

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ



*Semnificația și utilitatea clinică a markerilor  
biochimici la pacienții politraumatizați cu  
fracturi de bazin*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. GREABU MARIA**

**Student-doctorand:**

**DUMITRU COSTIN**

**2024**

## Cuprins

Introducere .....	6
<b>I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....</b>	<b>8</b>
1. Fracturile de bazin .....	8
1.1 Anatomia bazinului.....	10
1.2 Clasificarea fracturilor de bazin.....	15
1.2.1 Clasificarea Young & Burgess[12].....	18
1.2.2 Clasificarea Tile.....	20
1.3. Examinarea clinică în fracturile de inel pelvin.....	24
1.4 Examinarea imagistică în fracturile bazinului .....	27
1.5 Posibile leziuni asociate fracturilor de bazin .....	33
1.5.1 Leziunile vasculare și implicațiile lor .....	33
1.5.2 Leziuni neurologice:.....	37
1.5.3 Leziunile urologice:.....	37
1.5.6 Leziuni ginecologice:.....	41
1.6. Particularități ale tratamentului în fracturile bazinului .....	41
1.6.1 Resuscitarea și stabilizarea funcțiilor vitale .....	42
1.6.2 Tratamentul fracturii de bazin .....	44
2. Politraumatismul.....	46
<b>II. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ.....</b>	<b>49</b>
3. Biomarkeri cu semnificație clinică în fracturile de inel pelvin.....	49
3.1. Interleukina 6 (IL-6) .....	49
3.2. TNF – alfa .....	54
3.3 Proteina C Reactivă .....	57
3.4 Peptid natriuretic de tip B (NT proBNP).....	59
3.5 Proteina de răspuns la stres oxidativ tip 1 (OXSRI) .....	61
3.6 Interleukina- 1 $\beta$ .....	62
3.7 CreatinKinaza / Creatinfosfokinaza (CK/CPK).....	64
4. Ipoteza de lucru si obiectivele generale .....	67
5. Metodologia generală a cercetării.....	69
5.1 Selectarea pacienților.....	69
5.2 Determinarea nivelului biomarkerilor cu ajutorul metodei ELISA.....	70
5.3 Metoda ELISA: principiu, variante și modul de lucru .....	70

6. Rezultate și discuții.....	77
7. Studiul 1. Evaluarea statusului inflamator la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin .....	78
7.1 Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice) .....	78
7.3. Rezultate.....	79
7.4. Discuții.....	83
8. Studiul 2: Markerii biochimici ai lizei musculare la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin .....	88
8.1 Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice) .....	88
8.2 Materiale și metode .....	91
8.2.2 Protocol de lucru pentru determinarea CK.....	91
8.3 Rezultate.....	92
8.4 Discuții.....	95
9. Studiul 3: Markerii biochimici de evaluare a statusului redox la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin.....	97
9.1 Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice) .....	97
9.2. Materiale și metode .....	98
9.3 Rezultate.....	99
9.4 Discuții.....	100
10. Studiul 4. Relații și corelații între parametrii biochimici testați la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin .....	105
10.1. Introducere: .....	105
10.3 Discuții: .....	131
11. CAZURI CLINICE DEMONSTRATIVE .....	133
Caz I.....	133
CAZ II .....	148
12. Concluzii și contribuții personale .....	157
12.1. Concluzii.....	157
12.2. Contribuții personale .....	159
Anexe .....	177

## Lista cu lucrările științifice publicate

### Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. **Dumitru Costin**, Alexandra Totan, Iulia-Ioana Stanescu, Daniela Miricescu, Dan Florin Tanase, Maria Greabu - Pelvic ring fractures in polytrauma patient a perpetual challenge – four case presentation. Romanian Medical Journal – Volumul LXVII , Nr. 1, p81-86, An 2020  
[https://view.publitas.com/amph/rmj\\_2020\\_1\\_art-15](https://view.publitas.com/amph/rmj_2020_1_art-15)
2. **Dumitru COSTIN**, Iulia-Ioana STĂNESCU, Alexandra TOTAN, Daniela MIRICESCU, Iulian Constantin CREANGĂ, Maria GREABU - Abordarea pacientului politraumatizat cu fractură de bazin. Romanian Journal of Medical Practice, Vol. XV Issue 1, p37-45, 2020.  
[https://rjmp.com.ro/articles/2020.1/RJMP\\_2020\\_1\\_Art-08.pdf](https://rjmp.com.ro/articles/2020.1/RJMP_2020_1_Art-08.pdf)
3. **Costin Dumitru**, Alexandra Ripszky Totan, Iulia-Ioana Stănescu-Spînu, Daniela Miricescu, Maria Greabu - Correlation between NT-proBNP, hsCRP and OXSR1: Clinical relevance in evaluating the prognosis of polytrauma patients. Romanian Medical Journal – Volume LXVIII, No. 3, p 406-410, 2021  
[https://view.publitas.com/amph/rmj\\_2021\\_3\\_art-12](https://view.publitas.com/amph/rmj_2021_3_art-12)
4. 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%20%2019.pdf>

## LISTĂ DE ABREVIERI

AAST - Asociația Americană pentru Chirurgia Traumatologică  
ACTH – Hormon Adrenocorticotrop  
AIS - Abbreviated Injury Scale  
ANZAST - Asociația pentru Chirurgia Traumatologică din Noua Zeelandă  
APACHE II - Acute physiology and chronic health evaluation  
APTT - Timp de tromboplastină parțială activată  
ATP – Adenozintrifosfat  
ATLS – Advanced trauma life support  
BTS - Societatea Britanică de Traumă  
CCC - Cation-chloride cotransporters  
CFTR - Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein  
CK/CPK – Creatinkinaza/Creatinfosfokinaza  
CRP - Proteina C-reactivă  
DGU - Societatea Germană de Traumă  
ESTES - Societatea Europeană pentru Trauma și Chirurgie de Urgență  
GCS - Glasgow Coma Score  
GGT – Gamaglutamiltransferaza  
IL -6 - Interleukina 6  
IL-1 – Interleukina 1  
IL-3 – Interleukina 3  
IL-1RA5 - Intra-Articular Interleukin-1 Receptor Antagonist  
INR - International Normalized Ratio  
ISS - Injury Severity Score  
JIA – Artrită Juvenilă Idiopatică  
MSOF - Multiple Systems Organ Failure  
MSU – Urat Monosodic  
NBCe1- sodium bicarbonate cotransporter  
NLPR3 - NLR Family Pyrin Domain-Containing Protein 3  
NT proBNP - Peptid natriuretic de tip B NT proBNP



OXS1 - Oxidative stress-responsive kinase 1  
PAMP - Pathogen associated molecular patterns  
PRR - Pattern recognition receptors  
PT – Timpul de protrombină  
RA – Artrită Reumatoidă  
SI - Sistemul Sacro Ischiatic  
SIC - Sistemul Sacro Ilio Cotiloidian  
SLC12 - Sodium/potassium/chloride transporter 12  
SOFA - Sequential organ failure assessment score  
SP - Sistemul Sacro Pubian  
SPAK - Proline-alanine-rich kinase  
STK39 - Serine/threonine kinase 39  
TCZ – Tocilizumab  
TNF – Tumor Necrosis Factor  
TS – Tensiunea Sistolică  
VS - Vertical Shear  
WNK – Lysine deficient protein kinase

## Introducere

În societatea actuală progresul tehnologic și necesitatea de mobilitate a populației au dus la creșterea numărului de persoane expuse la agenți traumatici de energie înaltă. Acest lucru poate avea multiple explicații precum: creșterea valorilor de trafic de la an la an, ceea ce coroborat cu infrastructura rutieră învechită și neadaptată condițiilor moderne de trafic duce la creșterea numărului de accidente rutiere; o mare parte a populației lucrează în domeniul construcțiilor ceea ce duce la creșterea numărului accidentelor de muncă care se adaugă traumatismelor rezultate în urma calamităților naturale sau accidentelor colective.

Trebuie menționat faptul că în contextul dezvoltării socio-economice actuale un procent important din pacienții expuși agenților traumatici de energie înalta sunt persoane tinere, lucru ce crește costurile sociale atât prin necesitatea de tratament a acestor victime cât și prin incapacitatea de muncă temporară sau definitivă a acestora, fie ea totală sau parțială.

Traumatismele de energie înalta produc deseori politraumatisme. Politraumatismul, conform noii definiții de la Berlin, este considerat ca fiind asocierea a unui ISS  $\geq 16$ , tradus printr-un scor AIS  $\geq 3$  pentru două sau mai multe regiuni ale corpului asociat cu una sau mai multe variabile suplimentare din următorii cinci parametri fiziologici: hipotensiune (tensiune arterială sistolică  $\leq 90$  mmHg), absența stării de conștiență (GCS  $\leq 8$ ), acidoză (exces de baze  $\leq -6.0$ ), tulburări de coagulare (timp parțial de tromboplastină  $\geq 40$  s sau INR  $\geq 1,4$ ) și vârsta ( $\geq 70$  ani).

Este vital să cunoaștem și să studiem efectele sistemice ale politraumatismelor, atât pentru că, netratate corespunzător, produc insuficiență renală acută, MSOF și în cele din urmă deces, cât și pentru că, în cazul dezastrelor sau calamităților, când se produce un număr important de victime într-un timp scurt, sunt necesare protocoale de diagnostic rapid și tratament modern atât pentru leziunile individuale cât și pentru a preveni sau trata afectarea sistemică cu potențial fatal ce survine în cazul politraumatismului.

Este extrem de importantă pentru tratamentul rapid, corect și complet al pacientului politraumatizat existența unei echipe pluridisciplinare, compusă din medici special antrenați și cu experiență în tratamentul pacienților, victime ale traumatismelor de energie înaltă și a existenței protocoalelor de diagnostic și tratament specifice.

În acest context, prezenta lucrare de cercetare doctorală are ca obiectiv principal determinarea nivelului markerilor biochimici la pacienții politraumatizați ce asociază fracturi de bazin și analizarea potențialului acestor biomarkeri ca instrumente utile în diagnosticarea și mai ales în monitorizare acestor pacienți precum și elaborarea unui plan de management medical al cazului.

## I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Prima parte a lucrării este formată din doua capitole ce tratează noțiuni generale despre politraumatisme și fracturile de bazin.

**Primul capitol** este dedicat fracturilor bazinului care includ leziunile centurii pelvine: osul iliac, sacrumul și coccisul. Aceste fracturi sunt variabile în gravitate și pot ajunge la forme severe cu o rată ridicată de mortalitate, datorită complicațiilor vasculare sau a asocierii cu alte leziuni traumatiche. Bazinul osos este structurat din oasele iliac, unite posterior prin sacru, formând o consolă ogivală care susține trunchiul. În poziție verticală, greutatea corpului se distribuie pe două direcții: una orizontală și una verticală, transmisă la articulația coxo-femurală. Zona de rezistență a bazinului este reprezentată de inelul pelvin complet, prin care se transmit solicitările. Zonele slabe sunt importante pentru localizarea fracturilor și disjunțiilor centurii pelvine.

Inelul pelvin este parțial deformabil datorită celor trei articulații: simfiza pubiană și articulațiile sacro-iliace. Există două tipuri principale de fracturi la nivelul bazinului: fracturile bazinului care nu implică articulația coxo-femurală, rezultând de obicei din traumatisme de mare energie, și fracturile acetabulare care afectează componenta acetabulară a articulației coxo-femorale. Această terminologie este disputabilă, dar s-a înrădăcinat în limbajul ortopedic datorită diferențelor semnificative de tratament între cele două tipuri de fracturi[2].

Fracturile de bazin sunt frecvent asociate cu epoca modernă, motorizarea și viteza excesivă. Acestea reprezintă între 0,3 și 6% din totalul fracturilor și apar cu o incidență de 20% în cazul politraumatismelor. Cauzele principale includ accidentele de circulație, căderile de la înălțime și accidentele industriale. Aceste fracturi afectează în principal bărbații tineri adulți, cu un vârf de frecvență între 15 și 30 de ani și un al doilea vârf între 50 și 70 de ani. Mortalitatea



globală pentru aceste fracturi variază între 6% și 30%, ajungând la cifre impresionante de 50% în cazul fracturilor de bazin deschise.

Clasificarea fracturilor de bazin poate fi simplă, bazată pe sediul fracturii, sau mai complexă, în funcție de mecanismul de producere și gradul de stabilitate al fracturilor de bazin. Există mai multe sisteme de clasificare, inclusiv clasificarea Tile și clasificarea Young și Burgess. În ceea ce privește examenul clinic în fracturile de bazin, acesta variază în funcție de gravitatea leziunilor, de la leziuni minore care nu periclitează viața pacientului până la leziuni severe asociate cu mortalitate ridicată[12].

Tratamentul fracturilor de bazin variază în funcție de tipul fracturii. În cazul fracturilor stabile, tratamentul constă în repaus la pat urmat de mobilizare progresivă. În cazul fracturilor instabile, este necesară adăugarea tracțiunii transscheletice sau intervenția chirurgicală pentru fixarea fracturii[23]. Mijloacele de oprire a sângerării includ stabilizarea fracturii de bazin, angiografia cu embolizare selectivă și identificarea altor surse de sângerare. În concluzie, fracturile de bazin sunt leziuni complexe, cu un spectru larg de severitate și necesită o abordare multidisciplinară în managementul lor.

**Capitolul al 2-lea** tratează problema politraumatismului, un termen introdus de Tschernie și colaboratorii săi în 1966, se referă la pacienți cu două sau mai multe leziuni severe, dintre care una poate pune viața în pericol. Definițiile s-au diversificat de-a lungul timpului, cu Border și colaboratorii săi definind în 1975 politraumatismul ca fiind pacienți cu două sau mai multe leziuni semnificative[25]. Deși Scorul de Severitate a Leziunilor (ISS) nu a fost inițial inclus în definirea politraumatismului, acesta a devenit un parametru standard global, utilizat pentru evaluarea pacienților cu răni multiple și pentru clasificarea centrelor de traumă[29].

Un grup de clinicieni, sub egida unor societăți importante, cum ar fi AAST și ESTES, s-au reunit pentru a dezvolta o definiție bazată pe dovezi a politraumatismului. Rezultatul a fost "Definiția Berlin" a politraumatismului, care include cinci stări patologice și parametri auxiliari pentru descrierea unui pacient cu răni multiple, axându-se pe separarea diferitelor rate de mortalitate[31]. Această definiție a fost validată și comparată cu alte definiții existente, demonstrându-și utilitatea în evaluarea transparentă a rezultatelor tratamentului și în compararea obiectivă a studiilor.

Definiția Berlin îmbunătățită include  $ISS \geq 16$  și  $AIS \geq 3$  pentru cel puțin două regiuni ale corpului, plus cel puțin unul dintre cinci răspunsuri fiziologice standardizate. Studiile au arătat

că adăugarea variabilelor fiziologice la ISS mărește puterea sa predictivă pentru mortalitate. Factori precum vârsta, tensiunea arterială sistolică și Scala de Comă Glasgow (GCS) au o putere predictivă bună pentru mortalitate. În plus, studiile subliniază importanța recunoașterii diferenței dintre „politraumatism” și „multitraumatism”, aceasta din urmă referindu-se la răspunsul fiziopatologic al persoanei vătămate la sarcina leziunii.

Politraumatismul este asociat cu parametri hemodinamici mai grav alterați și necesitatea unor proceduri urgente mai complexe. Leziunile cranio-cerebrale și traumatismele toracice sunt factori majori de risc, iar combinația lor duce la o creștere exponențială a mortalității. Proceduri cum ar fi fixarea externă a inelului pelvin pot fi folosite pentru stabilizarea fracturilor și controlul hemoragiei. În concluzie, politraumatismul este o condiție complexă ce necesită o abordare multidisciplinară și o definiție precisă pentru a îmbunătăți tratamentul și rezultatele pacienților.

## II. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

În **Capitolul 3** am trecut în revistă principalii markeri biochimici pe care îi luăm în considerare în studiile din următoarele capitole pentru a aprecia impactul fracturilor de inel pelvin la pacienții politraumatizați.

**Interleukina-6 (IL-6)** este o citokină multifuncțională implicată în reglarea răspunsului imun și inflamator. Secretată de diverse celule, inclusiv macrofage, limfocite T și B, fibroblaste și celule endoteliale, IL-6 joacă un rol crucial în răspunsul la infecții, răni, stres și neoplazii. Nivelurile crescute de IL-6 sunt un indicator precoce al inflamației acute și pot anticipa apariția complicațiilor în cazuri de stres chirurgical sau leziuni nedepistate.

IL-6 interacționează cu celulele limfoide și nelimfoide, având atât acțiuni proinflamatorii, cât și antiinflamatorii. Secretată ca polipeptid de 184 de aminoacizi, cu o greutate moleculară de aproximativ 21 kDa[46], IL-6 stimulează producția hepatică de reactanți de fază acută și intervine în procesele de regenerare hepatică[47]. Contribuie la hematopoieză, secreția de ACTH și alți hormoni pituitari, și influențează formarea osteoclastelor, fiind implicată în patologia osteoporozei și artritei reumatoide[49].

Un aspect important al IL-6 este rolul său în răspunsul imun în politraumatisme. Studiile din anii '80-'90 au arătat că leziunile tisulare din politraumatisme declanșează un răspuns

inflamator local și sistemic, cu creșterea nivelului de citokine proinflamatorii. Aceasta explică incidența crescută a complicațiilor infecțioase și a sindromului de detresă respiratorie la adulți în astfel de cazuri. IL-6 este un marker esențial în diagnosticarea și monitorizarea tratamentelor unor afecțiuni imune, în corelație cu date clinice și paraclinice.

Dezvoltarea "Damage control surgery" în ortopedie reflectă importanța abordării atente a severității traumatismelor, constituției biologice a pacientului și necesității intervențiilor chirurgicale[52]. IL-6 joacă un rol cheie în vindecarea fracturilor, iar terapia orientată pe IL-6, precum utilizarea tocilizumab (TCZ), a arătat rezultate promițătoare în tratamentul bolilor inflamatorii, inclusiv artrita reumatoidă și alte afecțiuni refractare[58]. Astfel, IL-6 și inhibitorii săi sunt în centrul strategiilor terapeutice moderne pentru gestionarea bolilor inflamatorii și a răspunsului post-traumatic.

**TNF (factorul de necroză tumorală)** este o citokină proinflamatorie cunoscută pentru capacitatea sa de a distruge celulele tumorale și de a induce necroza hemoragică în tumorile transplantate. TNF- $\alpha$  (cachectina) și TNF- $\beta$  (limfotoxina) au fost inițial descrise ca factori citotoxici produși de macrofage, respectiv limfocite. Acești mediatori acționează prin aceeași receptori și au efecte biologice similare[59]. TNF- $\alpha$  este produs nu doar de macrofage și monocite, dar și de alte tipuri de celule, inclusiv celule musculare netede și anumite linii celulare tumorale. Acționează direct prin doi receptori de suprafață distincți, TNFR I și TNFR II. Receptorii TNF pot fi găsiți pe majoritatea tipurilor de celule, cu excepția eritrocitelor. Porțiuni ale acestor receptori sunt clivate de proteaze, formând receptori solubili care acționează ca inhibitori endogeni de TNF- $\alpha$  și reglează astfel nivelul de TNF- $\alpha$  extracelular[59].

TNF- $\alpha$  influențează o varietate largă de efecte biologice, inclusiv efecte citolitice și citostatice asupra celulelor tumorale, efect chemotaxic asupra neutrofilelor, creșterea permeabilității la nivelul celulelor endoteliale din regiunea cu inflamație, activarea diverselor procese metabolice în celule musculare și adipocite, stimularea fagocitozei și producția de prostaglandina E2 în macrofage, activarea osteoclastelor, stimularea fibroblaștilor și sinteza de collagenază.

Determinarea nivelului seric de TNF- $\alpha$  constituie un marker pentru răspunsul inflamator sistemic (SIRS) asociat cu sepsisul, traumatismele și insuficiența cardiacă. Există dovezi că inflamația joacă un rol esențial în repararea timpurie a fracturilor, cu TNF-  $\alpha$  și alți factori

exprimați la locul fracturii. TNF-  $\alpha$  favorizează resorbția osoasă și inhibă formarea oaselor, iar blocarea sa are potențialul de a inhiba sau inversa pierderea osoasă. Terapia anti-TNF a fost propusă ca un potențial tratament dublu pentru controlul inflamației și prevenirea osteoporozei și fracturilor asociate în boli inflamatorii[63,64, 65].

**Proteina C-reactivă (CRP)**, descoperită în serul pacienților cu pneumonie în 1930 și izolată în 1941, este un marker important al inflamației. CRP are proprietăți opsonizante, influențând recrutarea monocitelor și afectând funcția endotelială[65]. Nivelurile sale cresc rapid în urma leziunilor tisulare, de exemplu, după intervenții ortopedice, evidențiind rolul său în răspunsul inflamator și în apărarea imunologică[67].

**Peptidul natriuretic de tip B (NT-pro-BNP)**, un membru al familiei peptidelor natriuretice, este esențial în reglarea echilibrului hidroelectrolitic și homeostaziei circulatorii, având roluri semnificative în răspunsul la stresul cardiac și trauma. ANP și BNP influențează negativ sistemul angiotensină-aldosteron, favorizând diureza și natriureza[72]. În special, BNP, generat în miocard în urma distensiei ventriculare, moderează funcțiile renale și cardiovasculare. Nivelurile sale fluctuează semnificativ datorită factorilor precum vârsta, sexul și etnia, fiind dificil de interpretat fără a considera variațiile individuale și interindividuale[72]. Aceste particularități subliniază necesitatea de a ajusta valorile de referință pentru NT-pro-BNP, mai ales la persoanele peste 50 de ani, și relevanța sa în evaluarea răspunsului cardiac post-traumatic[74].

**Proteina de răspuns la stres oxidativ tip 1 (OXSR1)** este o proteinkinază codificată de gena OXSR1 localizată la specia umană pe cromozomul 3. Ea are rol în reglarea kinazelor derivate ca răspuns la stresul din mediu și poate juca un rol în reglarea citoscheletului de actină [75].

OXSR1 este exprimată în majoritatea țesuturilor, cu niveluri ridicate în plămâni, în special la nivelul epiteliului bronșic[76]. În plus, se crede că OXSR1 joacă un rol important în reglarea răspunsului imun și a stresului oxidativ[77].

Expresia proteinei OXSR1 a fost găsită în fracțiile solubile, sub formă de particule și nucleare ale inimii, splinei, ficatului, rinichilor, plămânilor, testiculelor, intestinului subțire și gros și stomacului [82].

**Interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )** este o citokină proinflamatorie esențială pentru răspunsurile imune ale organismului la infecții și leziuni traumatice. Sintetizată predominant de celulele sistemului imunitar înăscut, precum monocitele și macrofagele[84], IL-1 $\beta$  este inițial produsă ca un precursor inactiv. Activarea sa este stimulată de o varietate de agenți, inclusiv ATP extracelular, toxinele nigericină și maitotoxina, infecții bacteriene, cristale de urat monosodic, și alți agenți patogeni. Acești stimuli induc secreția de IL-1 $\beta$  printr-o serie de inflamazomi, incluzând NLRP3, NLRC4 și NLRP1, subliniind rolul său complex în răspunsurile inflamatorii[89,90,93,97].

**Creatinkinaza/Creatinfosfokinaza (CK/CPK)** este o enzimă esențială, predominantă în miocard și mușchi scheletici și în cantități reduse în creier. CK are patru forme: mitocondrială și trei izoenzime citosolice (CK-MM pentru mușchi, CK-MB pentru miocard, CK-BB pentru creier)[99]. CK-MM domină în țesutul muscular sănătos, iar variațiile sale sunt indicatori utili în diagnosticul afecțiunilor musculare, inclusiv în cazul traumelor musculare. CK-MB este semnificativă în identificarea leziunilor miocardice și poate fi crescută în traumatisme miocardice, miocardite și cardiomiopatii. CK-BB, mai rar întâlnită, se asociază cu afectări cerebrale și neurologice. Creșterile CK total și ale izoenzimelor sunt relevante în contextul leziunilor traumatice, rhabdomiolizei, hipotermiei maligne și insuficienței renale cronice[102].

**Capitolul 4** este dedicat ipotezei de lucru și obiectivelor generale.

**Motivația alegerii temei** prezentei cercetări doctorale este reprezentată de necesitatea identificării a noi markeri biochimici care să faciliteze stabilirea unui diagnostic precoce în cazul unui pacient politraumatizat astfel încât să se poată stabili cât mai rapid și precis conduita terapeutică ce trebuie urmată. Inițierea cât mai precoce a tratamentului corect poate duce la scăderea ratei complicațiilor dar și la scăderea mortalității prin politraumatisme.

Ca urmare a cercetărilor bibliografice extensive efectuate au apărut o serie de întrebări în urma cărora am formulat o serie de ipoteze de lucru:

- Poate fi OXSR1 un marker de stres oxidativ util în evaluarea pacientului politraumatizat?
- Ar putea fi interleukinele-1 $\beta$ , IL-6 și TNF- $\alpha$  compuși biochimici mai sensibili și mai specifici decât cei uzual utilizați în practică?
- Dată fiind instabilitatea hemodinamică des întâlnită la acest grup de pacienți ar putea fi valoarea NT – proBNP prognostică pentru evoluția pacienților?

Pentru a răspunde la aceste întrebări, pe lângă studiile bibliografice necesare, s-au analizat cantitativ și statistic rezultatele obținute în urma unui studiu la care au participat 34 de pacienți dintre care 20 au suferit un politraumatism care a asociat și o fractură de inel pelvin iar 14 au reprezentat lotul control.

**Metodologia generală a cercetării** se regăsește în **capitolul 5**. Alegerea pacienților din cele 2 cohorte, de bolnavi și respectiv de pacienți fără un istoric traumatic, s-a realizat cu persoane exclusiv internate pe secțiile Spitalului Clinic de Urgență București în perioada 2018-2022. Diagnosticalele pacienților incluși în studiu au fost stabilite de medicii curanți, pe baza criteriilor și protocoalelor naționale și internaționale aflate în vigoare.

Nivelele IL-1beta, IL-6, TNF- $\alpha$ , hsCRP și OXSR1 au fost măsurate în serul pacienților cu fracturi de inel pelvin și a subiecților din lotul control prin metoda ELISA sandwich iar a biomarkerului NT-proBNP prin metoda ELISA competitivă, utilizând kituri comerciale și un analizor semiautomat ELISA.

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) este o metodă de captare a antigenului (sau anticorpului) țintă în probe folosind un anticorp (sau antigen) specific. Această tehnică imunologică permite detectarea dar și cuantificarea moleculei țintă folosind o reacție enzimatică.

Tehnica ELISA se distinge prin sensibilitatea și specificitatea sa, fiind de asemenea simplă, rapidă și cost-eficientă. Reproducerea și interpretarea rezultatelor sunt procese simplificate. Tehnica ELISA este eficace chiar și în detectarea moleculelor cu concentrații reduse, minimizând riscul interferențelor. Această precizie derivă din capacitatea unică a unui anticorp de a se lega exclusiv de antigenul său specific, făcându-l un instrument valoros în cercetarea și diagnosticarea clinică.

În ELISA, sunt utilizate diferite combinații antigen-anticorp, incluzând întotdeauna un antigen sau anticorp marcat cu enzimă, iar activitatea enzimatică este măsurată colorimetric.

Există patru variante principale ale metodei ELISA:

1. ELISA Directă: Se folosește un anticorp enzimatic legat direct de antigenul fixat pe plăci.
2. ELISA Indirectă: Utilizează un anticorp primar și un anticorp secundar enzimatic pentru detecția antigenului.



3. ELISA Sandwich: Se caracterizează printr-o specificitate mai mare, implicând fixarea unui anticorp pe plăci, urmată de adăugarea antigenului și a unui al doilea anticorp enzimatic.

4. ELISA Competitivă: Se bazează pe competiția între antigenul din probă și un competitor fixat pe plăci pentru legarea anticorpului primar, urmată de detectarea cu un anticorp secundar enzimatic.

Fiecare variantă are aplicații specifice, ELISA Sandwich fiind deosebit de sensibilă și adecvată pentru analize precise, în timp ce ELISA Competitivă este optimă pentru determinarea compușilor cu greutate moleculară mică.

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.

## **Capitolul 7 cuprinde primul studiu al cercetării ” Evaluarea statusului inflamator la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin”**

### **7.1 Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)**

Politraumatismul este un eveniment traumatic major care asociază întotdeauna un răspuns inflamator sistemic ce poate evolua cu ușurință spre insuficiență multiplă de organe. Cu toate că mecanismul exact prin care distrucția tisulară locală poate induce disfuncție organică la distanță este incomplet elucidat, politraumatismul, prin definiția sa, implică afectare pluriorganică. Cu toate acestea au fost identificați o multitudine de biomarkeri dovediți a fi indicatori mai mult sau mai puțin exacti ai evoluției, prognosticului și șanselor de supraviețuire la pacienții politraumatizați cu fracturi de bazin.

Prezentul studiu s-a focusat pe următorii biomarkeri asociați sindromului inflamator: IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa, hsCRP.

#### **Obiectivele specifice ale acestui studiu au fost:**

1. determinarea nivelului IL-1beta în probele de sânge ale pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și compararea cu valorile de referință
2. determinarea nivelului IL-6 în probele de sânge ale pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și compararea acestora cu valorile de referință

3. determinarea nivelului TNF- $\alpha$  în sângele pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și compararea cu valorile de referință

4. determinarea nivelului hsCRP în sângele pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori

### 7.3. Rezultate

**Tabel VII.1 Valorilor IL-1 beta, IL-6 și TNF alfa – comparație între valorile din studiu și mediile de referință**

Parametru	Medie referință	Medie $\pm$ SD	Diferență medie (95% C.I.)	p*
<b>IL-1 beta</b> (p=0.642**)	3.31	14.19 $\pm$ 2.49	10.88 (9.71-12.04)	<b>&lt;0.001</b>
<b>IL-6</b> (p=0.081**)	2.5	8.96 $\pm$ 1.37	6.46 (5.81-7.10)	<b>&lt;0.001</b>
<b>TNF alfa</b> (p=0.106**)	1.323	16.71 $\pm$ 2.30	15.39 (14.31-16.47)	<b>&lt;0.001</b>

\*One-Sample T-Test, \*\*Shapiro-Wilk Test

**Tabel VII.2 Compararea valorilor hsCRP între lotul control și lotul de pacienți**

Grup / hsCRP	Medie $\pm$ SD	Mediana (IQR)	Rang mediu	p**** (p=0.003****)
<b>Control</b> (p=0.978**)	0.746 $\pm$ 0.29	0.7 (0.5-0.95)	-	<b>&lt;0.001</b>
<b>Lot – Pacienți</b> (p=0.089**)	5.73 $\pm$ 1.87	5.5 (4.12-6.45)	-	

\*\*Shapiro-Wilk Test, \*\*\*Levene's Test for Equality of Variances, \*\*\*\*Welch T-Test

Datele din **Tabelele VII.1 și VII.2** și **Figurile 7.1-4** reprezintă compararea parametrilor investigați în raport cu mediile populației de referință. Distribuția valorilor hsCRP a fost normală în ambele grupuri conform testului **Shapiro-Wilk** (p>0.05). Se observă următoarele rezultatele pentru lotul testat:

- Valori semnificativ mai mari ale IL-1 beta față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 10.88 (95% C.I.: 9.71-12.04);
- Valori semnificativ mai mari ale IL-6 față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 6.46 (95% C.I.: 5.81-7.10);
- Valori semnificativ mai mari ale TNF-alfa față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 15.39 (95% C.I.: 14.31-16.47);
- Valorile hsCRP au fost semnificativ mai mari în cazul lotului de pacienți din studiu (5.73  $\pm$  1.87) decât în cazul lotului control (0.746  $\pm$  0.29) conform testului **Welch T-Test** (**p<0.001**);

#### 7.4. Discuții

Proteina C Reactivă (CRP), prima proteină de fază acută identificată, este un marker sensibil al inflamației și lizei tisulare[105]. Descoperită prin capacitatea sa de a precipita polizaharidul C al *Streptococcus pneumoniae*, CRP este produsă exclusiv de hepatocite, reglată predominant de IL-6. Sinteza hepatică de CRP se declanșează rapid după un stimul, cu o creștere serică semnificativă în 6 ore și atingând vârful în circa 48 de ore[106]. Concentrația sa plasmatică, cu un timp de înjumătățire constant de aproximativ 19 ore, reflectă direct intensitatea proceselor patologice. Valorile CRP sunt afectate de integritatea hepatică, iar la pacienții cu insuficiență hepatică fulminantă, chiar și în prezența unei patologii septice semnificative, CRP poate fi nedetectabilă. Alți factori influențatori includ sexul, vârsta, greutatea, tensiunea arterială, profilul lipidic, fumatul și consumul de etanol.

CRP a fost asociată cu dezvoltarea diabetului zaharat de tip II (DZTII), sugerându-se un rol inflamator în patogeniza acestei boli[109]. IL-6 și CRP, markeri ai inflamației sistemice subclinice, sunt corelați cu hiperglicemia, rezistența la insulină și DZTII. Această asociere este deosebit de relevantă în contextul ipotezei că DZTII ar putea fi o boală a sistemului imunitar înăscut[112].

CRP, utilizată ca marker al inflamației, este un predictor semnificativ pentru bolile cardiovasculare în populații asimptomatice. Cercetările au evidențiat o corelație între nivelurile CRP și prognosticul pacienților cu diverse afecțiuni cardiovasculare, subliniind importanța CRP în fiziopatologia cardiovasculară[115].

CRP circulantă este produsă ca un pentamer solubil, care, în anumite condiții, se disociază în monomeri (mCRP) cu proprietăți structurale și funcționale distincte. Studiile recente au explorat interacțiunile dintre mCRP, lipide și alte substanțe naturale[120].

În răspunsul inflamator, CRP joacă un rol esențial prin activarea căii complementului și opsonizarea patogenilor. Complementul, implicat în eliminarea particulelor și organismelor străine, are trei căi de activare: clasică, lectină și alternativă, majoritatea componentelor fiind sintetizate în ficat[122]. Rolul CRP în activarea căii complementului a fost intens studiat, fiind o componentă esențială în evaluarea procesului inflamator sistemic. Factorii legați de inflamație precum citokinele și receptorii familiei IL-1 sunt deosebit de importanți în activarea răspunsului inflamator, cu IL-1 $\beta$  având un efect inflamator puternic. IL-1 $\beta$  este de obicei prezentă în circulație doar la niveluri foarte scăzute [124], cel mai probabil din cauza efectelor vasomotorii

periculoase [125]. După cum se poate observa în **Tabelul VII.1** și **Figura 7.1**, valorile IL-1 $\beta$  la pacienții incluși în studiu sunt de aproximativ patru ori mai mari decât media de referință, aceasta putând fi una din explicațiile pentru care pacienții prezintă o instabilitate hemodinamică marcată.

Răspunsul seric al interleukinei-6 (IL-6) la leziuni chirurgicale a fost extensiv caracterizat, cu Shenkin și colaboratorii [126] observând creșteri ale IL-6 în 90 de minute de la incizia cutanată, atingând un maxim la 4 ore după colecistectomie. Studiile lui Cruickshank et al. [127] au indicat o creștere a IL-6 între 2 și 4 ore, cu un vârf între 6 și 12 ore în urma diverselor proceduri chirurgicale. Ei au corelat concentrațiile serice maxime de IL-6 cu amploarea traumei tisulare, mai degrabă decât cu durata intervenției chirurgicale sau anesteziei. Kossmann et al. [129] au demonstrat concentrații ridicate de IL-6 în sânge și lichid cefalorahidian după leziuni cerebrale traumatice, în timp ce alte cercetări au indicat hemoragia ca stimulent suficient pentru creșterea IL-6, dar nu la nivelul leziunilor tisulare [130]. În cazul pacienților politraumatizați cu fracturi pelvine, hemoragia și traumatismul tisular sunt factori importanți în secreția de IL-6, așa cum se observă în Figura 7.2.

Martic C. și colaboratorii [131] au constatat că pacienții cu niveluri ridicate de IL-6 au un risc mai mare de a dezvolta infecții nozocomiale, în special pneumonie. În studiul nostru, pacienții cu valori ridicate de IL-6 au avut o evoluție mai lentă. Liu C și coautori [132] au raportat că leziunile traumatice cauzează niveluri plasmatice ridicate de TNF-alfa și receptorii solubili (TNFR1 și TNFR2) în primele faze ale traumei, rămânând ridicate până în ziua a treia sau a cincea după traumatism. TNF- $\alpha$ , ca parte a răspunsului inflamator, inițiază activarea altor citokine și factori de creștere, cu eliberare mai rapidă decât alte citokine proinflamatorii [132]. Nivelurile ridicate de TNF- $\alpha$  post-traumă sunt dăunătoare, inducând sensibilizare centrală și hiperalgezie [130], confirmat și în studiul nostru prin consumul crescut de medicamente antialgice și antiinflamatorii în grupul de studiu [134].

## **8. Studiul 2: Markeri biochimici ai lizei musculare la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin**

### **8.1 Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)**

Peptidele natriuretice (PN), incluzând peptida natriuretică atrială (ANP) și peptida natriuretică de tip B (BNP), sunt esențiale în menținerea homeostaziei cardiorenale și echilibrului hidroelectrolitic. Descoperirea lor a schimbat perspectiva asupra inimii, văzută acum ca un organ endocrin [139]. ANP și BNP, produse în principal în atri, scad rezistența vasculară și cresc diureza și excreția de sodiu, influențând astfel tensiunea arterială [141]. Gena BNP codifică un precursor preproBNP care este convertit în proBNP. Un fragment al peptidei semnal a preproBNP a fost sugerat ca biomarker circulant pentru ischemia cardiacă și infarctul miocardic [143]. BNP, răspunzând la întinderea peretelui cardiac și la suprasolicitările legate de volum, există în circulație sub forme proteolitice multiple și glicozilate. Testele comerciale pentru BNP și NT-proBNP detectează toate fragmentele care conțin epitopul recunoscut de anticorpii utilizați, fără specificitate absolută [144].

BNP și NT-proBNP, indicatori utili în diagnosticul insuficienței cardiace cronice, sunt crescuți la pacienții cu disfuncție ventriculară stângă. BNP, cu un timp de înjumătățire de aproximativ 20 de minute, și NT-proBNP, cu un timp de înjumătățire de 1-2 ore, reflectă statusul cardiac actual.

Creatinkinaza (CK), cu 4 izoenzime (mitocondrială, CK-MM, CK-MB, CK-BB), joacă un rol diagnostic semnificativ. CK-MM este prezentă în mușchii scheletici, CK-MB în miocard, și CK-BB în țesutul cerebral, tractul urinar și digestiv. Nivelul seric al CK este un marker de diagnostic în infarctul miocardic (CK-MB) și afectarea musculară (CK-MM). Creșterea serică a CK-BB poate indica infarct pulmonar, adenocarcinom pulmonar sau mamar, sau afecțiuni cerebrale. CK-MB este crescut în infarct miocardic acut, miocardită, intervenții chirurgicale cardiace, defibrilare, aritmii ventriculare, cardiomiopatii, și ischemie miocardică. Izoenzima CK-MM crește în rabdomioliză, sindrom de compartiment, traumatisme musculare, convulsii, efort fizic intens, și hipopotasemie.

### **Obiectivele specifice ale acestui studiu au constat în:**

1. Determinarea nivelului NT-proBNP în sângele pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori
2. Determinarea nivelului CK în sângele pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori

#### **1.2 Materiale și metode**

Analiza prin ELISA și prelucrarea statistică a datelor sunt descrise la capitolul „Metodologia cercetării”

S-au realizat două grupuri de pacienți:

**Grupul de studiu, grupul 1** a inclus pacienți internați în regim de urgență cu diagnosticul de POLITRAUMATISM CU FRACTURI DE INEL PELVIN în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2018-2022.

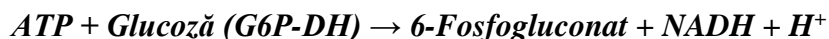
**Grupul control, grupul 2** a inclus pacienți internați pentru alte patologii traumatice, CU EXCEPȚIA POLITRAUMATISM CU FRACTURI DE INEL PELVIN

#### **8.2.2 Protocol de lucru pentru determinarea CK**

Determinarea CK a fost realizată prin metoda spectrofotometrică.. Conform insertului producătorului metoda are sensibilitate și specificitate foarte mare în detectarea concentrațiilor de CK și limita de detecție a kitului este 9,2U/L, metoda de detecție fiind colorimetrică.

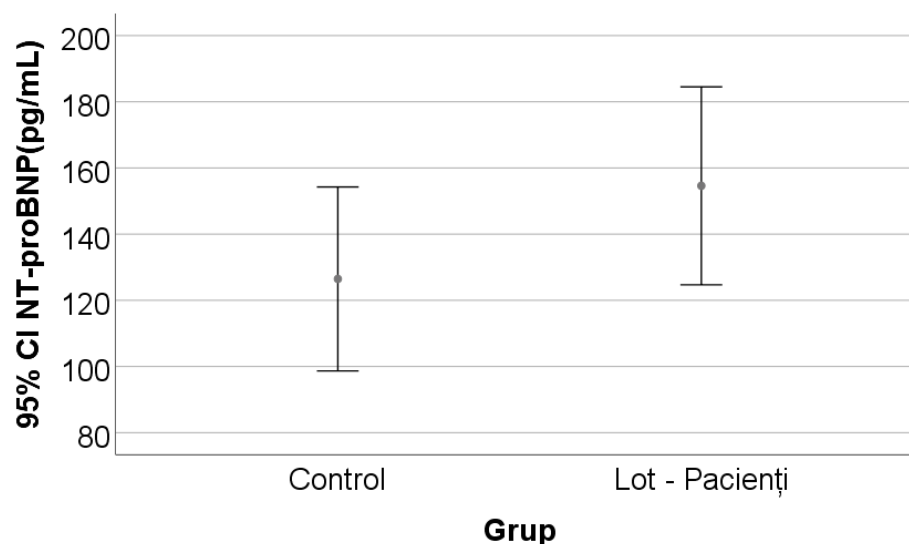
Principiul metodei de determinare este următorul: CK catalizează fosforilarea ADP, în prezența creatinfosfatului, cu formare de ATP și creatină.

Concentrația este determinată de rata de formare a NADPH, măsurată la 340 nm, prin intermediul următoarelor reacții cuplate, catalizate de hexokinază (HK) și glucozo-6-fosfat-dihidrogenază (G6P-DH):





### 8.3 Rezultate



**Fig. 8.1. Valorile NT-proBNP pentru loturile analizate**

**Tabel VIII.1 Valorile NT-proBNP în cele 2 loturi studiate**

Grup / NT-proBNP	Medie $\pm$ SD	Mediana (IQR)	Rang mediu	p* (p=0.264***)
Control (p=0.462**)	126.46 $\pm$ 46	121 (85.5-173.5)	-	0.180
Lot – Pacienți (p=0.235**)	154.6 $\pm$ 63.91	148.5 (93.25-203)	-	

Datele din **Tabelul VIII.1**, și **Fig. 8.1**. reprezintă compararea valorilor NT-proBNP între loturile analizate. În vederea identificării testului statistic adecvat pentru a putea compara cele 2 loturi, pentru fiecare parametru în parte s-a procedat la aplicarea testului Shapiro-Wilk care stabilește dacă setul de date respectă distribuția gaussiană și Testul Student pentru compararea mediilor celor doua loturi.

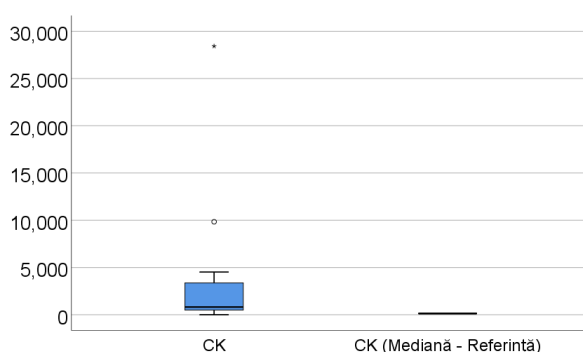
Diferențele dintre loturi nu sunt semnificative conform testului **Student**, astfel că la pacienții analizați valorile NT-proBNP nu au fost semnificativ diferite între lotul control (126.46  $\pm$  46 pg/mL) și lotul de studiu (154.60  $\pm$  64 pg/mL).

Distribuția valorilor NT-proBNP a fost normală în ambele grupuri conform testului **Shapiro-Wilk** (p>0.05). Conform rezultatelor, diferențele valorilor NT-proBNP au fost ne semnificative statistic între cele două grupuri conform testului **Student T-Test** (p=0.180);

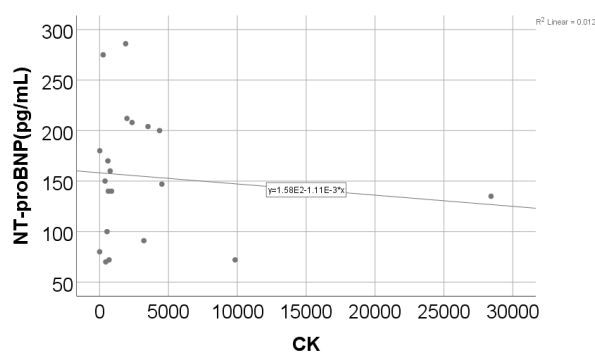
**Tabelul VIII.1 Analiza valorilor CK**

Parametru	Mediana referință	Mediana (IQR)	p*
CK (p<0.001**)	131	815 (469.5-3437.75)	<0.001

În cazul CK, setul de date conține valori atipice (de ex: 28420 U/L, 11984 U/L) care însă nu pot fi apreciate ca fiind atipice (outliers) și deci excluse din setul de date deoarece aceste valori sunt în concordanță cu tabloul clinic al pacienților respectivi. În acest caz, modelul matematic adecvat pentru aprecierea tendinței centrale este mediana. Tabelul de mai sus demonstrează că valoarea tendinței centrale exprimată prin mediană (815 U/L) este mult în afara intervalului biologic de referință pentru acest parametru (30 -135 U/L, mediana 131). Din motive obiective reprezentate în principal de pandemia COVID 19, nu am putut alcătui un lot control pentru acest parametru și am raportat valorile obținute la valorile medii populaționale extrase din literatura de specialitate pe care le-am folosit ca interval de referință.



**Fig. 8.2. Reprezentare grafică a valorilor NT-proBNP între lotul control și lotul de pacienți**



**Fig. 8.3 Corelație între NT pro-BNP și Creatinfosfokinaza**

În **Figura 8.2** se poate observa reprezentarea grafică a valorilor CK în cele două loturi analizate și se remarcă faptul că în lotul de studiu valorile CK au fost semnificativ mai mari decât în lotul control. Mediana CK (815) în lotul de testare a fost semnificativ mai mare comparativ cu populația de referință (131) (p<0.001).

În cadrul lotului de studiu, toți pacienții au avut valorile CK modificate, acest lucru fiind în concordanță cu datele din literatură și confirmă valoarea acestui marker în diagnosticul și monitorizarea afecțiunilor ce implică distrucție musculară cum este și fractura de inel pelvin în context de politraumatism.

## 8.4 Discuții

Familia peptidelor natruretice și în special NBP și NT-proBNP sunt folosite în mod uzual pentru:

- Monitorizarea evoluției insuficienței cardiace (IC)
- Diagnosticul, stratificarea riscului și monitorizarea evoluției și tratamentului în cazul infarctului miocardic

Din datele obținute reiese că în cazul NT proBNP valorile au o distribuție normală atât în lotul de studiu cât și în lotul control, dar diferențele dintre loturi nu sunt semnificative din punct de vedere statistic.

Așa cum reiese din Figura 8.3 există o ușoară corelație pozitivă între valorile NT pro-BNP și valorile CK din loturile studiate ceea ce ne-ar putea face să considerăm ca NT pro-BNP ar putea fi folosit ca marker de liză musculară în context traumatic, cu toate acestea lipsa semnificației statistice a diferenței dintre loturile analizate ne face să afirmăm că utilizarea NT pro-BNP ca biomarker al lizei musculare necesită cercetare suplimentară. În momentul actual nu putem recomanda utilizarea acestui marker pentru monitorizarea evoluției pacienților politraumatizați cu fracturi de bazin.

În cazul CK valorile obținute în lotul de studiu nu au avut o distribuție gaussiană. Acest lucru se datorează cel mai probabil faptului că valoarea CK-MM este puternic dependentă de volumul muscular aflat în suferință iar acesta este un parametru cu o foarte mare variabilitate la pacienții politraumatizați, care prin definiția patologiei asociază leziuni în zone diferite ale organismului care toate pot crește valoarea CK.

De asemenea, în cazul pacienților politraumatizați este frecventă asocierea de leziuni cerebrale, contuzie miocardică, traumatism abdominal etc, ce pot duce la creșterea izoenzimelor CK-MB și CK-BB și implicit la creșterea valorii totale a CK.

Evoluția valorilor CK este în general paralelă cu evoluția clinică a pacientului și acest lucru este bine evidențiat în practica curentă unde se consideră că o scădere a valorii CK cu aproximativ 30% zilnic este un factor de prognostic pozitiv în timp ce evoluția în creștere a acestor valori este un factor de prognostic negativ și necesită reevaluarea strategiei terapeutice și chirurgicale deoarece există elemente patologice care întrețin suferința musculară.

Cu toate că specificitatea CK în monitorizarea lizei musculare la pacienții politraumatizați cu fracturi de bazin este mică, acesta este considerat în continuare un biomarker important și esențial pentru evaluarea evoluției pacienților, iar echipa de studiu îl consideră un etalon pentru

cercetarea unor noi markeri cu specificitate superioară în diagnosticul și monitorizarea evoluției acestei patologii.

## **9. Studiul 3: Markeri biochimici de evaluare a statusului redox la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin**

### **9.1 Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)**

Managementul și monitorizarea pacienților politraumatizați, inclusiv a celor cu fracturi de inel pelvin, sunt complexe, reprezentând o provocare majoră în departamentele de urgență. Această complexitate se datorează cascadei de evenimente clinice, fiziopatologice și biochimice, care influențează negativ rata de supraviețuire a acestor pacienți [145]. Stresul oxidativ (SO) și afectarea statusului redox sunt mecanisme biochimice semnificative ce contribuie la deteriorarea celulelor și țesuturilor. Recunoscut pentru rolul său în diverse procese patologice, cum ar fi cancerul și diabetul, SO apare atunci când echilibrul dintre prooxidanți și antioxidanți este perturbat, înclinând balanța în favoarea prooxidanților [146,149].

SO este rezultatul supraproduției de specii reactive ale oxigenului (SRO), depășind sistemul defensiv antioxidant, și/sau depleția antioxidantilor. Studiile au arătat că pacienții politraumatizați prezintă o supraproduție de SRO, afectând diverse procese biochimice și contribuind la deteriorarea celulelor și țesuturilor. Această supraproduție poate afecta membranele celulare și funcțiile intracelulare sau poate declanșa semnalizări inflamatorii, ducând la sindromul de disfuncție a organelor multiple (MODS) [150-153].

În cadrul acestui context, un obiectiv important a fost evaluarea statusului redox prin determinarea unui biomarker nou de SO, OXSR1, și a unui biomarker consacrat, GGT. Scopul a fost de a evidenția o posibilă corelație între acești biomarkeri și evoluția pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin [149].

#### **Obiectivele specifice ale acestui studiu au constat în:**

1. compararea valorilor activității GGT în sângele pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin, valori care au fost luate din fișele pacienților, cu valorile de referință
2. determinarea nivelului OXSR1 în sângele pacienților politraumatizați cu fracturi de inel pelvin și la pacienții care constituie lotul de control și compararea celor două valori

## 9.2. Materiale și metode

Analiza prin ELISA și prelucrarea statistică a datelor sunt descrise la capitolul „Metodologia cercetării”. S-au realizat două grupuri de pacienți:

**Grupul de studiu, grupul 1** a inclus pacienți internați în regim de urgență cu diagnosticul de POLITRAUMATISM CU FRACTURI DE INEL PELVIN în Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2018-2022

**Grupul control, grupul 2** a inclus pacienți internați pentru alte patologii, CU EXCEPȚIA POLITRAUMATISM CU FRACTURI DE INEL PELVIN

## 9.3 Rezultate

Tabel IX.1. Valorile GGT la loturile analizate

Parametru	Medie referință	Medie $\pm$ SD	Diferență medie (95% C.I.)	p*
GGT (p=0.866**)	24	49.7 $\pm$ 15.38	25.7 (18.5-32.9)	<0.001

\*One-Sample T-Test, \*\*Shapiro-Wilk Test

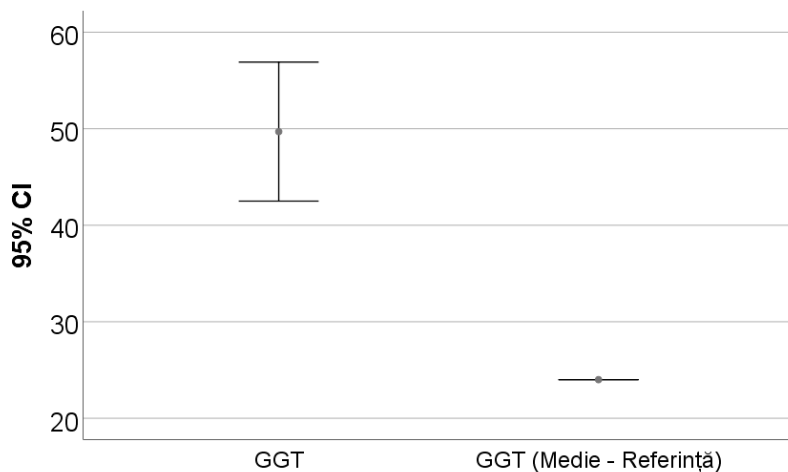


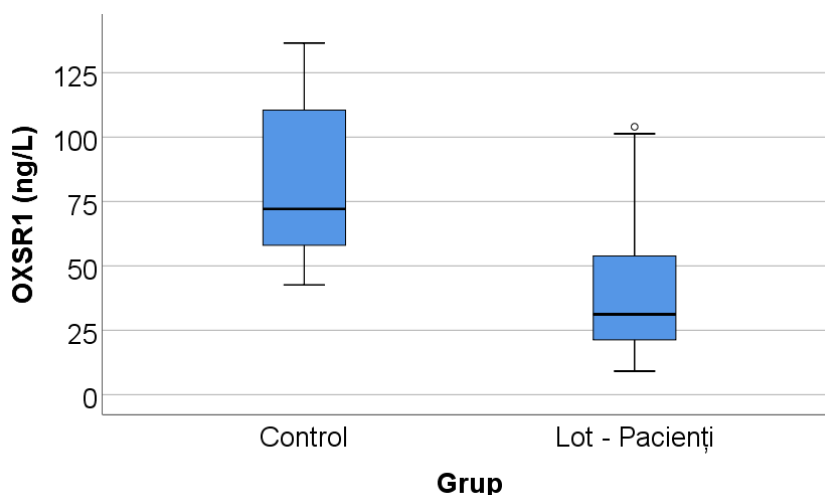
Fig. 9.1. Valoarea GGT în lotul de studiu ilustrată alături de media de referință

Tabelul IX.1. și Fig. 9.1. reprezintă valorile GGT în lotul de studiu comparativ cu valorile normale. Valorile au o distribuție non-parametrică în lotul de studiu conform testului Shapiro-Wilk (p=0.866). Diferențele dintre loturi sunt semnificative conform testului Mann-Whitney U (p<0.001), observându-se valori semnificativ mai crescute în lotul de studiu ale GGT (49.7  $\pm$  15.38 U/L) comparativ cu valorile normale. Din lotul de pacienți, 95% au avut valori patologice (Figura 10.1.).

**Tabel IX.2. Valorile OXSR1 la lotul control și lotul de pacienți**

Grup / OXSR1	Medie ± SD	Mediana (IQR)	Rang mediu	p*****
Control (p=0.211**)	83.72 ± 32.07	72.1 (56.2-110.9)	24.54	<b>&lt;0.001</b>
Lot – Pacienți (p=0.016**)	39.9 ± 27.31	31.2 (21-55.22)	12.10	

\*Student T-Test, \*\*Shapiro-Wilk Test, \*\*\*Levene’s Test for Equality of Variances, \*\*\*\*Welch T-Test, \*\*\*\*\*Mann-Whitney U Test



**Fig. 9.2. Compararea valorilor OXSR1 între lotul control și lotul de pacienți**

Datele din **Tabelul IX.2 și Fig. 9.2.** reprezintă compararea valorilor OXSR1 între loturile analizate. Valorile au o distribuție non-parametrică în lotul de studiu conform testului Shapiro-Wilk (p=0.211). 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 (39.9 ± 27.31 ng/L) comparativ cu lotul control (83.72 ± 32.07 ng/L ng/L).

#### **9.4 Discuții**

Studiul recent despre OXSR1, comparând celulele din carcinomul spinocelular oral cu cele sănătoase, a evidențiat o creștere semnificativă a OXSR1 în celulele tumorale [154]. În cazul pacienților cu politraumatisme grave, supraproducția de specii reactive ale oxigenului (SRO) afectează procese celulare esențiale, cum ar fi funcția lipidelor și sinteza proteinelor, iar scăderea nivelului SRO s-a corelat cu un prognostic mai bun [149]. Totuși, nu sunt pe deplin



înțelese căile de semnalizare și răspunsurile antioxidante legate de SRO și modul în care acestea contribuie la homeostazia celulară.

OXSRI poate avea roluri antioxidante sau pro-oxidante, influențând expresia genelor și semnalizarea redox. Reacțiile redox biologice sunt văzute ca o dualitate, cu roluri atât în semnalizarea fiziologică, cât și în patologia celulară. OXSRI, implicat în ambele scenarii, este crucial în controlul statusului redox celular [149]. SRO modulează enzimele metabolice cheie și controlează trecerea de la autofagie la apoptoză, influențând expresia genelor asociate [149,154]. În plus, OXSRI are un rol în angiogeneză și este implicat în mecanismele de protecție celulară, cu celulele lezate devenind mai puțin tolerante la atacuri oxidative [149,154]. Proteina OSRI, activată în stresul oxidativ, este implicată în angiogeneză și mecanismele de protecție, cu un rol semnificativ în apoptoză și inhibarea dezvoltării tumorii [159].

Studiul a relevat o scădere a nivelelor de OXSRI în lotul de studiu, sugerând efecte protectoare prin căi moleculare [149,154].

GGT, o glicoproteină situată pe suprafața membranelor celulare, este implicată în transportul aminoacizilor și ciclul gamma-glutamil. Are un rol crucial în degradarea glutathionului (GSH), un antioxidant major intracelular, și menține o concentrație optimă de GSH în citoplasmă, protejând împotriva stresului oxidativ [161]. Creșterea activității GGT este asociată cu diverse neoplasme și răspunsul adaptiv la stresul oxidativ și toxic [164, 165]. GGT, ca marker al stresului oxidativ, joacă un rol important în atenuarea efectelor acestuia prin menținerea metabolismului glutathionului celular și homeostaziei [166].

Rezultatele cercetării au arătat o creștere semnificativă a nivelelor de GGT în lotul de studiu, indicând instalarea stresului oxidativ, în concordanță cu literatura de specialitate referitoare la pacienții cu politraumatisme.

## **10. Studiul 4: Relații și corelații între parametrii biochimici testați la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin**

### **10.1. Introducere:**

În studiul de față voi exemplifica o parte dintre relațiile și corelațiile observate între markerii biochimici urmăriți la pacienții politraumatizați cu fracturi de bazin diagnosticați, internați și tratați la Spitalul Clinic de Urgență București, în perioada 2018-2022.

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.

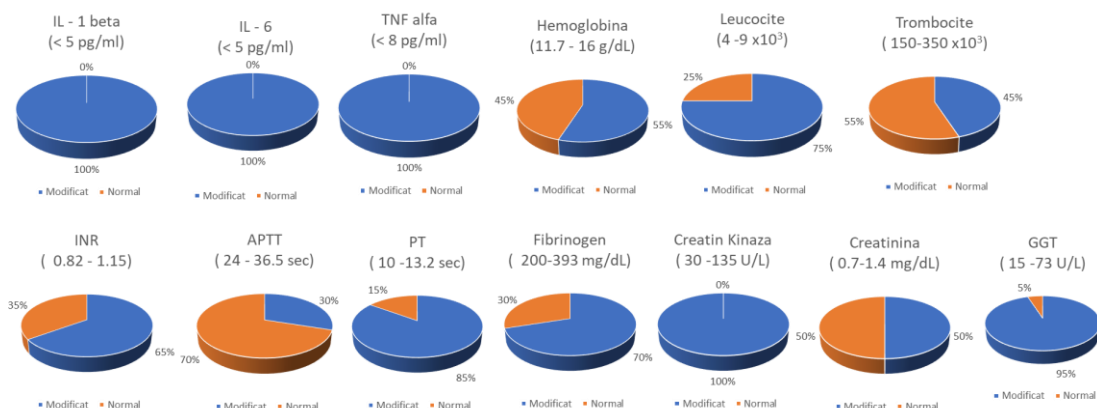
Compararea parametrilor în cazurile la care nu a existat lot control s-a efectuat în raport cu populația de referință folosind testul One-Sample T-Test (în care s-au ilustrat mediile comparate și diferența mediilor cu intervale de încredere) pentru variabilele cu distribuție normală respectiv One-Sample Wilcoxon Signed Rank Test (în care s-au ilustrat medianele comparate) pentru variabilele cu distribuție non-parametrică.

În cazurile la care a existat lot control, variabilele din lotul de testat cu distribuție normală s-au comparat între cele două grupuri folosind testul Student T-Test sau Welch T-Test (în funcție de egalitatea varianțelor observată conform testului Levene) în timp ce variabilele cu distribuție non-parametrică s-au comparat între cele două grupuri folosind testul Mann-Whitney U.

S-au efectuat de asemenea corelații între variabile, în cazul variabilelor cu distribuție normală, acestea au fost cuantificate utilizând coeficientul de corelație Pearson iar între variabilele cu distribuție non-parametrică corelațiile au fost cuantificate utilizând coeficientul de corelație Spearman's rho.

**Obiectivul principal al acestui studiu** este acela de a identifica corelații între markerii biochimici urmăriți cu scopul de a dezvolta un protocol de diagnostic și tratament la pacienții cu fracturi de inel pelvin. Acest protocol ar urma să susțină evaluarea și diagnosticul rapid și complet al acestei patologii și în același timp să ajute echipa care manageriază un astfel de caz în evaluarea corectă, completă și rapidă dar și în alegerea planului terapeutic optim.

## 10.2. Rezultate



**Fig. 10.1. Distribuția procentuală pentru parametrii analizați în intervalul biologic de referință și/sau sub/peste pragul de normalitate**

În **Fig. 10.1.** se poate observa că majoritatea parametrilor analizați (cu excepția APTT și trombocite) și toți markerii biochimici care au constituit obiectivul prezentei cercetării doctorale, sunt în afara intervalului de referință, lucru ce demonstrează impactul important și pe o multitudine de planuri a politraumatismului asupra organismului.

**Tabel X.1 Compararea parametrilor investigați în raport cu mediile populației de referință**

Parametru	Medie referință	Medie $\pm$ SD	Diferență medie (95% C.I.)	p*
<b>IL-1 beta</b> (p=0.642**)	3.31	14.19 $\pm$ 2.49	10.88 (9.71-12.04)	<b>&lt;0.001</b>
<b>IL-6</b> (p=0.081**)	2.5	8.96 $\pm$ 1.37	6.46 (5.81-7.10)	<b>&lt;0.001</b>
<b>TNF alfa</b> (p=0.106**)	1.323	16.71 $\pm$ 2.30	15.39 (14.31-16.47)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Hb</b> (p=0.698**)	14.339	11.17 $\pm$ 1.98	-3.169 (-4.1 - -2.237)	<b>&lt;0.001</b>

<b>Leucocite</b> (p=0.114**)	6.16	14.502 ± 6.313	8.342 (5.387- 11.297)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Trombocite</b> (p=0.844**)	252.87	239.65 ± 128.49	-13.22 (-73.36 – 46.92)	0.651
<b>Fibrinogen</b> (p=0.117**)	334.2	359.2 ± 236.41	25 (-85.65 – 135.65)	0.642
<b>GGT</b> (p=0.866**)	24	49.7 ± 15.38	25.7 (18.5-32.9)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Creatinină</b> (p=0.082**)	0.98	1.329 ± 0.535	0.349 (0.098- 0.6)	<b>0.009</b>

**\*One-Sample T-Test, \*\*Shapiro-Wilk Test**

Datele din **Tabelul X.1.** reprezintă compararea parametrilor investigați în raport cu mediile populației de referință. Se observă următoarele rezultatele pentru lotul testat:

- Valori semnificativ mai mari ale IL-1 beta față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 10.88 (95% C.I.: 9.71-12.04);
- Valori semnificativ mai mari ale IL-6 față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 6.46 (95% C.I.: 5.81-7.10);
- Valori semnificativ mai mari ale TNF-alfa față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 15.39 (95% C.I.: 14.31-16.47);
- Valori semnificativ mai mici ale Hb față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind -3.169 (95% C.I.: -4.1 - -2.237);
- Valori semnificativ mai mari ale leucocitelor față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 8.342 (95% C.I.: 5.387-11.297);
- Nu au existat diferențe semnificative în raport cu valoarea trombocitelor între lotul testat și populația de referință (p=0.651);
- Nu au existat diferențe semnificative în raport cu valoarea fibrinogenului între lotul testat și populația de referință (p=0.642);
- Valori semnificativ mai mari ale GGT față de populația de referință (**p<0.001**) diferența medie fiind 25.7 (95% C.I.: 18.5-32.9);
- Valori semnificativ mai mari ale creatininei față de populația de referință (**p=0.009**) diferența medie fiind 0.349 (95% C.I.: 0.098-0.600).

**Tabel X.3 Compararea valorilor NT-proBNP, hsCRP și OXSR1 între lotul control și lotul de pacienți**

<b>Grup / NT-proBNP</b>	<b>Medie ± SD</b>	<b>Mediana (IQR)</b>	<b>Rang mediu</b>	<b>p*</b>  (p=0.264***)
<b>Control</b> (p=0.462**)	126.46 ± 46	121 (85.5- 173.5)	-	0.180
<b>Lot – Pacienți</b> (p=0.235**)	154.6 ± 63.91	148.5 (93.25-203)	-	
<b>Grup / hsCRP</b>	<b>Medie ± SD</b>	<b>Mediana (IQR)</b>	<b>Rang mediu</b>	<b>p****</b>  (p=0.003***)
<b>Control</b> (p=0.978**)	0.746 ± 0.29	0.7 (0.5- 0.95)	-	<0.001
<b>Lot – Pacienți</b> (p=0.089**)	5.73 ± 1.87	5.5 (4.12- 6.45)	-	
<b>Grup / OXSR1</b>	<b>Medie ± SD</b>	<b>Mediana (IQR)</b>	<b>Rang mediu</b>	<b>p*****</b>
<b>Control</b> (p=0.211**)	83.72 ± 32.07	72.1 (56.2- 110.9)	24.54	<0.001
<b>Lot – Pacienți</b> (p=0.016**)	39.9 ± 27.31	31.2 (21- 55.22)	12.10	

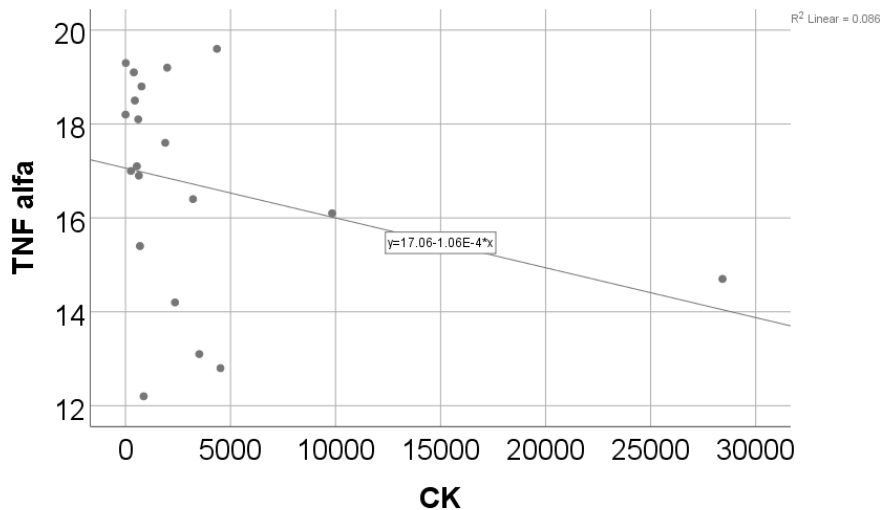
\*Student T-Test, \*\*Shapiro-Wilk Test, \*\*\*Levene's Test for Equality of Variances,

\*\*\*\*Welch T-Test, \*\*\*\*\*Mann-Whitney U Test

**Tabel X.4. Corelație analizate între TNF-alfa și CK**

- Corelație	p
TNF alfa ( $p=0.106^{***}$ ) x CK ( $p<0.001^{***}$ )	<b>0.035, R= -0.474**</b>

**\*\*Spearman's rho Correlation Coefficient,**



**Fig.10.2. Corelația dintre TNF alfa și CK**

Datele din **Tabelul X.4.** și **Fig. 10.2** reprezintă corelația între TNF alfa și CK care s-a observat a fi o corelație semnificativă și negativă de putere moderată ( $p=0.035$ ,  $R= -0.474$ ) care arată că pacienții cu valori mai mari pentru TNF alfa au avut asociat semnificativ mai frecvent valori mai mici pentru CK și viceversa.

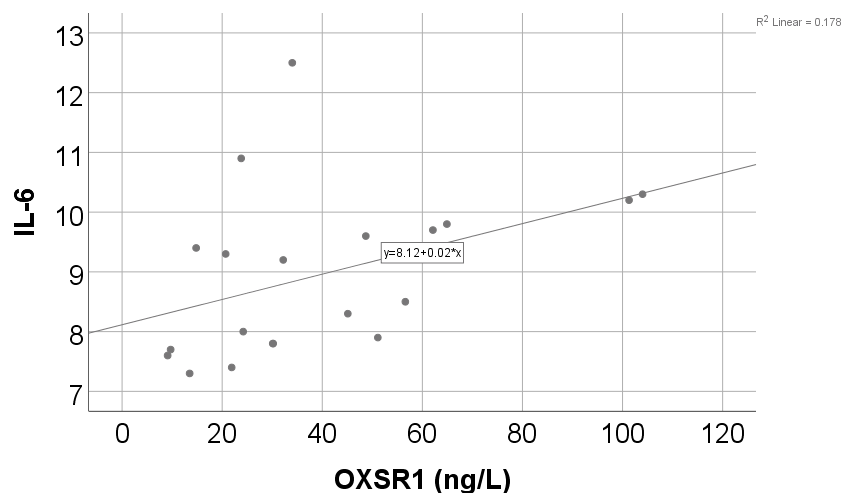
Această corelație negativă poate părea surprinzătoare la prima vedere ținând cont de faptul ca TNF alfa este o citokină cunoscută pentru efectul său pro-inflamator. Cu toate acestea TNF alfa care a fost descris și ca agent antiinflamator, poate limita direct răspunsurile mediate de celulele T prin apoptoză sau indirect prin reglarea IL-12, un mediator major în răspunsul inflamator de tip 1.

O alta explicație pentru această corelație negativă ar putea fi timpul de înjumătățire foarte scurt al TNF alfa de doar 5-8 minute [168] ceea ce duce la o variabilitate foarte pronunțată a acestui biomarker. Prin comparație timpul de înjumătățire al CK-MB este de 10-12 ore, ceea ce poate duce la discrepanțe în remanența plasmatică a celor doi compuși[169].

**Tabel X.5. Corelațiile analizate între IL-6 și OXSR1**

Corelație	p
IL-6 (p=0.081***) x OXSR1 (p=0.016***)	<b>0.005, R= 0.601**</b>

**\*\*Spearman's rho Correlation Coefficient,**



**Fig. 10.3 .Corelația dintre IL-6 și OXSR1**

Datele din **Tabelul X.5.** și **Figura 10.3.** reprezintă corelația dintre IL-6 și OXSR1 care s-a observat a fi o corelație semnificativă și pozitivă de putere ridicată (**p=0.005, R= 0.601**) care arată că pacienții cu valori mai mari pentru IL-6 au avut asociat semnificativ mai frecvent valori mai mari pentru OXSR1 și viceversa.

OXSR1, un membru al familiei de kinaze Serină/Threonină, acționează ca regulator ca răspuns la stresul de mediu, ceea ce este esențial pentru activitatea sa de fosfatază și funcția de supresor tumoral [170, 171]. S-a raportat că OXSR1 și markerul de inflamație IL-6 sunt semnificativ crescute în probele de ser de la pacienții cu diabet zaharat care fac hemodializă în comparație cu participanții sănătoși [173].

Cu toate că mecanismele specifice de activare a OXSR1 rămân slab definite, în mare parte din cauza activității sale bazale extrem de scăzute [174] este cunoscută corelația dintre OXSR1 și stresul oxidativ ceea ce poate explica și corelația pozitivă cu IL-6, marker consacrat al inflamației, fiind cunoscută legătura direct proporțională dintre stresul oxidativ și inflamație.

**Capitolul 11** descrie în detaliu 2 cazuri clinice.

## **12. Concluzii și contribuții personale**

### **12.1. Concluzii**

Prezenta lucrare reprezintă rezultatul unei cercetări având drept obiectiv una dintre problemele cu important impact socio-economic în medicina actuală: politraumatismele în general, asocieri lezionale cu mortalitate semnificativă și morbiditate importantă ce influențează negativ și pe termen lung calitatea vieții. Acest fapt are implicații nu doar la scară individuală, dar și la scara întregii societăți, având în vedere impactul economic indirect al stării de sănătate a populației asupra economiei globale.

Din această cauză, politraumatismele reprezintă un domeniu de larg interes atât din punct de vedere economic cât și medical, scopul eforturilor deosebite în acest sens fiind acela de a crește supraviețuirea acestor pacienți cât și de a reduce numărul complicațiilor și sechelelor post-traumatice.

Din studiul efectuat reiese că grupă de vârstă cea mai afectată de politraumatisme care au asociat fractură de inel pelvin este 30-40 de ani, urmată de grupa 18-30 de ani, astfel 80% dintre pacienții din grupul de studiu fac parte din intervalul de vârstă 18-40 de ani. Practic, grupa de vârstă activă socio-economic este cel mai des afectată de acest tip de traumatism, făcând imperativă reintegrarea socială și economică rapidă a acestor pacienți. Acest lucru poate fi realizat doar prin mijloace diagnostice și de tratament rapide și adecvate.

*Scopul* acestei cercetări științifice a fost acela de a integra corelațiile biochimice în algoritmul de tratament al pacienților politraumatizaților cu fracturi de bazin pentru scăderea mortalității și incidenței complicațiilor. În acest sens, **obiectivele** concrete pe care prezenta cercetare științifică și le-a propus și le-a îndeplinit, au fost:

1. Definirea profilului biochimic al pacientului politraumatizat, constând în identificarea parametrilor biochimici optimi pentru monitorizarea eficientă a pacientului, și

2. Identificarea unor noi markeri biochimici cu valoare diagnostică, terapeutică și prognostică ce pot indica momentul în care pacientul politraumatizat cu fractură de inel pelvin este apt pentru un anumit tratament și tipul optim de tratament aplicabil, cât și să poată fi folosiți pentru monitorizarea evoluției și evaluarea prognosticului pacientului.



Această lucrare demonstrează interdisciplinaritatea abordării pacientului politraumatizat cu fractură de inel pelvin, adăugând elementelor de cercetare biochimică aspecte caracteristice terapiei intensive și ortopediei.

Politraumatismul reprezintă o eventualitate rară raportat la totalitatea pacienților internați în urma unor traumatisme, acest lucru face ca selecția pacienților pentru studii să fie uneori dificilă. Din această cauză există puține lucrări științifice publicate pe această temă, lucru ce face dificilă compararea rezultatelor obținute cu literatura de specialitate.

Din studiile efectuate, din cazurile ilustrate și din literatura de specialitate reiese faptul că evoluția unui pacient politraumatizat nu poate fi încadrată într-un tipar predefinit ci pot exista doar direcții în care acesta poate evolua ce trebuie atent cunoscute și urmărite pentru a asigura cea mai bună șansă de supraviețuire și reintegrare socio-profesională a pacientului.

O concluzie foarte importantă luând în considerare particularitățile menționate referitoare la pacienții cu politraumatism și evoluția stării acestora, este faptul că toți parametrii biochimici determinați, IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa, hsCRP, CK, GGT și OXSR1, au prezentat modificări semnificative statistic ceea ce reflectă și consolidează semnificația clinică a acestor parametri.

O altă mențiune importantă și cu semnificație clinică este evoluția lor și corelațiile acestor parametri, deși, din motivele pe care le-am expus deja, nu au fost semnificative statistic dar în concordanță cu evoluția pacientului și cu procesele patologice complexe, caracteristice politraumatismului care excelează prin asocieri lezionale multiple. Apare astfel ca o cerință esențială abordarea tuturor leziunilor, o viziune integrativă asupra pacientului și implicit o echipă interdisciplinară al cărei scop principal este supraviețuirea pacientului.

Analiza datelor obținute a relevat o constatare importantă, și anume că majoritatea parametrilor analizați și toți cei care au constituit obiectivele prezentei cercetări științifice, sunt în afara intervalului de referință, lucru ce demonstrează impactul important și pe o multitudine de planuri a politraumatismului asupra organismului (**Fig. 10.1**). În cazul GGT, analizat ca marker de stres oxidativ, din lotul de pacienți, 95% au avut valori patologice.

Cele prezentate susțin, pe de o parte, semnificația clinică a acestor parametri și, pe de altă parte susțin dezideratul ca deciziile care vizează evaluarea pacientului cu politraumatism să se bazeze pe parametri obiectivi care să reflecte starea pacientului.

Consider astfel că prin cercetarea doctorală am analizat o serie de parametri biochimici care reflectă exacerbarea inflamației și a altor procese patologice din politraumă și care

îndeplinesc criteriile menționate anterior și rezultatele obținute au răspuns în întregime ipotezelor de cercetare formulate.

## **12.2. Contribuții personale**

În literatura de specialitate se remarcă foarte puține studii referitoare la diagnosticul molecular la pacienții politraumatizați cu fracturi de inel pelvin, astfel aceste determinări, conferă lucrării de față un caracter inovativ și original.

O altă contribuție personală consider că este ideea de a determina și utiliza acești markeri biochimici nu numai în scop diagnostic, ci și de prognostic al evoluției pacienților și monitorizare a tratamentului diminuând morbiditatea și mortalitatea acestor pacienți deosebit de fragili și cu evoluție incertă.

Un alt element de noutate și inovație a prezentei cercetări personale, îl reprezintă evidențierea stresului oxidativ în complexul proceselor patologice la pacienții politraumatizați. Evidențierea stresului oxidativ s-a realizat prin determinarea unui biomarker nou al stresului oxidativ, OXSR1 și a unui biomarker clasic, GGT. Constatările studiilor sugerează necesitatea unor modalități de diagnostic moleculare care ar putea fi asociate cu datele clinice pentru elaborarea diagnosticului de certitudine, ideal cât mai precoce, precum și stabilirea unor protocoale pentru diagnostic precis. Prin coroborarea datelor clinice cu cele ale metodelor moleculare se poate alege modalitatea optimă de tratament.

Prezenta cercetare doctorală a evidențiat o serie de aspecte care necesită continuarea cercetării, și anume, analiza fiecărui tip de complicație și identificarea unor biomarkeri specifici, stabilirea valorilor-prag pentru anumiți parametri biochimici, extinderea cercetării asupra markerilor biochimici ținând cont de complexitatea proceselor fiziopatologice, abordarea pluridisciplinară a politraumatismelor și creșterea implicării cercetării fundamentale în practica medicală curentă.

Rezultatele cercetării doctorale au demonstrat că parametrii biochimici analizați pot fi *corelați cu evoluția* pacientului politraumatizat, fiind instrumente utile de prognostic, diagnostic și monitorizare a tratamentului.

## Bibliografie selectivă:

2. Surgeons ACo. American College of Surgeons Publications. ATLS Instructor Manual American College of Surgeons Publications. 2004;Chicago, Ill, USA

19. Pape HC, Hildebrand F, Pertschy S, Zelle B, Garapati R, Grimme K, et al. Changes in the management of femoral shaft fractures in polytrauma patients: from early total care to damage control orthopedic surgery. *J Trauma*. 2002;53(3):452-61; discussion 61-2.

30. Ecke H, Faupel L, Quoika P. Gedanken zum Zeitpunkt der Operation bei Frakturen des Oberschenkelknochens. *Unfallchirurgie*. 1985;11(2):89-93.

32. Border JR, LaDuca J, Seibel R. Priorities in the management of the patient with polytrauma. *Prog Surg*. 1975;14:84-120.

Butcher N, Balogh ZJ. The definition of polytrauma: the need for international consensus. *Injury*. 2009;40 Suppl 4:S12-22.

38. Pape HC, Lefering R, Butcher N, Peitzman A, Leenen L, Marzi I, et al. The definition of polytrauma revisited: An international consensus process and proposal of the new 'Berlin definition'. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;77(5):780-6.

53. Beeton CA, Chatfield D, Brooks RA, Rushton N. Circulating levels of interleukin-6 and its soluble receptor in patients with head injury and fracture. *J Bone Joint Surg Br*. 2004;86(6):912-7.

54. Garbers C, Thaiss W, Jones GW, Waetzig GH, Lorenzen I, Guilhot F, et al. Inhibition of classic signaling is a novel function of soluble glycoprotein 130 (sgp130), which is controlled by the ratio of interleukin 6 and soluble interleukin 6 receptor. *J Biol Chem*. 2011;286(50):42959-70.

56. Bergdolt S, Kovtun A, Hägele Y, Liedert A, Schinke T, Amling M, et al. Osteoblast-specific overexpression of complement receptor C5aR1 impairs fracture healing. *PLOS ONE*. 2017;12(6):e0179512.

59. Chan JK, Glass GE, Ersek A, Freidin A, Williams GA, Gowers K, et al. Low-dose TNF augments fracture healing in normal and osteoporotic bone by up-regulating the innate immune response. *EMBO Mol Med*. 2015;7(5):547-61.

65. Hazeldine J, Hampson P, Lord JM. The impact of trauma on neutrophil function. *Injury*. 2014;45(12):1824-33.

66. Kemmler J, Bindl R, McCook O, Wagner F, Gröger M, Wagner K, et al. Exposure to 100% Oxygen Abolishes the Impairment of Fracture Healing after Thoracic Trauma. *PLOS ONE*. 2015;10(7):e0131194.

70. Kleber C, Becker CA, Malysch T, Reinhold JM, Tsitsilonis S, Duda GN, et al. Temporal profile of inflammatory response to fracture and hemorrhagic shock: Proposal of a

novel long-term survival murine multiple trauma model. *Journal of Orthopaedic Research*. 2015;33(7):965-70.

71. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, et al. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res*. 2001;16(6):1004-14.

73. Costin Dumitru ART, Iulia-Ioana Stanescu-Spinu, Daniela Miricescu, Maria Greabu. Correlation between NT-proBNP, hsCRP and OXSR1: Clinical relevance in evaluating the prognosis of polytrauma patients. *Romanian Medical Journal*. 2021;LXVIII(3):406-10.

74. Aalto K, Osterman K, Peltola H, Räsänen J. Changes in erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein after total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 1984(184):118-20.

79. Burke MA, Cotts WG. Interpretation of B-type natriuretic peptide in cardiac disease and other comorbid conditions. *Heart Fail Rev*. 2007;12(1):23-36.

82. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9943> [

83. Li Y, Hu J, Vita R, Sun B, Tabata H, Altman A. SPAK kinase is a substrate and target of PKCtheta in T-cell receptor-induced AP-1 activation pathway. *Embo j*. 2004;23(5):1112-22.

84. Gagnon KB, Delpire E. Molecular physiology of SPAK and OSR1: two Ste20-related protein kinases regulating ion transport. *Physiol Rev*. 2012;92(4):1577-617.

89. Chen W, Yazicioglu M, Cobb MH. Characterization of OSR1, a member of the mammalian Ste20p/germinal center kinase subfamily. *J Biol Chem*. 2004;279(12):11129-36.

91. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 $\beta$  secretion. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011;22(4):189-95.

96. Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*. 2006;440(7081):237-41.

97. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*. 2010;464(7293):1357-61.

100. Mariathasan S, Newton K, Monack DM, Vucic D, French DM, Lee WP, et al. Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf. *Nature*. 2004;430(6996):213-8.

104. Faustin B, Lartigue L, Bruey JM, Luciano F, Sergienko E, Bailly-Maitre B, et al. Reconstituted NALP1 inflammasome reveals two-step mechanism of caspase-1 activation. *Mol Cell*. 2007;25(5):713-24.

106. Yang X, Ricciardi BF, Hernandez-Soria A, Shi Y, Pleshko Camacho N, Bostrom MP. Callus mineralization and maturation are delayed during fracture healing in interleukin-6 knockout mice. *Bone*. 2007;41(6):928-36.
109. Zhang H, Neuhöfer P, Song L, Rabe B, Lesina M, Kurkowski MU, et al. IL-6 trans-signaling promotes pancreatitis-associated lung injury and lethality. *J Clin Invest*. 2013;123(3):1019-31.
112. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol*. 1983;34:141-212.
113. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805-12.
119. Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*. 1998;41(10):1241-8.
122. 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- $\alpha$ . *Mol Psychiatry*. 2016;21(5):642-9.
127. Ying SC, Gewurz H, Kinoshita CM, Potempa LA, Siegel JN. Identification and partial characterization of multiple native and neoantigenic epitopes of human C-reactive protein by using monoclonal antibodies. *J Immunol*. 1989;143(1):221-8.
129. Keltz E, Khan FY, Mann G. Rhabdomyolysis. The role of diagnostic and prognostic factors. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2013;3(4):303-12.
131. Ter Horst R, Jaeger M, Smeekens SP, Oosting M, Swertz MA, Li Y, et al. Host and Environmental Factors Influencing Individual Human Cytokine Responses. *Cell*. 2016;167(4):1111-24.e13.
132. Italiani P, Puxeddu I, Napoletano S, Scala E, Melillo D, Manocchio S, et al. Circulating levels of IL-1 family cytokines and receptors in Alzheimer's disease: new markers of disease progression? *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):342.
133. Shenkin A, Fraser WD, Series J, Winstanley FP, McCartney AC, Burns HJ, et al. The serum interleukin 6 response to elective surgery. *Lymphokine Res*. 1989;8(2):123-7.
134. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)*. 1990;79(2):161-5.
136. Kossmann T, Hans VH, Imhof HG, Stocker R, Grob P, Trentz O, et al. Intrathecal and serum interleukin-6 and the acute-phase response in patients with severe traumatic brain injuries. *Shock*. 1995;4(5):311-7.

137. Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jongekrijg J, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW, et al. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg.* 1993;218(6):769-76.
138. Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma. *Crit Care Med.* 1997;25(11):1813-9.
139. Liu C, Tang J. Expression levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  and the corresponding receptors are correlated with trauma severity. *Oncol Lett.* 2014;8(6):2747-51.
141. Spielmann S, Kerner T, Ahlers O, Keh D, Gerlach M, Gerlach H. Early detection of increased tumour necrosis factor alpha (TNFalpha) and soluble TNF receptor protein plasma levels after trauma reveals associations with the clinical course. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001;45(3):364-70.
146. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.* 1981;28(1):89-94.
148. Gunning M, Ballermann BJ, Silva P, Brenner BM, Zeidel ML. Brain natriuretic peptide: interaction with renal ANP system. *Am J Physiol.* 1990;258(3 Pt 2):F467-72.
150. Siriwardena M, Kleffmann T, Ruygrok P, Cameron VA, Yandle TG, Nicholls MG, et al. B-type natriuretic peptide signal peptide circulates in human blood: evaluation as a potential biomarker of cardiac ischemia. *Circulation.* 2010;122(3):255-64.
151. Semenov AG. In-Depth Analysis of Molecular Heterogeneity of Circulating N-Terminal pro-BNP: Does Detailed Characterization of Analyte Structure Really Matter for Its Diagnostic Use? *Clin Chem.* 2020;66(9):1131-3.
152. Ciriello V, Gudipati S, Stavrou PZ, Kanakaris NK, Bellamy MC, Giannoudis PV. Biomarkers predicting sepsis in polytrauma patients: Current evidence. *Injury.* 2013;44(12):1680-92.
153. Khare M, Mohanty C, Das BK, Jyoti A, Mukhopadhyay B, Mishra SP. Free Radicals and Antioxidant Status in Protein Energy Malnutrition. *International Journal of Pediatrics.* 2014;2014:254396.
156. Sandesc M, Rogobete AF, Bedreag OH, Dinu A, Papurica M, Cradigati CA, et al. Analysis of oxidative stress-related markers in critically ill polytrauma patients: An observational prospective single-center study. *Biomolecules and Biomedicine.* 2018;18(2):191-7.
157. Bedreag OH, Rogobete AF, Sărăndan M, Cradigati AC, Păpurică M, Roșu OM, et al. Influence of antioxidant therapy on the clinical status of multiple trauma patients. A retrospective single center study. *Rom J Anaesth Intensive Care.* 2015;22(2):89-96.

158. Rogobete AF, Sandesc D, Papurica M, Stoicescu ER, Popovici SE, Bratu LM, et al. The influence of metabolic imbalances and oxidative stress on the outcome of critically ill polytrauma patients: a review. *Burns & Trauma*. 2017;5.
159. Horhat FG, Rogobete AF, Papurica M, Sandesc D, Tanasescu S, Dumitrascu V, et al. The Use of Lipid Peroxidation Expression as a Biomarker for the Molecular Damage in the Critically Ill Polytrauma Patient. *Clin Lab*. 2016;62(9):1601-7.
160. Bedreag OH, Rogobete AF, Sarandan M, Cradigati AC, Papurica M, Dumbuleu MC, et al. Oxidative stress in severe pulmonary trauma in critical ill patients. Antioxidant therapy in patients with multiple trauma--a review. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2015;47(4):351-9.
161. Enășescu DA, Moisescu MG, Imre M, Greabu M, Ripszky Totan A, Stanescu-Spinu I, et al. Lutein Treatment Effects on the Redox Status and Metalloproteinase-9 (MMP-9) in Oral Cancer Squamous Cells-Are There Therapeutical Hopes? *Materials (Basel)*. 2021;14(11).
166. Pedro NF, Biselli JM, Maniglia JV, Santi-Neto D, Pavarino É C, Goloni-Bertollo EM, et al. Candidate Biomarkers for Oral Squamous Cell Carcinoma: Differential Expression of Oxidative Stress-Related Genes. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018;19(5):1343-9.
168. Daniela Miricescu AT, Iulia-Ioana Stanescu, Constantin Stefani, Ana Maria Alexandra Stanescu, Maria Greabu. Gamma-glutamyl transferase and cardiovascular disease riskomanian Medical Journal. *Romanian Medical Journal*. 2020;67(1):47-52.
171. Lim JS, Yang JH, Chun BY, Kam S, Jacobs DR, Jr., Lee DH. Is serum gamma-glutamyltransferase inversely associated with serum antioxidants as a marker of oxidative stress? *Free Radic Biol Med*. 2004;37(7):1018-23.
172. González-Domínguez Á, Visiedo-García FM, Domínguez-Riscart J, González-Domínguez R, Mateos RM, Lechuga-Sancho AM. Iron Metabolism in Obesity and Metabolic Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences [Internet]*. 2020; 21(15).
173. Liu F, Wang Z, Wang W, Luo J-G, Kong L. Red-Emitting Fluorescent Probe for Detection of  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase and Its Application of Real-Time Imaging under Oxidative Stress in Cells and in Vivo. *Analytical Chemistry*. 2018;90(12):7467-73.
175. Zahn G, Greischel A. Pharmacokinetics of tumor necrosis factor alpha after intravenous administration in rats. Dose dependence and influence of tumor necrosis factor beta. *Arzneimittelforschung*. 1989;39(9):1180-2.
176. Ström S, Mogensen L, Bendz R. Serum CK-MB kinetics in acute myocardial infarction and after coronary bypass operations. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg*. 1979;13(1):61-6.
180. Totan A B-SA, Imre MM, Miricescu D, Balan D, Stanescu I, Ionescu D, Timofte D, Tanasescu MD, Greabu M. XOR - Possible Correlations with Oxidative Stress and

Inflammation Markers in the Context of Diabetic Kidney Disease. *Revista de Chimie*. 2019;70(4):1396-8.

181. Li C, Feng M, Shi Z, Hao Q, Song X, Wang W, et al. Structural and biochemical insights into the activation mechanisms of germinal center kinase OSR1. *J Biol Chem*. 2014;289(52):35969-78.