessitates special training of teachers and monitoring of their performance [4]. It demands good teachers, which cannot be obtained by a process of “spontaneous generation”, but rather by creating groups of new teachers, who have been taught how to teach and how to use the proper means of teaching for facilitating an easier understanding of the lesson. Creating a good and successful teacher is not a simple task. In some countries, simulation teaching has been successfully used but the expense involved remains prohibitive for many areas.

Azer [5] compiled a list of 12 qualities of a good teacher, among them: *commitment to work, an ability to interact and communicate respect, capacity to encourage clinical thinking, a proper teaching environment, interest in teamwork, as well as readiness to accept feedback and criticism*. Some recent studies showed the qualities that a clinical teacher should achieve in order to create a proper framework for training other clinicians. Masunaga and Hitchcock [6] studied 205 residents and 148 faculties in family medicine who completed the Clinical Teaching Perception Inventory (CTPI) online between April 2001 and July 2008. The participants ranked 28 single-word descriptors that characterized clinical teachers along a 7-pointscale ranging from “least like my ideal teacher” to “most like my ideal teacher.” Their results revealed that both residents and faculty indicated that the ideal clinical teachers should be stimulating, encouraging, competent, and communicative, and should not be conventional, cautious, or controlling. Molodysky (2007) [7] emphasized that without specific training in educational methods, clinical teachers may be less efficient and effective in their teaching activity.

The general understanding today is that we are not born teachers, as we are not born car drivers. In spite of the fact that physicians teach all their life, they may not know how to teach. The art of training is to be taught and learned like any other skill.

de percepere a studierii clinice. Participanții au acordat note la 28 de cuvinte-descriptori, ce caracterizează profesorii de materii clinice (notele au fost cuprinse între 0 și 7 puncte), de la „*minim asemănător cu profesorul meu ideal*” până la „*maxim asemănător cu profesorul meu ideal*”. Rezultatele lor au concluzionat următoarele: atât rezidenții cât și specialiștii au indicat, că profesorul ideal trebuie să stimuleze, să încurajeze, să fie competent și comunicabil, să nu fie convențional și, de asemenea, să nu fie rezervat sau autoritar. Molodysky E. (2007) [7] a dedus, că fără antrenament specific în domeniul metodelor de predare, profesorii de materii clinice vor fi mai puțin eficienți și efectivi în activitatea lor pedagogică.

Ideea generală astăzi este următoarea: noi nu ne naștem profesori, la fel cum nu ne naștem șoferi. În pofida faptului că unii profesori predau de o viață, ei, posibil, nu știu cum să predea în noile realități și împrejurări. Arta instruirii trebuie învățată ca și oricare altă dexteritate.

Medicii tineri, desigur, vor învăța din experiența altora.

„Studierea reciprocă” se definește ca: *fiecare medic este influențat de experiența colegilor săi* [1]. Dar acest tip de studiere s-a dovedit a fi unul încetinit. Pericolul implicit constă în faptul, că medicul mai experimentat poate să rămână blocat în metodele vechi și poate considera procesul de predare unul de importanță secundară în practica lui zilnică. Astfel, ideea de a învăța din experiența colegului ar putea duce la efecte nedorite, cum ar fi „*a învăța fără un profesor real*”!

A învăța un învățător

Aceste idei au creat un nou proiect, o instituție europeană – Școala Internațională de Instructori în Anestezologie (l. engl. *the International School for Instructors in Anesthesiology, ISIA*). Scopul ISIA a fost pregătirea unui număr restrâns de instructori, în afara hotarelor Israelului, care ar poseda metode moderne de predare a abilităților teoretice, practice și aspecte organizatorice pentru profesia noastră. Noi considerăm, că ideea pregătirii experților în predarea materiilor clinice constituie un scop foarte important al anestezologiei noului mileniu.

Predarea abilităților clinice este importantă, deoarece ea îmbunătățește gândirea clinică la patul bolnavului. Ea creează o tradiție de transmitere a informației clinice și expertizei medicale într-un mod formal la patul bolnavului. Prin îmbunătățirea calității predării materiilor clinice, noi ne-am așteptat la o îmbunătățire în sistemul de predare în țările selectate pentru participare la proiect.

Proiectul a fost prezentat Comitetului de Educație al WFSA, în 2004, cu ocazia celui de-al 13-lea Congres Mondial, ce a avut loc la Paris. Comitetul a discutat diverse aspecte ale propunerii și finalmente, a decis să sponsorizeze acest proiect nou european, sugerând, totodată, să fie inclus și un al treilea aspect. Pe lângă problemele de situație și aspectele organizatorice ale profesiei, membrii comitetului au adăugat cunoștințele de bază în utilizarea metodelor moderne de predare. A fost desemnat cadrul profesoral responsabil, împreună cu medici dedicați procesului pedagogic și un specialist în arta pedagogică, cu o vastă experiență și care poseda tehnici educaționale de predare pentru cadre medicale.

Of course, young physicians still learn how to teach from other people's experience.

“Reciprocal learning”, means that each physician is influenced by his/her colleagues' experiences [1]. But this kind of learning proved to be a slow one. The implicit danger is that the older teacher could be stuck with old methods and would consider the task of teaching a secondary aim of his/her daily work. Thus the idea of learning from another's teaching colleague experience could lead to an undesired effect, that of “*teaching without a real teacher*”!

Teaching the teacher

These thoughts created a new project, a European institution (*The International School for Instructors in Anesthesiology – ISIA*) with the aim of preparing, in a limited number of countries outside of Israel, a group of instructors who would be exposed to the modern methods of teaching theoretical and practical subjects, as well as the main aspects of organizing our profession. We considered the idea of preparing experts in clinical teaching a very important task of anesthesiology in the new millennium.

Clinical teaching is important because it improves clinical abilities for effective thinking near the patient's bed. It creates a tradition of bedside and formal transmission of clinical information and expertise. By improving the quality of clinical teaching we expected an improvement in the teaching system in those countries that had been selected to participate in the project.

The project was presented to the Committee of Education of WFSA in 2004, on the occasion of the 13th World Congress held in Paris. The Committee discussed the various aspects of the proposal, decided to sponsor this new European project, and advised the inclusion of a third facet. Besides the PBL items and organizational aspects of the profession, committee members added the basic knowledge of using modern teaching tools. A faculty was appointed and included physicians dedicated to teaching as well as a specialist in the art of teaching, possessing comprehensive experience in teaching education techniques for physicians.

The main aim of the established curriculum was to teach new methods of lecturing on clinical subjects, based on descriptions of real cases, including evidenced base data and basic sciences knowledge. Then the curriculum was enriched by adding a long series of subjects related to educational skills and anesthesia organizational items. The idea of including organizational items derived from an additional scope of the school. The faculty considered the course a good opportunity to prepare students to become leaders of the specialty in their respective countries. Due to their young age, we considered the participants fit candidates to obtain, in the near future, leading positions in their own departments, hospitals, and national societies, as well as in the professional international institutions.

The proposed schedule included 3 weeks for each course, separated by a period of 6 months. The time lapse was due to recognition of the difficulty for a young visiting physician to abandon his/her daily duties and family for a period lon-

Scopul principal al noului curriculum a fost să instruiască cadrele medicale pentru noi metode de predare a cursurilor, bazate pe descrierea cazurilor reale, ce includ date bazate pe dovezi și cunoștințe științifice de bază. Apoi, curriculum-ul a fost completat de abilități educaționale și itemi organizatorici în anesteziologie. Ideea de a include itemi organizatorici a derivat din scopurile adiționale ale școlilor. Profesorii au considerat cursul drept o oportunitate în a pregăti studenți pentru a deveni lideri în specialitate în țările respective. Datorită vârstei tinere, noi am considerat că participanții vor fi candidați buni, în viitorul apropiat, pentru a ocupa poziții de frunte în departamente, spitale și societăți naționale, la fel – în instituții profesionale internaționale.

Orarul propus includea 3 săptămâni pentru fiecare curs, cu interval de 6 luni între ele. Pauza între cursuri se datorează dificultății pentru un tânăr specialist de a abandona activitățile zilnice și familia pentru o perioadă ce depășește o săptămână. În același timp, noi am oferit studenților oportunitatea de a folosi, încă până la absolvire, abilitățile și cunoștințele învățate în cadrul primelor lecții, organizate de către ISIA. În așa mod, studentul era capabil să evalueze progresul obținut, să devină conștient de temele ce au nevoie de un efort mai mare și atenție sporită în viitor.

Astfel, ne-am adresat, din nou, societăților naționale ale anesteziologilor din țările de Est, pentru a găsi candidați pentru primul curs planificat. Noi am recomandat următoarele criterii de selectare:

- nivel înalt de Engleză;
- dorință de a participa la toate cele 3 cursuri;
- angajamentul de a organiza cursuri similare locale.

Ultima cerință necesită explicație. WFSA și ISIA au ajuns la concluzia că trebuie de evitat crearea unei grupe de elită de studenți, care ar putea folosi cunoștințele și experiența acumulată doar în favoarea lor.

Proiectul trebuia să continue și după ce studenții terminau studiile. Fiecare grup național și-a asumat responsabilitatea de a organiza cursuri similare în țările lor, sub egida societăților naționale, cu gândul, că participanții vor învăța, la rândul lor, și alți specialiști și rezidenți.

Orar și conținut

Fiecare dintre cele 3 săptămâni de studii a inclus:

- 5 zile complete;
- 10 ore pe zi;
- prelegeri și prezentări, ținute de profesori;
- ateliere practice;
- repetiții ale prezentărilor studenților;
- lecții în grupuri mici;
- prezentări scurte de către studenți (în ultimele 2 săptămâni ale cursului).

Cum a fost explicat mai sus, fiecare seminar a inclus itemi ce aparțineau celor 3 componente: probleme de situație și cazuri clinice, deprinderi și metode educaționale, prezentări teoretice și aspecte organizatorice ale anesteziologiei.

Tabelul 4 prezintă o varietate de teme clinice, ce au fost discutate în cadrul seminarelor, utilizând metoda problemelor de

ger than 1 week. At the same time, we offered the student the opportunity to start and use, even before graduating, the knowledge and skills learned at ISIA's first classes in their own departments, as practical drills. In this way the student could assess the progress attained and become aware of topics that needed more serious effort and attention in the future classes.

Once again we approached the national societies of anesthesiologists in Eastern countries, asking for candidates to take part in the first planned course. We recommended the following criteria for selecting participants to the ISIA course:

- a very good command of English
- readiness to participate in all three classes
- commitment to take the task of organizing local similar courses.

This last demand needs further explanation. WFSA and ISIA faculty have opined that we had to avoid the creation of an elite group of young alumni, who would be able use the knowledge and experience accumulated during the classes solely for their own purpose.

The project was supposed to continue after the students graduated. Each national group had to assume the responsibility of organizing similar courses in their own countries, under the auspices of each national society, thus creating the so called snowball effect, hoping that they would be able to teach other people, also young specialists and residents in the last part of their training, the art of teaching.

The schedule and content

Each of the 3 weeks included:

- five full days;
- 10 h per day;
- lectures and presentations by the faculty;
- workshops;
- rehearsals of presentations by students;
- teaching in small groups;
- short presentations by the students (in the last 2 weeks of the course).

As explained above, each of the classes dealt with items belonging to the three components of the program: clinical scenarios and cases, educational skills and methods, and theoretical presentations of organizational aspects of the anesthesiology.

Table 4

Examples of clinical cases presented and discussed

1st course	2nd course	3rd course
Preoperative assessment and preparation	Pediatric and neonatal anesthesia	Management of crisis in anesthesia
Critical care	Obstetrical anesthesia and analgesia	Chronic pain
Regional anesthesia	Cardiac anesthesia	Management of difficult airways
Acute pain	Neuroanesthesia	Outpatient anesthesia
Anesthesia for trauma	Anesthesia for the elderly	Immediate postoperative care

Tabelul 4

Exemple de cazuri clinice prezentate și discutate

Primul curs	Al doilea curs	Al treilea curs
Evaluarea și pregătirea preoperatorie	Anestezia în pediatrie și neonatologie	Managementul situațiilor de criză în anestezie
Terapia intensivă	Anestezia și analgezia în obstetrică	Durerea cronică
Anestezia loco-regională	Anestezia în chirurgia cardiacă	Managementul căilor respiratorii dificile
Durerea acută	Anestezia în neuro-chirurgie	Anestezia de ambulatoriu
Anestezia la pacienții traumatizați	Anestezia în geriatrie	Tratament postoperatoriu imediat

situație. Ele au cuprins, practic, toate domeniile de activitate ale profesiei, pentru fiecare item, minimum un caz a fost pregătit și discutat cu studenții. Prezentările de caz erau urmate de discuții, studenții erau încurajați să revizuiască literatura respectivă cu scopul de a găsi soluția pentru managementul cazului, luând în considerație disponibilitatea echipamentului, medicamentelor și facilitățile organizatorice (salon de terapie intensivă, tomografie etc.).

Grupul al doilea de itemi în curriculum includea tehnici pedagogice:

- planificarea și dezvoltarea unui curriculum;
- planificarea unei lecții sau prelegeri;
- utilizarea internetului;
- elaborarea întrebărilor cu complement multiplu;
- metode de îmbunătățire a calității slide-urilor;
- utilizarea simulărilor în scopuri didactice;
- organizarea sesiunilor interactive.

La fel, au fost incluse tehnici de interacțiune cu auditoriul. Studentul a învățat să verifice sala de prelegeri înainte de orice prezentare, să se asigure de sonorizare adecvată și vizibilitate bună.

Importanța unei poziții corporale adecvate și limbajului de corp au fost evidențiate prin prezentarea unor deprinderi bune și rele. Facultatea a depus efort pentru a-i face pe studenți să înțeleagă elementele de predare și să-și îmbunătățească activitatea practică pe viitor. Ulterior, pe parcursul ultimelor seminare, studenții prezentau mici rapoarte, după care acestea erau discutate și eventual, criticate de către colaboratorii facultății și alți studenți, cu scop de îmbunătățire. O serie de prezentări formale, de ultimă oră, în domeniul anesteziologiei, au ocupat un rol important în orarul studenților. Exemple ale acestor prezentări sunt următoarele:

- organizarea departamentului de anestezie;
- echiparea sălii de operație cu un buget limitat;
- planificarea unui program de rezidențiat;
- secția de terapie intensivă și secția „*high dependency unit*”, cum colaborează între ele;
- studii clinice – reguli și capcane;
- sterilitatea în sălile de operație și prevenirea contaminării încrucișate;
- consimțământul informat în anestezie;

Table 4 presents a variety of *clinical topics* that were discussed during the three classes using the PBL format. They covered almost all the domains of activity of the profession and for each item at least one case was prepared and discussed with the students. Discussions followed the presentation of each case and students were encouraged to review the literature and find solutions for managing the case, taking into consideration the availability of equipment, drugs, and organization facilities (recovery rooms, intensive care units, CT scans, etc.).

The second group of items in the curriculum comprised *teaching tools*. It included:

- plan and develop a curriculum;
- plan a lecture or a course;
- how to use the Internet;
- how to write multiple choice questions;
- ways to improve power point slide quality;
- use of simulators for teaching purposes;
- how to organize interactive sessions.

The techniques of dealing with the audience were also included. The student learned how to check the lecture hall before any presentation, to ensure audibility and slide visibility. The importance of proper body position and language during lecture was emphasized by presenting examples of good and bad habits. The faculty worked hard to enable students to understand the elements of teaching and to improve further practice. Later on, during the last class, students prepared short presentations; each mini-lecture was discussed and critique for improvement was offered, by both the faculty staff and the other Students. Finally, a series of state-of-the-art formal lectures about *organization* of the profession occupied an important place in the students' schedule. Examples of subjects included in this category include:

- organization of a department of anesthesia;
- how to equip an operating room with restricted budget;
- planning a residency track in anesthesiology;
- critical care units and high-dependency units, how do they work together?
- clinical research – rules and pitfalls;
- sterility in the Operating Room and prevention of ICU cross-infection;
- informed consent for anesthesia;
- introducing new methods into routine practice;
- organization of a pain clinic.

The faculty was aware of the wide differences between countries regarding the organization of the profession. Thus discussions and comments of each subject were assigned a special place and time. Students learned how some problems were solved in other countries or departments. The organizational sessions created a framework for exchange of opinions and experience and offered students a different perspective about the situation of anesthesiology in different parts of the continent.

The students received “homework” tasks for each period between classes. They were asked to complete questionnaires

- introducerea metodelor noi în practica de rutină;
- organizarea unei clinici de durere.

Profesorii erau la curent cu marile diferențe între țări referitor la organizarea profesiei. Iată de ce, discuțiile și comentariile la fiecare subiect jucau un rol important. Studenții au învățat, cum unele și aceleași probleme sunt soluționate în alte țări și în alte departamente. Lecțiile organizatorice au creat condiții pentru schimbul de opinii și experiență, au oferit studenților posibilitatea de a privi anesteziologia dintr-o altă perspectivă.

În același timp, dânsii primeau teme pe acasă pentru fiecare perioadă dintre ore. Ei erau rugați, de asemenea, să completeze chestionare despre activitatea lor didactică și să evidențieze dificultățile întâmpinate în rapoarte de autoevaluare și de observare.

Derularea cursului

Trei cursuri complete au fost organizate între anii 2007 și 2012. Fiecare a inclus, după cum și era preconizat, 3 săptămâni de studii. Primul a avut loc la Bratislava (Slovacia) și Belgrad (Serbia), al doilea – la Predeal (România) și al treilea – pe insula Creta (Grecia). Ultimele două cursuri au fost sponsorizate, în egală măsură, de către WFSA și Societatea Europeană de Anestezie (ESA). Cursul al patrulea, cu genericul „*A învăța un învățător*” (l. engl. *Teaching the teacher*, TtT) a început în octombrie 2013, în cadrul lecturilor de toamnă ale ESA din Timișoara, România.

Pentru a obține certificatul final, studentul trebuia să îndeplinească următoarele criterii:

- să participe la toate cele 3 cursuri;
- să ia parte la toate întâlnirile mari și mici, la prezentările în engleză;
- între cursurile 1-2 și 2-3 ei trebuiau:
 - să predea în stiluri diferite și cu ocazii diferite;
 - să îndeplinească rapoarte de auto-evaluare, cu comentarii;
- tema pentru acasă, între primele 2 cursuri: să reflecteze asupra unei lecții și să evalueze planificarea, conținutul, metodele și expunerea;
- în decursul ultimului curs:
 - să prezinte un caz clinic, timp de 30 de minute, să țină un discurs;
 - să demonstreze abilități de predare a lecției;
 - să folosească corespunzător tehnica de utilizare a *power-point*-ului;
 - să prezinte 3 întrebări de tip complement multiplu, ce țin de cazul clinic prezentat.

Șaizeci de specialiști în anesteziologie din 16 țări (Tabelul 5) au absolvit toate cele 3 cursuri organizate de ISIA. Țărilor din Europa de Est și celor postsovietice li s-au alăturat alte 3 state, care nu au făcut parte din URSS: Grecia, Turcia și Malta. Acceptarea participanților adiționali a fost bazată pe necesitatea globală în aceste țări a proiectului „*A învăța un învățător*”. Pe parcursul ultimei etape (2011-2012), noi nu am observat o diferență semnificativă în comportamentul studenților, care provin din ambele părți ale continentului. De altfel, toți participanții au manifestat aceleași deficiențe „*know how*” în domeniul pedagogiei moderne.

regarding their didactic activity “at home” and to emphasize the difficulties still encountered during teaching, as a self-evaluation and reflection report.

Completion of the course

Three full courses were organized between 2007 and 2012; each included 3 weeks of study. The first took place in Bratislava and Belgrade, the second in Predeal, Romania, and the third on the island of Crete. The last two courses were equally sponsored by WFSA and the European Society of Anesthesiologists (ESA). A fourth course (under a new name of “Teaching the Teacher” – TtT) started in October 2013, in the framework of the ESA Autumn Meeting in Timisoara, Romania.

In order to obtain the final certification the student was expected to fulfill the following criteria:

- attend all three classes;
- participate fully in all large and small group tasks and presentations using English;
- between courses 1–2 and 2–3 they should:
 - teach in different styles and on different occasions;
 - produces a self-evaluation and reflection report;
- assignment between the first two classes: reflect on and evaluate a teaching session – planning, content, methods, and delivery;
- during the last class:
 - deliver a 30-min case presentation lead a discussion;
 - demonstrate competence in delivering the lecture;
 - proper use of power-point presentation technique;
 - presents three multiple-choice questions related to a case presentation.

Sixty specialists in anesthesiology from 16 countries (Table 5) graduated the first three courses of ISIA. In addition to

Table 5

Countries and number of ISIA graduates during the first three courses (2006/2007, 2009/2010, and 2011/2012)

Country	Number of graduates
Bulgaria	4
Croatia	3
Georgia	3
Greece	5
Hungary	4
Latvia	4
Lithuania	4
Macedonia	4
Malta	2
Moldova	4
Poland	4
Romania	4
Serbia	4
Slovakia	3
Slovenia	4
Turkey	4
<i>Total</i>	<i>60</i>

Tabelul 5

Țările și numărul de absolvenți ISIA în perioada primelor 3 cursuri (2006/2007, 2009/2010 și 2011/2012)

Țara	Numărul de absolvenți
Bulgaria	4
Croația	3
Georgia	3
Grecia	5
Ungaria	4
Letonia	4
Lituania	4
Macedonia	4
Malta	2
Moldova	4
Polonia	4
România	4
Serbia	4
Slovacia	3
Slovenia	4
Turcia	4
<i>Total</i>	<i>60</i>

Feedback-ul

În perioada 2011-2013, 60 de absolvenți ai ISIA au primit chestionare cu scopul de a preciza impactul cursurilor asupra dezvoltării profesionale. Cincizeci dintre aceștia au completat aceste chestionare (83%).

În chestionarul dat au fost incluse 3 categorii de întrebări:

- (1) Activități de predare înainte de cursurile ISIA;
- (2) Impactul ISIA asupra abilităților de predare;
- (3) Beneficiile suplimentare ale cursurilor ISIA.

Tabelele 6, 7 și 8 reprezintă rezultatele feedback-ului. Majoritatea participanților nu aveau experiență anterioară în domeniul antrenării pedagogice și de aceea ei aveau lipsă de încredere în sine în comunicarea cu audiența. Două treimi dintre participanți nu folosiseră până atunci vre-o metodă modernă de prezentare sau de discuție a cazului.

Tabelul 6

Tiparele activităților pre-ISIA (50 de respondenți)

Tema	Item	Nr. de respondenți	Procentaj (%)
A. Sursa abilităților pedagogice	1. Lecții specifice	6	12
	2. Experiența altor persoane	34	68
	3. Cărți specifice	6	12
	4. Lipsa instrucțiunilor anterioare	17	34
B. Sentimente pe parcursul predării	1. Teamă	25	50
	2. Lipsa de încredere	30	60
	3. Lipsa comunicării cu audiența	35	70
	4. Fără dificultăți	6	12

the Eastern Europe countries, Greece, Turkey, and Malta, three countries not belonging to the former communist bloc decided to take part in the ISIA project. The acceptance of participants from additional countries was based on the fact that the need for a "Teaching the Teacher" project was global and not specifically restricted to the communist part of Europe. During the three classes of the ISIA third course (2011–2012) we did not feel a significant difference between the background and behavior of the students coming from either part of the continent. All participants shared the same kind of deficiencies in "know-how" in the domain of modern teaching.

The feedback

During 2011 and 2013 questionnaires were sent to all 60 ISIA graduates, with the aim of obtaining precise data about the impact that the school had on the development of its participants. Fifty graduates filled out the questionnaire (83% responders).

Three categories of questions were included in the feedback form and they referred to:

- (1) Pre-ISIA teaching activities of each participant;
- (2) ISIA impact on their teaching abilities;
- (3) Incidental benefits of the ISIA teachings.

Tables 6, 7, and 8 present the results of the feedback. Most of the ISIA alumni did not have any previous training in the art of teaching and thus they lacked confidence in communicating with the audience before taking part in the ISIA first classes. Two-thirds of the responders had never used a modern system of presenting or discussing a case before being exposed to ISIA principles.

Table 6

Patterns of pre-ISIA teaching activities (50 responders)

Topic	Item	Nr. of responders	Percentage (%)
A. Source of teaching abilities	1. Specific lectures or lessons	6	12
	2. Other people's experience	34	68
	3. Specific books	6	12
	4. No previous instructions or frontal teaching	17	34
B. Feelings during teaching	1. Fear	25	50
	2. Lack of confidence	30	60
	3. Lack of communications with the audience	35	70
	4. No difficulty at all	6	12
C. Type of presentation	1. "Classical" (definition, etiology etc.)	30	60
	2. Use of a case as a starting point	9	18
	3. Special slides for interacting with audience	1	2
	4. Special slides for conclusions	19	38

C. Tipul prezen- tării			
1. „Clasic” (definiție, etiologie etc.)	30	60	
2. Utilizarea unui caz ca punct de început	9	18	
3. Slide-uri speciale de interac- țiune cu audiența	1	2	
4. Slide-uri speciale pentru concluzii	19	38	

Tabelul 7

Feedback-ul asupra abilităților de predare după absolvirea cursurilor, comparativ cu perioada pre-ISIA (50 de respondenți)

Tema	Item	Raportează rezul- tate mai bune
A. Detalii despre prezentare	1. Conținut	50
	2. Calitatea slide-urilor	50
	3. Capacitatea de a implica audiența	50
	4. Aspect personal	48
B. Sentimente în timpul prezentării	1. Satisfacție personală mai bună	49
	2. Posedarea unei abilități mai bune de predare	47
	3. Încredere în sine mai bună ca și profesor	47

Tabelul 8

Răspunsuri la întrebarea: „În ce mod cursurile ISIA au schimbat atitudinea Dvs. personală asupra aspectelor organizatorice ale profesiei?” (50 de respondenți)

Înainte de cursurile ISIA	După cursurile ISIA	
Mereu interesat	25	Fără schimbare 4
Nu prea interesat	17	Am devenit alert în acest domeniu 19
Nu eram interesat deloc	8	Impact semnificativ asupra activi- tății zilnice 27
		Încerc să modific ceva în:
		- departamentul propriu 27
		- spital 20
		- țară 15

Absolvirea cursurilor ISIA a schimbat abilitățile lor de predare: absolvenții au relatat, că ei și-au schimbat conținutul prezentărilor, calitatea slide-urilor, capacitatea de a implica audiența în discuții și propria ținută în fața unei audiențe. Ei s-au simțit mai bine în timpul predării, erau mai încrezuți în sine și au relatat informația audienței mai bine. Mulți dintre ei au devenit mai implicați în procesul de predare la locul de muncă. De fapt, absolvenții și-au dublat activitățile sale pedagogice după cursurile ISIA.

Mulți au devenit implicați în procesele de schimbare a aspectelor organizatorice ale profesiei la diferite nivele: atât la nivel de departament de anestezie în spitale, cât și la nivel local/național. Unii au fost selectați pentru a ocupa posturi în societățile naționale de anesteziologie și alte organizații profesionale, cum ar fi WFSA și ESA.

Table 7

The feedback on ISIA alumni teaching abilities after graduating the school, in comparison to the pre-ISIA period (50 responders)

Topic	Item	Number reporting better results
A. Presentation details	1. Content	50
	2. Quality of slides	50
	3. Ability to involve audience	50
	4. Personal appearance	48
B. Feelings during presentations	1. Much better personal feeling	49
	2. Possessing greater ability to teach	47
	3. Greater self-confidence as a teacher	47

Table 8

Answers to the question: “How did the ISIA course change your personal attitude towards the organizational aspects of the profession?” (50 responders)

Before ISIA course	After ISIA course	
Always interested	25	No change 4
Not so interested	17	Became alert on this topic 19
Not at all interested	8	Significant impact on daily activity 27
		Trying to change things in:
		- own department 27
		- own hospital 20
		- own country 15

Graduating ISIA changed their teaching ability: the graduates stated that they improved the content of their presentations, the quality of slides, the ability to involve the audience in the discussions, and their own personal appearance in front of an audience. They felt better when they taught, were more confident, and related better to the audience during presentations. Most of them became more involved in teaching in their own place of work. Actually, in total, graduates almost doubled their teaching activities after the ISIA course.

Many became involved in a process of changing the organizational aspects of the profession at different levels: anesthesia departments in hospitals as well as at local and national levels. Some have been elected as officers of their own national societies of anesthesiology and other professional organizations, such as WFSA and ESA.

The post-ISIA national courses

One of the main objectives of the ISIA courses was to create a number of gifted teachers who, in turn, would organize similar courses in their own countries. The ISIA faculty did not possess the necessary tools for a precise follow up in this direction, but periodic news from different countries reported a long series of courses organized by ISIA alumni. Some of them took responsibility to prepare courses in the framework of the

Cursurile naționale post ISIA

Unul dintre obiectivele principale ale cursurilor ISIA a fost de a crea un număr de profesori talentați, care, la rândul lor, vor organiza cursuri similare în țările de proveniență. ISIA nu a dispus de resursele necesare pentru a monitoriza cu precizie această direcție, dar noutățile periodice din diferite țări raportează cursuri de lungă durată, organizate de către foștii studenți ISIA. Unii dintre ei și-au asumat responsabilitatea de a pregăti cursuri în cadrul congreselor naționale. Alte cursuri combinau teme, în care erau incluse tehnici și teme profesionale pedagogice. O estimare aproximativă a activității post ISIA atinge cifra de 200 de persoane (medici rezidenți în ultimul an de studiu și specialiști tineri).

Concluzii

Cele două proiecte prezentate, WFSA-Ber Sheva, Israel și ISIA (*International School for Instructors in Anesthesiology*) pot fi considerate unice nu doar în Europa, dar și în toată lumea [8]. Ambele proiecte au implicat un număr mare de stagiați.

Nu este clar până la urmă, din diverse motive, dacă aceste proiecte au contribuit semnificativ la lichidarea lapsus-ului în anesteziologie între cele 2 părți geografice ale Europei.

În primul rând, schimbările dramatice pe arena politică după căderea Cortinei de Fier a dat startul unui proces dramatic de antrenare a specialiștilor anesteziologi din Europa de Est, care au fost ținuti izolați de progresul din cealaltă parte a Europei. Această nouă comunicare permanentă a contribuit enorm la unificarea sistemelor de sănătate, utilizând utilaj și medicamente moderne și aceleași principii etice, care au fost adoptate în Europa de Vest în ultimele decenii.

O altă dificultate în evaluarea impactului real asupra Europei de Est este faptul, că nu toate țările post-sovietice au participat la proiect. Progresul, chiar dacă a și fost unul, obținut datorită acestor 2 proiecte, nu a putut afecta întreaga Europa de Est. Totuși, unele concluzii pot fi făcute din date. Fără îndoială, proiectul WFSA-Ber Sheva a facilitat primul contact cu anesteziologia modernă și progresul ei enorm în a doua jumătate a secolului XX, pentru circa 150 de anesteziologi. Participanții s-au convins cât de ocupat poate fi departamentul de anestezie, nu doar în sălile de operație dar și în celelalte domenii ale specialității: terapie intensivă, analgezia în obstetrică, managementul durerii, sedare etc.

Pentru majoritatea participanților la proiectul WFSA-Ber Sheva, timpul petrecut în Centrul Medical Soroka a fost o oportunitate excelentă pentru a implementa schimbări în departamentele și spitalele din țările de baștină. Lucrurile văzute pentru prima dată au servit drept imbold pentru a reduce lapsus-ul între locurile sale de muncă și un departament tipic modern.

Ideea ISIA s-a născut din noua realitate a Europei de Est. Un anesteziolog mediu nu mai avea nevoie de o simplă revizuire asupra activităților unui departament modern de anestezie. Mulți anesteziologi din Europa de Est au avut posibilitatea să viziteze țările de vest ale continentului și să-și îmbunătățească abilitățile sale practice și teoretice. ISIA a creat în fiecare țară implicată, cadre didactice bine antrenate. În majoritatea țărilor

naționale. Alte cursuri combină teme, în care profesionalele subiecte și abilitățile au fost incluse în program. O estimare aproximativă a activității post-ISIA aduce numărul de anesteziologi locali (rezidenți în anul final al formării și specialiști tineri) aproape de 200.

Concluzii

Cele două proiecte prezentate, WFSA-Ber Sheva/Israel și Școala Internațională pentru Instruitori în Anesteziologie (ISIA) pot fi considerate unice în domeniul medicinei, nu doar în Europa ci și în toată lumea [8]. Ambele proiecte au implicat un număr mare de stagiați.

Dacă aceste proiecte au contribuit semnificativ la închiderea lacunelor profesionale în anesteziologie între cele două părți geografice ale Europei este încă neclar din mai multe motive.

În primul rând, schimbările dramatice în clima politică din Europa după căderea Cortinei de Fier au creat un proces continuu de formare profesională pentru mulți anesteziologi din Europa de Est, care au fost ținuti izolați de progresul din restul continentului. Această nouă comunicare permanentă a contribuit enorm la unificarea sistemelor de sănătate, utilizând utilaj și medicamente moderne și aceleași principii etice, care au fost adoptate în Europa de Vest în ultimele decenii.

O altă dificultate în evaluarea impactului real asupra Europei de Est este faptul, că nu toate țările post-sovietice au participat la proiect. Progresul, chiar dacă a și fost unul, obținut datorită acestor 2 proiecte, nu a putut afecta întreaga Europa de Est. Totuși, unele concluzii pot fi făcute din date. Fără îndoială, proiectul WFSA-Ber Sheva a facilitat primul contact cu anesteziologia modernă și progresul ei enorm în a doua jumătate a secolului XX, pentru circa 150 de anesteziologi. Participanții au văzut cât de ocupat poate fi departamentul de anestezie, nu doar în sala de operație dar și în celelalte domenii ale specialității: îngrijirea critică, analgezia în obstetrică, managementul durerii, sedare etc.

Pentru majoritatea participanților la proiectul WFSA-Ber Sheva, timpul petrecut în Centrul Medical Soroka a fost o oportunitate excelentă pentru a implementa schimbări în departamentele și spitalele din țările de baștină. Lucrurile văzute pentru prima dată au servit drept imbold pentru a reduce lapsus-ul între locurile sale de muncă și un departament tipic modern.

Ideea ISIA s-a născut din noua realitate a Europei de Est. Un anesteziolog mediu nu mai avea nevoie de o simplă revizuire asupra activităților unui departament modern de anestezie. Mulți anesteziologi din Europa de Est au avut posibilitatea să viziteze țările de vest ale continentului și să-și îmbunătățească abilitățile sale practice și teoretice. ISIA a creat în fiecare țară implicată, cadre didactice bine antrenate. În majoritatea țărilor

participante la proiect, societățile naționale au oferit posibilitatea participanților să organizeze cursuri locale pentru a familiariza o generație nouă, cu metodele noi de predare, aceștia, la rândul lor, să poată transmite cunoștințele. Absolvenții ISIA sunt recunoscuți ca profesori pricepuți în departamentele și țările de proveniență. Unii dintre ei au fost invitați să predea în alte țări și în alte domenii medicale. În urma recomandărilor WFSA [9], un grup de 6 absolvenți ISIA (din Grecia și Serbia) ai cursurilor 1 și 2 au devenit membri ISIA ai cursului 3 (2011-2012) și au contribuit substanțial la programul de învățământ.

Concluziile optimiste ale acestui raport nu pot ascunde faptul că, încă mai este o cale lungă de parcurs pentru a unifica nivelul anesteziologiei în Europa. Lapsus-ul încă există, deși acesta este cu mult mai mic și, progresiv, mai puțin semnificativ.

Emigrarea cadrelor medicale continuă, mulți anesteziologi din Europa de Est caută locuri de muncă în Europa de Vest. Realitatea este o dovadă clară, că noi încă nu putem constata dispariția diferențelor dintre cele 2 părți ale continentului. Europa de Est are nevoie de progres în multe domenii, printre ele: organizarea departamentelor de anestezie și crearea centrelor de studii clinice. Dar, fără dubii, proiectele WFSA-Ber Sheva și ISIA au deschis, în mod cert, calea spre unificarea practicii anesteziologice în Europa.

Mulțumiri

Autorul ar dori să-și exprime gratitudinea față de toți cei, care au contribuit la succesul ambelor proiecte: Prof. Mitsugu Fujimori (Japonia), Dr. Haydn Perndt (Australia), Dr. Angela Enright (Canada), Dr. Jannicke Mellin-Olsen (Norvegia), Prof. Paolo Pelosi (Italia), Prof. Eberhard Kochs (Germania) și toate societățile naționale de anesteziologie, care au asistat și încurajat inițiativa dată.

local courses, in which the new trainees were exposed to those methods taught during the three classes of each ISIA course and thus they, by themselves, could use those experiences in their own further teaching activities. The ISIA graduates are recognized as skillful teachers in their own departments and countries. Some of them were invited to teach in other countries as well as other medical specialties. As recommended by WFSA [9], a group of six alumni of the ISIA 1 and 2 courses alumni [9], from Serbia and Greece, became members of the ISIA 3 course (2011-2012) faculty and they substantially contributed to the teaching program during the three classes.

The optimistic conclusions of this report cannot hide the fact that there is, still, a long way to the final aim of unifying the level of the profession of anesthesiology in Europe. The gap still exists, although it is smaller and progressively less significant.

The brain drain process continues, with many Eastern Europe anesthesiologists looking for positions in the western part of the continent. This reality is a clear proof that we are not witnessing, yet, the complete disappearance of the differences between the two parts of the old continent. Progress is to be made in Eastern Europe in many directions, among them organization of anesthesia departments and creation of solid research centers. But without any doubt the WFSA-Ber Sheva and ISIA projects opened the way towards the unification of anesthesia practice in Europe.

Acknowledgments

The author would like to express his gratitude to all those who contributed to the success of both projects: Prof. Mitsugu Fujimori (Japan), Dr. Haydn Perndt (Australia), Dr. Angela Enright (Canada), Dr. Jannicke Mellin-Olsen (Norway), Prof. Paolo Pelosi (Italy), Prof. Eberhard Kochs (Germany), and all the anesthesia national societies' officers who assisted and encouraged the initiative.

Referințe / references

1. Gurman G., Bar-Lavie Y. The education and teaching anesthesiology in Israel. Tel Aviv, Breiro; 1992. p. 56.
2. Gullo A., Ruprecht J. (Eds.). World Federation of Societies of Anesthesiologists – 50 years. New York, NY Springer; 2004a. p. 171.
3. Kane J. PBS Newshow. October 22, 2012.
4. Barrows H. S. Problem-based learning in medicine and beyond. A brief overview. In: Wilkerson L, Gijsselaers W. H. (Eds.). Bringing problem-based learning to higher education: theory and practice, number 68. San Francisco, Jossey-Bass; 1996.
5. Azer S. A. The qualities of a good teacher: how can be they acquired and sustained? *J R Soc Med*, 2005; 98: 67-9.
6. Masunga H., Hitchcock M. A. Residents' and Faculty's beliefs about the ideal clinical teacher. *Fam Med*, 2010; 42: 116-20.
7. Molodysky E. Clinical teacher training. Maximizing the "ad hoc" teaching encounter. *Aust Fam Physician*, 2007; 36: 1044-6.
8. Galeotti G. An Argentinian perspective of the ISIA course. *ESA Newsletter*, 2013; 54: 27.
9. Gullo A., Ruprecht J. (Eds.). World Federation of Societies of Anesthesiologists – 50 years. New York, NY: Springer; 2004b. p. 201-3.

ARTICOL DE SINTEZĂ

REVIEW ARTICLE

Influența terapiei fotodinamice antimicrobiene asupra biofilmului cavității orale: sinteză de literatură

Aurelia Spinei^{1*}

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

Autor corespondent:

Aurelia Spinei, dr. șt. med., conf. univ.
Catedra de chirurgie oro-maxilo-facială pediatrică, pedodonție și ortodonție
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, MD-2004, Republica Moldova
e-mail: aurelia.spinei@usmf.md

Influence of antimicrobial photodynamic therapy upon oral biofilm: a review

Aurelia Spinei^{1*}

¹„Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author:

Aurelia Spinei, PhD, assoc. prof.
Chair of Pediatric Oro-Maxillo-Facial Surgery, Pedodontics and Orthodontics
“Nicolae Testemițanu” State University of Medicine and Pharmacy
Ave. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chisinau, MD-2004, Republic of Moldova
e-mail: aurelia.spinei@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Nu sunt, deocamdată, clarificate avantajele aplicării terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul afecțiunilor cavității orale provocate de biofilme, comparativ cu aplicarea terapiei antibacteriene convenționale.

Ipoteza de cercetare

Identificarea avantajelor aplicării terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul afecțiunilor cavității orale, provocate de biofilme, comparativ cu aplicarea terapiei antibacteriene convenționale, în baza revistei de literatură.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Sunt prezentate informații sintetizate, actualizate, despre terapia fotodinamică antimicrobiană, fotosensibilizatori, precum și descrise posibilele avantaje ale metodei date de tratament, comparativ cu antibioterapia tradițională a afecțiunilor cavității orale, provocate de biofilme.

Rezumat

Introducere. Afecțiunile cavității orale la copii și tineri în Republica Moldova au o prevalență de la 76,07% la 87,81%, iar la adulți acest indicator depășește 90%, conferind, astfel, acestor maladii dimensiuni sociale, soldate cu un impact economic important. Biofilmul oral are un rol determinant în apariția afecțiunilor stomatologice și este cauza principală a eșecului tratamentului acestora. Rezistența microorganismelor din biofilme la tratamentul antimicrobian și efectele lui adverse frecvente, impulsionază elaborarea unor terapii antibacte-

What is not known yet, about the topic

In numerous scientific publications on topics covered, the advantages of applying antimicrobial photodynamic therapy in treatment of diseases of the oral cavity caused by biofilms in relation to application of antibacterial therapy are not clearly highlighted.

Research hypothesis

Based on literature data analysis, in this article we tried to highlight the advantages of antimicrobial photodynamic therapy application in the treatment of diseases of the oral cavity caused by biofilms in relation to the application of antibacterial therapy.

Article's added novelty on this scientific topic

Synthesis article of the latest literature data on: mechanism of action, effects and benefits of antimicrobial photodynamic therapy application, and photosensitizers. Also, possible advantages of photodynamic therapy vs. conventional antibiotherapy of oral cavity diseases, are presented.

Abstract

Introduction. Diseases of the oral cavity in children and young people in the Republic of Moldova have a prevalence of 76.07% to 87.81%, while in adults this indicator exceeds 90%, thus rendering to these diseases social dimensions with important economic costs. Oral biofilm plays a decisive role in the occurrence of dental diseases and it is the main cause of treatment failure. Resistance of the biofilm microorganisms to antimicrobial treatment and its frequent side effects has driven the development of alternative antibacterial therapies, to

riene alternative, la care, bacteriile nu vor putea să dezvolte rezistență. Aplicațiile tehnologiilor laser deschid o direcție de perspectivă în tratamentul afecțiunilor cavității orale – terapia fotodinamică antimicrobiană. În această lucrare ne-am propus, în baza analizei datelor de literatură, să sistematizăm avantajele aplicării terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul afecțiunilor cavității orale, provocate de biofilme, comparativ cu aplicarea terapiei antibacteriene convenționale. Scopul lucrării a constituit analiza sistematizată a literaturii referitoare la efectul terapiei fotodinamice antimicrobiene asupra biofilmului cavității orale.

Material și metode. Pentru realizarea obiectivului trasat, în motorul de căutare al bazei de date online PubMed a fost efectuată căutarea publicațiilor științifice după cuvintele-cheie: „*terapie fotodinamică*”, „*terapie fotodinamică antimicrobiană*”, „*biofilm oral și placă bacteriană dentară*”. Din aceste articole, a fost culeasă și prelucrată informația ce ține de acțiunea terapiei fotodinamice antimicrobiene asupra biofilmului oral. Datele obținute au fost, ulterior, sistematizate și analizate.

Rezultate. Au fost găsite 1680 de articole care abordează tematica terapiei fotodinamice antimicrobiene. În bibliografia finală, au fost incluse 147 de surse, necesare pentru formularea ideilor textului dat. Efectul terapiei fotodinamice antimicrobiene se datorează reacției fotodinamice, declanșate de interacțiunea unei substanțe fotosensibile și lumina cu o anumită lungime de undă, având ca rezultat formarea speciilor reactive ale oxigenului, iar efectul fotodinamic distructiv are un caracter localizat, cu acțiune bactericidă, care este limitată de zona acțiunii iradierii laser.

Concluzii. Terapia fotodinamică poate deveni o alternativă eficientă și progresistă a metodelor antibacteriene tradiționale de tratament. Rezultatele cercetărilor experimentale și clinice demonstrează o eficiență înaltă a aplicării terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul afecțiunilor stomatologice.

Cuvinte cheie: terapie fotodinamică antimicrobiană, biofilm oral, placă dentară.

Introducere

Microorganismele joacă un rol important, iar în unele cazuri – determinant în apariția și dezvoltarea afecțiunilor cavității orale. În ultimii ani, un șir de studii au demonstrat că microorganismele sunt capabile să formeze asociații de conviețuire, numite biofilme. Conform conceptului actual, biofilmul reprezintă o unitate biologică activă, un ecosistem specializat, ce oferă vitalitatea și conservarea tipurilor sale constitutive de microorganisme, precum și creșterea populației lor generale [1-3].

Microorganismele din biofilm, fără a-și schimba sensibilitatea lor individuală, supraviețuiesc la acțiunea preparatelor antibacteriene, prezintă proprietăți complexe și paradoxale, cele mai importante fiind rezistența față de agresiunea microorganismelor concurente și la factorii externi nocivi [4].

Din cauza rezistenței microorganismelor din biofilme la

which bacteria are not able to develop resistance. Laser technology applications open up a promising direction for treatment of disorders of the oral cavity – antimicrobial photodynamic therapy. In this article, based on literature data analysis, we have highlighted the advantages of application of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of diseases of the oral cavity caused by biofilms in relation to the application of antibacterial therapy. The objective of the article was to perform a systematized literature analysis and synthesis of the antimicrobial photodynamic therapy effect on oral biofilm.

Material and methods. To achieve the given objective, search of scientific publications in online database of PubMed search engine was performed by keywords: “*photodynamic therapy*”, “*photodynamic antimicrobial therapy*”, “*oral biofilm*” and “*dental plaque*”. Information concerning the action of antimicrobial photodynamic therapy on oral biofilm was collected from these articles and processed. The data obtained were then collated and analyzed.

Results. As a result of information processing in PubMed database according to the search criteria, there were found 1680 articles on antimicrobial photodynamic therapy. The final bibliography includes 147 sources necessary to formulate the ideas of the given text. The effect of antimicrobial photodynamic therapy is due to photodynamic reaction initiated by interaction of photosensitive substance and light with a certain wavelength, resulting in the formation of reactive oxygen species. The photodynamic destructive effect is localized, while bactericidal action is limited by the action of laser irradiation.

Conclusions. Photodynamic therapy can become an effective and progressive alternative to traditional antibacterial treatment methods. The results of experimental and clinical researches allow us to state the possibility and high efficiency of antimicrobial photodynamic therapy application in the treatment of dental diseases.

Keywords: photodynamic therapy, photodynamic antimicrobial therapy, oral biofilm, dental plaque.

Introduction

Microorganisms play an important role, and in some cases bacteria is a determinant value in the emergence and development of diseases of the oral cavity. In recent years, a number of studies have demonstrated that microorganisms are capable of forming cohabitation associations, called biofilms. According to the current concept, a biofilm is an active biological unit, a specialized ecosystem that provides vitality and conservation of its constituent types of microorganisms as well as increase of their general population [1-3].

Biofilm microorganisms, without changing their individual susceptibility, survive under the action of antibacterial medication, exhibit complex and paradoxical properties, the most important being the resistance to aggression of competing microorganisms and harmful external factors [4].

Due to the microorganism resistance to antimicrobial treatment, it is often necessary to administer the treatment

tratamentul antimicrobian, deseori apare necesitatea administrării tratamentului pe o perioadă îndelungată de timp, fapt care poate provoca reacții alergice de tip lent sau imediat, iar în unele cazuri nefro-, hepato-, neurotoxicitate și, în rezultat, toxicitate sistemică [5-10]. Astfel, răspândirea multirezistenței bacteriene la antibiotice poate conduce la sfârșitul „epocii antibioticelor”, care a durat aproximativ 50 de ani [11].

În scopul depășirii efectelor adverse ale tratamentului antimicrobian, la debutul secolului XX, Paul Ehrlich a elaborat conceptul „glontelui de aur”, care, conform autorului, reprezintă un agent antibacterian transportat exact în focarul infecțios și care acționează doar asupra agentului microbial patogen, fiind, totodată, inofensiv pentru celulele organismului gazdă [12]. La etapa actuală, se întreprind cercetări în scopul elaborării terapiei antibacteriene alternative, față de care bacteriile nu vor putea să dezvolte rezistență [7]. Exemple de astfel de terapii relativ noi sunt administrarea bacteriofagilor [13, 14] și aplicarea terapiei fotodinamice antimicrobiene [15, 16]. Terapia fotodinamică, TFD (l. engl. *photodynamic therapy*, PDT) se bazează pe reacții fotochimice, declanșate de interacțiunea unei substanțe fotosensibile, numită fotosensibilizator (FS), în l. engl. *photosensitizer* (PS) și lumina cu o anumită lungime de undă, având ca rezultat formarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO) (l. engl. *reactive oxygen species*, ROS) [19-24].

De menționat, că frecvența afecțiunilor cavității orale la copii și tineri în Republica Moldova variază de la 76,07% la 87,81%, iar la adulți acest indicator depășește 90%, conferind, astfel, acestor maladii dimensiuni sociale cu importante repercusiuni economice [17]. Acest fapt impulsionează elaborarea și aplicarea unor tehnologii moderne de tratament și profilaxie în scopul reducerii prevalenței și incidenței afecțiunilor și îmbunătățirea calității vieții populației. Luând în considerație faptul, că factorul microbial are un rol primordial și esențial în apariția și evoluția afecțiunilor stomatologice, actualitatea cercetării de aplicare a terapiei fotodinamice în tratamentul și prevenirea lor este indiscutabilă. Însă, nu sunt, deocamdată, clarificate avantajele aplicării terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul afecțiunilor cavității orale provocate de biofilme, comparativ cu aplicarea terapiei antibacteriene convenționale.

În această ordine de idei, scopul lucrării a constituit analiza sistematizată a literaturii referitoare la efectul terapiei fotodinamice antimicrobiene asupra biofilmului cavității orale, comparativ cu tratamentele antibacteriene convenționale.

Material și metode

Pentru realizarea obiectivului trasat, în motorul de căutare al bazei de date online PubMed al serviciului Bibliotecii Naționale de Medicină a Institutului Național de Sănătate al Statelor Unite (l. engl. *US National Library of Medicine, National Institute of Health*), a fost efectuată căutarea publicațiilor științifice după cuvintele-cheie: „*photodynamic therapy*”, „*antimicrobial photodynamic therapy*”, „*dentistry*”, „*biofilms*”, „*oral biofilm*”, „*dental plaque*” [18].

După examinarea titlurilor articolelor găsite, au fost selectate doar lucrările care, eventual, ar putea include relații ale concepțiilor actuale vizând acțiunea terapiei fotodinamice

for a long period of time, which can cause delayed or immediate allergic reactions, and in some cases nephro-, hepato-, neurotoxicity and ultimately systemic toxicity [5-10]. Thus, emergence of pathogenic bacteria resistance to antibiotics may cause the end of a long period, which lasted for more than 50 years, called “antibiotic era” [11].

In order to overcome the adverse effects of antimicrobial treatment at the beginning of the XX century, Paul Erlich developed the “golden bullet” concept, which, according to the author, is hypothetically an antibacterial agent carried exactly to the infectious focus and which acts only on the microbial pathogenic agent, being harmless to the cells of the host organism [12]. At present investigations are undertaken in order to develop an alternative antibacterial therapy to which bacteria will not be able to develop resistance [7]. Administration of bacteriophages [13, 14], and application of antimicrobial photodynamic therapy [15, 16] are some examples of such relatively new therapies. Photodynamic therapy (PDT) is based on photochemical reactions triggered by interaction of a photosensitive substance (photosensitizer, PS) and light with a certain wavelength, resulting in the formation of reactive oxygen species (ROS) [19-24].

It is to be noted that the frequency of diseases of the oral cavity in children and young people in the Republic of Moldova ranges from 76.07% to 87.81%, while in adults this indicator exceeds 90%, thus rendering these diseases social dimensions with important economic costs [17]. This stimulates the development and application of modern technologies of treatment and prophylaxis to reduce the prevalence and incidence of diseases and to improve the quality of life. Considering that microbial factor plays a crucial and essential role in the emergence and evolution of dental diseases, it is indisputable and indubitable the research actuality of photodynamic therapy application in treatment and prevention of these diseases. Based on the literature data analysis, in this article we tried to highlight the advantages of antimicrobial photodynamic therapy application in the treatment of diseases of the oral cavity caused by biofilms in relation to antibacterial therapy application.

The objective of the work was to perform a systematized literature analysis and synthesis of the antimicrobial photodynamic therapy effect on oral biofilm.

Material and methods

To achieve the given objective, the online database of PubMed search engine (US National Library of Medicine, National Institute of Health) was searched for scientific publications by keywords “*photodynamic therapy*”, “*antimicrobial photodynamic therapy*”, “*dentistry*”, “*biofilms*”, “*oral biofilm*” and “*dental plaque*” [18].

After examining the titles of articles found, only works that could possibly include accounts of current concepts regarding the action of photodynamic therapy on microorganisms of the oral cavity were selected. For advanced selection of literature sources, the following filters were applied: works published by February 2015, articles in English, Romanian, French and Russian. Original research articles were selected (conducted

asupra microorganismelor cavității orale. Pentru selectarea avansată a surselor bibliografice, au fost aplicate următoarele filtre: lucrările publicate până în februarie 2015, articole de limbă engleză, română, franceză și rusă. Au fost selectate articole originale de cercetare (efectuate în condiții clinice, experimentale și *in vitro*), de tip metaanaliză și reviste sistematizate de literatură. Bibliografia articolelor selectate a fost, de asemenea, studiată, cu intenția de a găsi alte articole relevante scopului propus. Rezultatele studiilor recente au avut prioritate față de ipotezele mai vechi. Rezultatele obținute în cadrul studiilor multicentrice au avut prioritate față rezultatele studiilor monocentrice sau cu rezultate neconfirmate ori contradictorii. Concluziile revistelor de literatură existente au fost examinate critic. Ulterior, informația a fost sistematizată cu prezentarea principalelor aspecte ale viziunii contemporane asupra: mecanismului de acțiune a terapiei fotodinamice, efectului terapiei fotodinamice asupra microorganismelor și rezultatelor aplicării terapiei fotodinamice antibacteriene în tratamentul afecțiunilor cavității orale. Din lista de publicații, generată de motorul de căutare, au fost excluse publicațiile duplicate și cele care nu au fost accesibile pentru vizualizare.

Rezultate

În rezultatul prelucrării informației în baza de date PubMed conform criteriilor căutării (publicate până în februarie, 2015), au fost găsite 1680 de articole care abordează tematica terapiei fotodinamice antimicrobiene. La necesitate (pentru a clarifica unele aspecte), a fost consultată literatura adițională. După analiza primară a titlurilor, 352 de articole au fost calificate eventual relevante pentru tema *review*-ului dat; după trecerea lor repetată în revistă, au fost selectate, în cele din urmă, 162 de publicații relevante scopului trasat. În bibliografia finală a lucrării au intrat 147 de publicații.

Mecanismul de producere a efectului fotodinamic

În decursul ultimilor decenii, TFD se aplică cu succes în tratamentul și prevenirea maladiilor oncologice, infecțioase și afecțiunilor inflamatorii. Reacția fotodinamică este inițiată de acțiunea dozelor adecvate de energie luminoasă asupra substanțelor fotosensibile în prezența oxigenului din țesuturi, iar efectul fotodinamic distructiv are un caracter localizat, acțiunea bactericidă fiind limitată de zona acțiunii iradierii laser [19-24].

Mecanismul efectului fotodinamic se explică prin producerea unui lanț de reacții fotochimice. Reacțiile fotodinamice sunt inițiate de acțiunea dozelor adecvate de energie luminoasă asupra substanțelor fotosensibilizante în prezența oxigenului în țesut. Astfel, atunci când un FS absoarbe un foton, un electron trece de la starea inițială la o stare electronic excitată, singletică a moleculei. Într-o perioadă foarte scurtă de timp, de circa 10^{-10} - 10^{-12} s, molecula excitată conferă un surplus de energie electronică și vibratorie mediului înconjurător [25-28].

În rezultatul procesului de conversie internă, toate moleculele, indiferent de starea electronică-vibratorie în care au fost transferate de către fotonul absorbit, trec la un subnivel inferior de vibrație a primei stări de excitare singletică. De la această stare provin toate procesele fotofizice concurente ul-

in clinical, experimental and in vitro conditions), meta-analysis type and systematized literature reviews. The bibliography of selected articles was also studied in order to find other articles relevant to the intended purpose. The results of recent studies had priority over older assumptions, as well as multicentric studies over monocentric studies. The results obtained in several studies had priority over conflicting or unconfirmed studies. Conclusions of existing literature reviews were critically examined. Subsequently, information was systematized highlighting the main aspects of contemporary vision on: mechanism of action of photodynamic therapy, photodynamic therapy effect on microorganisms and results of antibacterial photodynamic therapy application in treatment of diseases of the oral cavity. The publications that were not accessible for viewing were excluded from the list of publications generated by the search engine.

Results

As a result of information processing in PubMed database according to search criteria (published by February 2015), 1680 articles were found on antimicrobial photodynamic therapy. If necessary (to clarify some aspects) additional literature was consulted. After having analyzed the titles, 352 articles were classified as possibly relevant to the given review theme. At the end, 162 relevant publications were selected. The final references consist of 147 publications.

Mechanism of photodynamic effect

Over the past decades, PDT (*photodynamic therapy*) is successfully applied in treatment and prevention of oncological, infectious and inflammatory diseases. Photodynamic reaction is initiated by the action of adequate doses of light energy on photosensitive substances in the presence of oxygen in tissue, while the destructive photodynamic effect has a localized character, the bactericidal action being limited by the action of laser irradiation area [19-24].

The mechanism of the photodynamic effect is explained by the production of a series of photochemical reactions. Photodynamic reactions are initiated by the action of adequate doses of light energy upon photosensitizing substances in the presence of oxygen in the tissue. Thus, when a PS absorbs a photon, an electron moves from the initial state to an excited singlet electronic state of the molecule. In a short period, about 10^{-10} - 10^{-12} s the excited molecule offers an electronic and vibrational power surplus to the environment [25-28].

As a result of internal conversion, all molecules, regardless of the electronic-vibrational state into which they have been transferred by the absorbed photon, switch to a lower vibrational sublevel of the first excited singlet state. All subsequent concurrent photo physical processes come from this state, which ultimately lead to deactivation of the excited molecule. Simultaneously with the singlet levels, the molecule has an electronic triplet level, located at a lower level on energy scale [20, 21, 24, 29].

The molecule is subjected to photochemical transformations only in the excited electronic state, which may be caused by the absorbed light, while the amount of formed photoprod-

terioare, care, în cele din urmă, duc la dezactivarea moleculei excitate. Simultan cu nivelurile singletice, molecula are un nivel electronic triplet, situat la un nivel mai inferior pe scara energiilor [20, 21, 24, 29].

Molecula este supusă transformărilor fotochimice doar în starea electronic excitată, care poate fi provocată de lumina absorbită, iar cantitatea fotoproduselor formate este determinată de doza de iradiere optică [25, 26, 30-32].

În componența sistemelor biologice se conțin atât cromofori produși în decursul dezvoltării evolutive pentru captarea și utilizarea luminii (pigmenții fotosintetici, fitocromul, rodopsina), cât și cromofori care sunt participanți ai reacțiilor metabolice și, totodată, sunt capabili să suporte transformări fotochimice (proteine, acizi nucleici, coenzime, vitamine).

Substanțele fotosensibilizante în stare electronică excitată interacționează cu substraturile biologice prin două tipuri de reacții. În reacțiile de tip I, FS interacționează cu moleculele limitrofe ale substratului, ceea ce duce la transferul electronului sau atomului de hidrogen. În rezultat, se formează radicali ai moleculelor biologice, care intră în reacțiile chimice ulterioare cu oxigenul sau alte molecule. În cazuri mult mai rare, FS poate transfera electronul la oxigen, generând, astfel, anionul radical superoxid. În reacțiile de tip II, are loc transferul energiei excitației electronice de la FS către molecula limitrofă a substratului. De regulă, în astfel de reacții, FS aflat într-o stare tripletă, interacționează cu molecula de oxigen și o transformă într-o stare singletă de excitație electronică. Probabilitatea tipului reacției de fotosensibilizare, care va avea loc (I sau II), este determinată atât de natura chimică a FS și a substratului, cât și de concentrația relativă a oxigenului în substrat [22, 29, 31-34].

Efectul fotodinamic asupra microorganismelor

La elaborarea terapiei fotodinamice antimicrobiene, TFDA (l. engl. *antimicrobial photodynamic therapy*, APDT), s-a folosit experiența acumulată în TFD a tumorilor. Din primele etape de studiere a efectelor TFD, s-a constatat, că interacțiunea luminii cu unii coloranți poate fi fatală pentru un șir de microorganisme [35-39].

Fizioterapeutul danez Niels Finsen a pus bazele științifice ale fototerapiei. În anul 1887, a fost efectuat primul studiu al efectelor luminii asupra tulpinilor de *Salmonella typhi* și *Bacillus anthracis*. Finsen N. și colegii (1889), au demonstrat că reducerea creșterii bacteriilor este influențată, preponderent, de durata și puterea efectului fotodinamic. Cea mai impunătoare fotoinactivare a acestor microorganisme s-a remarcat la utilizarea iradierii UV sau a luminii albastre [19].

După o perioadă mai îndelungată de timp, s-a constatat că sensibilitatea bacteriilor Gram-negative și Gram-pozitive la TFD este diferită. Moleculele neutre sau cele încărcate pozitiv ale fotosensibilizatorilor interacționează eficient cu microorganismele Gram-pozitive; trecând prin stratul poros de peptidoglicani și acizi teichoici din peretele celular, ele provoacă inactivarea fotodinamică a bacteriilor sub acțiunea luminii. Tulpinile Gram-negative s-au dovedit a fi mai puțin sensibile la acțiunea TFD, întrucât moleculele fotosensibilizatorilor se leagă doar cu straturile exterioare ale membranei celulare.

ucts is determined by the dose of optical irradiation [25, 26, 30-32].

The biological systems contain both chromophores produced during the evolutionary development to capture and use light (photosynthetic pigments, phytochrome, rhodopsin) and chromophores that participate in metabolic reactions, and are also able to support photochemical transformations (proteins, nucleic acids, coenzymes, vitamins).

Photosensitizing substances (PS) in the excited electronic state interact with biological substrates by two types of reactions. In type I reactions PS interact with neighboring molecules of the substrate, which leads to electron or hydrogen atom transfer. As a result, radicals of biological molecules are formed which enter into the subsequent chemical reactions with oxygen or other molecules. In rare cases PS can transfer electrons to oxygen, thereby generating superoxide radical – anion. Electronic excitation energy transfer from PS to molecule adjacent to the substrate occurs in type II reactions. As a rule, in such reactions PS, being in a triplet state, interact with the molecule of oxygen and convert it into an excited singlet electronic state. The probability of the photosensitivity reaction type to take place (I or II) is determined by both the chemical nature of PS and substrate and the relative concentration of oxygen in the substrate [22, 29, 31-34].

Photodynamic effect on microorganisms

The elaboration of antimicrobial photodynamic therapy (APDT) was based on the experience accumulated in PDT of tumors. From the earliest stages of PDT development, it was known that the combination of light and some dyes can be fatal for a number of microorganisms [35-39].

Danish physiotherapist Niels Finsen founded the science of phototherapy. The first study of light effects on microorganisms was carried out in 1887 on *Salmonella typhi* and *Bacillus anthracis*. Finsen *et al.* showed that reduction of bacterial growth is mainly influenced by the duration and strength of photodynamic effect. The most impressive photoinactivation of these microorganisms was noted when using UV or blue light irradiation [19].

After a long period of time it was found that the sensitivity of Gram-negative and Gram-positive bacteria to PDT is different. The neutral or positively charged molecules of the photosensitizers interact effectively with Gram-positive microorganisms and, passing through the porous layer of peptidoglycans and teichoic acids from the cellular wall, cause the photodynamic inactivation of bacteria under the action of light. Gram-negative strains have been shown to be less sensitive to PDT action, since photosensitizer molecules bind only to the outer layers of the cell membrane. The outer membrane of these bacteria forms a physical and functional barrier between the cell and the external environment, without allowing PS molecules to penetrate inside them [23, 40-45].

Photochemical destruction of bacteria occurs through single impact mechanisms, as well as through mechanisms with multiple impact. The targets of photodynamic effect, are determined to a large extent by the selectivity of accumulation and degree of absorption of dyes in various cellular structures.

Membrana externă a acestor bacterii formează o barieră fizică și funcțională dintre celulă și mediul extern, fără a permite moleculelor FS să pătrundă în interior [23, 40-45].

Distrugerea fotochimică a bacteriilor are loc atât prin mecanisme cu impact unic, cât și prin cele cu impact multiplu. Țintele efectului fotodinamic, în mare măsură, sunt determinate de selectivitatea acumulării și gradul de absorbție a coloranților în diferite structuri celulare. De exemplu, compușii acridinei se acumulează, preponderent, pe suprafața cromosomilor și provoacă ruperea lor, iar porfirinele se acumulează activ în lizozomi, deteriorând structura acestora [27, 28]. Se presupune că, în rezultatul impactului fotodinamic, survine lizarea celulei bacteriene prin două căi: deteriorarea aparatului genetic și lizarea membranei citoplasmice (MC), urmată de deteriorarea componentelor celulare, inactivarea proteinelor de transport sau a enzimelor MC [29, 46, 47].

Cercetările din ultimii ani ne permit să afirmăm că impactul TFD asupra microorganismelor provoacă deteriorarea ADN-ului bacterian. Cauza principală de deteriorare fotodinamică a acizilor nucleici este fotooxidarea selectivă a compușilor alcalini de guanină. În această reacție, ambele inele ale guaninei se rup și se formează guanidina, acidul parabanic, dioxidul de carbon și unele produse deocamdată neidentificate, cu un randament cuantic de 10^{-4} [34, 48-53].

Fotooxidarea acizilor nucleici în sistemele model a fost studiată minuțios în condițiile prezenței hematoporfirinei. S-a demonstrat că, în caz de valori ridicate ale pH-ului, se produce fotooxidarea compușilor alcalini, iar în cazul valorilor fiziologice ale pH-ului – doar fotooxidarea guaninei și, parțial, a timinei. S-a stabilit că ADN și ARN se oxidează lent la valorile fiziologice ale pH-ului, însă viteza lor de oxidare crește semnificativ în uree – solventul în care se perturbază structura acizilor nucleici. De menționat că, în sistemele modelate, este identificată posibilitatea reticulării fotodinamice a triptofanului și cisteinei cu ADN-ul și, de asemenea, a guaninei cu proteinele [23].

Deteriorarea structurii și a compoziției chimice a acizilor nucleici conduce la tulburări semnificative ale activității lor biologice. În rezultatul interacțiunii luminii cu substanțele fotosensibilizatoare de natură chimică diferită, are loc denaturarea structurii spiralate a ADN-ului, precum și rupturi ale legăturilor dintre nucleotide și distrugerea plasmidelor, aceste modificări fiind constatate atât la microorganismele Gram-pozitive, cât și la cele Gram-negative. S-a presupus că FS, capabili să se lege efectiv de spirala ADN-ului, provoacă mai rapid fotodistrucția ADN-ului [23, 44, 50].

Fotolizarea celulelor este explicată nu doar prin modificarea structurii ADN-ului. De exemplu, a fost demonstrat faptul că tulpina de *Deinococcus radiodurans* este foarte sensibilă la acțiunea TFD, în pofida potențialului înalt al sistemelor reparatorii ale acestei bacterii [54, 55]. G. Bertoloni și coaut. (2000) [56] au semnalat faptul că, în rezultatul interacțiunii luminii și a substanțelor fotosensibilizatoare, survine deformarea proteinelor membranei citoplasmice, iar un număr impunător de cercetători au depistat tulburarea sintezei peretelui celular, apariția structurilor multilamelare în citoplasmă și intensificarea eliberării ionilor K^+ din celula microbiană [56, 57, 58,

For example, acridine compounds accumulate mainly on the chromosome surface and cause them to break, and porphyrins accumulate actively in lysosomes damaging their structure [27, 28]. It is assumed that as a result of photodynamic impact bacterial cell lysis occurs in two ways: damage to the genetic apparatus and lysis of the cytoplasmic membrane (CM), followed by the damage to cellular components, inactivation of transport proteins or CM enzymes [29, 46, 47].

Recent researches allow us to state that PDT impact on microorganisms causes bacterial DNA damage. Selective photo oxidation of guanine alkaline compounds is the main cause of photodynamic damage to nucleic acids. In this reaction both guanine rings rupture and guanidine, parabanic acid, carbon dioxide and some unidentified products are formed with a quantum yield of 10^{-4} [34, 48-53].

Photo oxidation of nucleic acids in model systems has been thoroughly studied in the presence of hematoporphyrin. It was shown that photo oxidation of alkaline compounds occurs if there are high values of pH, and if there are physiological pH values – only photo oxidation of guanine and thymine partially occurs. It has been determined that DNA and RNA oxidize slowly at physiological pH values, but their oxidation rate significantly increases in urea – the solvent in which the structure of nucleic acids is disturbed. It is to be mentioned that the possibility of photodynamic crosslinking of tryptophan and cysteine with DNA as well as guanine with proteins can be identified in the model systems [23].

Damage to the structure and chemical composition of nucleic acids leads to significant disturbances of their biological activity. As a result of the interaction of light with photosensitizers of different chemical nature, distortion of DNA spiral structure occurs, the links between nucleotides rupture and plasmids are destroyed. These changes are observed in both Gram-positive and Gram-negative microorganisms. It was assumed that PS able to effectively bind to DNA helix, cause faster DNA photostruction [23, 44, 50].

Photolysis of cells is accounted not only for modification of the DNA structure. For example, it has been proven that *Deinococcus radiodurans* strain is very sensitive to PDT action, despite the high potential of the restorative systems of this bacterium [54, 55]. In 2000, G. Bertoloni *et al.* reported that deformation of cytoplasmic membrane proteins occurs as a result of the interaction of light and photosensitizers. A large number of researchers have found the disturbance of the cellular wall synthesis, appearance of multilamellar structures in the cytoplasm and an increased release of K^+ ions from the microbial cell [45, 56-58]. The quantum yield of photodynamic inactivation of proteins is 10^{-3} . A large amount of data has been obtained which attests that singlet oxygen is the primary intermediate in photochemical reaction, followed by the damage to the cytoplasmic membrane enzymes [27, 28].

Protein irradiation with visible spectrum light in the presence of PS usually causes, the disturbance of the structure of macromolecules, simultaneously oxidizing the residues of amino acids: histidine, tryptophan, tyrosine, methionine and cysteine. As a result, protein cross-linking occurs in the protein structures, at the same time breaking of the peptide and

45]. Randamentul cuantic al inactivării fotodinamice a proteinelor constituie 10^{-3} . S-au obținut numeroase dovezi care atestă că oxigenul singlet este principalul intermediar în reacția fotochimică, urmată de deteriorarea enzimelor membranei citoplasmatică [27, 28].

Iradieră proteinelor cu lumina vizibilă a spectrului în prezența FS, provoacă, de regulă, dereglarea structurii macromoleculilor, oxidând, simultan, resturile aminoacizilor: histidina, triptofanul, tirozina, metionina și cisteina. În consecință, în structurile proteice are loc reticularea proteinelor, dar nu și ruperea legăturilor peptidice și disulfurice. S-a constatat că se poate obține o lizare diferențiată și selectivă a aminoacizilor, variind tipul și proprietățile chimice ale pigmentilor [59, 60].

De regulă, în urma formării compușilor fotochimici stabili, se produc schimbări conformaționale ale macromoleculii proteice. Rezultatul modificărilor structurale reprezintă o dereglare a activității funcționale a proteinelor (activitatea catalitică, imunologică, hormonală), care poate fi cauzată și de distrugerea directă a resturilor de aminoacizi, localizați în centrul activ al enzimei [61].

Este deja demonstrat faptul că, lumina absorbită de FS provoacă oxidarea acizilor grași, iar eficiența fotooxidării este proporțională cu creșterea gradului lor de nesaturare. Colesterolul, de asemenea, se supune cu ușurință procesului de fotooxidare. Oxigenul singlet, generat de FS în timpul iradierii optice, distruge rapid legătura dublă din inelul de ciclopentanperhidrofenatren al colesterolului membranar, conducând la formarea compusului hidroperoxid. Constanta vitezei unei astfel de reacții a colesterolului membranar este superioară celei, care implică acizii grași nesaturați ai fosfolipidelor. Reacțiile de fotooxidare ale acizilor grași nesaturați ai fosfolipidelor și ai colesterolului sunt asemănătoare reacțiilor care au loc în timpul oxidării peroxidice a lipidelor (OPL). Așadar, mecanismul acțiunii fotodinamice se bazează pe generarea formelor libere de oxigen în rezultatul interacțiunii dintre fotoni și moleculele fotosensibilizatorului. Formele active ale oxigenului sunt capabile să provoace oxidarea peroxidică a lipidelor care intră în componența membranei citoplasmatică, compromițând, astfel, integritatea celulei și ducând la moartea ei [44, 62-64].

Până în prezent, a fost cercetat minuțios *in vitro* impactul TFD asupra diferitor specii de bacterii. A fost evaluată eficiența utilizării unui număr impunător de FS fotoactivați, cu diverse surse de lumină, în fotodistrucția agenților patogeni ai bolilor infecțioase. Astfel, s-a stabilit că bacteriile *Propionibacterium acnes* acumulează acidul 5-aminolevulinic, substanță predecesoare porfirinelor. Fluorescența caracteristică acestor microorganisme în zona roșie a spectrului se utilizează în diagnosticarea acnei și pentru TFD, la tratamentul acestei afecțiuni. Acidul 5-aminolevulinic se sintetizează și de *Helicobacter pylori*, determinând sensibilitatea acestei tulpini la acțiunea iradierii cu spectrul albastru [38, 65-74]. Malik Z. și colab. (1990), în studiul devenit astăzi clasic, a semnalat efectul bactericid al TFD asupra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* și *Mycoplasma hominis* [73, 74].

Actualmente, se întreprind un șir de cercetări în scopul majorării eficienței terapiei antibacteriene cu utilizarea FS

protein disulfide links does not occur. It has been found that a differentiated and selective lysis of the amino acids can be obtained, varying the type and chemical properties of the pigments [59, 60].

Usually, after stable photochemical compounds are formed, some conformational changes of the protein macromolecules occur. The result of the structural changes is the disturbance in the functional activity of proteins (catalytic, immunological, hormonal activity), which may be also caused by direct destruction of the amino acid residues located in the active enzyme center [61].

It has already been proven the fact that light absorbed by PS causes oxidation of fatty acids, and the efficiency of photooxidation is proportional to the growth of its unsaturation degree. Cholesterol is also easily affected by photooxidation. Singlet oxygen generated by PS during the optical irradiation quickly destroys the double bond of cyclopentanoperhydrophenanthrene ring of membrane cholesterol, leading to the formation of hydroperoxide compound. The constant speed of such a reaction of membrane cholesterol is superior compared to that of the unsaturated fatty acids of phospholipids. Photo-oxidation reactions of unsaturated fatty acids of phospholipids and cholesterol are similar to the reactions occurring during the lipid peroxidation (OLP). Thus, photodynamic mechanism of action is based on the generation of free oxygen forms by the interaction between light photons and photosensitizer molecules. The active forms of oxygen are able to cause lipid peroxidation constituting the cytoplasmic membrane, thus compromising the integrity of the cell and causing its death [44, 62-64].

It has been thoroughly researched so far the PDT impact on different species of bacteria *in vitro*. It was evaluated the efficiency of use of a large number of photoactivated PS with different light sources during photodestruction of pathogens of infectious diseases. Thus, it has been established that *Propionibacterium acnes* bacteria accumulate 5-aminolevulinic acid, a predecessor substance of porphyrins. The fluorescence characteristic of these microorganisms in the red region of the spectrum is used in the diagnosis of acne and PDT in the treatment of this disease. 5-aminolevulinic acid is also synthesized in the cells of *Helicobacter pylori*, causing the sensitivity of the strain to the action of irradiation of the blue spectrum [38, 65-74]. Thus, Malik Z. *et al.* (1990), in the study which has become classic, reported the bactericidal effect of PDT on *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* and *Mycoplasma hominis* [73, 74]. Currently a number of researches are being undertaken in order to increase the effectiveness of antibacterial therapy with the use of PS by changing their photochemical properties with coherent and incoherent radiation of different range. Thus Bilski P. *et al.* (2000) demonstrated in an *in vitro* study that endogenous vitamin B6 (pyridoxine) in combination with UV-diapason (400-550 nm) non-laser irradiation exerts a marked toxic effect on *Cercospora* fungi [75].

Photodeterioration of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* in the presence of chlorine E6 was investigated by Fomichev A. *et al.* in 2012. The bacterial suspensions of the strains studied

prin modificarea proprietăților lor fotochimice, cu iradierea coerentă și incoerentă, de diapazon diferit. Astfel, Bilski P. și colab. (2000), au demonstrat în studiul efectuat în condiții *in vitro*, că vitamina endogenă B6 (piridoxină), în combinație cu iradierea non-laser în spectrul UV (400-550 nm), exercită un efect toxic pronunțat asupra fungilor *Cercospora* [75].

Fotodeteriorarea tulpinilor de *Escherichia coli* și *Bacillus subtilis* în prezența clorinei E6, a fost investigată de Fomichev A. și colab. în anul 2012. Suspensiile bacteriene ale tulpinilor studiate au fost incubate timp de 60, 30, 15 și, respectiv, 5 min cu clorina E6, concentrația căreia a constituit 10^{-7} M/l. În calitate de sursă de iradiere, a fost folosită lumina lămpii incandescente, trecută printr-o serie de filtre de 600-700 nm. Putea iradierii a constituit 50 W/m^2 . Timpul de iradiere a variat între 1 și 90 de minute. S-a demonstrat că, după o expunere îndelungată, procesul de fotodistrucție a *Escherichia coli* și *Bacillus subtilis* se supune legii exponențiale. Pentru anihilarea *Escherichia coli*, este necesară incubarea celulelor în colorant, durata optimă fiind până la 30 de minute. Pentru *B. subtilis*, acest fenomen nu s-a constatat. Rezultate similare au fost obținute, anterior, și de Strahovskaia V. și colab (1999) [35-37, 76].

Schneider J. și colab., în anii 1993 și 1999, au demonstrat că efectuarea TFD *in vitro*, cu aplicarea albastrului de metilen și iradierea simultană cu lumină albă (400-700 nm), 10 J/cm^2 , provoacă inactivarea ARN-ului Qb-bacteriofagului prin intermediul reticulării acestuia cu proteinele plasmatice [77-78].

La momentul actual, în TFD se aplică pe scară largă acidul 5-aminolevulinic, care este un predecesor al porfirinelor endogene și provoacă foto-inactivarea *Escherichia coli* [79], *Propionibacterium acnes*, *Candida guilliermondii*, *Haemophyllus parainfluenzae* [23, 80].

Un rol incontestabil în studierea eficienței TFD antimicrobiene este acordat protocolului studiului bacteriologic. Astfel, mediile de creștere, bogate în peptoni, reduc sensibilitatea microorganismelor la acțiunea reacțiilor fotochimice. S-a remarcat influența conținutului cantitativ și calitativ al proteinelor în mediu. În anul 2010, Malik R. și colab., au raportat eficiența utilizării în calitate de fotosensibilizator al amestecului de hemină și porfirină în TFD. Această compoziție exercită un efect fototoxic asupra *Staphylococcus aureus* și altor bacterii Gram-pozitive. Totodată, utilizarea separată a componentelor amestecului a manifestat un efect bacteriostatic limitat [81].

Numeroase lucrări sunt consacrate studiului efectului aplicării fotosensibilizatorilor încărcăți pozitiv simultan cu iradierea optică, pentru a suprima microorganismele Gram-pozitive și Gram-negative. A fost studiat efectul albastrului de toluidină asupra microflorei cavității orale, precum și asupra *Staphylococcus aureus* și *Helicobacter pylori*. S-a constatat că faza de creștere a culturii microbiene nu influențează eficiența TFD [43].

Cercetătorii italieni sub conducerea lui Jori G. (2004), au utilizat fotosensibilizatorii din clasa porfirinelor pentru foto-inactivarea tulpinilor de *Escherichia coli* și *Vibrio anguillarum*. S-a remarcat faptul că, colorantul se leagă insuficient de membrana exterioară a acestor microorganisme, deoarece îndepărtarea lui înainte de iradiere reduce eficiența TFD. Se presupune că impactul primelor doze de lumină asupra fotosensibilizatorului legat de membrană provoacă deteriorarea locală,

were incubated for 60, 30, 15 and 5 min with chlorine E6, concentration of which was 10^{-7} M/l. The incandescent lamp light was used as a source of irradiation, being passed through a series of filters (600-700 nm). The irradiation power was 50 W/m^2 . The irradiation time varied between 1 and 90 minutes. It has been shown that after exposure over a long period of time, the photodestruction of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* is subject to exponential law. In order to annihilate *Escherichia coli* it is necessary to incubate the cells in the dye most preferably for up to 30 minutes. This phenomenon was not found in *B. subtilis*. Similar results were obtained by Strahovskaia V. et al. (1999) [35-37, 76].

Schneider J. et al., in 1993 and 1999 showed that performing PDT *in vitro* with application of methylene blue and simultaneous irradiation with white light (400-700 nm), 10 J/cm^2 causes inactivation of RNA Qb-bacteriophage through its plasma protein crosslinking [77-78].

Currently 5-aminolevulinic acid is widely applicable in PDT which is a predecessor of endogenous porphyrins and causes photo-inactivation of *Escherichia coli* [79], *Propionibacterium acnes*, *Candida guilliermondii*, *Haemophyllus parainfluenzae* [23, 80].

The bacteriological study protocol plays an undeniable role in the study of antimicrobial PDT efficiency. Thus, the growth media rich in peptones reduce the microorganism sensitivity to the action of photochemical reactions. It was noted the quantitative and qualitative content influence of protein in the environment. In 2010, Malik R. et al. reported the efficiency of use of hemin and porphyrin mixture in PDT as photosensitizer. The composition exerts a phototoxic effect on *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. However, the use of each of the mixture components separately had a limited bacteriostatic effect [81].

A large number of works are devoted to study of the effect of application of photosensitizers positively charged simultaneously with optical radiation to suppress Gram-positive and Gram-negative microorganisms. The effect of toluidine blue has been studied on the oral cavity microflora, as well as on *Staphylococcus aureus* and *Helicobacter pylori*. It has been found that the microbial culture growth phase does not affect the PDT efficiency [43].

In 2004, Italian researchers under the leadership of G. Jori used photosensitizers of the porphyrin class for photo-inactivation of *Escherichia coli* and *Vibrio anguillarum*. It was noted that insufficient dye binds to the outer membrane of these microorganisms because the removal of dye before irradiation reduces the effectiveness of PDT. It is assumed that the impact of the first dose of light on membrane-bound photosensitizer causes local damage, which, in turn, enables new dye molecules to penetrate deeper into the cell. In 2006, the authors found that incubation of bacteria with zinc derivatives of pyrimidine phthalocyanine increases the sensitivity of these microorganisms to hydrophobic antibiotics and reduces the absorption of endogenous porphyrins by the cells [82, 83].

It was supposed, that the formation of singlet oxygen in the environment of the cell is enough to ensure the bactericidal effect of PDT on the Gram-negative microorganisms. According

cea ce, la rândul ei, permite noilor molecule ale colorantului să pătrundă în interiorul celulei. În anul 2006, aceiași autori au constatat faptul că incubarea bacteriilor cu derivatele de zinc ale pirimidinftalocianei sporește sensibilitatea acestor microorganisme la antibioticele hidrofobe și reduce absorbția porfirinelor endogene de către celule [82, 83].

S-a presupus faptul că, pentru a asigura efectul bactericid al TFD asupra microorganismelor Gram-negative, este suficient formarea oxigenului singlet în mediul înconjurător al celulei. Conform datelor obținute de Dahl T. (1989), oxigenul singlet, format într-o cantitate suficientă în imediata apropiere de membrana exterioară, difuzează în celulă și-i distruge diverse structuri [84].

De asemenea, se admite că prin iradierea unei zone limitate a macroorganismului, impactul fotodinamic poate atinge nu numai agentul infecțios, dar și microorganismele simbiotice. În același timp, utilizarea TFD oferă noi oportunități pentru o ușoară corecție a numărului de reprezentanți ai microflorei normale, stimulării biologice a proceselor, ce se desfășoară în cadrul comunității microbiene. Totuși, datele disponibile deocamdată nu pot clarifica aceste aspecte.

Substanțele fotosensibilizante

Fotosensibilizatorii (FS) sunt molecule ce absorb lumina și induc, în consecință, reacții chimice. Capacitatea de a absorbi lumina este determinată de prezența în molecule a grupărilor cromofore care, de regulă, conțin nuclee ciclice. Sunt cunoscute mai mult de 400 de substanțe ce posedă proprietăți de FS. Substanțele naturale cu capacitate de fotosensibilizator sunt clorofilele, ficobilinele, porfirinele și produsele intermediare ale sintezei lor, un șir de antibiotice, chinina, riboflavina etc. Unii fotosensibilizatori acționează doar în prezența oxigenului, producând un efect fotodinamic [19, 85-90].

În rezultatul analizei rezultatelor unui număr mare de cercetări experimentale și clinice, au fost formulate criteriile biologice (toxice și farmacocinetice), fotofizice și chimico-tehnologice pentru selectarea unui FS optim, care include [50, 73, 74, 91-96]:

- toxicitate redusă în doze terapeutice;
- selectivitate înaltă de acumulare în celulele microbiene;
- eliminare rapidă a FS din țesuturi;
- absorbție maximă într-un anumit diapazon spectral;
- un randament cuantic înalt de formare *in vivo* a oxigenului singlet;
- accesibilitate de extragere sau sinteză, compoziție chimică omogenă;
- solubilitate bună în apă sau în lichide;
- stabilitate la acțiunea luminii și la păstrare.

În prezent, se efectuează cercetări pentru identificarea unor astfel de substanțe fotosensibilizante printre derivații clorinelor, bacterioclorinelor, purpurinelor, benzoporfirinelor, texafirinelor, etiopurpurinelor, naftalo- și ftalocianinelor [71, 97, 98].

Fenotiazinele

Din momentul elaborării TFD și până în prezent, acești compuși sunt cel mai frecvent utilizați. Din acest grup de

to the data obtained by T.Dahl (1989), singlet oxygen formed in sufficient quantity in the vicinity of the outer membrane diffuses into the cell and destroys various cellular structures [84].

It is assumed that by irradiating a limited area of the macroorganism, photodynamic impact can reach not only the infectious agent, but symbiotic microorganisms as well. At the same time, the use of PDT provides new opportunities for a slight correction of the number of representatives of the normal microflora, biological stimulation of processes that take place within the microbial community. The literature review has revealed that information on the impact of different types of LED and laser irradiation on normal bacterial microflora is insufficient.

Photosensitizing substances

Photosensitizers (PS) are molecules able to absorb light and to induce chemical reactions. The ability to absorb light is determined by the presence of chromophore groups in the molecule which usually contain cyclic nuclei. There are more than 400 known substances possessing properties of PS. Chlorophylls, phycobilins, porphyrins and their synthesis intermediates, as well as a number of antibiotics, quinine, riboflavin, etc. are natural substances possessing photosensitizing capacity. Some photosensitizers act only in the presence of oxygen, producing a photodynamic effect [19, 85-90].

As a result of the analysis of a large number of clinical and experimental researches, biological (toxic and pharmacokinetic), photophysical and chemical-technological criteria were formulated for selecting an optimal PS, which include the following [50, 73, 74, 91-96]:

- low toxicity at therapeutic doses;
- high selectivity of accumulation in microbial cells;
- rapid elimination of PS from tissues;
- maximum absorption in a given spectral range;
- a high quantum yield of singlet oxygen formation *in vivo*;
- availability of extraction or synthesis, homogeneous chemical composition;
- good solubility in water or liquids;
- stability to the action of light and storage.

Currently research is carried out to identify such photosensitizing substances among the derivatives of chlorines, bacteriochlorines, purpurins, benzoporphyrins, texaphyrins, etiopurpurins, naphthalo- and phthalocyanines [71, 97, 98].

Phenothiazines

These compounds have been most commonly used since PDT elaboration and so far. This group of compounds includes: pink Bengal, indocyanine green, toluidine blue, methylene blue and various metal derivatives. Phenothiazines are not toxic to macroorganism cells, but at the same time they are able to actively generate singlet oxygen under the action of optical radiation and are easy to apply [41, 99, 100].

Wilson M. *et al.* (1992) demonstrated that after the processing of bacterial cultures *Porphyromonas gingivalis*, *Fusohacterium nucleatum* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* with methylene blue and subsequent action of Helium-Neon (HeNe) laser with the capacity of 7.3 mW within 80 s, the

compuși fac parte: rozul de Bengal, verdele de indocianină, albastrul de toluidină, albastrul de metilen și diverși derivați ai metalelor. Fenotiazinele nu sunt toxice pentru celulele macroorganismului, dar, totodată, sunt capabile să genereze activ oxigenul singlet sub acțiunea iradierii optice și sunt simple în aplicare [41, 99, 100].

Wilson M. și colab. (1992), au demonstrat că după prelucrarea culturilor bacteriene de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusohacterium nucleatum* și *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cu albastru de metilen și acțiunea ulterioară a laserului heliu-neon (HeNe) cu capacitatea de 7,3 mW în decurs de 80 s, s-a redus semnificativ numărul acestor microorganisme [101, 102]. Wilson M. și Mia N. (1993) [103], urmași de Araghizaden A. (2005) [104], au stabilit că albastrul de metilen sensibilizează celulele *Candida albicans* la acțiunea luminii și provoacă distrugerea lor sub acțiunea laserului galliu-arsenit (GaAs). Anihilarea *Candida albicans* și altor tipuri de *Candida spp.* a fost obținută doar prin prelucrarea acestor fungi cu fotosensibilizator, în combinație cu iradiere laser cu putere redusă. Această abordare necesită cercetare în continuare, fiind, eventual, o potențială metodă de tratament al candidozelor din infecția HIV [103, 104].

Millison C. (1997) a cercetat efectele TFD asupra *Helicobacter pylori*, bacterie asociată cu gastrita. Prelucrarea celulelor cu soluție de albastru de metilen (0,75 și 7,5 μg/kg) nu a avut niciun efect asupra microorganismelor, însă iradierea lor ulterioară cu lumină laser 20 J/cm² a inhibat creșterea bacteriilor cu 99% [105].

Zeina B. și colab. (2001) [106] au demonstrat efectul de anihilare a culturilor *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Corynebacterium minutissimum*, *Propionibacterium acnes*, prelucrate, în prealabil, cu albastru de metilen (concentrație 100 μg/ml) și iradiate, ulterior, cu fasciculul de lumină de bandă largă (400-700 nm, 42 mW/cm²). S-a demonstrat că speciile *Propionibacterium acnes* și *Staphylococcus epidermidis* au fost mai puțin rezistente la acțiunea iradierii în decursul la 60 de minute, iar *Corynebacterium minutissimum* s-a dovedit a fi cea mai rezistentă specie. Utilizarea laserului cu argon (l. engl. *Argon Ion Laser*), cu maximele emisiei de 585, 610 și 630 nm și a emițătorului cu LED (664 nm), a redus numărul bacteriilor *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* și *Pseudomonas aeruginosa* după prelucrarea lor cu albastru de metilen în concentrație de 25-300 mM. De asemenea, s-a demonstrat influența suspensiilor microorganismelor asupra procesului de dimerizare a pigmentilor derivați ai ftalocianinei. Suspensiile ce conțin microorganisme Gram-pozitive au sporit constanta dimerizării de 2-5 ori, iar suspensiile microorganismelor Gram-negative au mărit-o de la 4-20 de ori [43, 106-109].

Un număr impunător de studii au elucidat că fototerapia, în combinație cu aplicarea albastru de toluidină, este eficientă în distrugerea microorganismelor din componența biofilmului oral: *Streptococcus sanguinis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus (Haemophilus) actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus sobrinus* și *Actinomyces viscosus* [83, 110-119].

Unele substanțe de contrast, utilizate în radio-imagistică,

number of these microorganisms reduced significantly [101, 102]. In 1993, Wilson M. and Mia N., followed by Araghizaden A. in 2005, determined that methylene blue sensitized *Candida albicans* cells to the action of light and caused their destruction under the actions of Gallium arsenide laser (GaAs). *Candida albicans* and other types of *Candida spp.* were annihilated only by processing these fungi with the photosensitizer in combination with low power laser irradiation. This approach requires further research being eventually a potential method for the treatment of candidiasis in HIV infection [103, 104].

In 1997, Millison C. investigated the effects of PDT on *Helicobacter pylori*, the bacterium associated with gastritis. The processing of cells with methylene blue solution (0.75 and 7.5 mkg/kg) had no effect on the microorganisms, but the subsequent irradiation with a 20 J/cm² dose resulted in inhibition of the bacterial growth by 99% [105].

In 2001, Zein B. et al. demonstrated the annihilation effect on the cells of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Corynebacterium minutissimum*, *Propionibacterium acnes*, pre-processed with methylene blue (concentration of 100 μg/ml) and subsequently irradiated with the light beam tape range (400-700 nm, 42 mW/cm²). It was demonstrated that *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* species were less resistant to irradiation within 60 minutes, while *Corynebacterium minutissimum* proved to be the most resistant species. Use of argon laser (Argon Ion Laser) with maximal emission of 585, 610 and 630 nm and LED transmitter (664 nm) reduces the number of microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* after their processing with methylene blue in concentration of 25-300 mM. It was also demonstrated the influence of microorganism suspensions on the process of dimerization of pigments which are derivatives of phthalocyanine. Suspensions containing Gram-positive microorganisms increased the dimerization constant by 2-5 times and Gram-negative microorganism suspensions increased it from 4 to 20 times [43, 106-109].

A large number of studies have revealed that phototherapy in combination with toluidine blue is effective in destroying microorganisms in the oral biofilm: *Streptococcus sanguinis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus (Haemophilus) actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus sobrinus* and *Actinomyces viscosus* [83, 110-119].

Some contrast agents used in radio-imaging methods for diagnosis of diseases can be successfully applied as PS in PDT. Such a substance is indocyanine green used in various areas: oncology, ophthalmology, cardiology, surgery, dermatology, liver function tests and cosmetology. Use of this dye in PDT is determined by the compliance of the spectral peaks of maximal absorption and isosbestic point-for hemoglobin and oxy-hemoglobin absorption in the range of 800 nm. Low toxicity and rapid PS elimination from the body are also important: indocyanine green is rapidly cleared from the blood serum of the liver parenchymal cells [106].

pot fi aplicare cu succes în calitate de FS în TFD. O astfel de substanță este indocianina verde, utilizată în cele mai diverse domenii: oncologie, oftalmologie, cardiologie, chirurgie, dermatologie, testarea funcției hepatice și cosmetologie. Utilizarea acestui colorant în TFD este determinată de corespunderea vârfurilor spectrale ale maximei de absorbție și punctului izobestic pentru absorbția hemoglobinei și oxihemoglobinei în diapazonul 800 nm. De asemenea, este importantă toxicitatea redusă și eliminarea rapidă a FS din organism: indocianina verde este eliminată rapid din serul sanguin de celulele parenchimale hepatice [106].

Nanoparticulele utilizate în calitate de fotosensibilizatori

În anul 2000 a fost elaborată o nouă abordare în aplicarea terapiei fotodinamice antimicrobiene. Dezvoltarea rapidă a nanotehnologiilor a creat o mare varietate de nanoparticule pe bază de ioni de aur, argint, oxizi de siliciu și titan, care reprezintă o alternativă a generațiilor anterioare de FS. Dimensiunile nanoparticulelor variază de la 10 până la 130 nm, forma lor depinde de metoda de sinteză și poate fi sferică, stelată sau cilindrică. Spectrul de absorbție a nanoparticulelor este în funcție de componența chimică și variază de la 450 nm până la 800 nm și, de regulă, are mai multe maxime [120-122].

Pentru obținerea efectului fotodinamic țintit asupra *Staphylococcus aureus*, au fost utilizate nanoparticulele de aur. Suprafața celulei microbiene este încărcată negativ, în timp ce nanoparticulele posedă o sarcină pozitivă, ceea ce facilitează interacțiunea lor. La iradierea cu impulsuri laser, nanoparticulele absorb energie, care, ulterior, este transmisă spre peretele celular bacterian, producând deteriorarea considerabilă al acestuia [122]. De asemenea, au fost studiate efectele iradierii nanoparticulelor din oxidul de titan (TiO_2) asupra tulpinelor *Escherichia coli*. În rezultatul cercetărilor, s-a demonstrat că nanoparticulele interacționează cu membrana exterioară a celulei bacteriene și după expunerea la lumină, produc oxigenul singlet, provocând distrugerea acesteia [120].

Porfirinele microbiene în calitate de fotosensibilizatori endogeni.

Unele microorganisme, capabile să acumuleze porfirine endogene, sunt suficient de sensibile la iradierea ultravioletă sau cu lumină albastră. Cel mai frecvent acest fapt este caracteristic pentru tulpinile anaerobe Gram-negative [123].

Microorganismele anaerobe ale biofilmului cavității orale din grupurile *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas* sintetizează propriile porfirine pe baza hemului obținut din mediul exterior sub formă de hemoglobină sau hemopexină [68, 69]. În citoplasma acestor microorganisme se acumulează pigmentul negru – hematina și protoporfirina IX, care le face sensibile față de efectului fototoxic al luminii albastre [70-72].

Mecanismele intracelulare de apărare

Protejarea celulei de acțiunea unuia dintre cei mai toxici derivați ai oxigenului singlet ($^1\text{O}_2$) se realizează prin intermediul unor molecule variate și importante, tipurile de stingere a energiei $^1\text{O}_2$ fiind atât fizice, cât și chimice.

Conform mecanismului chimic, stingerea $^1\text{O}_2$ este realiza-

Nanoparticles used as photosensitizers

In 2000 a new approach to the application of antimicrobial photodynamic therapy appeared. The rapid development of nanotechnology has created a wide variety of nanoparticles containing gold, silver, silicon oxides and titanium ions, which are an alternative to previous generations of PS. The size of the nanoparticles ranges from 10 to 130 nm, the shape depends on the method of synthesis. It may be spherical, star-shaped or cylindrical. The absorption spectrum of the nanoparticles depends on the chemical composition and varies from 450 to 800 nm and usually it has more than one maximum [120-122].

In order to achieve the target photodynamic effect on *Staphylococcus aureus* cells, gold nanoparticles were used. The microbial cell surface is negatively charged, while nanoparticles possess a positive charge, which facilitates their interaction. During the laser impulse irradiation, the nanoparticles absorb energy which is then transmitted to the bacterial cell wall, causing considerable damage to it [122]. There were also studied the effects of irradiation of titanium oxide (TiO_2) nanoparticles on *Escherichia coli* strains. Researches' results show that nanoparticles interact with the outer membrane of the bacterial cell and after exposure to light they produce singlet oxygen, causing its destruction [120].

Microbial porphyrins as endogenous photosensitizers

Some microorganisms capable to accumulate endogenous porphyrins are quite sensitive to ultraviolet or blue light irradiation. This is most commonly characteristic of Gram-negative anaerobic strains [123].

Anaerobic microorganisms of the oral cavity biofilm of *Bacteroides*, *Prevotella* and *Porphyromonas* groups synthesize their own porphyrins based on heme derived from the external environment in form of hemoglobin or hemopexin [68, 69]. The black pigment – hematina and protoporphyrin IX is accumulated in the cytoplasm of these microorganisms, being subject to phototoxic effect of blue light [70-72].

Intracellular defense mechanisms

The protection against the action of one of the most toxic singlet oxygen derivatives ($^1\text{O}_2$) is achieved by means of various important biological molecules. The types of $^1\text{O}_2$ energy quench are both physical and chemical.

According to the chemical mechanism, $^1\text{O}_2$ quench is achieved mainly by saturated fatty acids, lipids, amino acids, nucleotides and other compounds. Chemical mechanisms are different, but in most cases the initial step is the formation of labile cyclic peroxide followed by its expansion, leading to the appearance of free radicals. Chemical quench of $^1\text{O}_2$ can lead to destructive consequences within the cell. According to the physical mechanism, molecules of different chemical compounds are essentially capable of quenching $^1\text{O}_2$ energy [124-126].

Compounds able to quench excited states (most of them being triplets) of pigments and singlet oxygen have a major importance in removing singlet oxygen. Among them, carotenoids are the most effective (for example, β -carotene), containing 11 conjugated double bonds. Retaining the excitation

tă, preponderent, de acizii grași saturați, lipide, aminoacizi, nucleotide și alți compuși. Mecanismele de stingere chimică sunt variate, dar în cele mai multe cazuri, etapa inițială o reprezintă formarea unui peroxid ciclic labil, urmat de extinderea acestuia, care duce la apariția de radicali liberi. Stingerea chimică a $^1\text{O}_2$ poate conduce la consecințe distructive în interiorul celulei. Conform mecanismului fizic, în esență, moleculele diferitor compuși chimici sunt capabile de a stinge energia $^1\text{O}_2$ [124-126].

O importanță majoră în eliminarea oxigenului singlet o au compușii capabili să stingă stările excitate (în cea mai mare parte, triplete) ale pigmentilor și ale oxigenului singlet. Printre aceștia, cele mai eficiente sunt carotenoidele (de exemplu, β -carotenul) – molecule care conțin 11 legături duble conjugate. Reținând energia de excitare, aceste carotenoide o transformă în căldură, prevenind, astfel, posibilitatea derulării reacțiilor chimice. Acțiunea carotenoizilor este atât de eficientă, încât fiecare coliziune cu tripleții pigmentului excitat sau ai oxigenului singlet, provoacă dezactivarea completă a acestora [126].

Mecanismul acțiunii de protecție a carotenoizilor constă în următoarele: molecula fotosensibilizatorului, absorbind lumina, transferă rapid (10^{-11} s) energia stării excitate singlet într-un centru de reacție. Din 10^4 de fotoni absorbiți, aproximativ 4 duc la transferul moleculei fotosensibilizatorului în starea triplet excitată, fiind posibilă reacția fotodinamică. Carotenoidele pot participa în derularea a trei tipuri de reacții protectoare:

- (1) în mod direct, „stingând” starea triplet a substanței active, aducând-o la starea ei inițială, iar molecula triplet a carotenoidei formate cedează excesul de energie sub formă de căldură și se întoarce la starea sa inițială;
- (2) starea triplet a substanței nu este stinsă de carotenoide, dar are loc interacționarea lor cu oxigenul și transformarea lui într-o stare singlet excitată, după care oxigenul singlet este stins de carotenoide;
- (3) oxigenul singlet, care nu este supus stingerii de către carotenoide prin mecanismul fizic, poate interacționa cu acestea printr-o reacție chimică, din care rezultă oxidarea carotenoidelor [127].

În afară de aceasta, trebuie menționați așa-numiții antioxidanți secundari – enzimele care sunt capabile să detecteze deteriorările oxidative la etapa incipientă și să le înlăture. Astfel, s-a constatat că fosfolipazele recunosc și izolează în mod selectiv acizii grași oxidați din lipidele membranare. Unele enzime proteolitice detectează proteinele ce au deteriorări nesemnificative în rezultatul interacțiunii cu formele active de oxigen și le digeră până la aminoacizi liberi. Apoi, acești aminoacizi pot reveni în metabolismul celular. Unul din mecanismele specifice de protejare de acțiunea oxigenului endogen reprezintă creșterea activității respiratorii a celulelor. În realizarea unei astfel de reacții, se majorează intensitatea transportului de electroni de-a lungul ramurii: citocromii $b \rightarrow d$, ce nu este condiționată de stocarea energiei. Astfel, în pofida creșterii activității respiratorii generale, se reduce conjugarea transportului de electroni cu acumularea de energie. Se produce oxidarea unei părți a substraturilor de carbon care sunt utilizați pentru recuperarea oxigenului, fără a acumula energie în celulă [44, 62].

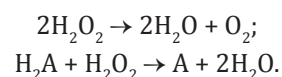
energy, these carotenoids convert it into heat, thus preventing the possibility of chemical reactions to run. The action of carotenoids is so effective that every collision with the excited pigment triplets or singlet oxygen triplets causes their complete deactivation [126].

The mechanism of carotenoid protection consists of the following: photosensitizer molecule, absorbing light, rapidly transfers (10^{-11} s) the singlet excited state energy to a reaction center. Out of 10^4 of all photons of light absorbed, about 4 of them lead to the transfer of photosensitizer molecule to the excited triplet state, the photodynamic reaction being possible. Carotenoids can participate in the evolution of three types of protective reactions:

- (1) quenching directly the active substance triplet state, bringing it to its original state, and the formed carotenoid triplet molecule gives the energy excess as heat and returns to its original state;
- (2) the triplet state of the substance is not quenched by carotenoids, but their interaction with oxygen occurs and its transformation into a singlet excited state, then singlet oxygen is quenched by carotenoids;
- (3) singlet oxygen which is not subject to quench by carotenoids through physical mechanism can interact with them through a chemical reaction resulting in oxidation of carotenoids [127].

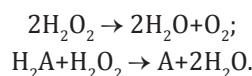
In addition, it should be mentioned the so-called secondary antioxidants – enzymes that are capable of detecting oxidative damage at the initial stage and of removing it. Thus, it was found that phospholipases recognize and isolate selectively the oxidized fatty acids in membrane lipids. Some proteolytic enzymes detect proteins that have an insignificant impairment as a result of interaction with active forms of oxygen and digesting them to free amino acids. Then these amino acids may return to the cellular metabolism. One of the specific mechanisms of protection against endogenous oxygen action is the increase of the respiratory activity of cells. In carrying out such a reaction the intensity of electron transport is increased along the branch: cytochromes $b \rightarrow d$, which is not conditioned by the energy storage. Thus, despite the increase in overall respiratory activity, the electron transport conjugation is reduced with energy accumulation. Oxidation of a part of the carbon substrates takes place, they being used to recover oxygen without the accumulation of energy in the cell [44, 62].

Enzymes are the main form of the cell defense against toxic oxygen derivatives: superoxide dismutase that takes hold of O_2^- molecules of catalase and peroxidase that captures H_2O_2 :



This contributes to reducing the concentration of O_2^- and H_2O_2 in the cell and not to their interaction with OH^\cdot formation. Superoxide dismutase (superoxide dismutase SOD) is identified in chemotrophic prokaryotes which use oxygen (aerobic and facultative aerobic forms) as well as photosynthetic prokaryotes representatives. In anaerobes this enzyme is found in most air-tolerant forms [62]. Most superoxide dismutases studied are composed of two identical components,

Principala formă de apărare a celulei de acțiunea toxică a derivaților oxigenului sunt enzimele: superoxid dismutaza, care acaparează moleculele de O_2 ale catalazei și peroxidazei, ce capturează H_2O_2 :



Acest fapt contribuie la reducerea concentrației de O_2 și H_2O_2 în celulă și nu la interacționarea lor cu formarea OH \cdot . Superoxid dismutaza este identificată atât în procariotele chemotrofe, care utilizează oxigen (aerobe și formele facultativ aerobe), precum și la reprezentanții procariotelor fotosintetice. Această enzimă a fost depistată la majoritatea formelor aerotolerante de bacterii anaerobe [62]. Majoritatea superoxid dismutazelor studiate sunt constituite din două componente identice, fiecare dintre care conține câte un atom de metal. Ambele forme ale superoxid dismutasei au fost identificate la microorganismele Gram-pozitive și Gram-negative, fototrofe și hemotrofe, la anaerobii obligați, aerobii și formele anaerobe facultative. Mai mult decât atât, cele două metalo-forme ale superoxid dismutazei pot fi prezente într-un organism și chiar să intre în componența moleculei unei enzime. S-a demonstrat că la unele specii, sinteza tipului de enzimă depinde de prezența ionilor metalici în mediul de creștere [62, 127, 128].

Activitatea catalazică și peroxidică a fost identificată la toate procariotele aerobe obligate și facultative. La anaerobii obligați, aceste enzime sunt mai puțin răspândite decât superoxid dismutaza. A fost depistat un șir de anaerobi obligați și aerotoleranți, ce conțin superoxid dismutază, dar care nu conțin catalază. Din acest grup fac parte bacteriile acido-lactice, la care dismutaza ionilor de O_2 formați este asigurată de Mn^{2+} , prezent în celule în cantități relativ mari. Peroxidul de hidrogen apărut în rezultatul interacțiunii celulelor cu O_2 se elimină și pe căi neenzimatice. Este cunoscut faptul că ionii de Fe^{2+} în soluție apoasă accelerează reducerea H_2O_2 până la H_2O . În celulă întotdeauna se conține o anumită cantitate de ioni de fier. Distrugerea H_2O_2 poate avea loc și din cauza substanțelor reduse, eliberate în mediul de cultură [126].

Pentru procariotele anaerobe, este specifică prezența în celule a superoxid dismutazei, iar prezența catalazei nu este obligatorie, deoarece peroxidul de hidrogen, rezultat din reacțiile dismutației și altor reacții, se descompune spontan și organismele, de regula, rezistă în aceste condiții. Astfel, la realizarea metabolismului energetic de tip anaerob, pentru eliminarea efectelor toxice ale O_2 , este necesară doar o singură barieră enzimatică sub formă de superoxid dismutază [73, 93].

Discuții

Terapia fotodinamică antibacteriană, actualmente, reprezintă o metodă terapeutică adjuvantă în tratamentul gingivitelor, parodontitelor, periimplantitelor, stomatitelor, cheilitelor, cariei dentare și complicațiilor acesteia, și a altor afecțiuni ale cavității orale [110]. Conform cercetărilor efectuate de un șir de autori, în rezultatul efectuării TFD se reduce numărul de bacterii patogene cu 92%-100%, fără a utiliza preparatele antiseptice și antibiotice, care pot provoca reacții adverse [129]. Studiile recente atestă restabilirea echilibrului fiziologic între

each of them containing a metal ion. Both forms of superoxide dismutases were identified in Gram-positive and Gram-negative microorganisms, phototrophic and hemotrophic, obligate anaerobic, aerobic and facultative anaerobic forms of microorganisms. Moreover, the two metal forms of superoxide dismutase can be present in an organism and even become part of an enzyme molecule. It has been shown that enzyme-type synthesis in some species is based on the presence of metal ions in the growth medium [62, 127, 128].

Peroxide and catalase activity was identified in all obligate and facultative aerobic prokaryotes. In obligate anaerobes these enzymes are uncommon compared to superoxide dismutase. It was discovered a number of severe and air-tolerant anaerobes containing superoxide dismutase, but they do not contain catalase. This group includes acid-lactic bacteria, in which dismutase of formed O_2 - ions is provided by Mn^{2+} located in the cells in high concentrations. Hydrogen peroxide occurring after interaction between the cell and O_2 , is eliminated through non-enzymatic pathways as well. It is known that Fe^{2+} ions in aqueous solution, accelerates the reduction of H_2O_2 to H_2O . The cell always contains a certain amount of iron ions. H_2O_2 destruction can occur because of reduced substances released into the culture medium [126].

The presence of superoxide dismutase in the cell is specific for anaerobic prokaryotes, while the presence of catalase is not required, because hydrogen peroxide resulting from dismutase reactions and other reactions decomposes spontaneously and generally organisms withstand in these conditions. Thus, only one enzyme barrier is required (that being superoxide dismutase) to carry out the anaerobic energy metabolism to eliminate the toxic effects of O_2 [73, 93].

Discussions

Antibacterial photodynamic therapy is currently an adjunctive therapeutic method in the treatment of gingivitis, periodontitis, peri-implantitis, stomatitis, cheilitis, dental caries and its complications and other diseases of the oral cavity [110]. According to researches conducted by a number of authors, the number of pathogenic bacteria is decreased by 92%-100% as a result of PDT, without using antiseptic and antibiotic medications which can cause side effects [129]. Latest studies attest restoration of the physiological balance between aerobic and anaerobic microflora of the mouth after performing PDT, in a ratio of 75%:25% [4, 130].

Researches carried out by a number of authors found that bactericidal effect of photodynamic therapy on the oral cavity microflora depends on the type or PS concentration, laser irradiation parameters or LED used, location conditions and form of organization of microorganisms. In just a 24 hour period after having performed photodynamic therapy the number of pathogens reduced 10 times [131-142]. Today, a wide variety of PS used in PDT of diseases of the oral cavity (toluidine blue, methylene blue, radochlorine, photolon, photodithazine etc.) are known. They showed to be effective in suppressing both Gram-positive and Gram-negative bacteria [136, 137]. Studies in vitro, experimental and clinical studies have shown that af-

microflora aeobă și cea anaerobă a cavității bucale după efectuarea TFD, într-un raport de 75%:25% [4, 130].

S-a constatat că efectul bactericid al terapiei fotodinamice asupra microflorei cavității orale este în funcție de tipul sau concentrația FS, parametrii iradierii laserului sau LED-ului utilizat, condițiile de localizare și forma de organizare a microorganismelor. Într-o perioadă de numai 24 de ore după efectuarea terapiei fotodinamice, s-a redus de 10 ori numărul de microorganisme patogene [131-142]. La ora actuală, este cunoscută o varietate largă de FS (albastru de toluidină; albastru de metilen, radoclorin, fotolon, fotodithazină ș.a.) utilizați în TFD afecțiunilor cavității orale, care s-au dovedit a fi eficienți în suprimarea atât a bacteriilor Gram-pozitive, cât și a celor Gram-negative [137-136]. Studiile *in vitro* au demonstrat că în rezultatul PDT sunt distruse eficient și total microorganismele din biofilmul oral care provoacă afecțiunile parodontiului, caria dentară și alte maladii stomatologice [131, 132, 143-145].

O sensibilitate sporită la TFD a fost depistată la enterobacterii (54% din cazuri), streptococii non-hemolitici (45% din cazuri) și la fungi. Așadar, terapia fotodinamică exercită un efect antibacterian asupra bacteriilor Gram-pozitive, Gram-negative și fungi, în egală măsură provocând distrugerea microorganismelor aerobe, a celor facultativ-anaerobe și a celor anaerobe [131, 144-146].

Pentru a obține rezultate optime după utilizarea TFD, este important de a lua în considerație condițiile de aplicare a fotosensibilizatorilor: tipul celulei cu care se va lega FS, concentrația la care FS manifestă eficiență maximă, lungimea de undă și intensitatea iradierii laser sau LED, necesare pentru activarea fotosensibilizatorului, solubilitatea FS în lichidele și lipidele înconjurătoare și gradul de ionizare a FS.

Avantajul aplicării TFD constă în posibilitatea anihilării strict localizate a celulelor bacteriene amplasate atât la suprafață, cât și în spațiile intercelulare, fără survenirea unor reacții adverse asupra zonelor adiacente [147]. Un avantaj incontestabil al terapiei fotodinamice antimicrobiene (TFDA) vis-a-vis de antibioticoterapie, este caracterul multiplu al distrugerii oxidative a celulelor-țintă microbiene, care previne formarea rezistenței la curele ulterioare de TFD [82].

În plan sintetic, au fost identificate zece avantaje ale terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul afecțiunilor cavității orale, provocate de biofilme, comparativ cu terapia antibacteriană convențională:

- (1) eficiența TFDA nu este influențată de sensibilitatea microorganismelor patogene la preparatele antibacteriene. Prin TFDA sunt distruse tulpinile microbiene antibioterazistente și biofilmele bacteriene;
- (2) eliminarea bacteriilor are loc foarte rapid, în câteva minute sau chiar secunde;
- (3) TFDA are un spectru larg de acțiune asupra tuturor agenților patogeni microbieni;
- (4) în rezultatul efectuării TFD, se reduce numărul de bacterii patogene cu 92%-100%;
- (5) după efectuarea TFD, se atestă restabilirea echilibrului fiziologic între microflora aeobă și cea anaerobă a cavității bucale;
- (6) este exclusă posibilitatea dezvoltării tulpinilor microbiene rezistente;

ter using PDT, microorganisms in the oral biofilm that cause periodontal disease, tooth decay and other dental diseases are effectively and completely destroyed [131, 132, 143-145].

An increased sensitivity to PDT was detected in enterobacteria (54% of cases), non-hemolytic streptococci (45% of cases) and fungi. Thus, photodynamic therapy exerts an antibacterial effect on Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and fungi, equally causing the destruction of aerobic, anaerobic and facultative anaerobic microorganisms as well as anaerobic ones [131, 144-146].

In order to obtain the best results after PDT, it is important to take into account the conditions of application of photosensitizers: cell type to which PS binds, concentration at which PS exhibits maximum efficiency, wavelength and intensity of LED or laser irradiation necessary to activate the photosensitizer, PS solubility in fluids and surrounding lipids, and degree of PS ionization.

The advantage of applying PDT is the possibility of strictly localized annihilation of bacterial cells located both at the surface and in intercellular spaces without any adverse effects on adjacent areas [147]. An undeniable advantage of antimicrobial photodynamic therapy versus antibiotic therapy is multiple character of oxidative damage to target microbial cells, which prevents development of resistance to subsequent PDT sessions [82].

Thus, after analyzing literature sources, we highlighted the following advantages of applying antimicrobial photodynamic therapy in treatment of diseases of the oral cavity caused by biofilms in relation to application of antibacterial therapy:

- (1) APDT efficiency is not affected by sensitivity of pathogenic microorganisms to antibacterial preparations. Microbial strains and bacterial biofilms which exhibit antibiotic resistance are destroyed by APDT;
- (2) bacteria is eliminated very quickly, within minutes or even seconds;
- (3) APDT has a broad spectrum of activity against all microbial pathogens;
- (4) as a result of PDT application the number of pathogenic bacteria is reduced by 92%-100%;
- (5) physiological balance between oral aerobic and anaerobic microflora after PDT is restored;
- (6) the possibility of developing resistant microbial strains is excluded;
- (7) photosensitive substances applied in APDT do not exert cytotoxic activity without photoactivation, and do not exert mutagenic action, thus the probability of selecting resistant microbial strains is excluded;
- (8) antibacterial effect of APDT is not reduced over time, in case of repeated sessions;
- (9) bactericidal action of APDT is local and adjacent tissues are not affected;
- (10) APDT does not exert any harmful effect on saprophytic flora of the whole body, because no component of APDT exerts any systemic bactericidal effect or other destructive (cytotoxic or toxic) effects at macrolevel.

- (7) substanțele fotosensibile, utilizate în TFDA, nu exercită acțiune citotoxică fără fotoactivare, nu exercită acțiune mutagenă, fapt care exclude probabilitatea selectării tulpinilor microbiene rezistente;
- (8) efectul antibacterian al TFDA nu se reduce în timp, în cazul aplicării ședințelor repetate;
- (9) acțiunea bactericidă a TFDA are un caracter local și țesuturile adiacente nu sunt afectate;
- (10) TFDA nu exercită efect nociv asupra florei saprofite a întregului organism, datorită faptului că niciun component al TFDA nu exercită efect bactericid sistemic sau alte efecte distructive (citotoxic sau toxic) la nivel de macroorganism.

Concluzii

Aplicarea terapiei fotodinamice antimicrobiene în tratamentul maladiilor provocate de biofilme se datorează unui proces de interacționare a formelor active de oxigen și a radicalilor toxici cu factorii antistres ai bacteriilor, iar efectul ei poate fi diferit, în funcție de intensitatea generării formelor active de oxigen, activității proteinelor antistres, enzimelor antioxidante bacteriene și mulți alți factori. TFDA este o metodă de tratament care oferă numeroase avantaje: este o tehnică non-invazivă, fără sângerare, fără necesitatea aplicării anesteziei locale, poate fi aplicată în condiții de ambulator, poate fi repetată, neavând toxicitate cumulativă și timp de vindecare scurt. Este important de menționat faptul că în rezultatul terapiei fotodinamice sunt afectate numai celulele sensibilizate și nu sunt afectate țesuturile înconjurătoare.

Astfel, în viitorul apropiat, terapia fotodinamică poate deveni o alternativă eficientă a metodelor antibacteriene, tradiționale, de tratament.

Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

Referințe / references

1. Kostakioti M., Hadjifrangiskou M., Hultgren S. Bacterial Biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2013; 3(4): a010306. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3683961>.
2. Short F., Murdoch S., Ryan R. Polybacterial human disease: the ills of social networking. *Trends in Microbiology*, 2014; 22(9): 508-516. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4158425>.
3. Falsetta M., Klein M., Colonne P. *et al.* Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms *in vivo*. *Infection and Immunity*, 2014; 82(5): 1968-1981. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993459>.
4. Fontana C., Abernethy A., Som S. *et al.* The antibacterial effect of photodynamic therapy in dental plaque-derived biofilms. *Journal of Periodontal Research*, 2009; 44(6): 751-759. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2784141>.
5. Drlica K. Antibiotic resistance: can we beat the bugs? *Drug Discov Today*, 2001; 6: 714-715. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11445459?dopt=Abstract>.
6. Cunha B. Antibiotic resistance. Control strategies. *Crit. Care*

Conclusions

Application of anti-microbial photodynamic therapy in the treatment of diseases caused by biofilms is due to a process of interaction between the active forms of oxygen and the toxic radicals with anti-stress factors of the bacteria and its effect can be different depending on the intensity of the generation of active forms of oxygen, the activity of antistress proteins, bacterial antioxidant enzymes and many other factors. APDT is a therapeutic method that has numerous advantages: it is a non-invasive technique; there is no bleeding; there is no need for application of local anesthetic; it may be applied on an out-patient basis; it can be repeated; it has no cumulative toxicity; it requires short recovery time. It is important to note that as a result of photodynamic therapy only sensitized cells are affected while the surrounding tissues are not affected.

Thus, in the near future, photodynamic therapy can become an effective and progressive alternative to traditional antibacterial treatment methods.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

- Clin*, 1998; 14: 309-327. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9561819>.
7. Cassell G., Mekalanos J. Development of antimicrobial agents in the era of new and reemerging infectious diseases and increasing antibiotic resistance. *JAMA*, 2001; 285: 601-605. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11176866>.
8. Maisch T. A new strategy to destroy antibiotic resistant microorganisms: antimicrobial photodynamic treatment. *Mini Rev Med Chem*, 2009; 9(8): 974-83. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19601890>.
9. Bell S. Antibiotic resistance: is the end of an era near? *Neonatal Netw*, 2003; 22: 47-54. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14700181>.
10. Bush K., Courvalin P., Dantas G., Davies J., Eisenstein B., Huovinen P., Jacoby G., Kishony R., Kreiswirth B., Kutter E. Tackling antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*, 2011; 9: 894-896. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4206945>.
11. Yoshikawa T. Antimicrobial resistance and aging: beginning of the end of the antibiotic era? *J Am Geriatr Soc*, 2002; 50: 226-229. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12121517>.
12. Ehrlich P. Chemotherapeutic: scientific principles, methods and results. *Lancet*, 1913; 182 (4694): 445-451. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673601387056>.

13. Cervený K., DePaola A., Duckworth D., Gulig P. Phage therapy of local and systemic disease caused by *Vibrio vulnificus* in iron-dextran-treated mice. *Infect Immun*, 2002; 70: 6251-62. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC130292>.
14. Sajjan U., Tran L., Sole N. *et al.* P-113D, an antimicrobial peptide active against *Pseudomonas aeruginosa*, retains activity in the presence of sputum from cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45: 3437-3444. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90850>.
15. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) *J Antimicrob Chemother*, 1998; 42: 13-28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9700525>.
16. Ichinose-Tsuno, A., Aoki A., Takeuchi Y. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy suppresses dental plaque formation in healthy adults: a randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*, 2014; 14(1): 152-162. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4289549>.
17. Lupan I., Spinei A., Spinei I. Dental status of children in the Republic of Moldova. *BaSS 2011. 16th Congress of the Balkan Stomatological Society*. Bucharest, Romania, 2011: 202-203.
18. PubMed [Internet]. US National Library of Medicine. „PubMed.gov”. Disponibil la adresa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=antimicrobial+photodynamic+therapy+in+dentistry> Accesat pe: 08.02.2015.
19. Dougherty T., Gomer C., Henderson B., Jori G., Kessel D., Korbek M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst*, 1998; 12(90): 889-905. <http://jnci.oxfordjournals.org/content/90/12/889.full>.
20. Henderson B., Dougherty T. How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol*, 1992; 1(55):145-157. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1992.tb04222.x/pdf>.
21. James S., McCaughan Jr. Photodynamic therapy: a review. *Drugs Aging*, 1999; 1(15):49-68. <http://link.springer.com/article/10.2165%2F00002512-199915010-00005>.
22. Dolmans D., Fukumura D., Jain R. Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer*, 2003; 3(5): 380-387. <http://www.nature.com/nrc/journal/v3/n5/full/nrc1071.html>.
23. Hamblin M., Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci*, 2004; 5: 436-450. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2004/PP/b311900a#!divAbstract>.
24. Phillips D. Light relief: photochemistry and medicine. *Photochem Photobiol Sci*, 2010; 9: 1589-96. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2010/PP/c0pp00237b#!divAbstract>.
25. Brancalion L., Moseley H. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Lasers Med Sci*, 2002; 17(3): 173-86. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12181632>.
26. Pervaiz S. Reactive oxygen-dependent production of novel photochemotherapeutic agents. *FASEB J*, 2001; 15(3): 612-617. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11259379>.
27. Bergamini C., Gambetti S., Dondi A., Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des*, 2004; 10: 1611-1626. <http://www.eurekaselect.com/62681/article>.
28. Sharman W., Allen C., van Lier J. Role of activated oxygen species in photodynamic therapy. *Methods Enzymol*, 2000; 319: 376-400. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687900190378>.
29. Castano A., Demidova T., Hamblin M. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2004; 1: 279-293. [http://www.pdpdt-journal.com/article/S1572-1000\(05\)00007-4/abstract](http://www.pdpdt-journal.com/article/S1572-1000(05)00007-4/abstract).
30. Pervaiz S., Olivo M. Art and science of photodynamic therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006; 5-6 (33):551-556. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1681.2006.04406.x/full>.
31. Sibata C., Colussi V., Oleinick N., Kinsella T. Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. *Braz J Med Biol Res*, 2000; 33: 869-880. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X200000800002&lng=en&nrm=iso&tling=e.
32. Zorov B., Juhaszova M., Sollott S. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-induced ROS Release. *Physiological Reviews Published*, 2014; 3(94): 909-950. <http://physrev.physiology.org/content/94/3/909>.
33. Vermeersch G., Ronfard-Haret J., Bazin M., Carillet V., Morliere P., Santus R. Type I and type II photosensitization by the antibacterial drug nalidixic acid. A laser flash photolysis study. *Photochem Photobiol*, 1991; 54: 661-666.
34. Foote C. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem Photobiol* 1991; 54: 659. http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1751-1097.1991.tb02071.x?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1.
35. Strakhovskaya M., Shumarina A., Fraikin G., Rubin A. Synthesis of protoporphyrin IX induced by 5-aminolevulinic acid in yeast cells in the presence of 2,2'-dipyridyl. *Biokhimiya (Moscow)*, 1998;63: 725-728. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9668214>.
36. Strakhovskaya M., Ivanova E., Kolesnikova O., Fraikin G. Effect of 2,2'-dipyridyl on accumulation of protoporphyrin IX and its derivatives in yeast mitochondria and plasma membranes. *Biokhimiya (Moscow)*, 1999; 64: 213-216. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10187915>.
37. Strakhovskaya M., Shumarina A., Fraikin G., Rubin A. Endogenous porphyrin accumulation and photosensitization in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of 2,2'-dipyridyl. *J Photochem Photobiol B*, 1999; 49: 18-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10365443>.
38. Sakamoto F., Doukas A., Farinelli W., Tannous Z., Su Y., Smith N., Zurakowski D., Anderson R. Intracutaneous ALA photodynamic therapy: dose-dependent targeting of skin structures. *Lasers Surg Med*, 2011; 43(7): 621-631. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22057490>.
39. Alves E., Faustino M., Neves M., Cunha A., Tome J., Almeida A. An insight on bacterial cellular targets of photodynamic inactivation. *Future Med Chem*, 2014; 6(2): 141-164. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24467241>.
40. Banfi S., Caruso E., Buccafurni L. *et al.* Antibacterial activity of tetraaryl-porphyrin photosensitizers: an in vitro study on Gram negative and Gram positive bacteria. *J Photochem Photobiol B*, 2006; 85(1): 28-38. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16737820>.
41. Komerik N., Wilson M., Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol*, 2000; 72: 676-680. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11107854>.
42. Pereira M., Faustino M., Tomé J. *et al.* Influence of external bacterial structures on the efficiency of photodynamic inactivation by a cationic porphyrin. *Photochem Photobiol Sci*, 2014; 13: 680-690. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2014/PP/c3pp50408e#!divAbstract>.
43. Usacheva M., Teichert M., Biel M. Comparison of the methyle-

- ne blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. *Lasers Surg Med*, 2001; 29(2): 165-173. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11553906>.
44. Vladimirov Y, Olenev V, Suslova T, Cheremisina Z. Lipid peroxidation in mitochondrial membranes. *Adv Lipid Res*, 1980; 17: 173-249. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6992527>.
45. Nitzan Y, Gutterman M, Malik Z, Ehrenberg B. Inactivation of gram-negative bacteria by photosensitized porphyrins. *Photochem Photobiol*, 1992; 55: 89-96. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1534909>.
46. Ozkan E, Allan E, Parkin I. The antibacterial properties of light-activated polydimethylsiloxane containing crystal violet. *RSC Adv*, 2014; 4: 51711-51715. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2014/RA/C4RA08503E#!divAbstract>.
47. Redmond R, Gamlin J. A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. *Photochem Photobiol*, 1999; 70: 391-475. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1999.tb08240.x/abstract>.
48. Boegheim J, Dubbelman T, Mullenders L, Steveninck J. Photodynamic effects of haematoporphyrin derivative on DNA repair in murine L929 fibroblasts. *Biochem J*, 1987; 244(3): 711-715. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1148054>.
49. Moan J, Waksvik H, Christensen T. DNA single-strand breaks and sister chromatid exchanges induced by treatment with hematoporphyrin and light or by x-rays in human NHK 3025 cells. *Cancer Res*, 1980; 40(8 Pt1): 2915-18. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubme>.
50. Moan J, Boye E. Photodynamic effect on DNA and cell survival of human cells sensitized by hematoporphyrin. *Photobiophys*, 1981; 2: 301-307.
51. Moan J, Kvam E, Hovig E, Berg K. Effects of PDT on DNA and Chromosomes. *Photobiology*, 1991: 821-829. http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4615-3732-8_89.
52. El-Hussein A, Harith M, Abrahamse H. Assessment of DNA damage after photodynamic therapy using a metallophthalocyanine photosensitizer. *International Journal of Photoenergy*, 2012; Article ID 281068, 10 pages. <http://www.hindawi.com/journals/ijp/2012/281>.
53. Fonseca A, Moreira T, Paixão D, Farias F, Guimarães O, Paoli S, Geller M, Paoli F. Effect of laser therapy on DNA damage. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2010; 42(6): 481-488.
54. Kota S, Charaka V, Ringgaard S, Waldor M, Misra H. PprA contributes to *Deinococcus radiodurans* resistance to nalidixic acid, genome maintenance after DNA damage and interacts with deinococcal topoisomerases. *PLoS ONE*, 2014; 9(1): e85288. doi:10.1371/journal.pone.0085288. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3893189>.
55. Tavares A, Carvalho C, Faustino M. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy: study of bacterial recovery viability and potential development of resistance after treatment. *Mar Drugs*, 2010; 8: 91-105. www.mdpi.com/journal/marinedrugs.
56. Bertoloni G, Lauro F, Cortella G, Merchat M. Photosensitizing activity of hematoporphyrin on *Staphylococcus aureus* cells. *Biochim Biophys Acta*, 2000; 1475: 169-174. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10832032>.
57. Menezes S, Capella M, Caldas L. Photodynamic action of methylene blue: repair and mutation in *Escherichia coli*. *J Photochem Photobiol B*, 1990; 5: 505-517. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2142960>.
58. Capella M, Coelho A.M., Menezes S. Effect of glucose on photodynamic action of methylene blue in *Escherichia coli* cells. *Photochem Photobiol*, 1996; 64: 205-210. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8787015>.
59. Tuchin V, Genina E, Bashkatov A, Simonenko G, Odoevskaya O, Altshuler G. A pilot study of ICG laser therapy of acne vulgaris: photodynamic and photothermolysis treatment. *Lasers in surgery and medicine*, 2003; 33(5): 296-310. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lsm.10211/abstract>.
60. Mroz P, Tegos G, Gali H, Wharton T, Sarna T, Hamblin M. Photodynamic therapy with fullerenes. *Photochem Photobiol Sci*, 2007; 6: 1139-1149. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2007/PP/b711141j#!divAbstract>.
61. van Duijnhoven F, Aalbers R, Rovers J, Terpstra O, Kuppen P. The immunological consequences of photodynamic treatment of cancer, a literature review. *Immunobiology*, 2003; 207(2): 105-113. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12675268>.
62. Krasnovsky A, Drozdova N, Ivanov A, Ambartsumian R. Activation of molecular oxygen by infrared laser radiation in pigment-free aerobic systems. *Biochem (Moscow)*, 2003; 68: 963-966. <http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1026052310563>.
63. Antunes F, Salvador A, Marinho H, Alves R, Pinto R. Lipid peroxidation in mitochondrial inner membranes. I. An integrative kinetic model. *Free Radic Biol Med*, 1996; 21(7): 917-943. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8937879>.
64. Vassiliev N, Ogirenko A. Antimicrobial photodynamic therapy. *Laser medicine*, 2002; 6(1): 32-38. <http://www.atcus.ru/upload/failed/public/publik%20until%202008/6%281%29%2032.pdf>.
65. Hongcharu W, Taylor C, Chang Y. *et al.* Topical ALA-photodynamic therapy for the treatment of *acne vulgaris*. *J Invest Dermatol*, 2000; 115: 183-92. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10951234>.
66. Malik Z, Hanania J, Nitzan Y. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins – an alternative approach to antimicrobial drugs. *J Photochem Photobiol B*, 1990; 5: 281-293. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2115912>.
67. Malik Z, Hanania J, Nitzan Y. New trends in photobiology bactericidal effects of photoactivated porphyrins – an alternative approach to antimicrobial drugs. *J Photochem Photobiol B*, 1990; 5(3-4): 281-294. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/211591>.
68. Shah H, Bonnett R, Mateen B. *et al.* The porphyrin pigmentation of subspecies of *Bacteroides melaninogenicus*. *Biochemical Journal*, 1979; 180(1): 45-50. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/39545>.
69. Asimov M. The biomedical effect of laser-induced photodissociation of oxyhemoglobin *in vivo*. *Optics and Spectroscopy*, 2013, 115(5): 774-778. <http://link.springer.com/article/10.1134%2FS0030400X13110027>.
70. Shah H, Williams R, Bowden G, Hardie J. Comparison of the biochemical properties of *Bacteroides melaninogenicus* from human dental plaque and other sites. *J Appl Bacteriol*, 1976; 41(3): 473-495. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14095>.
71. Moan J, Streckyte G, Bagdonas S, Bech O, Berg K. Photobleaching of protoporphyrin IX in cells incubated with 5-aminolevulinic acid. *Int J Cancer*, 1997; 70: 90-97. [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19970106\)70:1%3C90::AID-IJC14%3E3.0.CO;2-H/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0215(19970106)70:1%3C90::AID-IJC14%3E3.0.CO;2-H/abstract).
72. Feuerstein O, Ginsburg I, Dayan E, Veler D, Weiss E. Mechanism of visible light phototoxicity on *Porphyromonas gingivalis*. *Photochemistry and Photobiology*, 2005; 81(5): 1186-1189. <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1562/2005-04-06-RA-477>.

73. Moan J. On the diffusion length of singlet oxygen in cells and tissues. *J Photochem Photobiol B*, 1990; 6(3): 343-344. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/1011134490851045>.
74. Niedre M., Patterson M., Wilson B. Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells in vitro and tissues in vivo. *Photochem Photobiol*, 2002; 75(4): 382-391. [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1562/0031-8655\(2002\)0750382DNILD02.0.CO2;abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1562/0031-8655(2002)0750382DNILD02.0.CO2;abstract).
75. Bilski P., Li M., Ehrenshaft M., Daub M., Chignell C. Vitamin B6 (pyridoxine) and its derivatives are effective singlet oxygen quenchers and potential fungal antioxidants. *Photochem Photobiol*, 2000; 71: 129-134. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10687384>.
76. Fomichev A., Chudoba V., Egorova I. *et al.* Isovector soft dipole mode in 6Be. *Physics Letters B*, 2012; 708: 6-13 http://ac.elsa-cdn.com/S0370269312000068/1-s2.0-S0370269312000068-main.pdf?_tid=43eee77e-af5e-11e4-b872-00000aabb0f6b&acdnat=1423378193_e7d-76312691c5e289b57dc75367020e7.
77. Schneider J., Phillips J., Pye Q., Maitt M., Price S., Floyd R. Methylene blue and rose bengal photoinactivation of RNA bacteriophages: comparative studies of 8-oxoguanine formation in isolated RNA. *Arch Biochem Biophys*, 1993; 301: 91-97. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8382909>.
78. Schneider J., Pye Q., Floyd R. Q beta bacteriophage photoinactivated by methylene blue plus light involves inactivation of its genomic RNA. *Photochem Photobiol*, 1999; 70(6): 902-909. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10628301>.
79. Szocs K., Gabor F., Csik G., Fidy J. δ -Aminolaevulinic acid-induced porphyrin synthesis and photodynamic inactivation of *Escherichia coli*. *J Photochem Photobiol B*, 1999; 50:8-17.
80. Fotinos N., Convert M., Piffaretti J., Gurny R., Lange N. Effects on Gram-negative and Gram-positive bacteria mediated by 5-aminolevulinic acid and 5-aminolevulinic acid derivatives. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52(4): 1366-1373. <http://aac.asm.org/content/52/4/1366.full>.
81. Malik R., Manocha A., Suresh D. Photodynamic therapy - a strategic review. *Indian J Dent Res*, 2010; 21(2): 285-291. <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2010;volume=21;issue=2;spage=285;epage=291;aulast=Malik>.
82. Jori G., Brown S. Photosensitized inactivation of microorganisms. *Photochem Photobiol Sci*, 2004; 3: 403-405. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15122355>.
83. Jori G., Fabris C., Soncin M., Ferro S., Coppellotti O., Dei D. *et al.* Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med*, 2006; 38: 468-481. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16788934>.
84. Dahl T., Midden W., Hartman P. Comparison of killing of gram-negative and gram-positive bacteria by pure singlet oxygen. *J Bacteriol*, 1989; 171(4): 2188-2194. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC209876>.
85. Dougherty T. An update on photodynamic therapy applications. *J Clin Laser Med Surg*, 2002; 20: 3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11902352>.
86. Soukos N., Hamblin M., Hasan T. The effect of charge on cellular uptake and phototoxicity of polylysine chlorin e6 conjugates. *Photochem Photobiol*, 1997; 65: 723-729. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9114750>.
87. Rovaldi C., Pievsky A., Sole N., Friden P., Rothstein D., Spacciapoli P. Photoactive porphyrin derivative with broad-spectrum activity against oral pathogens *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000; 44: 3364-3367. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
88. Polo L., Segalla A., Bertoloni G., Jori G., Schaffner K., Reddi E. Polylysine-porphycene conjugates as efficient photosensitizers for the inactivation of microbial pathogens. *J Photochem Photobiol B*, 2000; 59: 152-158. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11332884>.
89. Lauro F., Pretto P., Covolo L., Jori G., Bertoloni G. Photoinactivation of bacterial strains involved in periodontal diseases sensitized by porphycene-polylysine conjugates. *Photochem Photobiol Sci*, 2002; 1: 468-470. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12659156>.
90. Hamblin M., O'Donnell D., Murthy N. *et al.* Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 2002; 49: 941-951. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12039886>.
91. Demidova T., Hamblin M. Macrophage-targeted photodynamic therapy. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2004; 17: 117. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3071048>.
92. Kochevar I. Singlet oxygen signaling: from intimate to global. *Sci STKE*, 2004: 221. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14983102>.
93. Moan J., Berg K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochem Photobiol*, 1991; 53(4): 549-553. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1991.tb03669.x/abstract>.
94. Bonnett R., Martinez G. Photobleaching of sensitizers used in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, 2001; 57(47): 9513-9574. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402001009528>.
95. Bagdonas S., Ma L., Iani V., Rotomskis R., Juzenas P., Moan J. Phototransformations of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX *in vitro*: a spectroscopic study. *Photochem Photobiol*, 2000; 72(2): 186-192. <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1562/0031-8655%282000%29072%3C0186%3APOA AIP%3E2.0.CO%3B2>.
96. Ericson M., Grapengiesser S., Gudmundson F., Wennberg A., Laroko O., Moan J., Rosen A. A spectroscopic study of the photobleaching of protoporphyrin IX in solution. *Lasers Med Sci*, 2003; 18(1): 56-62. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10103-002-0254-2>.
97. Kessel D. Relocalization of cationic porphyrins during photodynamic therapy. *Photochem Photobiol Sci*, 2002; 1(11): 837-840. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2002/PP/b206046a#!divAbstract>.
98. Ruck A., Beck G., Bachor R. *et al.* Dynamic fluorescence changes during photodynamic therapy in vivo and in vitro of hydrophilic A1(III) phthalocyanine tetrasulphonate and lipophilic Zn(II) phthalocyanine administered in liposomes. *J Photochem Photobiol B*, 1996; 36(2): 127-133. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134496073599>.
99. Schafer M., Schmitz C., Facius R. *et al.* Systematic study of parameters influencing the action of Rose Bengal with visible light on bacterial cells: comparison between the biological effect and singlet-oxygen production. *Photochem Photobiol*, 2000; 71: 514-523. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10818781>.
100. Abels C. Targeting of the vascular system of solid tumours by photodynamic therapy (PDT). *Photochem Photobiol Sci*, 2004; 3: 765-771. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?filters=&orig_db=PubMed&cmd=Search&term=Photochem%20Photobi

- ol%20Sci%5Bjour%5D%20AND%203%5Bvolume%5D%20AND%20765%5Bpage%5D.
101. Wilson M., Dobson J., Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol*, 1992; 25(2): 77-81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1369193>.
 102. Wilson M., Burns T., Prarten J. Killing of *Streptococcus sanguis* in biofilms using a light-activated antimicrobial agent. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1996; 37: 377-381. <http://jac.oxfordjournals.org/content/37/2/377.full.pdf>.
 103. Wilson M., Mia N. Sensitisation of *Candida albicans* to killing by low-power laser light. *J Oral Pathol Med*, 1993; 22(8): 354-357. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7506775>.
 104. Araghizaden A., Fani M., Kohanteb Y., Khojastehpour L. Antibacterial effects of Ga-As laser with toluidine blue on oral microorganism. *Medical Journal of Hormozgan University*, 2005; 9(2): 119-124. <http://en.journals.sid.ir/ViewPaper.aspx?ID=73563>.
 105. Millson C., Thurrell W., Buonaccorsi G. *et al.* The effect of low-power laser light at different doses on gastric mucosa sensitized with methylene blue, haematoporphyrin derivative or toluidine blue. *Lasers in Medical Science*, 1997; 12(2): 145-150. <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02763984>.
 106. Zeina B., Greenman J., Purcell W., Das B. Killing of cutaneous microbial species by photodynamic therapy. *Br J Dermatol*, 2001; 144(2): 274-278. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11251558>.
 107. Peloi L., Soares R., Biondo C., Souza V., Hioka N., Kimura E. Photodynamic effect of light-emitting diode light on cell growth inhibition induced by methylene blue. *Journal of Biosciences*, 2008; 33(2): 231-237. http://www.researchgate.net/publication/5320946_Photodynamic_effect_of_light-emitting_diode_light_on_cell_growth_inhibition_induced_by_methylene_blue.
 108. Usacheva M., Teichert M., Biel M. The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes. *Lasers Surg Med*. 2003; 33(5): 311-319. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14677158>.
 109. Sperandio F., Huang Y., Hamblin M. Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent Pat Antinfect Drug Discov*, 2013; 8(2): 108-120. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3740068>.
 110. Allaker R., Douglas C. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimicrob Agents*, 2009; 33(1): 813-813. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18804350>.
 111. Dai T., Huang Y., Hamblin M. Photodynamic therapy for localized infections-state of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2009; 6: 170-188. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2811240>.
 112. Wilson M. Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases. *Int Dent J*, 1994; 44: 181-189. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8063441>.
 113. Sperandio F., Marotti J., Aranha A., de Eduardo C. Photodynamic therapy for the treatment of recurrent herpes labialis: preliminary results. *Gen Dent*, 2009; 57: 415-419. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19903625>.
 114. Marotti J., Sperandio F., Fregnani E., Aranha A., de Freitas P., de Eduardo C. High-intensity laser and photodynamic therapy as a treatment for recurrent herpes labialis. *Photomed Laser Surg*, 2010; 28: 439-444. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19821702>.
 115. Sperandio F., Simoes A., Aranha A., Correa L., Orsini Machado de Sousa S. Photodynamic therapy mediated by methylene blue dye in wound healing. *Photomed Laser Surg*. 2010; 28: 581-587. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20961226>. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20961226>.
 116. Garcez A., Ribeiro M., Tegos G. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. *Lasers Surg Med*, 2007; 39: 59-66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3071045>.
 117. Foschi F., Fontana C., Ruggiero K. *et al.* Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals *in vitro*. *Lasers Surg Med*, 2007; 39: 782-787. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18081066>.
 118. Garcez A., Nuñez S., Hamblin M., Ribeiro M. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod*, 2008; 34: 138-142. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2808698>.
 119. Bonsor S., Nichol R., Reid T., Pearson G. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an *in vivo* study). *Br Dent J*, 2006; 25: 337-341. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16568063>.
 120. Stefano Perni S., Prokopovich P., Pratten J., Parkin I., Wilson M. Nanoparticles: their potential use in antibacterial photodynamic therapy. *Photochem Photobiol Sci*, 2011; 10: 712-720. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2011/PP/c0pp00360c>.
 121. Firey P., Rodgers M. Photo-properties of a silicon naphthalocyanine: a potential photosensitizer for photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 1987; 45: 535-538. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1987.tb05414.x/abstract>.
 122. Chatterjee D., Fong L., Zhang Y. Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008; 60: 1627-1637. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18930086>.
 123. König K., Teschke M., Sigusch B., Glockmann E., Eick S., Pfister W. Red light kills bacteria via photodynamic action. *Cell Mol Biol (Paris)*, 2000; 46: 1297-1303. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11075959>.
 124. Alves E., Costa L., Carvalho C. M. *et al.* Charge effect on the photoinactivation of Gram-negative and Gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins. *BMC Microbiol*, 2009; 9: 70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2672088>.
 125. König K., Schneckenburger H., Ruck A., Steiner R. *In vivo* photoproduct formation during PDT with ALA-induced endogenous porphyrins. *J Photochem Photobiol B*, 1993; 18(2-3): 287-290. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/101113449380077M>.
 126. Wang H., Zhu T., Putt M. *et al.* Broadband reflectance measurements of light penetration, blood oxygenation, hemoglobin concentration, and drug concentration in human intraperitoneal tissues before and after photodynamic therapy. *J Biomed Opt*, 2005; 10: 14004. <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?articleid=1101894>.
 127. Dolgachev V., Oberley L., Huang T. *et al.* A role for manganese superoxide dismutase in apoptosis after photosensitization. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005; 332(2): 411-417. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15894290>.
 128. Kulinsky V. Biochemical aspects of inflammation. *Biochemistry*, 2007; 72(6): 595-607. <http://link.springer.com/article/10.1134%2FS0006297907060028>.
 129. Alexiades-Armenakas M., Geronemus R. Laser-mediated photodynamic therapy of actinic keratoses. *Arch Dermatol*, 2003; 139(10): 1313-1320. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14568836>.
 130. Klepac-Ceraj V., Patel N., Song X. *et al.* Photodynamic effects of methylene blue-loaded polymeric nanoparticles on dental plaque bacteria. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2011;

- 43(7): 600-606. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3211097>.
131. Wilson M. Lethal photosensitization of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. *Photochem Photobiol Sci*, 2004; 3: 412-418. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15122357>.
 132. Williams J, Pearson G, Colles M, Wilson M. The effect of variable energy input from a novel light source on the photoactivated bactericidal action of toluidine blue O on *Streptococcus mutans*. *Caries Res*, 2003; 37: 190-193. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12740542>.
 133. Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque samples from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 1993; 28: 204-210. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8388448>.
 134. Metcalf D, Robinson C, Devine D, Wood S. Enhancement of erythrosine-mediated photodynamic therapy of *Streptococcus mutans* biofilms by light fractionation. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 58: 190-192. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16735434>.
 135. Wood S, Metcalf D, Devine D, Robinson C. Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 57: 680-684. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16464894>.
 136. Zanin I, Lobo M, Rodrigues L. *et al.* Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. *Eur J Oral Sci*, 2006; 114: 64-69. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16460343>.
 137. Zanin I, Goncalves R, Junior A, Hope C, Pratten J. Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an *in vitro* study. *J Antimicrob Chemother*, 2005; 56: 324-330. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15983029>.
 138. Soukos N, Socransky S, Mulholland S, Lee S, Doukas A. Photomechanical drug delivery into bacterial biofilms. *Pharm Res*, 2000; 17: 405-409. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10870983>.
 139. Soukos N, Mulholland S, Socransky S, Doukas A. Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photomechanical waves in an oral biofilm model. *Lasers Surg Med*, 2003; 33: 161-168. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12949945>.
 140. Socransky S, Smith C, Martin L, Paster B, Dewhirst F, Levin A. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*, 1994; 17: 788-792. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7833043>.
 141. Wood S, Nattress B, Kirkham J. *et al.* An in vitro study of the use of photodynamic therapy for the treatment of natural oral plaque biofilms formed *in vivo*. *J Photochem Photobiol B*, 1999; 50: 1-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10443029>.
 142. Qin Y, Luan X, Bi L, He G, Bai X, Zhou C, Zhang Z. Toluidine blue-mediated photoinactivation of periodontal pathogens from supragingival plaques. *Lasers Med Sci*, 2008; 23: 49-54. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17361390>.
 143. Baptista A, Kato I, Prates R. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy as a strategy to arrest enamel demineralization: a short-term study on incipient caries in a rat model. *Photochem Photobiol*, 2012; 88(3): 584-589.
 144. Suci P, Kang S, Gmür R, Douglas T, Young M. Targeted delivery of a photosensitizer to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* biofilm. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54(6): 2489-2496. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2876373>.
 145. Rolim J, de-Melo M, Guedes S. *et al.* The antimicrobial activity of photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* using different photosensitizers. *J Photochem Photobiol B*. 2012; 106: 40106:46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22070899>.
 146. Drulis-Kawa Z, Bednarkiewicz A, Bugla-Płoskonska G, Streck W, Doroszkiewicz W. The susceptibility of anaerobic bacteria isolated from periodontal diseases to photodynamic inactivation with Fotolon (chlorin e6). *Pol J Microbiol*, 2005; 54(4): 305-310. http://www.researchgate.net/publication/7181092_The_susceptibility_of_anaerobic_bacteria_isolated_from_periodontal_diseases_to_photodynamic_inactivation_with_Fotolon_%28chlorin_e6%29.
 147. Mang T, Tayal D, Baier R. Photodynamic therapy as an alternative treatment for disinfection of bacteria in oral biofilms. *Lasers Surg Med*, 2012; 44(7): 588-596. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22847720>.



centrul stomatologic

vivodent

TRĂIEȘTE ZÎMBIND!

- Igiena bucală
- Terapie
- Restaurare estetică
- Protezare
- Ortodonție
- Viziografie/OPG(digital)
(Rentghen diagnostic)
- Chirurgie/Implantologie
- Parodontologie



str. București, 13/1
www.vivodent.md

e-mail: receptie@vivodent.md

<https://www.facebook.com/CentrulStomatologicVivodent>

Centrul Stomatologic Vivodent

tel.: 022 54 64 00

mob.: 079 523 377



Copacul înmugurit vestește nu doar primăvara

Victor Botnaru¹, Oxana Munteanu*¹, Dumitru Chesov¹

¹Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Departamentul Medicină Internă, Disciplina Pneumologie și Alergologie, Chișinău, Republica Moldova

Autor corespondent:

Dr. Oxana Munteanu

Disciplina Pneumologie și Alergologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165

Chișinău, MD-2004, Republica Moldova

e-mail: obarbieru@yahoo.com

Dedicat Zilei Mondiale a Tuberculozei

Pacienta N., în vârstă de 34 de ani, anterior sănătoasă, căsătorită, mamă a unui copil de 4 ani, manager într-o companie de tehnologii informaționale. În luna noiembrie 2013, a fost diagnosticată cu pneumonie comunitară pe stânga, complicată cu pleurezie (Figura 1 A, B), pentru care urmasse tratament antibacterian la domiciliu, cu efect clinic pozitiv și resorbție incompletă la radiografia toracelui (Figura 1 C). Modificările la tomografia computerizată de rezoluție înaltă (HRCT) la acel moment (Figura 1 D, E, F) au fost interpretate ca și resorbție incompletă a infiltrației pneumonice cu o ușoară îngroșare pleurală. Fără a efectua teste microbiologice, a fost decisă supravegherea clinică și examinarea imagistică ulterioară. La 3 luni de la finalizarea tratamentului antibacterian, se atestă persistența modificărilor la HRCT, cu o ușoară extindere (Figura 1 G, H). În acest context, a fost indicat examenul sputei pentru *Mycobacterium tuberculosis* – microscopia la BAAR, testul molecular genetic Xpert MTB RIF, culturile pe mediu lichid (MGIT) și solid Lowenstein-Jensen (LJ) – toate testele cu rezultat negativ. Biopsia transbronșică din bronhia segmentului 6 pe stânga a oferit piesă histologică cu țesut pulmonar intact. La acel moment, decisă continuarea supravegherii și repetarea HRCT după alte 6 luni (9 luni de la debut). Finalmente, HRCT a fost repetată la 12 luni de la debutul bolii și a evidențiat extinderea leziunilor pulmonare (Figura 1 I), dar fără modificări patologice la examenul obiectiv și cu rezultate ale examenelor biologice și biochimice standard în limite normale. Și la această etapă, microscopia la BAAR și testul Xpert MTB RIF al specimenelor de spută erau negative, deși pacienta acuza astenie și transpirații nocturne pe parcursul ultimelor 4 luni.

Tree in bud heralds not only the spring

Victor Botnaru¹, Oxana Munteanu*¹, Dumitru Chesov¹

¹„Nicolae Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy, Department of Internal Medicine, Division of Pneumology and Allergology, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author:

Dr. Oxana Munteanu

Division of Pneumology and Allergology

„Nicolae Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy

bd. Stefan cel Mare si Sfânt, 165

Chisinau, MD-2004, Republic of Moldova

e-mail: obarbieru@yahoo.com

Dedicated to World Tuberculosis Day

Patient N., 34 year old woman, previously healthy, married, mother of a 4 year old child, hired as manager in an IT company. In November 2013 was diagnosed with left site community acquired pneumonia (CAP) complicated by pleurisy (Figure 1 A, B). On outpatient antibiotic treatment clinical improvement and incomplete chest X-ray resolution were obtained (Figure 1 C). High resolution computed tomography (HRCT) abnormalities detected at this point (Figure 1 D, E, F) were attributed to resolution stage of CAP. Without ordering additional microbiological tests clinical and imaging follow up was recommended. The chest HRCT performed at 3 months after completion of antibiotic treatment shown persistence of the previous lesions with slight extension (Figure 1 G, H). Considering that, sputum tests for *Mycobacterium tuberculosis* – sputum smear, molecular genetic test Xpert MTB/RIF and culture on liquid (MGIT) and solid Lowenstein-Jensen (LJ) media were ordered. However negative results for all of them were obtained. Transbronchial biopsy through S6 left bronchus provided a normal lung tissue sample. At that point continuation of clinical follow up with HRCT reassessment 6 months later on was recommended (at the 9th month from the onset of the disease). Finally HRCT was repeated at 12 months from the onset of the disease. That shown, extension of the pulmonary lesions (Figure 1 I) without any abnormalities on physical examination, as well as a normal complete blood count and standard biochemical blood tests. Reassessment of sputum smear for acid-fast bacilli and Xpert MTB/RIF provided negative results, although patient was complaining for asthenia and night sweats during the last 4 months.

Întrebări

- (1) Ce semn/pattern imagistic este prezent pe imaginile de tomografie computerizată?
- (2) Care este substratul morfologic al acestui semn imagistic?
- (3) Ce etiologii ascunde un astfel de pattern imagistic?
- (4) Ce alte semne imagistice de bronșiolită cunoașteți?
- (5) Care ar fi cauza mai probabilă a modificărilor imagistice în cazul prezentat?

Questions

- (1) What imaging sign/pattern appears on HRCT images?
- (2) Which are the morphological abnormalities corresponding to this imaging sign?
- (3) What are the underlying etiologies for this pattern?
- (4) Which other imaging sign of bronchiolitis do you know?
- (5) What is the most probable etiology of the imaging abnormalities in the presented case?

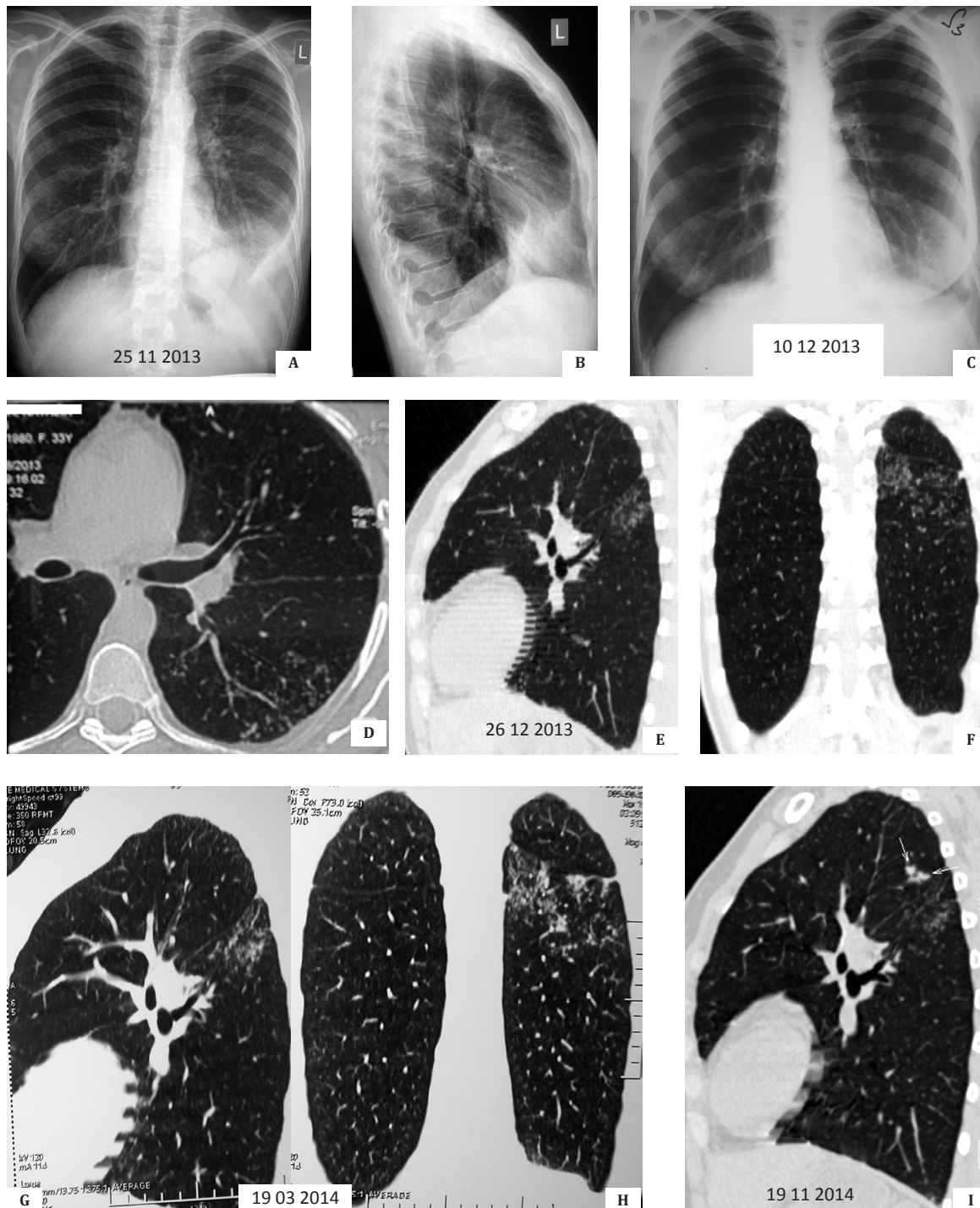


Fig. 1 A-I Imaginile aferente cazului prezentat
Fig. 1 A-I Chest X-ray and HRCT images of the presented case

(1) Semnul „copacului înmugurit” („ramului înmugurit”). Definește noduli pulmonari mici (2-4 mm în diametru), periferici (3-5 mm de la suprafața pleurei), bine definiți (cu margini clare), localizați centrilobular, adiacent opacităților liniare ramificate cu diametru similar, emergente dintr-un singur peduncul [1, 2]. Patternul „copacului înmugurit” este identificat prin computer tomografie de rezoluție înaltă, fiind nedetectabil prin radiografie toracică [1].

(2) Semnul imagistic de „copac înmugurit” reflectă umplerea lumenului bronhiolilor cu mucus, puroi sau lichid, ceea ce face vizibil traiectul ramificat al căilor respiratorii terminale, invizibile în situația de normă. Suplimentar, bronhiolile devin vizibile datorită dilatării și îngroșării pereților acestora [3].

(3) Inițial descris în cazurile cu desiminație endobronșică a *Mycobacterium tuberculosis*, actualmente, semnul „ramului înmugurit” este recunoscut drept manifestare imagistică nespecifică a unui spectru larg de nosologii manifestate prin leziunea căilor respiratorii periferice (bronșiolită), mai frecvent – de etiologie infecțioasă (bacteriană – Figura 2, fungică, virală, sau parazitară), dar și de cauze genetice (fibroza chistică), afecțiuni idiopatice (bronșiolită obliterantă, panbronșiolită), leziuni prin aspirație sau inhalare, afecțiuni imunologice sau cele ale țesutului conjunctiv. La fel, modificările de tip „ram

(1) Tree in bud sign; the radiological sign consists of peripheral (within 3-5 mm of pleural surface), small (2-4 mm in diameter), centrilobular and well defined nodules connected to linear branching opacities of similar caliber originating from a single stalk [1, 2]. The tree in bud pattern is especially visible on HRCT and it is not present on chest radiography [1].

(2) The tree in bud sign reveals bronchiolar luminal impaction with mucus, pus, or fluid which depicts the normally invisible branching course of the peripheral airways. Also dilation and thickening of the peripheral airways walls make them visible [3].

(3) Described initially as a sign of endobronchial dissemination of *Mycobacterium tuberculosis*, currently the tree in bud pattern is recognized as a nonspecific sign of a large spectrum of conditions which cause lesions of peripheral airways (bronchiolitis) most common of infectious cause (bacterial – Figure 2, viral, fungal, or parasitic), but also genetic (cystic fibrosis), idiopathic disease (bronchitis obliterans, panbronchiolitis), inhalation or aspiration, immunological or connective tissue disorders. Also tree in bud pattern was described in neoplastic pulmonary embolism/metastasis [1, 4].

(4) Centrilobular nodules, mosaic ground glass attenuation, air trapping, bronchiolectasis [2, 5].

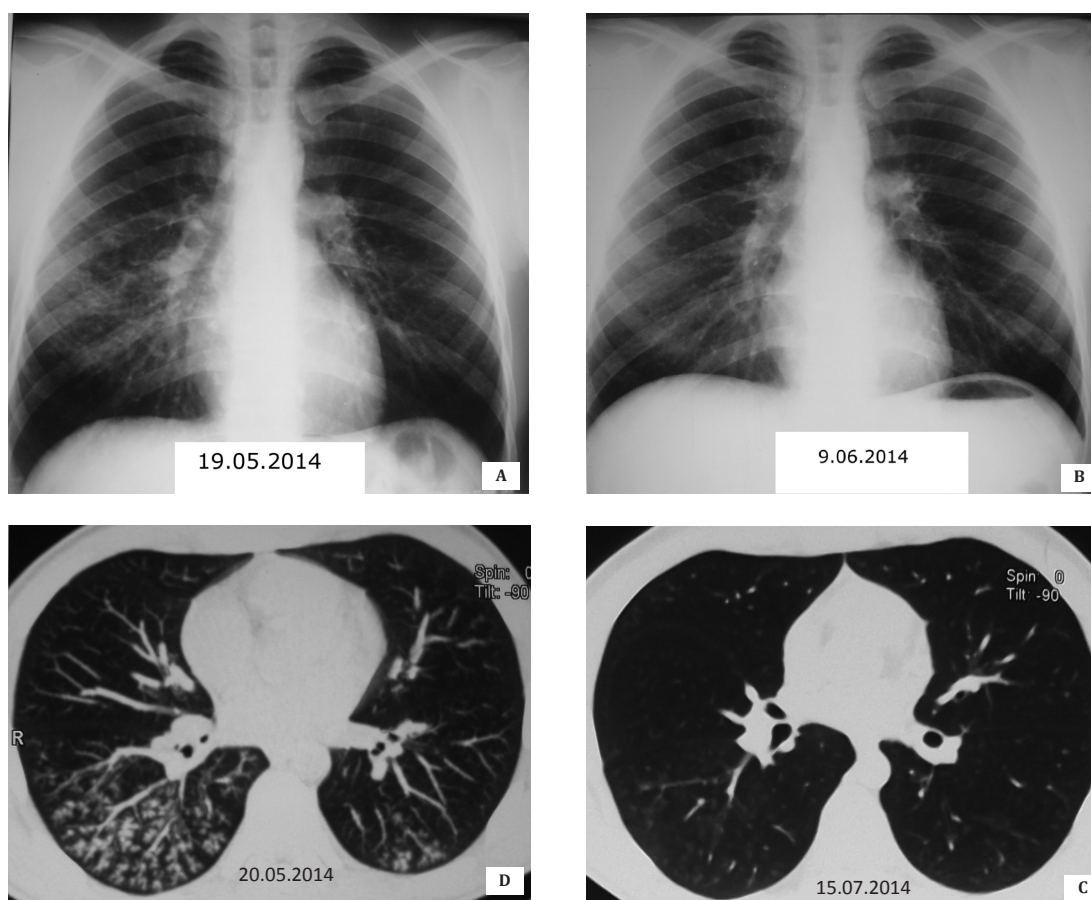


Fig. 2 Aspect radiografic și HRCT al bronșiolitei infecțioase prin *Mycoplasma pneumoniae* la un pacient de 21 de ani, rezolvată după o cură de tratament antibacterian cu macrolidice.

Fig. 2 Chest X ray and HRCT appearance in infectious bronchiolitis caused by *Mycoplasma pneumoniae* in 21 year old patient, before and after a course of macrolides.

în mugurit” au fost descrise în embolizările/metastazările pulmonare neoplastice [1, 4].

(4) Noduli pulmonari centrilobulari, imagine de tip “sticlă mată” cu distribuție în mozaic, capturarea aerului (l. engl. *air trapping*), bronșioloectazii [2, 5].

(5) Luând în considerație tabloul HRCT repetate, care atestă progresarea procesului pulmonar, manifestată prin apariția de noduli centrilobulari noi, creșterea în diametru a celor existenți anterior, de rând cu persistența simptomelor de astenie și transpirații nocturne, chiar și în pofida rezultatelor negative repetate a bateriei de teste microbiologice pentru *Mycobacterium tuberculosis* (BAAR, Xpert, MGIT, LJ), a fost stabilit diagnosticul de tuberculoză pulmonară infiltrativă. Implicit, a fost inițiat tratament antituberculos standard cu patru preparate (izoniazidă, rifampicină, pirazinamidă, etambutol), fiind înregistrată o dinamică pozitivă clinic și radiografic în lunile următoare.

Stabilirea diagnosticului de tuberculoză în lipsa confirmării microbiologice sau morfologice, ci doar în baza raționamentului clinic al medicului, este o realitate cunoscută, acceptată de ghidurile internaționale și locale în vigoare. Decizia pozitivă despre diagnosticul de tuberculoză este urmată, obligatoriu, de inițierea tratamentului antituberculos [6, 7].

(5) Considering the repeated chest HRCT results, showing progression of the pulmonary lesions manifested by the appearance of new pulmonary centrilobular nodules, associated with the persistent complains for asthenia and night sweats, despite the negative results of the battery of the microbiological test for *Mycobacterium tuberculosis* (sputum smear, Xpert, MGIT, LJ) pulmonary tuberculosis was diagnosed. Consequently standard treatment with four drugs (isoniazide, rifampicine, pyrazinamide, ethambutol) was started. A clinical and chest X ray improvement was observed, during the following months.

Diagnosis of tuberculosis in absence of microbiological or morphological evidence relying only on the physician’s opinion is a common fact accepted by current international and local guidelines. However the positive decision about the tuberculosis should be always followed by tuberculosis treatment initiation [6, 7].

Referințe / references

- Rossi S., Franquet T., Volpacchio M., Gimenez A., Aguilar G. Tree-in-bud pattern at thin-section CT of the lungs: radiologic-pathologic overview. *Radiographics*, 2005; 25: 789-801.
- Hansell D., Bankier A., MacMahon H., McLoud T., Muller N. *et al.* Fleischner Society: glossary of terms for thoracic imaging. *Radiology*, 2008; 246: 697-722.
- Eisenhuber E. The tree-in-bud sign. *Radiology*, 2002; 222: 771-772.
- Miller W. T. Jr., Panosian J. S. Causes and imaging patterns of tree-in-bud opacities. *Chest*, 2013; 144: 1883-1892.
- Botnaru V., Munteanu O. Imagistica toraceului în cazuri clinice comentate. Chișinău, 2012.
- World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines – 4th ed. Geneva, 2010.
- Domente L., Alexandru S., Iavorschi C., Sain D., Nalivaico N. *et al.* Protocol Clinic Național Tuberculoza la adult. Chișinău, 2012.

Anestezia cu flux redus, explicată simplu

Mult stimat Redactor,

În articolul meu din numărul precedent al revistei, am omis un paragraf din cauze tehnice [1]. Deși, acest fapt nu are niciun impact asupra înțelegerii textului, cu scopul de a oferi cititorilor o informație mai completă, vă rog să introduceți această completare în calitate de ultimul paragraf, înaintea „*Declarației de conflict de interes*”:

„*Vorbind de cunoștințe teoretice, cititorului îi sunt oferite trei referințe care conțin informații importante pentru înțelegerea anesteziei cu flux redus*”.

Iar la capitolul „*Referințe*” vă rog să adăugați:

Philip J. H. Kinetics of inhaled anesthetics. In: Miller R. D., Litchtor J. L. (eds.) Atlas of anesthesia. Preoperative preparation and intraoperative monitoring. Philadelphia. Churchill Livingstone, Vol III, 1997, Ch. 9.

Philip J. H. Closed circuit anesthesia. In: Ehrenwerth J. and Eisenkraft J. B. (eds.) Anesthesia equipment – principles and applications. St. Louis. Mosby, 1993; 617-635.

Philip J. H. Closed circuit/Low flow systems. In: Ehrenwerth J., Eisenkraft J.B., Berry J.M. (eds.) Anesthesia equipment: principles and applications. Elsevier, 2013.

Vă mulțumesc,
Dr. Paul Zilberman

References:

1. Zilberman P. Low flow anesthesia made simple. *MJHS*, 2014; 2: 75-79.

Low flow anesthesia made simple

Dear Editor,

In my article from your previous issue [1], due to technical reasons a paragraph was omitted. Although this fact does not interfere with the correct general understanding, for the sake of more complete information offered to the reader, please insert this „*Addendum*” as a last paragraph before „*Declaration of conflicting interests*” section:

„*Speaking about theoretical knowledge, the reader is offered three references that will bring more important information on the path of understanding low-flow anesthesia*”.

At „*References*”, please add:

Philip J. H. Kinetics of inhaled anesthetics. In: Miller R. D., Litchtor J. L. (eds.) Atlas of anesthesia. Preoperative preparation and intraoperative monitoring. Philadelphia. Churchill Livingstone, Vol III, 1997, Ch. 9.

Philip J. H. Closed circuit anesthesia. In: Ehrenwerth J. and Eisenkraft J. B. (eds.) Anesthesia equipment – principles and applications. St. Louis. Mosby, 1993; 617-635.

Philip J. H. Closed circuit/Low flow systems. In: Ehrenwerth J., Eisenkraft J.B., Berry J.M. (eds.) Anesthesia equipment: principles and applications. Elsevier, 2013.

Thank you very much,
Dr. Paul Zilberman

SCRISOARE CĂTRE REDACȚIE

LETTER TO THE EDITOR

Frecvența înaltă a depresiei și anxietății la debutul studiilor universitare ale studenților-medici: studiu transversal

Stimate Editor,

Colectivul de autori vă mulțumește pentru publicarea articolului „*Frecvența înaltă a depresiei și anxietății la debutul studiilor universitare ale studenților-medici: studiu transversal*” [1]. Dorim să vă semnalăm o confuzie produsă în varianta română și engleză a articolului. În locațiile menționate mai jos, a fost scris „*testul Fisher*” în loc de „*F-testul*”.

Rugăm să fie substituite cuvintele: „*testul Fisher*” cu „*F-testul*” în următoarele locații:

p. 18: rezumat (secțiunea „*material și metode*”), rândul 4 de sus;

p. 21: în alineatul dintre tabelele 2 și 3, rândul 6 și 8;

p. 21: nota la tabelul 3;

p. 22: nota la tabelul 4.

Vă mulțumim !

Cu respect,

Lilia Lupu

Referințe / references

1. Lupu L., Crețu C., Ignat R., Filimon A., Gavriluc A., Curocichin Gh. High frequency of depression and anxiety in medical students at the onset of university training: a cross-sectional study. *MJHS*, 2014; 2: 18-25.

RĂSPUNSUL EDITORULUI

Stimată Dnă Dr. Lupu,

Țin să mulțumesc colectivului de autori, pentru publicarea articolului pe paginile „*Revistei de Științe ale Sănătății din Moldova*”, pentru consecvență și contribuția adusă în identificarea și eliminarea oricăror neclarități sau erori, în special depistate după publicarea materialelor.

Astfel, oferim atât cititorilor, cât și viitorilor autori o dovadă în plus și un exemplu concret, că ducem cu adevărat o politică editorială, care tinde să asigure un nivel cât mai înalt de calitate și de relevanță științifică a publicațiilor, cu o probabilitate minimă de producere a erorilor.

În acest context, precizăm că **F-test**-ul (sau, criteriul Fisher) este numit orice test statistic, care are o distribuție de tip F pentru ipoteza nulă. Acest test este cel mai des folosit

High frequency of depression and anxiety in medical students at the onset of university training: a cross-sectional study

Dear Editor,

Authors thank you for publishing the article „*High frequency of depression and anxiety in medical students at the onset of university training: a cross-sectional study*” [1]. We would like to mention a confusion that has been made in both english and romanian versions of the article. In the mentioned locations, „*F-test*” was substituted with „*Fisher test*”.

We kindly ask you to substitute the words „*Fisher test*” with „*F-test*” in the following locations:

p. 18: abstract (section „*material and methods*”) line 4 from above;

p. 21: in the paragraph between tabel 2 and 3, line 6 and line 8;

p. 21: note of the table 3;

p. 22: note of the table 4.

Thank You!

With respect,

Lilia Lupu

EDITOR'S ANSWER

Dear Dr. Lupu,

I would like to thank the authors for publishing the article on the pages of „*Moldovan Journal of Health Sciences*”, for the watchfulness and contribution made in order to identify and eliminate any errors or unclarities, especially noticed after the material has been published.

Thus, we offer both the readers and future authors a proof and an example as well, that we truly support an editorial politics, which ensures a high quality level and scientific relevance for the publications, with a small probability of errors.

In this context we specify that: an **F-test** (or Fisher criteria) is any statistical test in which the test statistic has an *F*-distribution under the null hypothesis. It is most often used when comparing statistical models that have been fitted to a data

la compararea modelelor statistice, care au fost ajustate la un set de date, cu scopul de a identifica modelul care este cel mai potrivit populației, din care datele au fost colectate. „*F*-testele” exacte apar în mare parte atunci când modele au fost ajustate datelor, utilizând metoda celor mai mici pătrate. Termenul a fost introdus de George W. Snedecor, în cinstea lui Sir Ronald A. Fisher. Fisher, inițial, a dezvoltat statistica ca rată de variabilitate în anii 1920 [1].

Testul exact Fisher este un test de semnificație statistică utilizat pentru analiza tabelelor de contingență. Deși în practică se utilizează atunci când eșantioanele sunt mici, el este aplicabil pentru orice mărime a eșantionului. Testul poartă numele inventatorului, Sir A. Fisher, și face parte din clasa testelor exacte, numite astfel, deoarece semnificația devierii de la ipoteza nulă (de ex., valoarea *P*) poate fi calculată cu exactitate, pe când alte teste statistice se bazează pe o aproximare, care devine exactă atunci când mărimea eșantionului tinde spre infinit [2].

Adrian Belîi,
Redactor-șef

Referințe / references

1. Lomax R. (2007). Statistical concepts: a second course. 2007; p. 10. ISBN 0-8058-5850-4.

set, in order to identify the model that best fits the population from which the data were sampled. Exact „*F*-tests” mainly arise when the models have been fitted to the data using least squares. The name was coined by George W. Snedecor, in honor of Sir Ronald A. Fisher. Fisher initially developed the statistic as the variance ratio in the 1920s [1]

Fisher’s exact test is a statistical significance test used in the analysis of contingency tables. Although in practice it is employed when sample sizes are small, it is valid for all sample sizes. It is named after its inventor, Sir R. A. Fisher, and is one of a class of exact tests, so called because the significance of the deviation from a null hypothesis (e.g., *P*-value) can be calculated exactly, rather than relying on an approximation that becomes exact in the limit as the sample size grows to infinity, as with many statistical tests [2].

Adrian Belîi,
Editor-in-chief

2. Fisher R. A. Statistical methods for research workers. Oliver and Boyd. (1954). ISBN 0-05-002170-2.

Revista de Științe ale Sănătății din Moldova

Moldovan Journal of Health Sciences

Ghidul autorului

Criteria pentru publicare

Articolele originale trebuie să conțină cercetări noi (originale), rezultatele cărora contribuie la acumularea de noi cunoștințe în domeniul publicat și cu condiția că rezultatele prezentate nu au mai fost publicate înainte sau nu sunt depuse, în paralel, la o altă revistă, în vederea publicării.

Manuscrisele prezentate trebuie să corespundă standardelor STROBE (<http://www.strobe-statement.org>).

Prezentarea manuscrisului

Manuscrisele trebuie să fie prezentate doar în formă electronică, în limba română sau engleză. Dacă manuscrisul a fost depus doar în limba română, odată ce a trecut procedura de recenzare internă, acesta va fi tradus integral de către autori în limba engleză, pentru a putea trece procedura de recenzare externă. În același manuscris se permite utilizarea *US English* sau *British English*, dar nu mixt. Varianta tipărită (hârtie) nu va fi acceptată. Doar autorul corespondent va putea depune manuscrisul la redacție; tot el va deține responsabilitatea completă de procesul de depunere, de corespondența cu redacția pe durata procesului de publicare.

Procesul de publicare poate fi amânat, întrerupt sau anulat, la discreția autorului corespondent. Odată manuscrisul depus, autorul corespondent va primi un cod electronic de identificare a manuscrisului, pe care îl va folosi în corespondența ulterioară cu redacția.

În scopul menținerii integrității editoriale și a standardelor internaționale de calitate, Redacția *Moldovan Journal of Health Sciences – Revista de Științe ale Sănătății din Moldova* utilizează un sistem de detectare a plagiatului și va supune manuscrisul unei verificări antiplagiat. Depunerea manuscrisului pentru publicare înseamnă, implicit, acordul tuturor autorilor cu verificarea lui antiplagiat. În cazul suspectării că manuscrisul depus a încălcat politicile de publicare, acesta poate fi suspendat sau respins, indiferent de etapa procesului de publicare.

Scrisoarea de însoțire

La depunere, autorul corespondent va anexa la manuscris o scrisoare de însoțire. Formularul tipizat al Scrisorii de însoțire este oferit de către Redacție. Scrisoarea de însoțire include: (1) titlul manuscrisului; (2) o scurtă descriere despre relevanța manuscrisului pentru scopul promovat de Revistă; (3) contribuțiile aduse de manuscris pentru domeniul său; (4) modul în care manuscrisul adaugă valoare la literatura științifică de specialitate; (5) numele și semnăturile tuturor coautorilor; (5) datele complete de contact ale Autorului corespondent, cu menționarea instituției și adresei instituționale, nr. de telefon, nr. de fax și adresa e-mail.

În scrisoarea de intenție, Autorul corespondent trebuie să indice

Instructions for Authors

Criteria for publication

Original articles should contain new (original) results, which bring new knowledge in the field. The submitted manuscripts should contain data unpublished before and not submitted in parallel for publication to another journal.

Manuscripts submitted must meet STROBE standards (<http://www.strobe-statement.org>).

Manuscript submission

Manuscripts must be submitted only in electronic form in Romanian or English. Once past the internal reviewing procedure, the manuscript was submitted only in Romanian will be fully translated by the authors in English to pass the external reviewing procedure. In the manuscript are allowed to use U.S. English or British English, but not mixed. Printed version (paper) will not be accepted. Only the corresponding author may submit the manuscript. The corresponding author holds full responsibility of the submission and correspondence with the editor during reviewing and publication process.

The publication of the manuscript may be postponed, stopped or canceled at the request of the corresponding author. Once the manuscript is submitted, the corresponding author will receive an electronic identification code of the manuscript, which should be used for subsequent correspondence with the editor.

In order to maintain editorial integrity and international quality standards, editor of the *Moldovan Journal of Health Sciences* reserves the right to use a plagiarism detection system. Thus the submitted manuscript will be checked for plagiarism. Manuscript submission involves agreement of all coauthors for checking for plagiarism. If the submitted manuscript violates copyright policies; it can be suspended or dismissed, regardless of the stage of the publishing process.

Cover letter

A submitted manuscript should be accompanied by a Cover letter. A template of Cover letter is provided by editor. Cover letter should include: (1) the title of the manuscript; (2) a short statement regarding the relevance of the manuscript for the journal proposes; (3) contributions of the manuscript for to field; (4) what is the added value of the manuscript to the already published scientific literature; (5) the names and signatures of all coauthors; (5) the full contact details of corresponding author, indicating the institution and institutional address, no. telephone, no. fax and e-mail.

In the Cover letter, the corresponding author should clearly indicate that: (1) the paper contain original data; (2) the paper has not been published before; (3) the manuscript is not submitted for publication to another journal; (4) all authors have contributed to the manuscript; (5) the informed consent were obtained from all study

în mod clar că: (1) lucrarea menționată este originală; (2) lucrarea menționată nu a fost publicată anterior; (3) lucrarea menționată nu este depusă pentru publicație în altă revistă; (4) toți autorii subsemați au contribuit la elaborarea manuscrisului; (5) de la subiecții incluși în studiu a fost obținut consimțământul informat; (6) toți autorii subsemați au aprobat versiunea finală a manuscrisului; (7) acordul implicit de verificare antiplagiat al manuscrisului; (8) au fost declarate orice potențiale conflicte de interes. De asemenea, Autorul corespondent poate include orice informație suplimentară în Scrisoarea de intenție, dacă consideră că aceasta poate fi utilă pentru Redacție.

Consimțământul informat

Orice manuscris care comunică rezultate experimentale, obținute de la subiecți umani, trebuie să fie bazat pe studii, în care a fost obținut consimțământul informat de la subiect (ți) și/sau tutore (i). În scrisoarea de intenție, autorul corespondent trebuie să indice în mod clar obținerea consimțământului informat. În caz de necesitate, Redacția este în drept să solicite probe suplimentare, care atestă obținerea consimțământului informat.

Comitetul de Etică

Pentru orice studiu experimental, efectuat pe oameni sau animale, este necesar de a menționa evaluarea etică a proiectului de cercetare. În acest sens, în articol vor fi menționate numărul procesului verbal și data ședinței Comitetului de Etică, când a fost aprobat proiectul de cercetare.

Permisuni

În conformitate cu ghidurile Comitetului Internațional al Editorilor Revistelor Medicale (*ICMJE Guidelines*), în cazul când în manuscrisul prezentat este folosită sau reprodusă o informație publicată anterior, sau un material cu drepturi de autor, este de responsabilitatea Autorului corespondent să obțină permisiunea în scris a deținătorului de drepturi (*Copyright*) și să citeze corect sursa originală. Cu scopul de a menține transparența, se recomandă ca această permisiune, sub formă de copie, să fie depusă împreună cu manuscrisul.

Fotografiile cu pacienți identificabili

În conformitate cu ghidurile internaționale ale Comitetului de Etică a Publicațiilor (*COPE Guidelines*), în cazul când în imaginile prezente în manuscris (fotografii, radiograme, rezultate de laborator, rezultatele investigațiilor paraclinice, înregistrări video sau sonore ș. a.) o persoană este identificabilă fizic, de la aceasta trebuie obținută o permisiune în scris de utilizare a imaginii date. Se recomandă ca permisiunea dată să fie depusă împreună cu manuscrisul, iar în manuscris să fie stipulat în mod clar, că această permisiune a fost obținută.

Specificarea medicamentelor și dispozitivelor

În manuscris se vor utiliza nume generice de medicamente, urmate, dacă este cazul, de denumirea lor comercială între paranteze. Pentru medicamente și dispozitive, includeți numele producătorului și localizarea acestuia (țara de origine).

Formatul fișierelor

Se acceptă următoarele formate de text pentru manuscrisul principal: Microsoft Word (97, 2003, 2007, 2010) și formatele „.rtf”, „.doc”, „.docx”. Se acceptă următoarele formate pentru imagini: „.jpeg”, „.tiff”, „.eps”, „.ppt”, „.pptx”. Este posibil ca imaginile articolului să fie transmise în format „.ppt” sau „.pptx” (o imagine – un slide). Calitatea imaginilor, indiferent de format, trebuie să fie, minim: pentru desene – 800 dpi, pentru imagini cu detalii fine – 1000 dpi, pentru imagini alb-negru – de 300 dpi.

subjects (6) all coauthors approved the final version of the manuscript; (7) agreement for checking of the manuscript for plagiarism; (8) any potential conflicts of interest were disclosed. Corresponding author may include in the Cover letter any other additional information which could be useful for the editor.

Informed consent

Manuscripts that report experimental results obtained on human subjects must be based on studies in which informed consent was obtained from study subjects and/or their legal representative. The corresponding author should clearly indicate in his letter of intention about the obtaining of the informed. Editor reserved the right to request additional evidence attesting the obtaining of the informed consent.

Ethic Committee

For any experimental study conducted on humans or animals, it is necessary to mention in the article the ethical evaluation of the research project (such as date of evaluation and reference number of approval).

Permissions

In accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journals Editors (*ICMJE Guidelines*) if the submitted manuscript used or reproduced information/material previously published or copyrighted is the responsibility of the corresponding author to obtain a written permission from the owner of the copyright and properly cite the original source. In order to maintain transparency, it is recommended to submit the permission, as a copy, along with the manuscript.

Pictures

In accordance with international guidelines of the Publications Committee of Ethics (*COPE Guidelines*), if the manuscript contains pictures (photographs, radiograms, laboratory results, results of laboratory investigations, videos or sound etc.) which allows physical identification of the person, it must be obtained a written permission for the use of the image data. It is recommended to submit the permission along with the manuscript. Also in the manuscript text should be clearly stated that permission was obtained.

Drugs and devices specifications

In manuscript generic names of drugs, followed by their trade name in parentheses (if appropriate) should be used. For drugs and devices, manufacturer's name and location (country of origin) should be mentioned.

Files format

The following file formats for manuscript text are accepted: Microsoft Word (97, 2003, 2007, 2010) “.rtf”, “.doc”, “.docx”. Pictures should be submitted in one of the following formats: “.jpeg”, “.tiff”, “.eps”, “.ppt”, “.pptx”. The images could be transmitted also, in a format item “.ppt” or “.pptx” (one image - one slide). Scanning resolution should be as follows: drawings – at least 800 dpi, fine line images – 1000 dpi and greyscale images – at least 300 dpi.

Structure of the manuscript

Moldovan Journal of Health Sciences follows STROBE recommendations for reporting observational biomedical research studies. To facilitate the development of the manuscript, please consult this information available online at www.strobe-statement.org.

The volume of the manuscript text should not exceed 6000 words.

Structura manuscrisului

Publicația Periodică *Moldovan Journal of Health Sciences – Revista de Științe ale Sănătății din Moldova* respectă recomandările STROBE de raportare a cercetărilor observaționale biomedicale. Pentru a vă ușura procesul de elaborare și structurare a manuscrisului, vă recomandăm să consultați informația respectivă, disponibilă online, pe site-ul www.strobe-statement.org.

Volumul textului unui manuscris nu trebuie să depășească 6000 de cuvinte. Cu toate că numărul figurilor și tabelelor în manuscris rămâne la discreția autorilor, se recomandă ca numărul lor să fie limitat la 5, pentru a nu reduce din lizibilitatea articolului pe paginile Revistei.

Structura unui articol original trebuie să respecte următoarea consecutivitate:

- Titlul lung (formulat în conformitate cu ghidurile STROBE)
- Numele și prenumele complete ale autorului (autorilor)
- Afilierile autorului (autorilor)
- Datele de contact ale autorului corespondent
- Titlul scurt (va fi utilizat în calitate de colontitlu pe paginile Revistei)
- Elementele scoase în evidență din articol:
 - Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat (descriș în 1-3 fraze)
 - Ipoteza de cercetare (formulată în 1-2 fraze)
 - Noutatea adusă de articol literaturii științifice din domeniu (limitată la 1-3 fraze).
- Rezumatul articolului (compus din: introducere, materiale și metode, rezultate, concluzii), limitat la maximum 350 de cuvinte.
- Cuvinte cheie
- Introducere
- Materiale și metode
- Rezultate
- Discuții
- Concluzii
- Lista abrevierilor utilizate (dacă este cazul)
- Declarația de conflict de interese
- Contribuțiile autorilor
- Mulțumiri și finanțare (dacă este cazul)
- Referințe bibliografice
- Tabele și legende la tabele (dacă este cazul)
- Ilustrații și figuri (dacă este cazul)
- Legendele figurilor (dacă este cazul)
- Descrierea datelor suplimentare, anexe (dacă este cazul)

Pe pagina de titlu a manuscrisului trebuie să fie prezente următoarele elemente:

- **Titlul manuscrisului:** formulat în conformitate cu ghidurile STROBE, trebuie să fie laconic, relevant pentru conținutul manuscrisului, să reflecte tipul (*design*-ul) studiului și să nu depășească 25 de cuvinte. Nu se admit prezența abrevierilor în titlu.
- **Titlul scurt** (ce va fi utilizat drept colontitlu pe paginile Revistei) reprezintă o versiune scurtă, de esență, a titlului complet. Va fi limitat la 40 de caractere, inclusiv spațiile.
- **Numele autorului (autorilor).** Autori sunt numiți doar acele persoane, care au avut o contribuție substanțială la lucrare. Exemple de contribuție esențială la lucrare sunt: elaborarea *design*-ului studiului, recrutarea pacienților, participarea în colectarea datelor, analiza datelor, interpretarea rezultatelor, scrierea propriu-zisă a articolului, realizarea tehnică a testelor, investigațiilor, realizarea imaginilor, formularea concluziilor. Pot fi citați până la 10 autori indivi-

Although, the number of figures and tables in the manuscript is at the discretion of the authors, in order to not reduce article legibility it is recommended to limit their number to five.

Structure of original article must comply with the following sequence:

- Full title (according to the STROBE guidelines)
- Full authors' name
- Authors' affiliations
- Contact details of corresponding author
- Short title (to be used as a running head on the journal)
- Article highlights:
 - What is not yet known on the issue addressed in the submitted manuscript (described in 1-3 sentences)
 - The research hypothesis (described in 1-2 sentences)
 - The novelty added by manuscript to the already published scientific literature (limited to 1-3 sentences).
- Abstract (consisting of background, materials and methods, results and conclusions), to not exceed 350 words.
- Keywords
- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussions
- Conclusions
- List of abbreviations used (if applicable)
- Declaration of conflict of interests
- Authors' contributions
- Acknowledgements and funding (if applicable)
- References
- Tables and tables' captions (if applicable)
- Pictures and figures (if applicable)
- Figures' legends (if applicable)
- Description of additional data, appendices (if applicable)

The cover page of the manuscript should include:

- **Title of the manuscript:** written according to the STROBE guidelines, should be concise, relevant to the content of the manuscript, and reflect the study design. The title length should not exceed 25 words. It is not allowed the presence of abbreviations in the title.

- **Short title:** (to be used as a running title) is a short version of the essential of the full title. Short title will be limited to 40 characters, including spaces.

- **Author(s) name:** Authors list must include only those persons who had a substantial contribution to the work. Examples of essential contribution to the work are: developing of the study design, patients recruitment, participation in data collection, data analysis, interpretation of results, writing of the manuscript, performing of the tests, pictures taking, drawing conclusions. The authors list should not exceed 10 persons. If the research group exceed 10 individual authors, in the "Authors name" section first two will be cited, all others should be mentioned at the end of the article, in the "Acknowledgements and funding" section.

Members of the research group who do not meet the formal criteria of the authorship, but have had some contribution to the paper, may be mentioned in the "Acknowledgements and funding" section.

Note: To differentiate the corresponding author, as well as authors who have an equal contribution to the work, using special characters as a superscript index at the end of their names is recommended:

duali. În cazul când grupul de lucru depășește 10 autori individuali, vor fi citați în secțiunea „Numele și prenumele autorilor” doar primii doi, iar restul vor fi menționați la sfârșitul articolului, la secțiunea „Mulțumiri și finanțare”.

Membrii grupului de lucru, care nu îndeplinesc criteriile formale de autor enumerate, dar au avut o oarecare contribuție la lucrare, pot fi menționați în secțiunea „Mulțumiri și finanțare”.

Notă: Pentru a diferenția autorul corespondent și autorii care au contribuit în aceeași măsură la lucrare, folosiți caractere speciale, ca exponenți, la sfârșitul numelor lor:

(*) – pentru Autorul corespondent;

(†) – pentru Autorii care au avut o contribuție egală.

(De exemplu: Adrian Belii*, Adrian Belii†)

Nu se vor menționa gradele și titlurile științifice și cele științifico-didactice.

▪ **Afilieri.** Afilierea autorilor se va scrie după secțiunea „Numele autorului (autorilor)”. În acest sens, se va menționa numele complet al instituției de afiliere a autorului (autorilor), localitatea și țara.

Afilierea se marchează cu cifre arabe, în superscript (de exemplu: Adrian Belii¹)

▪ **Elementele scoase în evidență din articol:**

- Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat (descriș în 1-3 fraze)
- Ipoteza de cercetare (formulată în 1-2 fraze)
- Noutatea adusă de articol literaturii științifice din domeniu (limitată la 1-3 fraze).

Din pagină nouă:

Rezumatul

Rezumatul trebuie să fie scris la timpul trecut, persoana a treia. Acesta trebuie să ofere un sumar concis al scopului, obiectivelor, rezultatelor semnificative și concluziilor studiului, în limitele la 350 de cuvinte, organizate în următoarele secțiuni:

- **Introducere** – unde se va reflecta, pe scurt, contextul și scopul principal al studiului;
- **Material și metode** – cum a fost realizat studiul și ce teste statistice au fost aplicate;
- **Rezultate** – prezintă rezultatele principale ale studiului;
- **Concluzii** – o scurtă trecere în revistă a constatărilor făcute, cu posibile implicări pentru studii ulterioare.

Nu utilizați abrevieri și citații în rezumatul articolului.

Cuvintele cheie

Enumerați 4-10 cuvinte cheie, care sunt reprezentative pentru conținutul articolului. Pentru a ușura găsirea articolului Dvs. de către motoarele de căutare ale bazelor de date, folosiți termeni recomandați din lista de titluri cu subiect medical de pe <http://nlm.nih.gov/mesh>.

Înregistrarea trialului clinic

În caz dacă articolul Dvs. comunică rezultatele unui trial clinic, vă rugăm să indicați Registrul trialului și numărul unic de înregistrare a trialului.

Exemplu: „*Current Controlled Trials ISRCTN61362816*”. Atenție! Nu trebuie să existe niciun spațiu între literele și cifrele numărului unic de înregistrare a trialului. Pentru mai multe informații, va rugăm să accesați <http://www.isrctn.org> (*International Standard Randomized Controlled Trial Number*) și <http://www.icmje.org> (*International Committee of Medical Journal Editors*).

(*) – Corresponding author;

(†) – Authors with equal contribution.

(e.g. Adrian Belii*, Adrian Belii†)

▪ **Affiliation:** Please state the full name of institution, city and country to which the author(s) is affiliated. Affiliation should be marked with Arabic numerals in superscript after the author(s) name (e.g. Adrian Belii¹)

▪ **Article highlights:**

- What is not yet known on the issue addressed in the submitted manuscript (described in 1-3 sentences)
- The research hypothesis (described in 1-2 sentences)
- The novelty added by manuscript to the already published scientific literature (limited to 1-3 sentences).

From new page:

Abstract

The abstract should be written using the past tense, third person. It should provide a concise summary of the purpose, objectives, significant results and conclusions of the study. The summary text should not exceed 350 words organized into the following sections:

- **Introduction** – reflect in short the context and purpose of the study;
- **Material and methods** – describe how the study was conducted and specify the applied statistics;
- **Results** – present the key results of the study;
- **Conclusions** – a brief overview of the findings, with possible implications for further studies.

Do not use abbreviations or citations in the abstract of the article.

Keywords

List 4-10 keywords that are representative for the contents of the article. To facilitate finding of your article by search engines of electronic databases, use MESH keywords list (available on <http://nlm.nih.gov/mesh>).

Registered clinical trial

In case if your article reported the results of a clinical trial, please indicate Trial Register and the unique registration number of the trial.

E.g.: “Current Controlled Trials ISRCTN61362816”

Attention! There should be no space between letters and numbers of the unique record number of the trial. For more information, please visit <http://www.isrctn.org> (International Standard Randomized Controlled Trial Number) and <http://www.icmje.org> (International Committee of Medical Journal Editors).

From new page:

Introduction

The Introduction section should be written using past tense, third person, and should:

- provide information that would allow readers outside of the field to enter the context of the study, to understand its meaning;
- define the problem addressed and explain why it is important;
- include a brief review of recent literature in the field;
- mention any controversy or disagreement existing in the field;
- formulate research hypothesis and present the main and secondary assessed outcomes;
- conclude with the research’ propose and a short comment whether the purpose has been achieved.

Din pagină nouă:**Introducerea**

Introducerea, scrisă la timpul trecut, persoana a treia, trebuie:

- să ofere informații care ar permite cititorilor din afara domeniului să intre în contextul studiului, să-i înțeleagă semnificația;
- să definească problema abordată și să explice de ce aceasta este importantă;
- să includă o scurtă trecere în revistă a literaturii recente din domeniu;
- să menționeze orice controverse sau dezacorduri relevante în domeniu;
- să formuleze ipoteza de cercetare și să prezinte parametrul principal și cei secundari de rezultat;
- să concludă cu scopul lucrării și cu un comentariu care să ateste dacă scopul propus a fost atins.

Material și metode

În secțiunea „Material și metode” trebuie să fie descrise cu detalii suficiente procedurile efectuate. Aici se vor menționa protocoalele detaliate privind metodele utilizate precum și informații justificative. Se vor include: *design*-ul studiului, descrierea participanților și materialelor implicate, descrierea clară a tuturor intervențiilor și comparațiilor efectuate, precum și testele statistice aplicate. Se vor specifica denumirile generice de medicamente. Atunci când în cercetare sunt folosite branduri, se indică în paranteze denumirea lor comercială. În cazul studiilor pe subiecți umani sau pe animale, trebuie să fie menționată aprobarea etică (data și nr. procesului verbal al ședinței Comitetului de Etică, președintele CE și denumirea instituției, în cadrul căreia activează CE), precum și consimțământul informat al persoanelor.

Rezultate

Rezultate și discuțiile vor fi prezentate în secțiuni separate.

Autorii trebuie să prezinte rezultate clare și exacte. Rezultatele prezentate trebuie explicate (nu justificate sau comparate, în această secțiune) cu constatări fundamentale, evident, referitoare la ipoteza care a stat la baza studiului. Rezultatele trebuie redactate concis și logic, cu accentuarea celor noi.

Discuții

Se va descrie impactul, relevanța și semnificația rezultatelor obținute în domeniul respectiv. Rezultatele obținute se vor compara cu cele provenite din studiile anterioare din domeniu și se vor trasa potențiale direcții viitoare de cercetare. Discuțiile trebuie să conțină interpretări importante ale constatărilor și rezultatelor, în comparație cu studiile anterioare. De asemenea, se vor menționa limitele studiului și factorii potențiali de *bias*.

Concluzii

Această secțiune trebuie să concludă laconic întregul studiu și să specifice, care este plus-valoarea adusă la informațiile disponibile despre subiectul abordat. În concluzii nu se vor oferi informații noi și nu se vor dubla (repetă) cele prezentate în secțiunea „Rezultate”.

Abrevieri

Folosii numai abrevieri standard. De asemenea, pot fi formulate și alte abrevieri, cu condiția că acestea vor fi descifrate în text atunci când sunt utilizate pentru prima dată. Abrevierile din figuri și tabele vor fi descifrate în legendă. Abrevierile trebuie folosite cât mai rar posibil.

Material and methods

“Material and methods” section should present in sufficient details all carried out procedures. Here should be described protocols and supporting information on the used methods. It will include study design, subjects’ recruitment procedure, clear description of all interventions and comparisons and applied statistics. In the manuscript text the generic names of drugs should be used. When drug brands are used their trade name will be shown in parentheses. For studies on humans or animals a statement about ethical approval and informed consent of study subjects should be included. Please specify date and number of Ethics Committee (EC) decision, chair of the EC as well as institution within EC is organized.

Results

Results and discussion should be presented in separate sections. Authors must present results in a clear and accurate manner. Results should be explained (not justified or compared in this section) and include fundamental statements related to hypothesis behind the study. The results should be presented concisely and logically, emphasizing on new original data.

Discussions

Describe the impact, relevance and significance of the obtained results for the field. The results are compared with those from previous publications and draw potential future research directions. Discussions should include important interpretations of the findings and results compared with previous studies. Also, study limitations and potential bias should be mentioned.

Conclusions

This section should conclude laconically entire study, and highlight the added-value brought on the studied issue. The conclusions should not provide new information or double (repeat) those presented in the “Results” section.

Abbreviations

Use only standard abbreviations. Other abbreviations may be defined and provided when are used for the first time in the manuscript. Abbreviations in the figures and tables will be explained in legend. Abbreviations should be used as rare as possible.

Declaration of conflict of interests

Following publication, persons or organizations involved in the study become public and thus their reputation may be influenced. Therefore, authors must disclose financial and non-financial relationship with people or organizations and to declare conflicts of interest related to the data presented in the manuscript. In accordance with the ICMJE guidelines, authors must fulfill a statement of conflicts of interest, which will be published at the end of the article.

Complementing the declaration of conflicts of interest the following will be taken into consideration

For financial conflicts of interest

- specify whether any organization has financial relationship with research presented in the manuscript, including funding, salary, reimbursements;
- mentioned, if the article has any impact on the eventually involved organization and could generate losses or profits after publication, now or in the future;
- authors must indicate if they have shares ownership in any organization that may incur losses or take profits after publication, now or in the future. Also, you should specify whether the

Declarația de conflict de interese

După publicare, persoanele sau organizațiile implicate în studiu vor deveni publice și astfel poate fi influențată reputația lor. Prin urmare, autorii trebuie să dezvăluie relația financiară sau non-financiară cu persoane sau organizații și să declare conflictele de interese pentru datele și informațiile prezentate în manuscris. În conformitate cu ghidurile ICMJE, Autorul (autorii) trebuie să completeze o declarație privind Conflictele de interese, care va fi prezentată la sfârșitul articolului publicat.

Completând declarația referitoare la Conflictele de interes, se vor lua în considerație:

Pentru conflicte de interese financiare

- specificați dacă vreă organizație are relație financiară cu lucrarea științifică reflectată în manuscris, inclusiv de finanțare, salariu, rambursări;
- menționați, dacă articolul are un impact asupra organizației date, ce ar genera pierderi sau profituri după publicare, în prezent sau în viitor;
- autorul (autorii) trebuie să precizeze dacă dețin cote de proprietate în orice organizație care ar putea să suporte pierderi sau să aibă profituri după publicare, în prezent sau în viitor. De asemenea, se recomandă să se specifice dacă autorul (autorii) dețin(e) sau aplică pentru orice drepturi de proprietate (brevet) în legătură cu conținutul utilizat în manuscris;
- precizați dacă există oricare alte conflicte de interese.

Pentru conflicte de interese non-financiare

- Vă rugăm să specificați oricare conflicte de interese non-financiare legate de politică, individuale, religioase, ideologice, educaționale, raționale, comerciale etc., care au legătură cu manuscrisul.

Contribuția autorilor

Această secțiune a manuscrisului are rolul de a specifica contribuția și gradul de implicare a fiecărui autor. În acest sens, vă rugăm să respectați formatul exemplului propus: „*HW a conceput studiul, a participat la design-ul studiului și a ajutat la redactarea manuscrisului. MG a efectuat procesarea exemplarelor, a metodelor de cultură ale țesutului și a elaborat manuscrisul. TK a efectuat testele de imunofluorescență. PN a participat la colorarea probelor și la analiza citometrică prin flux. AR a participat la elaborarea design-ului studiului și a efectuat analiza statistică. Manuscrisul final a fost citit și aprobat de către toți autorii*”.

Fiecare Autor trebuie să aibă o contribuție individuală în desfășurarea cercetării, pregătirii manuscrisului și publicării lucrării. Un Autor trebuie să contribuie semnificativ la conceptul și *design*-ul lucrării, la efectuarea procedurilor experimentale, la colectarea datelor, la compilarea, analiza, interpretarea și validarea rezultatelor.

Conform recomandărilor Comitetului Internațional al Editorilor Revistelor Medicale, ICMJE, (www.icmje.org), drept autor poate fi considerată persoana care se încadrează în toate cele 4 criterii:

1. a adus o contribuție individuală substanțială concepției, elaborării design-ului cercetării, sau a colectat, analizat sau interpretat datele;
2. a elaborat manuscrisul sau l-a revăzut în mod critic, aducând o contribuție intelectuală importantă;
3. a aprobat versiunea finală a manuscrisului, gata pentru publicare;
4. este de acord să fie responsabilă pentru toate aspectele legate de cercetarea efectuată și de manuscrisul depus pentru publicare și să dea asigurare, că toate întrebările referitoare la acuratețea sau integritatea lucrării vor investiga și rezolvate în mod corespunzător.

author (s) own (s) or apply to any property rights (patent) on the content used in the manuscript;

- indicate if there are any other conflicts of interest.

For non-financial conflicts of interest

- Please specify any non-financial conflicts of interest: political individual, religious, ideological, educational, rational, commercial etc. related to manuscript.

Authors' contributions

This section of the manuscript is to specify the input and involvement of each author. In this regard, please follow the suggested format: “*HW conceived the study and participated in study design and helped drafting the manuscript. MG performed the processing of specimens and tissue culture methods and drafted the manuscript. TK performed immunofluorescence tests. PN participated in staining and flow-cytometry. AR participated in the study design and performed the statistical analysis. Final manuscript was read and approved by all authors*”.

Each author must have an individual contribution to the research, manuscript preparation and work publication. An author should contribute substantially to one of the following: the concept and design of the work, performing of the experimental procedures, data collection, compilation, analysis, interpretation and validation of results.

According to the International Committee of Medical Journals Editors, ICMJE (www.icmje.org), as author may be a person who fit all four of following criteria:

1. has made a substantial personal contribution in designing, developing research protocol, or collected, analyzed and interpreted data;
2. developed or reviewed critically the manuscript bringing a significant intellectual contribution;
3. approved the final version of the manuscript ready for publication;
4. agrees to be responsible for all aspects of the conducted research and submitted manuscript and to assure that all questions relating to accuracy or completeness of the work was adequately assessed and resolved.

Note: Persons who have contributed to the work, but not fit the four criteria mentioned above cannot be considered as authors. Their contribution will be mentioned in the “Acknowledgment and funding section” of the manuscript. Also, people who have only been involved in data collection, monitoring, technical assistance and funding, are not eligible as coauthors, but they may be mentioned in the “Acknowledgements and funding” section. Mere position of head of unit, department or institution, on which the research was conducted, without fulfilling all four ICMJE criteria, doesn't provide the right to be a coauthor of the work.

Acknowledgements and funding

People who contributed to the study design, data collection, analysis and interpretation, manuscript preparation and editing, offered general or technical support, contributed with essential materials to the study, but do not meet ICMJE authorship criteria will not be considered as authors, but their contribution will be mentioned in section “Acknowledgements and funding”. Also in this section must be specified the sources of work funding. Mention of persons or institutions who have contributed to the work and manuscript can be made only after obtaining permission from each of them.

Notă: Persoanele, care au contribuit la realizarea lucrării, însă nu se încadrează în toate cele 4 criterii enunțate mai sus, nu pot fi considerate drept autori; contribuția acestora va fi menționată în secțiunea „mulțumiri și finanțare” a manuscrisului. De asemenea, persoanele care au fost implicate doar în colectarea datelor, supraveghere, asistență tehnică și finanțare, nu dețin drept de Autor, dar ei pot fi menționați în secțiunea „mulțumiri și finanțare”. Simpla deținere a funcției de șef de unitate, departament sau instituție, în cadrul căreia s-a efectuat cercetarea, fără îndeplinirea tuturor celor 4 recomandări ale ICMJE, nu oferă dreptul de a fi (co)autor al lucrării.

Mulțumiri și finanțare

Persoanele care au contribuit la elaborarea *design*-ul studiului, colectarea datelor, analiza și interpretarea acestora, la pregătirea manuscrisului și la redactarea lui critică, au oferit suport general sau tehnic, au contribuit cu materiale esențiale pentru studiu, dar care nu îndeplinesc criteriile ICMJE de Autor, nu vor fi considerate drept Autori, dar contribuția lor va fi menționată în secțiunea „mulțumiri și finanțare”. Tot în această secțiune se vor menționa sursele de finanțare ale lucrării. Menționarea persoanelor fizice sau juridice, care au contribuit la realizarea lucrării și manuscrisului, poate fi făcută doar după obținerea unei permisiuni de la fiecare dintre ele.

Tabelele

Fiecare tabel va fi creat cu dublu-spațiere și amplasat pe o pagină separată, după textul manuscrisului. Enumerarea tabelelor va fi consecutivă, cu cifre arabe, în ordinea primei lor citări în text, scris cu caractere grase (**bold**), alinierea – pe stânga, deasupra tabelului. Fiecare tabel va avea un titlu laconic, care va fi scris cu caractere normale (regular) sub numărul tabelului. Nu utilizați caractere bold în interiorul tabelului. Urmați exemplul prezentat:

Tabelul 1

Evenimente adverse intra-anestezice și imediat post-extubare

	Lot experimen- tal (n=100)	Lot control (n=100)	p
Disritmii	6,0%	3,0%	0,49
Instabilitate hemodinamică	7,0%	1,0%	0,034
Trezire prelungită*	11,0%	4,0%	0,19
GVPO† post-extubare	8,0%	27,0%	0,007
Durere intensă la trezire	17,0%	19,0%	1,0

Notă: * – trezire neobișnuit de lentă, după ce concentrația cerebrală a reziduurilor de anestezice a trecut sub pragul de inducere a hipnozei; † – greață și vomă postoperatorie. Analiza statistică utilizată: testul Fisher.

Legende și notele explicative vor fi făcute sub tabel. Toate abrevierile non-standard se vor explica în notele de subsol, folosind următoarele simboluri, în următoarea ordine: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, † †, ‡ ‡, § §, || ||, ¶ ¶ etc.

Menționați, de asemenea, testele statistice aplicate și tipul de date prezentate. Asigurați-vă că fiecare tabel este citat în text. Dacă utilizați date din altă sursă publicată sau nepublicată, trebuie să obțineți permisiunea și să declarați pe deplin sursa sub tabel.

Figurile

Figurile vor fi prezentate atât în manuscris, cât și pe fișiere separate. În manuscris, figurile vor fi prezentate după textul lucrării, fiecare pe pagină separată și vor fi numerotate consecutiv, cu cifre arabe, în ordinea citării lor în text. Numerotarea va fi scrisă abreviat

Tables

Content of each table should be double-spaced and placed on a separate page after the text of the manuscript. Tables numbering will be done using consecutive Arabic numerals in the order of their first citation in the text; it should be written in bold, align to left and place above the table. Each table should have a concise title that will be written in bold (regular) under table number. Do not use bold within the table. Please follow the example:

Table 1

Intra-anesthetic and immediately post-extubation adverse events

	Experimental Cohort (n=100)	Control Cohort (n=100)	p
<i>Dysrhythmia</i>	6.0%	30%	0.49
Hemodynamic instability	7.0%	1.0%	0.034
Prolonged awakening*	11.0%	4.0%	0.19
PONV† post-intubation	8.0%	27.0%	0.007
Strong pain on awakening	17.0%	19.0%	1.0

Note: * – Unusually slow awaking, after that cerebral concentration of the anesthetic reach the under hypnotic level; † – postoperative nausea and vomiting. Used statistical analysis: Fisher's exact test.

Legends and notes will be placed under the table. All non-standard abbreviations should be explained in footnotes, using the following symbols, in the following order: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, † †, ‡ ‡, § §, || ||, ¶ ¶ etc.

Applied statistical tests and the type of presented data should be also mentioned. Make sure that each table is cited in the text. If you use data from another published or unpublished source, you must obtain permission and cite the source below the table.

Figures

Figures will be included in the main manuscript, and also submitted as separate files. The manuscript figures should be presented, each one on a separate page and should be numbered consecutively with Arabic numerals in the order of their citation in the text. Figure numbering will be written abbreviated (**Fig. 1**), using bold fonts, left alignment, and placed under the figure. Each figure should have a laconic title that will be written using regular font and placed in the right of the figure's number.

Figures' quality should assure the visibility of details. Pictures of persons potentially identified must be accompanied by written permission to use it. If a figure has been previously published, please cite the original source and submit the written permission to reproduce the figure from the copyright owner. Permission can be taken from both the author and the publisher, except the documents of public domain.

For figures, the following file formats are accepted:

- TIFF
- JPEG
- EPS (preferred format for diagrams)
- PowerPoint (figures should be of the size of a single slide)

The file title should include the figure number and an identifiable short title.

Figures' legends

Figure's legend should be written immediately after the figure's title. Figure's description should not repeat the description in the text of the manuscript. When used symbols, arrows, numbers or letters to

(Fig. 1), cu caractere grase (**bold**), alinierea – pe stânga, sub figură. Fiecare figură va avea un titlu laconic, care va fi scris cu caractere normale (regular) în dreptul numerotării.

Figurile trebuie să fie calitative, vizibile în detaliu. Fotografiile cu persoane potențial identificabile trebuie să fie însoțite de permisiunea scrisă de a utiliza fotografia. În caz contrar, fața persoanelor trebuie acoperită cu o bandă neagră. În cazul în care o figură a fost publicată anterior, faceți referință la sursa originală și prezentați permisiunea scrisă de la deținătorul drepturilor de autor pentru a reproduce figura. Permișiunea poate fi luată atât de la autorul figurii, cât și de la editor, cu excepția documentelor din domeniul public.

Pentru figuri, sunt acceptate următoarele formate de fișiere:

- TIFF
- JPEG
- EPS (format preferat pentru diagrame)
- PowerPoint (figurile trebuie să fie de mărimea unui singur diapozitiv)

Titlul fișierului va consta din numărul figurii și un titlu scurt, identificabil.

Legendele figurilor

Legenda figurii va fi scrisă în continuare, imediat după titlul figurii. Descrierea figurii nu trebuie să repete descrierea din textul manuscrisului. Când sunt folosite simboluri, săgeți, numere sau litere pentru a identifica, descrie părți ale ilustrațiilor, identificați-le și explicați-le pe fiecare în mod clar în legendă. Explicați scala internă și identificați metoda de colorare în microfotografii.

Vă rugăm să rețineți că este de responsabilitatea autorului (autorilor) de a obține permisiunea de la deținătorul drepturilor de autor pentru a reproduce figuri sau tabele care au fost publicate anterior în altă parte. Imaginile color vor fi tipărite din contul autorilor.

Referințele bibliografice

Toate referințele bibliografice trebuie să fie numerotate consecutiv, între paranteze pătrate [], în ordinea în care sunt citate în text. Citatele de referință nu trebuie să apară în titluri sau subtitluri. Fiecare referință trebuie să aibă un număr individual. Citările multiple din cadrul unui singur set de paranteze trebuie să fie separate prin virgulă și spațiu. În cazul în care există trei sau mai multe citări secvențiale, acestea ar trebui să fie indicate sub formă de serie. Exemplu: [1, 5-7, 28].

Vă rugăm să evitați folosirea excesivă a referințelor. În cazul în care se folosesc sisteme automate de numerotare, numerele de referință trebuie să fie finalizate, iar bibliografia trebuie formatată complet înainte de depunere. Lista de referință trebuie să conțină toți autorii. Abrevierea revistelor trebuie să fie în conformitate cu Index Medicus / MEDLINE. Pot fi citate doar articolele sau rezumatele care au fost publicate și care sunt disponibile, accesibile prin intermediul serverelor publice. Orice rezumate sau articole nepublicate sau cu caracter personal nu trebuie să fie incluse în lista de referință, dar pot fi incluse în text și citate în mod corespunzător, indicând cercetătorii implicați. Obținerea permisiunii printr-o scrisoare de la autori pentru a le cita comunicările sau datele nepublicate sunt în responsabilitatea autorului corespondent al articolului.

Formatul referințelor

Autorii sunt rugați să furnizeze cel puțin un link pentru fiecare referință bibliografică (preferabil PubMed).

○ *Referință la revistă*

Numele și inițialele autorului sau al autorilor, separate prin virgulă (regular). Titlul articolului (regular). Forma abreviată a denumirii revistei (italice), urmat de anul, numărul volumului: numărul pagini

describe parts of the figure, explain clearly each one of them in the legend. Explain the internal scale and identify the staining method of the photomicrographs.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures or tables that have been published previously elsewhere. Color images will be printed at the expense of the manuscript authors.

References

All references must be numbered consecutively, in square brackets [], in the order they are cited in the text. Reference citations should not appear in titles or subtitles. Each reference should have an individual number. Multiple citations within a single set of brackets must be separated by commas and spaces. If there is a sequence of three or more citations, they have to be given as a range (e.g. [1, 5-7, 28]).

Please avoid excessive use of references. If an automatic system of citation is used, reference numbers must be finalized and the bibliography must be fully formatted before submission. Reference list should include all authors. Journals' abbreviation must be in accordance with Index Medicus/MEDLINE. It may be cited only articles or abstracts that have been published and are available through public servers. Any abstracts or unpublished data or personal items should not be included in the reference list, but may be included in the text and cited accordingly, indicating the involved researchers. It is of manuscript authors' responsibility to obtain the permission to refer to unpublished data.

References format

Authors are asked to provide at least one link for each citation (preferably PubMed).

○ *Journal article reference*

Surname and initials of the author(s), separated by commas (regular). Title of article (regular). Abbreviated name of the journal (in italics), followed by the year, volume number: pages number (regular). Articles in press should be specified as "***In press***" (italic, bold), after the pages number. All the authors should be listed.

e.g. "1. Belii A., Cobăletchi S., Casian V., Belii N., Severin G., Chesov I., Bubulici E. Les aspects pharmaco-economiques dans la gestion de la douleur periopératoire. Mise au point. *Ann Fr Anesth Réanim*, 2012; 31: 60-66."

○ *Book reference*

Surname and initials of the author (s), separated by commas (regular). Title of chapter (regular) (cited page(s) number). In: Title of book. Details of the editor, publisher, place, year of publication.

e.g. "Belii A. Risk management and patient safety version anesthesia and intensive care unit (p. 115-134). In: Recommendations and Protocols in Anesthesia, Intensive care and Emergency medicine. Editors: Sandesc D., Bedreag O., Papurica M. Ed. Mirton, Timisoara, Romania, 2010".

○ *Web reference*

Name and initials of the author(s), separated by commas, or Copyright holder (regular). Title. Site Name. Available at: [URL]. Accessed: date.

E.g. "Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ). Production Pressures. WebM & M. Available at: [http://webmm.ahrq.gov/case.aspx? caseID = 150]. Accessed on: 18.06.2010".

For more details, please contact:

Adrian Belii, PhD, university professor
Editor-in-chief
tel: +373 79579474
e-mail: editor.mjhs@usmf.md

lor (regular). Articolele în curs de publicare citate vor fi menționate cu „***In press***” (italic, bold), după numărul paginilor. Se vor menționa toți autorii articolului.

Ex: „1. Belîi A., Cobălețchi S., Casian V., Belîi N., Severin G., Chesov I., Bubulici E. Les aspects pharmaco-economiques dans la gestion de la douleur periopératoire. Mise au point. *Ann Fr Anesth Réanim*, 2012; 31: 60-66.”

○ *Referință la carte*

Numele și inițialele autorului sau al autorilor, separate prin virgulă (regular). Titlul capitolului (regular) (numărul paginii sau paginilor citate). În: Titlul cărții. Detalii privind Editorul. Editura, locul, anul editării.

Ex: „1. Belîi A. Gestiunea riscului și siguranța pacientului în anestezie și terapie intensivă (p. 115-134). În: Recomandări și protocoale în anestezie, terapie intensivă și medicină de urgență. Editori: Săndesc D., Bedreag O., Păpurică M. Ed. Mirton, Timișoara, România, 2010.”

○ *Referință la Web*

Numele și inițialele autorului sau al autorilor, separate prin virgulă, sau denumirea deținătorului de drept de autor (regular). Titlul. Numele site-ului. Disponibil la adresa: [URL]. Accesat pe: data.

Exemplu: „Agency For Healthcare Research and Quality (AHRQ). Production pressures. WebM&M. Disponibil la adresa: [http://webmm.ahrq.gov/case.aspx? caseID=150]. Accesat pe: 18.06.2010.”

Pentru precizări și informații suplimentare:

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

Redactor-șef

tel: +373 79579474

e-mail: editor.mjhs@usmf.md

SCRISOARE DE ÎNSOȚIRE

Titlul manuscrisului: _____

Relevanța manuscrisului pentru scopul promovat de Revistă: _____

Ce aduce nou manuscrisul domeniului (specialității) în care este publicat: _____

Modul în care manuscrisul adaugă valoare la literatura științifică de specialitate: _____

Noi, autorii subsemnați ai manuscrisului, declarăm că (bifați):

- lucrarea menționată este originală;
- lucrarea menționată nu a fost publicată anterior;
- lucrarea menționată nu este depusă pentru publicare în altă revistă;
- toți autorii subsemnați au contribuit la elaborarea manuscrisului;
- de la subiecții incluși în studiu a fost obținut consimțământul informat;
- toți autorii subsemnați au aprobat versiunea finală a manuscrisului;
- suntem de acord cu verificarea antiplagiat a manuscrisului;
- au fost declarate orice potențiale conflicte de interes.

Prin prezenta, autorii sunt de acord să transfere drepturile de proprietate (copyright) Revistei de Științe ale Sănătății din Moldova – Moldovan Journal of Health Sciences, în caz că manuscrisul va fi publicat.

Autorii (nume, prenume complet, semnătură):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____

Locul și data: _____

Datele de contact ale autorului corespondent:

Instituția: _____

Adresa: _____

e-mail: _____

tel./fax: _____

DECLARAȚIA AUTORILOR

Titlul manuscrisului: _____

Toate persoanele care îndeplinesc criteriile de autor sunt menționate drept autori. Toți autorii certifică faptul că au participat suficient elaborarea lucrării, încât să își asume responsabilitatea publică pentru conținutul remis, inclusiv pentru concept, design, analiză, scris sau revizuire a manuscrisului. Mai mult decât atât, fiecare autor certifică faptul că acest material sau un material similar nu a fost și nu va fi propus spre publicare sau publicat în orice altă ediție periodică, înainte de apariția lui în Revista de Științe ale Sănătății din Moldova.

Contribuția autorilor:

Vă rugăm să indicați contribuțiile specifice efectuate de fiecare autor (înscrieți inițialele autorilor, urmate de numele lor, de exemplu: A. Belfi, Gh. Rojnovceanu). Numele fiecărui autor trebuie să apară cel puțin o dată în fiecare dintre cele trei categorii, menționate mai jos.

Categoria 1

Conceptia și design-ul studiului: _____;

Achiziția de date: _____;

Analiza și/sau interpretarea datelor: _____.

Categoria 2

Elaborarea (drafting-ul) manuscrisului: _____;

Revizuirea semnificativă a manuscrisului, cu implicare intelectuală semnificativă: _____.

Categoria 3

Aprobarea versiunii „gata pentru tipar” a manuscrisului (trebuie menționate numele tuturor autorilor):

_____;

_____.

Mulțumiri:

Toate persoanele care au adus contribuții importante la lucrul raportat în scris (de exemplu, ajutor tehnic, scris și asistență la editare, suport general), dar care nu îndeplinesc criteriile de autor, sunt menționate în secțiunea „Mulțumiri”, iar acestea și-au dat acordul în scris ca să fie menționate. Dacă secțiunea „Mulțumiri” lipsește din manuscris, atunci acest fapt semnifică că nu au existat contribuții substanțiale din partea non-autorilor.

_____.

Prezenta declarație este semnată de către toți autorii:*(puteți utiliza o fotocopie a formularului dat în cazul existenței mai mult de 6 autori)*

Numele autorului (tipărit)

Semnătura autorului

Data

Vă rugăm să transmiteți acest formular completat și scanat pe adresa: editor.mjhs@usmf.md

COVER LETTER

Manuscript title: _____

Relevance of the manuscript for the Journal purposes: _____

Contributions of the manuscript for to the research field: _____

What is the added value of the manuscript to the already published scientific literature: _____

We, the undersigned authors of the manuscript, declare that (please, tick):

- the paper contain original data;
- the paper has not been published before;
- the manuscript is not submitted for publication to another journal;
- all authors have contributed to the manuscript;
- the informed consent were obtained from all study subjects
- all coauthors approved the final version of the manuscript;
- we agree for checking of the manuscript for plagiarism;
- any potential conflicts of interest were disclosed.

With this, the authors agree to transfer property rights (copyright) to the Moldovan Journal of Health Sciences – Revista de Științe ale Sănătății din Moldova, in the event that the manuscript will be published.

Authors (name, surname, signature):

1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

5. _____

6. _____

7. _____

Place and date: _____

Corresponding author data:

Institution: _____

Address: _____

e-mail: _____

tel./fax: _____

AUTHORSHIP STATEMENT

Manuscript title: _____

All persons who meet authorship criteria are listed as authors, and all authors certify that they have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content, including participation in the concept, design, analysis, writing, or revision of the manuscript. Furthermore, each author certifies that this material or similar material has not been and will not be submitted to or published in any other publication before its appearance in the *Moldovan Journal of Health Sciences*.

Authorship contributions:

Please indicate the specific contributions made by each author (list the authors' initials followed by their surname(s), e.g., *A. Belîi, Gh. Rojnoveanu*). The name of each author must appear at least once in each of the three categories below.

Category 1

Conception and design of study: _____, _____, _____, _____;

Acquisition of data: _____, _____, _____, _____;

Analysis and/or interpretation of data: _____, _____, _____, _____.

Category 2

Drafting the manuscript: _____, _____, _____, _____;

Revising the manuscript critically for important intellectual content: _____, _____.

Category 3

Approval of the version of the manuscript to be published (the names of all authors must be listed):

_____, _____, _____, _____, _____,
_____, _____, _____, _____, _____.

Acknowledgements:

All persons who have made substantial contributions to the work reported in the manuscript (e.g., technical help, writing and editing assistance, general support), but who do not meet the criteria for authorship, are named in the „*Acknowledgements*” and have given us their written permission to be named. If we have not included an „*Acknowledgements*”, then that indicates that we have not received substantial contributions from non-authors:

_____, _____, _____, _____, _____.

This statement is signed by all the authors:

(a photocopy of this form may be used if there are more than 6 authors):

Author's name (typed)	Author's signature	Date
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____


OMI AND OSF SEMINARS - 2015

NO.	DATE	TOPIC	COURSE DIRECTOR(S)	ACADEMIC INSTITUTIONS	Seminar Code	Application Deadline
1	January 4 - 10	Pediatric Radiology *	Sudha Anupindi, MD Erich Sorantin, MD	Children's Hospital of Philadelphia Medical University of Graz	512SPPS15	29.10.2014
2	January 11 - 17	Trauma & Emergency Surgery	Soumitra Eachempati, MD Richard Kdolsky, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	513SWCS15	29.10.2014
3	January 18 - 24	Temporal Bone Surgery	Samuel Selesnick, MD Gerhard Moser, MD	Weill Cornell/NYPH Paracelsus Medical University Salzburg	514SWCS15	29.10.2014
4	February 15 - 21	Bone and Joint Surgery	Mathias Bostrom, MD Ulrich Dorn, MD Reinhard Windhager, MD	Weill Cornell/NYPH/HSS Paracelsus Medical University Salzburg Medical University of Vienna	515SWCS15	29.10.2014
5	March 1 - 7	Neurology	Dara G. Jamieson, MD Eugen Trinkka, MD	Weill Cornell/NYPH Paracelsus Medical University Salzburg	516SWCS15	29.10.2014
6	March 8 - 14	Pediatric Cardiology *	Shobha Natarajan, MD Jörg Ingolf Stein, MD	Children's Hospital of Philadelphia Medical University of Innsbruck	517SPPS15	29.10.2014
7	March 14 - 18	Coordinator's Meeting			518COO15	
8	March 22 - 28	Ophthalmology	Gary J. Lelli, Jr., MD Susanne Binder, MD	Weill Cornell/NYPH Rudolfstiftung Vienna	519SWCS15	29.10.2014
9	April 5 - 11	Anesthesiology	Hugh C. Hemmings, Jr., MD Peter Gerner, MD	Weill Cornell/NYPH Paracelsus Medical University Salzburg	520SWCS15	29.10.2014
10	April 12 - 18	Neonatology *	Phyllis Dennery, MD Berndt Urlesberger, MD	Children's Hospital of Philadelphia Medical University of Graz	521SPPS15	29.10.2014
11	April 19 - 25	Applied Clinical Research *	Dennis Durbin, MD	Children's Hospital of Philadelphia	522SPPS15	29.10.2014
12	April 26 - May 2	Otolaryngology	Michael G. Stewart, MD Gerhard Rasp, MD	Weill Cornell/NYPH Paracelsus Medical University Salzburg	523SWCS15	29.10.2014
13	May 3 - 9	Pediatric Urology *	Thomas Kolon, MD Dr. Josef Oswald, MD FEAPU	The Children's Hospital of Philadelphia Sisters of Mercy Hospital, Linz	524SPPS15	15.02.2015
14	May 10 - 16	Pathology	Jennifer Brainard, MD Dontscho Kerjaschki, MD	Cleveland Clinic Medical University of Vienna	525SCLS15	15.02.2015
15	May 17 - 23	Maternal & Infant Health	Richard A. Polin, MD Friedrich Reiterer, MD	Columbia University/NYPH Medical University of Graz	526SCOS15	15.02.2015
16	May 24 - 30	Infectious Diseases	Roy M. Gulick, MD Florian Thalhammer, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	527SWCS15	15.02.2015
17	May 31 - June 6	Behavioral Pediatrics & Child Development *	Susan E. Levy, MD Claudia Klier, MD	Children's Hospital of Philadelphia Medical University of Vienna	528SPPS15	15.02.2015

18	June 7 – 13	General Pediatrics *	Louis M. Bell, MD Reinhold Kerbl, MD	Children's Hospital of Philadelphia LKH Leoben	529SPPS15	15.02.2015
19	June 14 – 20	Rehabilitation Medicine	Michael O'Dell, MD Elisabeth Preisinger, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	530SWCS15	15.02.2015
20	June 21 – 27	Oncology A: Hematologic Malignancies *	Thomas J. Fahey, Jr., MD David G. Pfister, MD	Weill Cornell/NYPH/ Memorial Sloan Kettering Cancer Center	531SWCS15	15.02.2015
21	June 28 – July 4	OB/GYN	Frank Chervenak, MD Christian Dadak, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	532SWCS15	15.02.2015
22	July 5 – 11	ESU Master Class in Urology	Harry Herr, MD Juan Palou Redorta, MD, PhD	Weill Cornell/NYPH European Association of Urology	533SWCS15	31.03.2015
23	July 12 – 18	Dermatology	Richard D. Granstein, MD Georg Stingl, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	534SWCS15	15.02.2015
24	July 19 – 25	Internal Medicine	Joseph Tenenbaum, MD	Columbia University/NYPH	535SCOS15	15.02.2015
25	August 30 – September 5	Family Medicine *	J. Lloyd Michener, MD Manfred Maier, MD	Duke University Medical University of Vienna	536SDUS15	31.05.2015
26	September 6 – 12	IPCI	Betty Ferrell, RN, PhD, MA, FAAN, FPCN, CHPN	OSF; by invitation only	537OSF15	06.06.2014
27	September 13 – 19	Neurosurgery	Jared Knopman, MD Claudius Thomé, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Innsbruck	538SWCS15	31.05.2015
28	September 20 – 26	International Atherosclerosis Society/ Weill Cornell Seminar in Lipid Metabolism	Antonio M. Gotto, Jr., MD	Weill Cornell International Atherosclerosis Foundation	539SWCS15	31.05.2015
29	October 4 – 10	Medical Education *	Stephen Ludwig, MD	Children's Hospital of Philadelphia	540SPPS15	31.05.2015
30	October 11 – 17	Cardiology	Paul D. Kligfield, MD Gerald Maurer, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	541SWCS15	31.05.2015
31	October 18 – 24	Psychiatry	Michael Sacks, M.D. Wolfgang Fleischhacker, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Innsbruck	542SWCS15	31.05.2015
32	October 25 – 31	Cardiac Surgery	Edward Soltesz, MD Günther Laufer, MD	Cleveland Clinic Medical University of Vienna	543SCLS15	31.05.2015
33	November 1 – 7	Changing the Narrative on Roma Health	TBA	OSF; by invitation only	544OSF15	01.08.2015
34	November 8 – 14	Diagnostic Imaging	David W. Trost, MD Franz Kainberger, MD	Weill Cornell/NYPH Medical University of Vienna	545SWCS15	31.05.2015
35	November 15 – 21	Law and Health	TBA	OSF; by invitation only	546OSF15	15.08.2015
36	December 6 – 12	Oncology B: Soft Tissue, Bone, and Skin Malignancies *	Thomas J. Fahey, Jr., MD David G. Pfister, MD	Weill Cornell/NYPH/ Memorial Sloan Kettering Cancer Center	547SWCS15	31.05.2015
37	December 13 – 19	Diabetes	Robin S. Goland MD Michael Roden, MD	Columbia University/NYPH German Diabetes Center (DDZ)	548SCOS15	31.05.2015

