

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**



***Importanța markerilor biochimici în diagnosticul rapid și
tratamentul sindromului de strivire***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. GREABU MARIA**

**Student-doctorand:
Creangă Constantin Iulian**

2022

Cuprins

Introducere	1
PARTEA GENERALĂ	5
1. Modificări apărute în biochimia și fiziologia țesutului muscular și osos la pacienții cu sindrom de strivire	6
1.1. Generalități	6
1.2. Sindromul de strivire.....	10
1.2.1 Tipuri de leziuni	12
1.3. Rabdomioliza și alterările celulare apărute în sindromul de strivire.....	15
1.4. Efecte locale și sistemice ale sindromului de strivire	17
1.4.1 Efecte locale ale sindromului de strivire	17
1.4.2 Efecte sistemice ale sindromului de strivire.....	18
1.5. Modificările markerilor biochimici în sindromul de strivire	18
1.6. Evaluarea pacientului cu sindrom de strivire	19
1.6.1 Folosirea scorurilor de prognostic în evoluția și apariția complicațiilor	20
1.6.2 Evaluarea paraclinică	23
1.6.3 Monitorizarea statusului funcțional al musculaturii	23
1.6.4 Monitorizarea statusului antioxidant în evaluarea nivelului de stres muscular	24
1.6.5 Tratamentul sindromului de strivire / importanța diagnosticului rapid în instituirea tratamentului corect și prevenirea complicațiilor	24
1.6.6 Concluzii și perspective	25
2. Rabdomioliza	26
2.1. Generalități	26
2.1.1 Cauzele rabdomiolizei.....	26
2.1.2 Factori care pot crește riscul de apariție a rabdomiolizei de efort.....	28
2.1.3 Hidratarea, factor de prevenție în apariția rabdomiolizei	28
2.2. Diferența dintre sexe în raport cu apariția rabdomiolizei	29
2.3. Diferența între copii și adolescenți în raport cu apariția rabdomiolizei.....	29
2.4. Alți factori declanșatori în apariția rabdomiolizei	30
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ.....	31
3. Markerii biochimici care prezintă modificări cu semnificație clinică în sindromul de strivire	32
3.1. Creatinkinaza (CK)	32
3.2. Mioglobina (Mb).....	35
3.3 Lactat dehidrogenaza (LDH)	37

3.4 Aldolaza A (ALD A)	39
3.4.1 ALD A- enzimă glicolică.....	42
3.4.2 ALD A- factor de reglare nuclear	42
3.4.3 ALD A și cancerul	43
3.5. Anhidraza carbonică III (CAIII)	44
3.5.1 Distribuția CAIII	45
3.6. Proteina C reactivă (CRP).....	47
3.7. Troponinele (Tn)	48
3.8. Prohormonul N-terminal al Peptidului Natriuretic Cerebral (NT-pro-BNP).....	49
3.9. Proteina de răspuns la stres oxidativ (OXSR1).....	52
3.10. Interleukina-6 (IL-6)	53
3.11. Interleukina-1 beta (IL-1 β)	54
3.12. Factorul de necroză tumorală-alfa (TNF- α).....	55
4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	57
5. Metodologie generală.....	59
5.1. ELISA directă	60
5.2. ELISA indirectă	61
5.3. ELISA sandwich	61
5.4. ELISA competitivă	62
5.5. Selecția pacienților.....	66
5.6. Criterii de includere în studiu	67
5.7. Criterii de excludere din studiu.....	67
5.8. Recoltarea probelor biologice	67
5.9. Analiza statistică	68
6. Studiul 1: Noi posibili markeri biochimici cu semnificație clinică la pacienții cu sindrom de strivire-ALD A și CAIII.....	69
6.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)	69
6. 2. Materiale și metode.....	69
6.2.1 Protocol de lucru pentru determinarea ALD A	70
6.2.3 Protocol de lucru pentru determinarea CAIII.....	71
6.3. Rezultate	71
6.4. Discuții	73
7. Studiul 2: Markerii biochimici ai inflamației la pacienții cu sindrom de strivire	78
7.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)	78
7.2. Materiale și metode.....	78

7.2.1	Protocol de lucru pentru determinarea TNF- α	79
7.2.2	Protocol de lucru pentru determinarea IL-6	79
7.2.3	Protocol de lucru pentru determinarea IL-1 β	80
7.2.4	Protocol de lucru pentru determinarea hsCRP	80
7.3.	Rezultate	81
7.4.	Discuții	85
8.	Studiul 3: Markeri biochimici ai lizei musculare la pacienții cu sindrom de strivire ..	89
8.1.	Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)	89
8.2.1	Protocol de lucru pentru determinarea NT-proBNP.....	91
8.2.2	Protocol de lucru pentru determinarea CK.....	92
8.3.	Rezultate	92
8.4.	Discuții	94
9.	Studiul 4: Markeri biochimici de stres oxidativ la pacienții cu sindrom de strivire- OXSR1	96
9.1.	Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)	96
9.2.	Materiale și metode.....	97
9.2.1	Protocol de lucru pentru determinarea OXSR1	97
9.3.	Rezultate	97
9.4.	Discuții	98
10.	Posibile corelații între diferitele tipuri de markeri biochimici la pacienții cu sindrom de strivire	101
10.1.	Introducere	101
10.2.	Materiale și metode.....	101
10.3.	Rezultate	101
11.	Perspective în evaluarea și diagnosticul rapid al SS	123
12.	Concluzii și contribuții personale	133
12.1.	Concluzii	133
12.2.	Contribuții personale.....	136
13.	CAZURI CLINICE.....	141
13.1.	Caz clinic I.....	141
13.2.	Caz clinic II.....	144
13.3.	Caz clinic III	148
	Bibliografie	153
	Anexe	166

Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. **Iulian Creangă**, Alexandra Totan, Olivera Lupescu, Iulia - Ioana Stănescu, Costin Dumitru, Maria Greabu. Aldolase - From Biochemistry to Laboratory Medicine, REV.CHIM. (Bucharest) 70, No. 2, p578-580, 2019.
<https://www.revistadechimie.ro/pdf/44%20CREANGA%202%2019.pdf>
2. **Iulian Constantin Creangă**, Alexandra Totan, Iulia-Ioana Stănescu, Daniela Miriicescu, Maria Greabu. The importance of the biochemical markers in rapid diagnosis and treatment of crushing syndrome. Romanian Journal of Medical Practice – Vol. XV, No. 1 (70), p 88-95, 2020.
https://rjmp.com.ro/articles/2020.1/RJMP_2020_1_Art-17.pdf
3. **Iulian Constantin Creangă**, Alexandra Totan, Iulia-Ioana Stănescu, Daniela Miricescu, Maria Greabu. Aldolase A and carbonic anhydrase III, two new candidate biomarkers versus acknowledged parameters în the context of crushing syndrome. Romanian Journal of Medical Practice –Vol. XVI, No. 3 (80), p380-386, 2021.
https://rjmp.com.ro/articles/2021.3/RJMP_2021_3_Art-12.pdf
4. Costin Dumitru, Stănescu Iulia-Ioana, Totan Alexandra, Miricescu Daniela, **Iulian Constantin Creangă**, Greabu Maria. Abordarea pacientului politraumatizat cu fractură de bazin. Romanian Journal of Medical Practice, Vol. XV Issue 1, p37-45. 9p, 2020.
https://rjmp.com.ro/articles/2020.1/RJMP_2020_1_Art-08.pdf

Lista cu abrevieri și simboluri

1. Sindrom de strivire – (SS)
2. Radiografie – (RX)
3. Computer tomograf – (CT)
4. Rezonanță magnetică nucleară - (RMN)
5. Ecografie - (ECO)
6. Aldolaza – (ALD)
7. Aldolaza A - (ALD A)
8. Creatinkinaza - (CK)
9. Creatinkinaza-MB - (CK-MB)
10. Creatinkinaza-MM - (CK-MM)
11. Proteina de răspuns la stres oxidativ 1 - (OXSR1)
12. Viteza de sedimentare a hematiilor - (VSH)
13. Proteina C reactivă – (CRP)
14. Lactat dehidrogenaza – (LDH)
15. Factorul de creștere a fibroblastului 2- (FGF) -2
16. Factorul 1 de inhibiție a creșterii - (IGF-1)
17. Vitamina D - (Vit. D)
18. Hormonul de creștere - (GH)
19. Metaloproteinaza matriceală-2 - (MMP-2)
20. Interleukina - (IL)
21. Familie cu similaritate de secvență 5, membru C – (FAM5C)
22. Proteoglicani – (PGs)
23. Proteine morfogenetice osoase - (BMPs)
24. Factorul de creștere endotelială vasculară - (VEGF)
25. Factorul de creștere a hepatocitelor - (HGF)
26. Adenozintrifosfat - (ATP)
27. Acetil coenzima A - (acetil-CoA)
28. Ciclul acidului citric - (TCA)
29. Insuficiența multiplă de organe - (MSOF)
30. Mioglobina - (Mb)
31. Coagularea intravasculară diseminată - (CID)
32. Insuficiența renală acută - (IRA)

33. Raportul dintre ischemie și reperfuzie - (I / R)
34. Troponina C - (TnC)
35. Troponina I - (TnI)
36. Troponina T - (TnT)
37. Aspartataminotransferaza - (AST)
38. Anhidraza carbonică III – (CAIII)
39. Glutation peroxidaza - (GPx)
40. 8-hidroxi -2'- deoxiguanozina - (8-OHdG)
41. Capacitatea antioxidantă totală - (TAC)
42. Presiune intracompartimentală - (PIC)
43. Electrocardiograma - (EKG)
44. Interleukina 1 – (IL-1)
45. Interleukina 6 – (IL- 6)
46. Superoxid dismutaza - (SOD)
47. Hidroxilizina (HO-Lys)
48. Hidroxiprolina (HO-Pro)
49. Durerea musculară cu debut tardiv - (DOMS)
50. Deficiență de carnitul palmitotransferază - (CPT)
51. Infarctul miocardic acut - (IMA)
52. Oxidul nitric - (NO)
53. Ionul feros - (Fe_2^+)
54. Ionul feric - (Fe_3^+)
55. Fructozo-1,6-bisfosfat - (F-1,6-P2)
56. Gliceraldehid- 3-fosfat - (GAP)
57. Dihidroxiacetonfosfat - (DHAP)
58. Trigliceride - (TG)
59. Acid piruvic - ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$)
60. Fosfructokinaza-1 - (FFK-1)
61. Carcinomul cu celule scuamoase - (SCC)
62. SCC pulmonar - (LSCC)
63. Proteina C reactivă – (CRP)
64. CRP nativă - (nCRP)
65. CRP înalt sensibilă - (hsCRP)
66. CRP monomerici - (mCRP)

- 67. Factor α de necroză tumorală – (TNF- α)
- 68. Fosfocolina - (PCh)
- 69. Terapie orală de substituție cu hormoni - (HRT)
- 70. Proteine asociate anhidrazei carbonice – CARPs
- 71. Carcinomul hepatocelular uman - (HCC)
- 72. Artrita reumatoidă – (AR)
- 73. Receptor exprimat în țesuturile limfoide - RELT

INTRODUCERE

Sindromul de strivire (SS) reprezintă o condiție medicală severă ce se regăsește la pacienții prezentați în cadrul departamentelor de primiri urgențe, care au suferit accidente de diferite cauze, soldate cu distrugerea severă a țesutului muscular dintr-o anumită zonă. Un astfel de traumatism, poate evolua către deces chiar și în absența unei afectări pluriorganice inițiale, dacă nu se intervine terapeutic într-un mod rapid și eficient.

În anumite circumstanțe, poate fi afectat un număr mare de persoane, de exemplu în cazul dezastrelor naturale sau atacurilor teroriste, acestea putând genera nu numai decesul imediat, dar și complicații severe cu potențial ireversibil.

Evaluarea rapidă și tratamentul în urgență (local și general), oferă pacientului șanse crescute de vindecare, scade numărul complicațiilor și facilitează integrarea rapidă în societate.

Punem accent pe “diagnostic rapid” deoarece pacientul care a suferit un traumatism prin strivire poate prezenta inițial, la prezentarea și evaluarea în urgență la camera de gardă, semne și simptome nespecifice, modeste (mai ales în cazul leziunilor musculare care nu au asociate leziuni osoase – fracturi), care pot fi ușor trecute cu vederea de un ochi mai puțin experimentat și frecvent asociate cu leziuni de tipul contuzie. Acest lucru adesea întârzie instituirea tratamentului de specialitate, fapt care poate produce **leziuni locale dar și generale ireversibile, sechele grave sau deces**.

Examenul clinic local /general precum și *monitorizarea markerilor biochimici*, au un rol foarte important. *Din punctul nostru de vedere, screening-ul markerilor biochimici în cadrul SS și monitorizarea acestora în dinamică oferă o imagine de ansamblu asupra prognosticului general.*

Dezvoltarea acestui tip de screening și descoperirea unor markeri biochimici cu specificitate crescută pentru sindromul de strivire - Aldolaza A (ALD A), Anhidraza carbonică III (CAIII), Prohormonul N-terminal al Peptidului Natriuretic Cerebral (NT-pro-BNP), Proteina de răspuns la stres oxidativ 1 - (OXSRI) împreună cu evaluarea markerilor deja cunoscuți și folosiți în practica medicală curentă – creatinkinaza (CK), lactat dehidrogenaza (LDH), fibrinogen, proteina C reactivă (CRP) - reprezintă o prioritate pentru noi și pentru proiectul nostru viitor, în scopul *îmbunătățirii protocoalelor de diagnostic rapid al SS*.

În acest context, prezenta lucrare de cercetare doctorală are ca obiectiv principal determinarea și evaluarea valorilor markerilor biochimici (ALD A, CAIII, NT-proBNP, OXSR1), care pot avea un rol important pe viitor în diagnosticul rapid și tratamentul leziunilor musculare de etiologie traumatică. *În cadrul acestei patologii (SS), aceștia nu sunt determinați în mod uzual în practica medicală curentă.*

Specificitatea crescută a acestor markeri pentru leziunile musculare (de etiologie ne-traumatică) a fost demonstrată în numeroase studii, cercetătorii reușind să demonstreze un raport direct proporțional între valorile acestora (evaluată în dinamică) și rata de distrucție musculară în cadrul a numeroase patologii care implică afectare musculară (poliartrită reumatoidă, lupus eritematos sistemic, colagenoze, stres muscular la sportivi de performanță).

Până la momentul actual *există foarte puține studii care să plaseze acești markeri în raport cu leziunile traumatice.*

I. PARTEA GENERALĂ

Partea generală cuprinde două capitole care conțin informații relevante pentru tema abordată în partea specială, precum și o analiză descriptivă a realizărilor în domeniu, pe baza literaturii de specialitate internaționale și din România.

În primul capitol este realizată o descriere amănunțită a modificărilor apărute în biochimia și fiziologia țesutului muscular și osos la pacienții cu sindrom de strivire. Au fost descrise particularitățile țesutului muscular și osos și efectele sindromului de strivire atât pe plan local cât și sistemic. De asemenea, au fost descrise modificările biochimice de interes apărute în SS, evaluarea, monitorizarea și conduita terapeutică specială necesară pentru tratamentul acestor pacienți.

Capitolul 2 cuprinde informații amănunțite despre principala complicație apărută în SS: rabdomioliza. Sunt descrise cauzele apariției acesteia, factorii de risc și principalele manifestări care fac din această complicație, un obiectiv extrem de important în tratamentul și monitorizarea pacienților cu SS.

II. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Capitolul 3. Markeri biochimici care prezintă modificări cu semnificație clinică în sindromul de strivire

Leziunile musculare declanșează schimbări din punct de vedere fizic, fiziologic și biochimic. Tulburările metabolice din mușchiul lezat sunt ilustrate prin eliberarea în matricea extracelulară a unor biomarkeri specifici:

1. *Utilizați în protocolul actual de diagnostic:*

- proteine musculare: mioglobină, troponină
- markeri ai lizei musculare: creatinkinaza, izoenzimele MM și MB
- markeri ai inflamației: TNF- α , IL-6, IL-1 β , hsCRP

2. *mai puțin studiați:*

- aldolaza (ALD A)
- anhidraza carbonică III (CAIII)
- prohormonul N-terminal al peptidului natriuretic cerebral (NT-proBNP)
- proteina de răspuns la stres oxidativ 1 (OXS1)

Cuantificarea acestor parametri poate contribui în mod substanțial la evaluarea leziunilor musculare și la stabilirea conduitei terapeutice ulterioare [47].

Acest capitol evidențiază caracteristicile esențiale ale acestor markeri și modificările apărute în raport cu SS.

Capitolul 4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Motivația alegerii temei prezentei cercetări doctorale este reprezentată de necesitatea detectării unor biomarkeri biochimici cu sensibilitate și specificitate crescută pentru SS, care să faciliteze punerea unui diagnostic precoce, în vederea inițierii cât mai rapide a terapiei adecvate. Evitarea apariției complicațiilor severe specifice acestei afecțiuni reduce considerabil riscul de morbiditate și mortalitate.

Prin cercetările efectuate în timpul stagiului de doctorat am încercat să găsim răspunsul la următoarele întrebări:

„Se pot identifica noi parametri biochimici de interes în cazul SS?”

„Cât sunt de implicate ALD A și CAIII, NT-proBNP și OXS1, în SS?”

Pe baza acestor întrebări au fost formulate următoarele ipoteze care au stat la baza cercetărilor întreprinse:

- identificarea relației dintre ALD A și SS
- identificarea relației dintre CAIII și SS
- identificarea relației dintre NT-proBNP și SS
- identificarea relației dintre OXSR1 și SS
- identificarea unei posibile legături dintre markerii biochimici consacrați pentru leziunile musculare și ALD A, CAIII, NT-proBNP și OXSR1

Pentru a confirma sau infirma aceste ipoteze au fost efectuate ample cercetări bibliografice, precum și analiza cantitativă și statistică a unor parametri de interes.

În acest context, cercetarea din prezenta lucrare constă în realizarea unui studiu comparativ efectuat pe un număr de 42 de pacienți (22 de pacienți care au suferit un traumatism prin strivire și 20 de pacienți sănătoși - care reprezintă lotul martor), studiu care să compare valorile ALD A, CAIII, NT-proBNP și OXSR1 cu valorile celorlalți markeri de distrucție musculară consacrați (CK, TNF- α , IL-6, IL-1 β , hsCRP).

Scopul acestui studiu este acela de a stabili gradul de sensibilitate și specificitate a ALD A, CAIII, NT-proBNP și OXSR1 în traumatismele prin strivire, plecând de la informațiile deja existente în literatură (specificitate și sensibilitate crescută a ALD A, CAIII, NT-proBNP și OXSR1 pentru pacienții cu boli inflamatorii cronice, persoane cu stres muscular de etiologie netraumatică).

Analizarea corelațiilor dintre valorile markerilor ALD A, CAIII, NT-proBNP, OXSR1 și o serie de parametri clinici și paraclinici are scopul de a raporta rezultatele studiilor în contextul clinic al pacienților.

Capitolul 5. Metodologie generală

Datele din literatura de specialitate au fost coroborate cu studiul pe produse biologice (ser) ale pacienților și voluntarilor care și-au dat acordul în scris pentru prelucrarea acestor probe.

Probele pacienților au fost recoltate, separate, stocate și analizate conform indicațiilor producătorului kiturilor de reactivi. Alegerea pacienților și voluntarilor a fost realizată în colaborare cu medicii ortopezi precum și cu susținerea unui laborator de analize medicale din București. Probele au fost recoltate, stocate și analizate în decurs de 4 ani.

Au fost utilizate echipamente automate sau semiautomate de ultimă generație, verificate de către inginerii de service pentru a asigura precizia în măsurarea acestora și a minimiza sursa de eroare. Acolo unde a fost posibil au fost utilizate și metode de control tocmai

pentru a ne asigura că rezultatele sunt cât mai precise. Pacienții au fost selectați pe baza unor criterii de includere și excludere prestabilite.

Metodele de determinare utilizate au fost: chimia umedă, ELISA și chemiluminiscentă. În cadrul studiului au fost incluși 42 de pacienți împărțiți în două grupuri:

1. pacienți care au suferit un traumatism prin strivire
2. pacienți internați pentru alte patologii, fără patologie de etiologie traumatică al căror diagnostic a fost stabilit de către medicul specialist conform criteriilor de diagnostic specifice.

Toți pacienții au fost internați în Spitalul Clinic de Urgență București în perioada 2016-2021.

Pentru fiecare subiect inclus în studiu au fost notate o serie de date clinice și biologice: vârsta la momentul includerii în studiu, sexul, comorbidități asociate și o gamă largă de parametri biochimici.

Grupurile de control din fiecare studiu al prezentei cercetări au fost constituite din subiecți clinic și biologic sănătoși, fără alte afecțiuni cu potențial de rezultate fals pozitiv sau fals negativ.

Toți subiecții au participat voluntar la această cercetare și au semnat consimțământul informat. Aceștia au fost informați că datele lor vor fi folosite în scopuri științifice și că le va fi păstrat anonimul, iar cercetarea nu va avea niciun impact asupra managementului diagnostic sau terapeutic.

Tuturor participanților la studiu le-au fost colectați 2-5 mL de sânge. Recoltarea probelor a fost realizată în două etape: la admisie și la 24 de ore de la prima recoltare, după inițierea terapiei de urgență.

Recoltarea serului în vederea determinării ALD A și CAIII, NT-proBNP și OXSR1 a fost efectuată simultan cu determinarea de markeri de necroză musculară deja consacrați (CK, TNF- α , IL-6, IL-1 β , hsCRP) precum și cu analizele uzuale (recoltate uzual în cazul tuturor pacienților admiși în Urgență).

Analiza statistică a fost efectuată folosind IBM SPSS Statistics 25 și Microsoft Office Excel/Word 2013. Variabilele cantitative au fost testate pentru distribuție folosind testul Shapiro-Wilk și au fost exprimate sub formă de medii cu deviații standard sau mediane cu intervale interpercentile. Variabilele cantitative independente cu distribuție non-parametrică au fost testate folosind testul Mann-Whitney U iar variabilele cantitative independente cu distribuție parametrică au fost testate folosind testul Student (corelațiile existente între acestea au fost testate folosind coeficientul de corelație Pearson).

Capitolul 6. Studiul 1: Noi posibili markeri biochimici cu semnificație clinică la pacienții cu sindrom de strivire-ALD A și CAIII

6.1. Introducere

Obiectivele specifice ale acestui studiu au constatat în:

1. determinarea activității ALD A în sânge la pacienți cu sindrom de strivire și compararea cu nivelul ALD A din sângele pacienților ce constituie lotul control
2. determinarea activității CAIII în sânge la pacienți cu sindrom de strivire și compararea cu nivelul CAIII din sângele pacienților ce constituie lotul control

6.2 Materiale și metode

Pacienții au fost împărțiți în două grupuri:

Grupul 1: constă din pacienți internați de urgență cu diagnosticul de SINDROM DE STRIVIRE, în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2016-2021.

Grupul 2: a fost alcătuit din lotul control – pacienți internați pentru alte patologii, CU EXCEPȚIA SINDROMULUI DE STRIVIRE.

Pacienții din grupul 1 de studiu au beneficiat de recoltarea a două probe de sânge și implicit două determinări ale valorilor ALD A și CAIII, prima efectuată la admisia în urgență, a doua la 24 de ore de la admisie (după efectuarea tratamentului de urgență și echilibrarea primară a pacientului) .

Protocol de lucru pentru determinarea ALD A

Determinarea ALD A a fost realizată prin metoda ELISA sandwich, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 0,31-20 ng/mL, iar sensibilitatea 0,19 ng/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

Protocol de lucru pentru determinarea CAIII

Determinarea CAIII a fost realizată prin metoda ELISA competitivă, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 0,5-10 ng/mL, iar sensibilitatea 0,1 ng/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

6.3 Rezultate

Distribuția valorilor ALD A în ambele loturi este parametrică, conform testului **Shapiro-Wilk** ($p > 0.05$).

Conform testului **Student**, pacienții din lotul de studiu au avut valori ale ALD A semnificativ mai mari (3105 ± 849.81 pg/mL) comparativ cu pacienții din lotul control (961.82 ± 165.7 pg/mL) ($p < 0.001$)

Tabel VI.1 Compararea valorilor de ALD A între loturi

Lot	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	p* (p<0.001***)
Lot control (p=0.664**)	961.82 $\pm$ 165.7	938.9 (824.1-1100.57)	<0.001
Lot de studiu (p=0.414**)	3105 $\pm$ 849.81	3051.25 (2479.02-4021.17)	

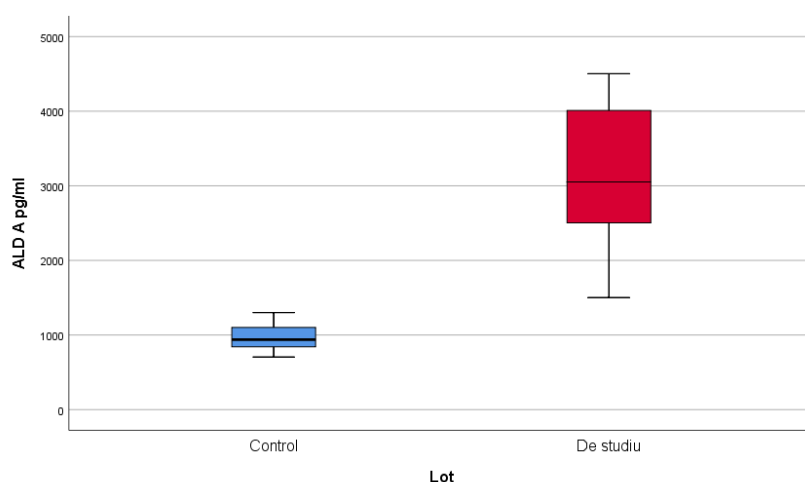


Fig. 6.1 Compararea valorilor de ALD A între loturi

Distribuția valorilor CAIII în lotul control este non-parametrică, conform testului **Shapiro-Wilk (p=0.001)**. Conform testului **Mann-Whitney U**, pacienții din lotul de studiu au avut valori ale CAIII semnificativ mai mari (154.06 ± 18.97 ng/mL) comparativ cu pacienții din lotul control (37.48 ± 19.31 ng/mL) ($p < 0.001$).

Tabel VI.2 Compararea valorilor de CAIII între loturi

Lot	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	Rang mediu	p*
Lot control (p=0.001**)	37.48 $\pm$ 19.31	33.15 (23.3-41.42)	10.50	<0.001
Lot de studiu (p=0.316**)	154.06 $\pm$ 18.97	152.65 (137.92-167.97)	31.50	

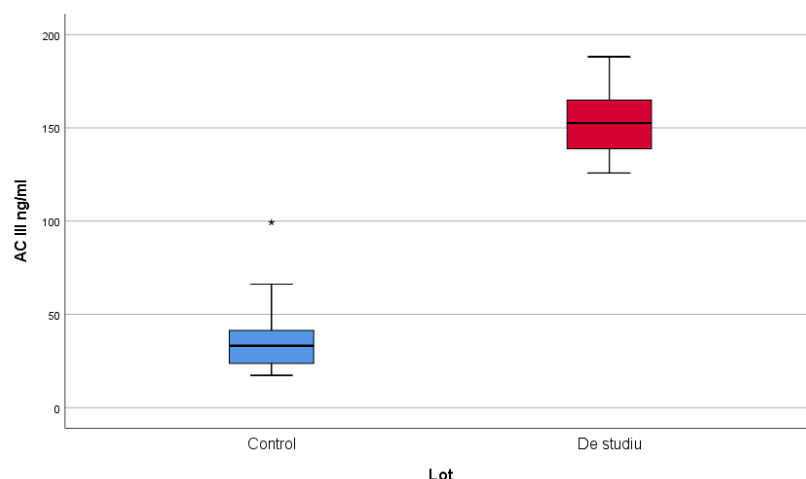


Fig. 6.2 Compararea valorilor de CAIII între loturi

6.4. Discuții

În prezent, CK serică este considerat cel mai sensibil indicator al evaluării leziunilor prin strivire. ALD A și CAIII nu sunt determinate în mod uzual și monitorizarea acestor markeri nu este inclusă în niciun protocol de diagnostic și monitorizare a SS.

În acest prim studiu s-a observat că ALD A prezintă concentrații crescute în cazul pacienților cu sindrom de strivire, diferențele dintre cele 2 loturi fiind semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0.001$).

Sunt descrise situații în practica clinică când deși există SS, valorile CK nu sunt semnificativ crescute sau creșterea CK nu este direct proporțională cu severitatea leziunilor. În aceste scop Nozaki și Pestronk au subliniat utilitatea măsurării ALD A serice la toți pacienții cu leziuni musculare care prezintă valori CK normale [21].

Mecanismul molecular prin care ALD A ar putea fi eliberată din celulele musculare fără o creștere paralelă a CK seric nu a fost încă explicat. În scopul de a oferi o explicație pentru aceste date clinice, Casciola-Rosen și colaboratorii săi au analizat nivelul de expresie genică și proteică ale ALD A și CK în timpul diferențierii in vitro a celulelor musculare [22, 23].

Rezultatele experimentale in vitro au arătat că în timpul fazei de regenerare a mușchiului ALD A este exprimată la niveluri mai mari comparativ cu CK. De asemenea, au identificat o fază în timpul diferențierii celulelor musculare în care celulele exprimă exclusiv ALD A [22, 23].

Activarea sau inhibarea CAIII de către diverși compuși reprezintă un subiect de cercetare actual și de viitor pentru tratarea patologiilor legate de expresia și funcțiile CAIII. La fel ca și ALD A, CAIII nu este determinată uzual în cazul pacienților cu SS. CAIII este eliberată

în circulație în urma leziunilor musculare. La momentul actual se prezintă un interes special pentru *raportul Mb/CAIII din ser ca posibil indicator de diagnostic în infarctul miocardic* [128, 129, 130]. Acest raport ar putea arăta valori crescute întrucât CAIII nu se regăsește în miocard în aceleași proporții cu Mb.

Studiul pe care noi l-am efectuat, evidențiază faptul că distribuția valorilor în lotul control este non-parametrică și pacienții din lotul de studiu au avut valori ale CAIII semnificativ mai mari comparativ cu pacienții din lotul control.

Aceste rezultate întăresc ideea expusă de Brancaccio, care afirmă că ALD A și CAIII trebuie să fie adăugate la lista deja cunoscută a markerilor biochimici în cazul traumatismelor prin strivire [16].

Capitolul 7. Markerii biochimici ai inflamației la pacienții cu sindrom de strivire

7.1 Introducere

Unii dintre cei mai importanți biomarkeri asociați sindromului inflamator sunt : IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa, hsCRP.

Obiectivele specifice ale acestui studiu au constat în:

1. determinarea nivelului TNF- α în sângele pacienților cu sindrom de strivire și compararea acestor valori cu valorile de referință
2. evaluarea nivelului IL-1 beta în probele de sânge ale pacienților cu sindrom de strivire și compararea acestor valori cu valorile de referință
3. evaluarea nivelului IL-6 în probele de sânge ale pacienților cu sindrom de strivire și compararea acestora cu valorile de referință
4. determinarea nivelului hsCRP în sângele pacienților cu sindrom de strivire și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori

7.2 Materiale și metode

Pacienții au fost împărțiți în câte două grupuri:

Grupul 1: pacienți internați de URGENTĂ cu diagnosticul de SINDROM DE STRIVIRE, în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2016-2021

Grupul 2: a fost alcătuit din lotul control – pacienți internați pentru alte patologii, CU EXCEPȚIA SINDROMULUI DE STRIVIRE

Protocol de lucru pentru determinarea TNF- α

Determinarea TNF- α a fost realizată prin metoda ELISA sandwich, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 15,6-1000 pg/mL, iar sensibilitatea <1pg/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

Protocol de lucru pentru determinarea IL-6

Determinarea IL-6 a fost realizată prin metoda ELISA sandwich, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 7,8-500 pg/mL, iar sensibilitatea <1pg/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

Protocol de lucru pentru determinarea IL-1 β

Determinarea IL-1 β a fost realizată prin metoda ELISA sandwich, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 3,9-250 pg/mL, iar sensibilitatea <0,15pg/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

Protocol de lucru pentru determinarea hsCRP

Determinarea hsCRP a fost realizată prin metoda ELISA sandwich, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 0,78-50 ng/mL, iar sensibilitatea 0,3 ng/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

7.3 Rezultate

Tabel VII .1 Distribuția pacienților raportată la loturile analizate

Lot	Nr.	Procent
Control	10	39.4%
Studiu	12	60.6%

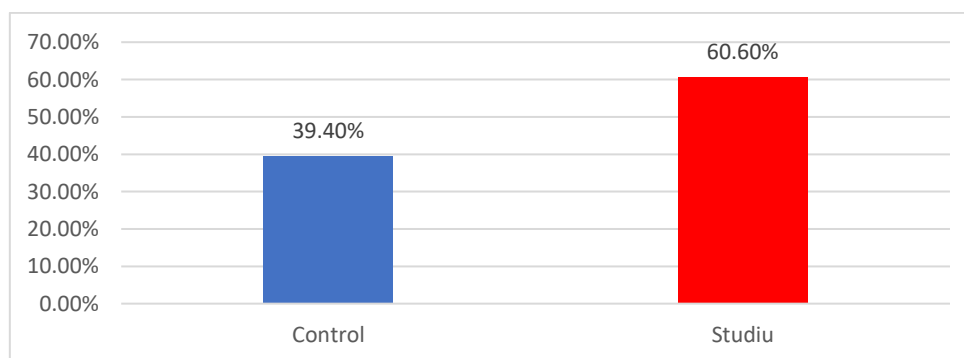


Fig. 7.1 Distribuția pacienților raportată la loturile analizate

Valorile hsCRP au o distribuție normală în ambele loturi conform testului **Shapiro-Wilk** ($p > 0.05$). Diferențele dintre loturi sunt semnificative conform testului **Student** ($p < 0.001$), observându-se valori semnificativ mai crescute în lotul de studiu ale hsCRP (6.02 ± 1.86 mg/L) comparativ cu lotul control (0.75 ± 0.29 mg/L).

Tabel VII.2 Compararea valorilor hsCRP între loturile analizate

Lot	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	p* (p=0.005***)
Control (p=0.978**)	0.75 $\pm$ 0.29	0.7 (0.5-0.95)	<0.001
Studiu (p=0.083**)	6.02 $\pm$ 1.86	5.95 (4.40-6.80)	

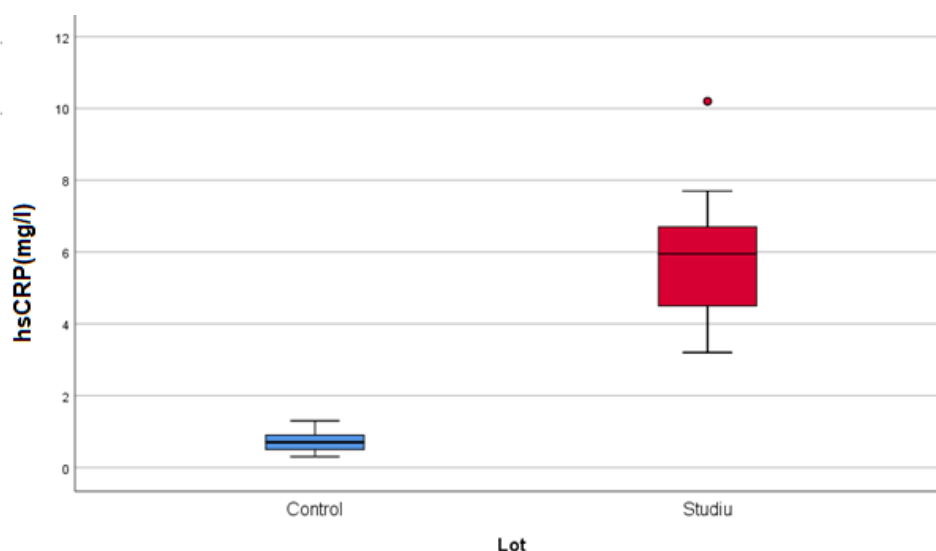


Fig. 7.2 Compararea valorilor hsCRP între loturile analizate

Tabel VII.3 Compararea valorilor IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa între loturile analizate

Parametru	N	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	Min	Max
IL-1 beta	22	13.16 $\pm$ 2.49	12.7 (11.7-15.3)	9	19
IL-6	22	8.53 $\pm$ 1.35	8.45 (7.28-9.4)	7	12
TNF-alfa	22	16.55 $\pm$ 2.24	16.8 (14.93-18.5)	12	19

IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa, biomarkeri asociați și consacrați ai sindromului inflamator, au valori semnificativ crescute la lotul pacienților cu sindrom de strivire comparativ cu valorile de referință (în cazul IL-1 beta, IL-6 și TNF-alfa)

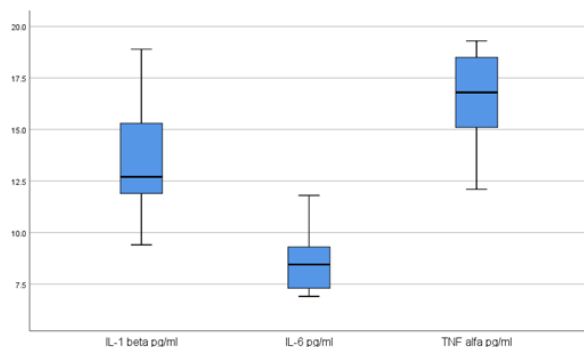


Fig. 7.3 Reprezentare box-plot a valorilor IL-1 beta, IL-6 și TNF-alfa

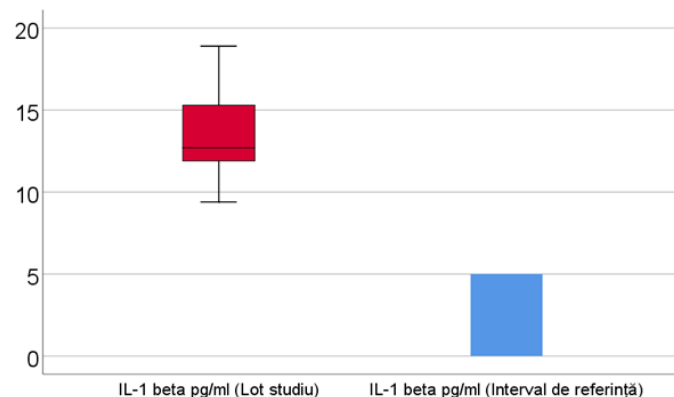


Fig. 7.4. Valoarea IL-1 beta în lotul de studiu ilustrată alături de intervalul de referință

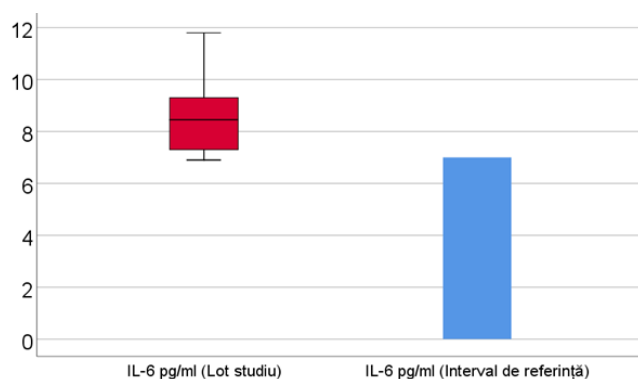


Fig. 7.5 Valoarea IL-6 în lotul de studiu ilustrată alături de intervalul de referință

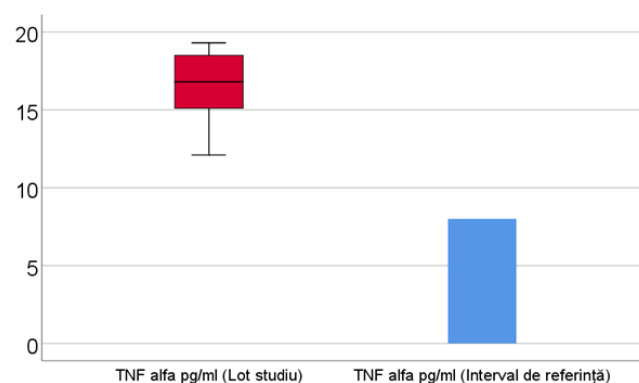


Fig. 7.6 Valoarea TNF-alfa în lotul de studiu ilustrată alături de intervalul de referință

7.4 Discuții

Este cunoscut faptul că nivelul CRP crește în mod dramatic ca răspuns la traumatism, infecție și inflamație. CRP este clasificat în principal ca marker acut al inflamației și este principalul mediator al răspunsului de fază acută apărut în urma unui eveniment inflamator. CRP este sintetizat în principal prin biosinteza hepatică dependentă de IL-6 [153,154]. De asemenea IL-6 este principalul inductor al expresiei genelor CRP, IL-1 crescând efectul acestuia [142].

Monitorizarea și analiza în dinamică a acestor markeri împreună cu markerii biochimici recent studiați (ALD A, CAIII, NT-proBNP, OXSR1), este foarte utilă deoarece aceștia reprezintă un punct de plecare ca model de referință și control în studiul efectuat de prezenta cercetare doctorală.

O modificare direct proporțională între markerii biochimici deja consacrați și utilizați (hS CRP, IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa) și markerii cu specificitate crescută studiați (ALD A, CAIII, NT-proBNP, OXSR1) evidențiază utilitatea crescută a acestora și ne motivează să continuăm cercetarea prezentă și în viitor.

Capitolul 8. Markerii biochimici ai lizei musculare la pacienții cu sindrom de strivire

8.1 Introducere

Peptidul natriuretic ventricular sau peptidul natriuretic cerebral (BNP – brain natriuretic peptide), cunoscut și sub numele de peptidul natriuretic de tip B, este un hormon secretat de cardiomiocite la nivel ventricular ca răspuns la elongația produsă prin creșterea volumului de sânge.

Nivelul CK serice totale crește în afecțiuni cardiace, cerebrale sau ale mușchilor scheletici (distrofie musculară Duchenne, polimiozită, dermatomiozită, traumatisme musculare, rabdomioliză).

Obiectivele specifice ale acestui studiu au constat în:

1. determinarea nivelului NT-proBNP în sângele pacienților cu sindrom de strivire și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori.
2. evaluarea nivelului CK în sângele pacienților cu sindrom de strivire și compararea cu valorile de referință.

8.2 Materiale și metode

Pacienții au fost împărțiți în câte două grupuri.

Grupul 1: pacienți internați de URGENȚĂ cu diagnosticul de **SINDROM DE STRIVIRE**, în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2016-2021.

Grupul 2: a fost alcătuit din lotul control – pacienți internați pentru alte patologii, CU EXCEPȚIA SINDROMULUI DE STRIVIRE.

Protocol de lucru pentru determinarea NT-proBNP

Determinarea NT-proBNP a fost realizată prin metoda ELISA competitivă, utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300+. Intervalul de detecție al kitului a fost de 50-1000 pg/mL, iar sensibilitatea 1 pg/mL. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

Protocol de lucru pentru determinarea CK

Determinarea CK a fost realizată prin metoda spectrofotometrică. Limita de detecție al kitului a fost de 9,2U/L. Metoda de detecție este colorimetrică. Procedura de lucru este efectuată conform indicațiilor producătorilor kiturilor.

8.3 Rezultate

Valorile NT-proBNP au o distribuție normală în ambele loturi conform testului **Shapiro-Wilk** ($p > 0.05$). Diferențele dintre loturi nu sunt semnificative conform testului **Student** ($p = 0.202$), astfel că la pacienții analizați valorile NT-proBNP nu au fost semnificativ diferite între lotul control (126.46 ± 46 pg/mL) și lotul de studiu (153.25 ± 64 pg/mL).

Tabel VIII.1 Compararea valorilor NT-proBNP între loturile analizate

Lot	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	p* ($p = 0.265^{***}$)
Control ($p = 0.462^{**}$)	126.46 ± 46	121 (85.5-173.5)	0.202
Studiu ($p = 0.307^{**}$)	153.25 ± 64	147.5 (95.75-202.75)	

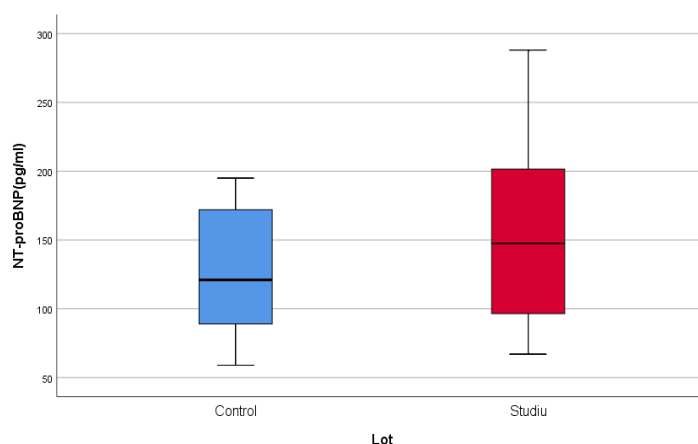


Fig. 8.1 Compararea valorilor NT-proBNP între loturile analizate

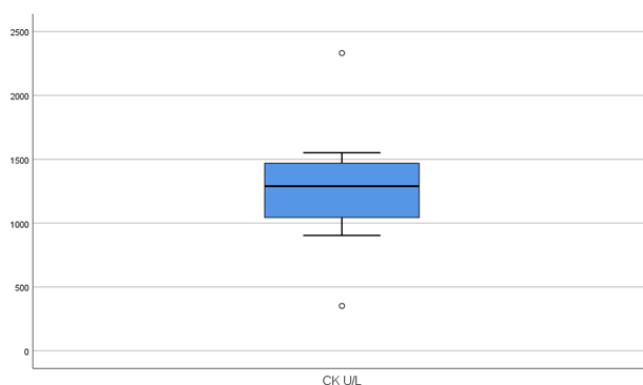


Fig. 8.2 Reprezentare box-plot a valorilor CK

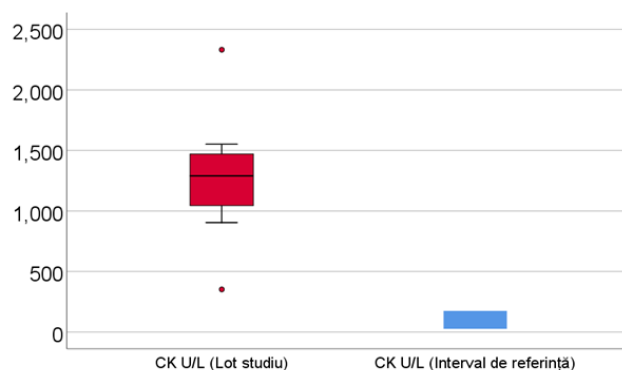


Fig. 8.3 Valoarea CK în lotul de studiu ilustrată alături de intervalul de referință

Pentru lotul de pacienți cu sindrom de strivire valoarea CK a fost 1286.5 ± 561.6 U/L comparativ cu intervalul de referință pentru CK 38-174 U/L bărbați și 26-140 U/L femei.

8.4 Discuții

În prezent NT-proBNP este utilizat în evaluarea diagnosticului insuficienței cardiace (IC). La nivel global este utilizat ca biomarker util și rentabil pentru diagnosticul, stratificarea riscului și monitorizarea terapiei infarctului miocardic acut și cronic [112].

Extinderea domeniului în spectrul traumatic nu evidențiază modificări semnificative conform testului Student ($p=0.202$), între lotul control și lotul de studiu.

Variațiile CK sunt un marker al evoluției pacientului. Scăderea CK cu 30% zilnic semnifică eficiența tratamentului iar persistența valorilor crescute poate semnifica faptul că tratamentul medical/chirurgical nu este eficient sau leziunile musculare au fost doar parțial tratate [48, 52].

În prezenta cercetare, evoluția CK a fost paralelă cu evoluția pacientului, dovedind faptul că o componentă importantă în contextul politraumatismului a fost reprezentă de afectarea musculară.

Capitolul 9. Markeri biochimici de stres oxidativ la pacienții cu sindrom de strivire-OXSR1

9.1. Introducere

În literatura de specialitate există studii pe pacienți politraumatizați, care evidențiază apariția stresului oxidativ. De aceea, obiectivul nostru a fost, determinarea celui mai nou biomarker de stres oxidativ, OXSR1 și evidențierea unei eventuale corelații a acestuia cu valorile celorlalți biomarkeri determinați, în funcție de evoluția pacienților cu sindrom de strivire.

Obiectivul specific a acestui studiu a constat în:

Determinarea nivelului OXSR1 în sângele pacienților cu sindrom de strivire și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori.

9.2 Materiale și metode

Pacienții au fost împărțiți în câte două grupuri:

Grupul 1: pacienți internați de URGENȚĂ cu diagnosticul de SINDROM DE STRIVIRE, în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2016-2021

Grupul 2: a fost alcătuit din lotul control – pacienți internați pentru alte patologii, CU EXCEPȚIA SINDROMULUI DE STIVIRE.

Protocol de lucru pentru determinarea OXSR1

Determinarea OXSR1 fost realizată prin metoda ELISA , utilizând kituri și un cititor de plăci Stat Fax 300. Metoda de detecție este colorimetrică.

9.3 Rezultate

Valorile OXSR1 au o distribuție non-parametrică în lotul de studiu conform testului **Shapiro-Wilk** ($p=0.014$). Diferențele dintre loturi sunt semnificative conform testului **Mann-Whitney U** ($p<0.001$), observându-se valori semnificativ mai scăzute în lotul de studiu ale OXSR1 (41 ± 28.4 ng/L) comparativ cu lotul control (83.72 ± 32.07 ng/L).

Tabel IX.1 Compararea valorilor OXSR1 între loturile analizate

Lot	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	Rang mediu	p*
Control ($p=0.211^{**}$)	83.72 $\pm$ 32.07	72.1 (56.2-110.9)	24.38	<0.001
Studiu ($p=0.014^{**}$)	41 $\pm$ 28.4	32.1 (21.83-56.78)	12.20	

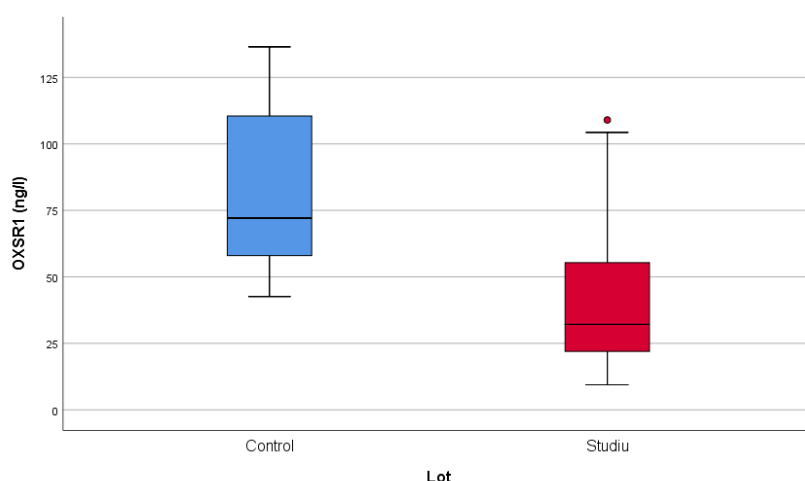


Fig. 9.1 Compararea valorilor OXSR1 între loturile analizate

9.4 Discuții

În literatura de specialitate există studii care evidențiază apariția stresului oxidativ la pacienții politraumatizați. Acest lucru ar trebui privit ca un punct de plecare în cercetarea rolului pe care stresul oxidativ îl are în evoluția pacienților.

Rezultatele obținute în cercetarea prezentă, au arătat o scădere semnificativă a nivelurilor de OXSR1 la lotul de studiu comparativ cu lotul control. Acestea, pot conduce la ideea că, în condițiile descrise, apar efecte protectoare, probabil printr-o cale moleculară care are ca rezultat îmbunătățirea OXSR1.

Capitolul 10. Posibile corelații între diferitele tipuri de markeri biochimici la pacienții cu sindrom de strivire

10.1 Introducere

Răspunzând unei necesități acute actuale, prezenta cercetare doctorală își propune să fie o contribuție la efortul medicinei moderne de a îmbunătăți supraviețuirea și calitatea vieții pacienților cu sindrom de strivire. În acest scop, am dorit identificarea unei potențiale corelații care să permită folosirea profilului biochimic al pacientului la monitorizarea și etapizarea tratamentului sindromului de strivire.

Modul de obținere al datelor necesar prezentei analize a fost complex, acesta cuprinzând ca surse de documentare: documentele medicale ale pacienților - foi de observație, analizele de laborator, consulturile de specialitate, medicație și evoluție, precum și toate investigațiile imagistice și paraclinice.

10.2 Materiale și metode

Analiza statistică a fost efectuată folosind IBM SPSS Statistics 25 și Microsoft Office Excel/Word 2013. Variabilele cantitative au fost testate pentru distribuție folosind testul Shapiro-Wilk. Corelațiile stabilite între acestea au fost efectuate folosind coeficientul de corelație Spearman's rho, raportat la distribuția non-parametrică a variabilelor.

10.3 Rezultate

Tabel X.1 Corelația dintre valorile aldolazei A și valorile IL-1 beta în lotul de studiu

Corelație	p*
ALD A (p=0.414**) x IL-1 beta (p=0.505**)	0.409, R= -0.185

*Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația dintre ALD A și IL-1 beta a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.409, R= -0.185), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.2 Corelația dintre valorile ALD A și valorile IL-6 în lotul de studiu

Corelație	p*
ALD A (p=0.414**) x IL-6 (p=0.081**)	0.513, R=0.147

*Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația dintre ALD A și IL-6 a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.513, R=0.147), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.3 Corelația dintre valorile ALD A și valorile TNF-alfa în lotul de studiu

Corelație	p*
ALD A (p=0.414**) x TNF-alfa (p=0.080**)	0.150, R=0.317

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația dintre ALD A și TNF-alfa a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.150, R=0.317), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.4 Corelația dintre valorile ALD A și valorile CK în lotul de studiu

Corelație	p*
ALD A (p=0.414**) x CK (p=0.649**)	0.829, R=0.092

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația dintre ALD A și CK a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.829, R=0.092), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.5 Corelația dintre valorile CAIII și valorile aldolazei A în lotul de studiu

Corelație	p*
CAIII (p=0.316**) x ALD A (p=0.414**)	0.198, R=0.285

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre CAIII și ALD A a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.198, R=0.285), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.6 Corelația dintre valorile CAIII și valorile IL-1 beta în lotul de studiu

Corelație	p*
CAIII (p=0.316**) x IL-1 beta (p=0.505**)	0.053, R=0.418

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre CAIII și IL-1 beta a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.053, R=0.418), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.7 Corelația dintre valorile CAIII și valorile IL-6 în lotul de studiu

Corelație	p*
CAIII (p=0.316**) x IL-6 (p=0.081**)	0.701, R= -0.087

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre CAIII și IL-6 a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.701, R= -0.087), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.8 Corelația dintre valorile CAIII și valorile TNF-alfa în lotul de studiu

Corelație	p*
CAIII (p=0.316**) x TNF-alfa (p=0.080**)	0.477, R=0.160

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre CAIII și TNF-alfa a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.477, R=0.160), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.9 Corelația dintre valorile CAIII și valorile CK în lotul de studiu

Corelație	p*
CAIII (p=0.316**) x CK (p=0.649**)	0.654, R=0.189

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre CAIII și CK a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.654, R=0.189), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.10. Corelația dintre NT-proBNP și hsCRP

Corelație	p*
NT-proBNP (p=0.159**) x hsCRP (p=0.004**)	0.419, R=0.145

***Spearman's rho Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Valoarea hsCRP este distribuită non-parametric, corelația observată nu este semnificativă statistic (p=0.419), astfel că la pacienții analizați nu a existat o asociere semnificativă între NT-proBNP și hsCRP.

Tabel X.11. Corelația dintre NT-proBNP și OXSR1

Corelație	p*
NT-proBNP (p=0.159**) x OXSR1 (p=0.030**)	0.770, R=0.053

***Spearman's rho Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Valoarea OXSR1 este distribuită non-parametric, corelația observată nu este semnificativă statistic (p=0.770), astfel că la pacienții analizați nu a existat o asociere semnificativă între NT-proBNP și OXSR1.

Tabel X.12. Corelația dintre hsCRP și OXSR1

Corelație	p*
hsCRP (p=0.004**) x OXSR1 (p=0.030**)	0.002, R= -0.517

***Spearman's rho Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Ambele variabile sunt distribuite non-parametric corelația observată este semnificativă și negativă, de grad ridicat (p=0.002, R= -0.517), astfel că la pacienții analizați valorile ridicate pentru hsCRP se asociază semnificativ mai frecvent cu valori scăzute pentru OXSR1.

Tabel X.13 Corelația dintre valorile IL-1 beta și valorile IL-6 în lotul de studiu

Corelație	p*
IL-1 beta (p=0.505**) x IL-6 (p=0.081**)	0.589, R= -0.122

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre IL-1 beta și IL-6 a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.589, R= -0.122), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.14 Corelația dintre valorile IL-1 beta și valorile TNF-alfa în lotul de studiu

Corelație	p*
IL-1 beta (p=0.505**) x TNF-alfa (p=0.080**)	0.879, R=0.034

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre IL-1 beta și TNF-alfa a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.879, R=0.034), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.15 Corelația dintre valorile IL-1 beta și valorile CK în lotul de studiu

Corelație	p*
IL-1 beta (p=0.505**) x CK (p=0.649**)	0.725, R=0.149

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre IL-1 beta și CK a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.725, R=0.149), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.16. Corelația dintre valorile IL-6 și valorile TNF-alfa în lotul de studiu

Corelație	p*
IL-6 (p=0.081**) x TNF-alfa (p=0.080**)	0.453, R=0.169

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre IL-6 și TNF-alfa a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.453, R=0.169), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.17. Corelația dintre valorile IL-6 și valorile CK în lotul de studiu

Corelație	p*
IL-6 (p=0.081**) x CK (p=0.649**)	0.553, R=0.248

***Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test**

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre IL-6 și CK a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.553, R=0.248), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Tabel X.18 Corelația dintre valorile TNF-alfa și valorile CK în lotul de studiu

Corelație	p*
TNF-alfa (p=0.080**) x CK (p=0.649**)	0.779, R= -0.119

*Pearson Correlation Coefficient, **Shapiro-Wilk Test

Distribuția variabilelor este parametrică, corelația observată dintre TNF-alfa și CK a fost observată ca fiind nesemnificativă (p=0.779, R= -0.119), astfel că în acest lot de studiu, nu s-a găsit o asociere semnificativă între aceste două variabile.

Capitolul 11. Perspective în evaluarea și diagnosticul rapid al SS

Tabel XI .2 Descrierea parametrilor evaluați în studiu

Parametru	N	Medie $\pm$ SD	Mediană (IQR)	Min	Max
CAIII	42	98.55 $\pm$ 61.89	127 (33.3-153.7)	17	188
ALD A	42	2084.44 $\pm$ 1247.5	1530 (946.9-3104.6)	706	4503
IL-1 beta	22	13.16 $\pm$ 2.49	12.7 (11.7-15.3)	9	19
IL-6	22	8.53 $\pm$ 1.35	8.45 (7.28-9.4)	7	12
TNF-alfa	22	16.55 $\pm$ 2.24	16.8 (14.93-18.5)	12	19
CK	8	1286.5 $\pm$ 561.6	1290 (974-1510.7)	352	2332
NT-proBNP	20	142.7 $\pm$ 58.32	137 (92-184)	59	288
hsCRP	20	3.94 $\pm$ 3	4.2 (0.85-6.1)	0.3	10.2
OXSRI	20	57.82 $\pm$ 36.25	52.5 (27.4-74.95)	9.4	136.5

Având în vedere gravitatea consecințelor și evoluției SS considerăm că monitorizarea acestor markeri în dinamică va fi un pion important în prevenirea apariției complicațiilor locale și generale și va crește speranța de viață a pacienților cu SS.

Plecând de la aceasta idee, eu și echipa de studiu dorim continuarea cercetării acestor markeri (ALD A, CAIII, NT-proBNP, OXSRI) și în viitor, în speranța că determinarea lor rapidă și specificitatea crescută a acestora pentru leziunile musculare va scădea durata de timp necesară punerii diagnosticului și insituirii tratamentului de specialitate.

Capitolul 12. Concluzii și contribuții personale

Prezenta cercetare doctorală își propune să fie o contribuție la efortul medicinei moderne de a îmbunătăți supraviețuirea și calitatea vieții pacienților cu sindrom de strivire, confirmând necesitatea abordării interdisciplinare a patologiei și evidențierea importanței

cercetării fundamentale în îmbunătățirea algoritmilor terapeutici actuali, prin introducerea unor parametrii biochimici noi și specifici pentru evoluția pacienților cu sindrom de strivire.

Scopul prezentei cercetări doctorale este tocmai o abordare interdisciplinară a tratamentului acestor pacienți cu o stare deosebit de gravă, care să aibă ca rezultat scăderea mortalității și morbidității.

Acestea sunt posibile doar prin abordarea algoritmilor de tratament și prin integrarea acestor elemente de biochimie, în scopul optimizării tratamentului.

Obiectivele concrete pe care prezenta cercetare științifică și le-a propus și le-a îndeplinit, au fost:

-definirea profilului biochimic al pacientului cu sindrom de strivire (constând în identificarea parametrilor biochimici cu specificitate crescută necesari pentru monitorizarea eficientă a pacientului)

-identificarea unor markeri biochimici noi

Biomarkerii ALD A și CAIII, markeri biochimici cu semnificație clinică deosebită și care nu se determină în mod curent la pacienții cu sindrom de strivire, pot avea un rol deosebit de important în monitorizarea acestora. Activitatea ALD A se corelează pozitiv cu activitatea CAIII, cu markerii de inflamație (IL-6, TNF- α) și cu activitatea CK, biomarker al lizei musculare, oferind un tablou molecular în concordanță cu cel clinic.

Pacienții cu sindrom de strivire prezintă cel mai adesea un răspuns inflamator sistemic. Studiul prezent este în concordanță cu aceste date și evidențiază prezența inflamației la pacienții cu sindrom de strivire analizați. Astfel, acești biomarkeri pot fi considerați indicatori ai evoluției și ai prognosticului în sindromul de strivire.

IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa, hsCRP, biomarkeri asociați și binecunoscuți sindromului inflamator, au valori semnificativ crescute în lotul pacienților cu sindrom de strivire comparativ cu lotul control (în cazul hsCRP) sau cu valorile de referință (în cazul IL-1 beta, IL-6 și TNF-alfa).

Pacienții cu sindrom de strivire au statusul redox al organismului perturbat. Concluzia acestui studiu este în concordanță cu alte studii din literatura de specialitate, care au evidențiat apariția stresului oxidativ la pacienții politraumatizați. Rezultatele obținute în cercetarea prezentă, au arătat o scădere semnificativă a nivelurilor de OXSR1 în lotul de studiu comparativ cu lotul control și pot conduce la ideea că, în condițiile acestea, apar efecte protectoare, probabil printr-o cale moleculară care are ca rezultat îmbunătățirea OXSR1.

În prezent principala utilizare a markerului NT-proBNP este în evaluarea diagnosticului insuficienței cardiace și diagnosticul, stratificarea riscului și monitorizarea terapiei infarctului miocardic acut și cronic.

Deși există studii de specialitate care schițează o posibilă contribuție a acestui marker și în cazul traumatismelor prin strivire, rezultatele obținute de noi susțin ideea că extinderea domeniului de cercetare în spectrul traumatic nu evidențiază modificări semnificative între lotul control și lotul de studiu.

CK este un marker important de prognostic în evoluția pacientului cu SS. Scăderea CK cu 30% zilnic semnifică eficiența tratamentului pe când persistența valorilor crescute ale CK semnifică faptul că tratamentul medical/chirurgical nu este eficient sau leziunile musculare au fost doar parțial tratate. În lotul de pacienți monitorizați de noi, evoluția CK a fost paralelă cu evoluția pacientului, dovedind faptul că afectarea musculară a fost o componentă importantă în contextul politraumatismului.

Cu toate că, CK nu prezintă o specificitate dedicată sindromului de strivire, el reprezintă o componentă importantă în evaluarea SS, monitorizarea acestuia având rol de model în evaluare dinamică a noilor markeri biochimici de interes medical.

Bibliografie selectivă

16. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N; 2010; Biochemical markers of muscular damage, *Clin Chem Lab Med*; 48(6) p 757–767, 2010.
21. Nozaki, K., Pestronk, A.J. *Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 80, p. 904–908, 2009.
22. Casciola-Rosen, L., Hall, J.C., Mammen, A.L., Christopherstine, L., Rosen, A. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 30, no. 4, p. 548–553, 2012.
23. Casciola-Rosen, L., Nagaraju, K., Plotz, P., Wang, K., Levine, S., Gabrielson, E., Corse, A., Rosen, A. *J Exp Med.* 201, p.591–601, 2005.
47. **Iulian Constantin Creangă**, Alexandra Totan, Iulia-Ioana Stănescu,, Daniela Miricescu, Maria Greabu, Aldolase A and carbonic anhydrase III, two new candidate biomarkers versus acknowledged parameters în the context of crushing syndrome. *Romanian Journal of Medical Practice –Vol. XVI, No. 3 (80)*, p380-386, 2021.
48. McLeish, M.J., Kenyon, G.L. Relating structure to mechanism in creatine kinase. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 40, p 1-20, 2005.

- 52.P. M. Clarkson, A. K. Kearns, P. Rouzier, R. Rubin, and P. D. Thompson, “Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage,” *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 38, no. 4, p. 623–627, 2006.
- 53.Apple FS, Quist HE, Doyle PJ, et al: Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass for use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology consensus recommendations. *Clin Chem Aug*;49(8).p 1331-1336, 2003.
112. Semenov AG, Katrukha AG. Analytical Issues with Natriuretic Peptides – has this been Overly Simplified? *EJIFCC 2016 Aug 1*;27(3): p 189-207, 2016.
128. Väänänen HK, Syrjälä H, Rahkila P, Vuori J, Melamies LM, Myllylä V et al. Serum carbonic anhydrase III and myoglobin concentrations in acute myocardial infarction. *Clin Chem*; 36: p 635–638, 1990.
- 129.Beuerle JR, Azzazy HM, Styba G, Duh SH, Christenson RH. Characteristics of myoglobin, carbonic anhydrase III and the myoglobin/carbonic anhydrase III ratio in trauma, exercise, and myocardial infarction patients. *Clin Chim Acta 294*: p 115–128, 2000.
- 130.Vuotikka P, Uusimaa P, Niemelä M, Väänänen K, Vuori J, Peuhkurinen K. Serum myoglobin/carbonic anhydrase III ratio as a marker of reperfusion after myocardial infarction. *Int J Cardiol*;91: p 137–144, 2003.
- 142.Ciubotaru I, Potempa LA, Wander RC. Production of modified C-reactive protein in U937-derived macrophages. *Exp Biol Med 230(10)*: p 762–70, 2005.
153. Baumeister D, Akhtar R, Ciufolini S, Pariante CM, Mondelli V. Childhood trauma and adulthood inflammation: a meta-analysis of peripheral C-reactive protein, interleukin-6 and tumour necrosis factor- α . *Mol Psychiatry 21*: p 642–649, 2016.
154. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med 32(4)*: p 274–8, 2000.

