



MD 1854 F1 2002.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **1854** ⁽¹³⁾ **F1**
(51) **Int. Cl.**⁷: A 61 K 35/78, 35/80;
A 61 P 9/04

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
(21) Nr. depozit: a 2000 0130 (22) Data depozit: 2000.07.28	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2002.02.28, BOPI nr. 2/2002
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	
(72) Inventatori: POPOVICI Mihail, MD; COBEȚ Valeriu, MD; POPOVICI Ion, MD; RUDIC Valeriu, MD	
(73) Titular: INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	

(54) **Metodă de tratament în insuficiența cardiacă congestivă**

(57) **Rezumat:**

1 Invenția se referă la medicină, în particular la
cardiologie.
5 Esența invenției constă în aceea că pentru
tratamentul insuficienței cardiace congestive se

2 administrează extract de spirulină în doză de 0,3
mg/kg zilnic *per os*.
Revendicări: 1

10

MD 1854 F1 2002.02.28

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în particular la cardiologie și boli interne.

5 Insuficiența cardiacă congestivă (ICC) este un sindrom clinic care însoțește diferite afecțiuni ale miocardului și reprezintă una din cauzele nemijlocite ale decesului. Clasic ICC se definește ca incapacitatea cordului afectat de a asigura necesitățile hemodinamicii sistemice în oxigen și substrat energetic, precum și inabilitatea cordului de a realiza întoarcerea adecvată a sângelui de la țesuturi pentru a îndepărta CO₂ acumulat și reziduurile metabolice. ICC este datorată tulburării relaxării diastolice, deprimării contractilității și depleției energetice a miocardului.

10 Calitatea vieții pacienților cu patologie cardiacă este indispensabilă de eficiența tratamentului aplicat. Se cunoaște o metodă de tratament în insuficiența cardiacă congestivă, care prevede administrarea unui preparat cu efect cardiotrop, cum este propranololul, care posedă proprietăți beta-adrenoblocante, precum și de optimizare a proceselor de energosinteză și energoutilizare, pe fundal de micșorare a necesității miocardului în oxigen [1]. Beneficiul clinic este datorat micșorării influențelor asupra cordului afectat a concentrației crescute de catecolamine.

15 Mai este cunoscută o metodă de tratament în insuficiența cardiacă congestivă, care prevede administrarea izoptinei, preparat ce posedă proprietăți de blocare a canalelor lente de calciu [2].

Prin limitarea fluxului ionilor de calciu în cardiomiocite din exterior se preîntâmpină dezvoltarea excesului intracelular de Ca²⁺, care reprezintă o pârghie oportună în compromiterea funcțională a cordului afectat.

20 De asemenea se cunoaște o metodă de tratament în insuficiența cardiacă congestivă, care prevede administrarea digoxinei [3]. Prin blocarea Na-K-ATP-azei digoxina intensifică schimbul de ioni Na⁺-Ca²⁺, crescând astfel abilitatea fazei "platou" și respectiv contractibilitatea miocardului.

În același timp, se mai cunoaște o metodă de tratament în insuficiența cardiacă congestivă, cea mai apropiată de esența prezentei invenții, care prevede administrarea captoprilului [4]. Grație blocării 25 enzimei de conversie este limitată conversia angiotensinei I în angiotensină II, fapt ce optimizează procesul de remodelare funcțională și morfologică a miocardului alterat.

Dezavantajele constau în aceea că strategia terapeutică a ICC nu asigură un reviriment funcțional notabil al cordului, în multe cazuri este inoperantă, fapt ce argumentează tentativele de potențare a măsurilor curative.

30 În primul rând, propranololul demonstrează unele efecte adverse evidente, care limitează aplicarea lui în tratamentul ICC: bradiaritiile, hipotensiunea arterială, efectul cardiotoxic al deblocării adrenoreceptorilor în cazul întreruperii administrării preparatului.

In al doilea rand, administrarea blocantelor canalelor de calciu se manifestă prin efect inotrop negativ, fapt ce explică diminuarea notabilă a efectului curativ în gradele avansate de ICC (Opie L.H., Meeserli 35 F.H. Nifedipine and mortality. Grave defects in the dossier. //Circulation, 1975, 92, p. 1068-1073).

In alt treilea rand, administrarea digoxinei într-un număr mare de cazuri este asociată de sindromul de intoxicație glicozidică, fiind necesară ca urmare suspendarea tratamentului respectiv.

In randul patru, blocantele enzimei de conversie conduc la beneficiu clinic retardiv și demonstrează un efect curativ slab în etapa precoce de acțiune asupra insuficienței cardiace congestive.

40 In acest context interesul nostru s-a axat pe studiul capacității eventuale a extractului de spirulină (aici și în continuare prin spirulină se va subînțelege extract de spirulină) de a ameliora evoluția ICC, dat fiind faptul că anterior s-a demonstrat cu certitudine în experiență acută (*in vitro*, perfuzia cordului izolat de șobolan) efectul antiischemic al extractului acvatic de spirulină.

45 Spirulina crescută în diferite medii cu conținut mineral în Institutul de Microbiologie sub auspiciul academicianului A.Ș. R.M. Valeriu Rudic reprezintă un biomaterial cu o gamă largă de efecte tisulare.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este extinderea asortimentului de preparate farmacologice eficiente pentru tratamentul insuficienței cardiace congestive.

50 Esența invenției constă în aceea că pentru tratamentul insuficienței cardiace congestive se administrează extract de spirulină în doză de 0,3 mg/kg zilnic *per os*.

Rezultatul constă în obținerea unui remediu eficient în tratamentul insuficienței cardiace congestive.

Insuficiența cardiacă congestivă s-a reproduș la șobolanii albi prin administrare de doze cardiotoxice de fluor (F), norepinefrină (NE) și doxorubicină (Dx). Selecția acestor modele nu este abstractă sau întâmplătoare și are ca scop să evidențieze cu certitudine complexitatea fonului patomorfologic al miocardului în ICC.

55 Surplusul de fluor conduce la o hipertrofie excesivă a miocardului cu elemente de dezorientare a fibrelor musculare, asociate de focare solitare de micronecroze de tip "calciu" și expansiunea moderată a spațiului interstițial cu fibroză.

MD 1854 F1 2002.02.28

4

Surplusul de norepinefrină conduce la micronecroze difuze de tip “calciu”, hipertrofiile a miocardului, expansiunea spațiului interstițial prioritar pe contul fibrozei.

Surplusul de doxorubicină conduce la focare difuze de distrofie și atrofie a miocardului, expansiune a fibrozei, micronecroze difuze de tip “calciu” și micronecroze solitare de tip “ischemic”.

5 Aceste aspecte morfologice au fost demonstrate de noi anterior în cadrul realizării temelor științifice în laboratorul de cardiomiopatii și miocardite pe parcursul anilor 1991-1998.

In al doilea rând, aceste modele sunt aproape de afecțiunile umane ale cordului:

10 - creșterea multiplă a conținutului de fluor în apa potabilă este frecventă în numeroase areale geografice ale globului, inclusiv pe teritoriul Republicii Moldova. Corelația dintre morbiditatea cardiacă și gradul de fluoroză este foarte concludentă, iar corecția conținutului de acest anion în condițiile rurale este practic imposibilă;

- creșterea concentrației de norepinefrină în sânge este o manifestare inerentă a stresului psihoemoțional sever, alterările cordului determinate de acest fapt fiind calificate de H. Selye drept cardiomiopatie de stres;

15 - doxorubicina este un preparat din grupul antraciclinelor de o mare eficiență antineoplazică, însă deja în doze cumulative submaximale (500...550 mg/m²) conduce la alterarea cordului și evoluția progresivă a insuficienței cardiace congestive, fiind astfel necesară întreruperea tratamentului specific. În acest context este recunoscută cardiomiopatia doxorubicinică, care în unele cazuri poate fi cauza nemijlocită a decesului.

20 Pentru un studiu comparativ s-au selectat cele mai eficiente și utile remedii farmacologice, administrate pacienților cu ICC, și anume - propranololul, izoptina, digoxina, captoprilul. Cel puțin unul din aceste preparate este inclus în terapia asociată a ICC sau cu el se realizează monoterapia acestui sindrom. Cu efectele exercitate de aceste preparate se va compara efectul terapeutic al spirulinei asupra insuficienței cardiace induse de F, NE și Dx, în ce privește ameliorarea performanțelor cordului.

25 Preparatele farmacologice pentru comparație s-au administrat i/peritoneal în doze raportate la dozele umane:

a. propranololul - 1,0 mg/kg;

b. izoptina - 0,5 mg/kg;

c. digoxina - 0,02 mg/kg;

30 d. captoprilul - 0,15 mg/kg.

Captoprilul s-a administrat în formă de pulbere (MERC, Germania), dizolvat în apă distilată până la concentrația necesară. Evaluarea dozei optime de spirulină s-a realizat după efectul antiaritmie maxim înregistrat *in vivo* la administrarea i/venoasă (în vena femurală) a preparatului cu 20 min înainte de administrarea i/venoasă a unei concentrații aritmogene de calciu (CaCl₂ - 30 mg/kg/min). Efectul s-a apreciat după timpul apariției extrasistolei ventriculare (Ev), tahicardiei ventriculare (Tv) și fibrilației ventriculare (Fv). Indicatorii înregistrați la administrarea a 3 doze de spirulină 0,1-0,3-0,5 mg/kg sunt prezentați în tabelul 1. Spirulina a fost oferită de către Valeriu Rudic, directorul Institutului de Microbiologie al AȘ RM (fiole de 1 ml; 0,1%).

Tabelul 1

40 Efectul antiaritmie *in vivo* al spirulinei la acțiunea aritmogenă a calciului

Lot	Apariția Ev, min	Apariția Tv, min	Apariția Fv, min
Martor, n=8	5,8±0,4	12,0±0,7	15,4±0,9
Spirulina, n=9 0,1 mg/kg	6,9±0,5 p>0,05, +19%	13,7±0,8 p>0,05, +14%	17,0±1,1 p>0,05, +10%
Spirulina, n=9 0,3 mg/kg	7,7±0,6 p<0,05, +33%	14,6±0,8 p<0,05, +22%	18,4±1,1 p<0,05, +19%
Spirulina, n=10 0,5 mg/kg	7,1±0,7 p>0,05, +22%	13,9±0,8 p>0,05, +16%	17,2±1,1 p>0,05, +12%

Notă: p - valoarea semnificației, comparativ cu lotul martor, la care s-a administrat preliminar (cu 20 min înainte de CaCl₂) numai echivalent volumetric de soluție fiziologică; devierile procentuale indică incrementul relativ de timp față de valoarea control.

45 Așadar este cert, că anume în doză de 0,3 mg/kg spirulina asigură un efect antiaritmie maximal, fapt documentat prin creșterea semnificativă a timpului de apariție a extrasistolei ventriculare, tahicardiei ventriculare și a fibrilației ventriculare, care a condus la deces, respectiv cu 14, 22 și 16%. Creșterea acestor parametri cronologici puțin evidentă la doza de 0,1 mg/kg, efectul intermediar fiind constatat - la doza de 0,5 mg/kg. Efectul antiaritmie respectiv accentuează concludent beneficiul cardiotrop al spirulinei, care ulterior va fi administrată într-o doză zilnică de 0,3 mg/kg.

50 Cele 3 modele de insuficiență cardiacă congestivă s-au reprodus prin administrarea la șobolani a:

MD 1854 F1 2002.02.28

5

- fluorului, *per os*, prin suplینirea apei de băut cu NaF până la concentrația finală de 0,15% (1,5 g/l) timp de 6 săptămâni;

- norepinefrinei (NE), pararteral, în doză cumulativă de 43 mg/kg timp de 20 zile după schema:

3 zile - 0,7 mg/kg zilnic
4 zile - 1,5 mg/kg zilnic
6 zile - 2,2 mg/kg zilnic
7 zile - 3,1 mg/kg zilnic;

5 (Adminstrarea NE în doză progresivă este necesară pentru a anihila efectul tahifilaxiei caracteristic catecolaminelor.)

- doxorubicinei (Dx), pararteral, în doză cumulativă de 12 mg/kg timp de 9 zile după schema:

3 zile - 0,5 mg/kg zilnic
3 zile - 1,5 mg/kg zilnic
3 zile - 2,0 mg/kg zilnic.

Luând în considerație clearensul foarte redus al Dx, examenul funcțional s-a realizat după 2 săptămâni de la ultima injecție a preparatului.

10 Preparatele cu efect terapeutic în dozele menționate s-au administrat în perioada de restabilire (5 ori în săptămână), pentru anihilarea repercusiunilor cardiotoxice ale F, NE și Dx pe parcursul a 2 luni de zile. S-a format de asemenea un lot aparte, în care șobolani cu ICC n-au dispus de nici un tratament. Aceasta este important pentru elucidarea potențialului rezervelor naturale de restabilire a miocardului.

Evaluarea statusului funcțional al cordului s-a realizat până la tratament, în perioada incipientă a tratamentului (după 2 săptămâni) și în etapa tardivă a tratamentului (după 2 luni de zile).

15 Examenul funcțional a inclus perfuzia cordului izolat după metoda propusă de Neely-Rovetto. Indicatorii funcționali ai ventriculului stâng (VS) s-au estimat cu recoderul MARK WR VII 3101 (Germania) și sistemul computerizat de evaluare a parametrilor în timp real Bio-Shell (Australia).

Semnificația rezultatelor obținute s-a calculat după criteriul t-Student.

Rezultatele obținute și analiza lor

20 Este de menționat că toate cele 3 modele experimentale explorate s-au impus printr-un grad similar de incompetență cardiacă, despre aceasta mărturisind caracterul devierilor indicatorilor funcționali de bază ai ventriculului stâng (tab. 2). Acest lucru merită a fi considerat important, întrucât permite de a evalua mai concludent potențialul terapeutic al preparatului asupra ICC, evolutivă pe un fundal morfopatologic distinct.

25

Tabelul 2

Valoarea indicatorilor funcționali ai VS în modelele de ICC

Indicatori	Martor n=9	ICC de F n=12	ICC de NE n=14	ICC de Dx n=10
JA (ml/min)	26,8±1,7	17,3±0,9*	16,2±0,9*	15,8±0,9*
FC (ml/min)	15,3±1,1	9,6±0,6*	11,2±0,8*	10,6±0,8*
DC (ml/min)	42,1±2,4	26,9±1,5*	27,4±1,6*	26,4±1,5*
FCC (min ⁻¹)	284±14	210±10*	230±12*	226±13*
Indicele Opie (mm Hg x min ⁻³)	25,7±1,6	15,7±0,9*	17,4±1,1*	16,7±1,1*
Indice Veragut (s ⁻¹)	108,0±7,0	81,0±6,5*	80,0±6,0*	78,0±6,0*
PTD (mm Hg)	5,7±0,25	12,6±0,8*	14,6±0,9*	15,1±1,1*
SD (mm Hg/ml)	38,6±3,1	78,8±5,4*	82,4±6,2*	93,7±6,6*
V. max C (mm Hg/s)	8880±550	6260±350*	6500±360*	6400±360*
V. max R (mm Hg/s)	7400±400	5400±300*	5750±270*	5680±280*
LIE (mm Hg x ml/min)	3831±270	2008±135*	2082±140*	1960±130*
PS VS (mm Hg)	152,0±8,0	104,0±6,0*	108,0±6,0*	103,0 ±6,0*

Notă: * - semnificativ, comparativ cu lotul martor

30 JA - jetul aortal; FC - fluxul coronarian; DC - debitul cardiac; FCC - frecvența contracțiilor cardiace; PTD - presiunea telediastolică; SD - stîfnesul diastolic; PSVS - presiunea sistolică a VS, Vmax, C și R - respectiv viteza maximă de contracție și relaxare a miocardului, LIE - lucrul inimii exterior.

Analiza tabelului relevă următoarele particularități funcționale ale cordului afectat, care pun în evidență insuficiența cardiacă marcată.

MD 1854 F1 2002.02.28

6

* Reducerea funcției-pompă a VS, ce se manifestă prin diminuarea semnificativă a valorii jetului aortal, fluxului coronarian și debitului cardiac în mediu cu 35...40%. Pentru leziunea fluorică este caracteristică o reducere mai esențială a FC, iar pentru afecțiunea Dx - a debitului cardiac.

5 * Tulburarea contractibilității miocardului este documentată prin micșorarea semnificativă a indicelui Veragut, Vmax de contracție și presiunii sistolice dezvoltate de ventriculul stâng. Micșorarea indicelui Veragut cu circa 25% atestă o tulburare considerabilă a capacității de contracție izometrică a miocardului. Acest fapt este de o semnificație majoră patologică, întrucât anume în faza izometrică se atinge nivelul de vârf al încordării intramiocardice, care determină abilitatea de evacuare a sângelui. Cu aceasta corelează și declinul valorii presiunii sistolice a VS. Diminuarea funcției-pompă, asociată de depresia contractibilității, conduce la o reducere notabilă a randamentului de lucru al cordului, având ca expresie, practic, dedublarea lucrului exterior al inimii.

10 * Un indice fidel al activității funcționale a cordului este indicele Opie, care integrează două funcții de bază ale inimii: contractibilitatea miocardului și capacitatea inimii de a susține ritmul adecvat. Micșorarea cu circa 40% a indicelui Opie se datorează nu numai compromiterii contractibilității miocardului, dar și diminuării cu circa 25% a frecvenței contracției cardiace. Bradicardia înalt corelează cu micșorarea Vmax de contracție și Vmax de relaxare a miocardului.

15 * Tulburarea severă a relaxării diastolice, documentată prin creșterea multiplă (2,2...2,6 ori) a presiunii telediastolice a VS și a stifnesului diastolic, practic la aceeași rată. Compleanța diastolică scăzută limitează umplerea VS în detrimentul realizării efective a mecanismului Starling.

20 Așadar, în ansamblu rezultatele obținute atestă o insuficiență cardiacă evidentă în cadrul tuturor modelelor experimentale.

Efectul terapeutic incipient al preparatelor administrate timp de 2 săptămâni în perioada de restabilire poate fi evaluat după modificările benefice ale indicilor funcționali, reflectate în tab. 3-10.

25 Analiza tabelelor 3, 4 și 5 arată cu certitudine, că efectul de restabilire a performanțelor funcției-pompă a fost cel mai concludent pentru spirulina, în toate modelele de ICC explorate.

Propranololul și izoptina în măsură egală au condus la creșterea valorilor jetului aortal, fluxului aortal și respectiv a debitului cardiac. După dinamicul valorii DC, parametrul de bază al funcției-pompă, efectul acestor preparate a fost mai slab decât cel realizat de captopril. După efectul de ameliorare a indicatorilor funcției-pompă, digoxina a ocupat o poziție intermediară.

30 Este de menționat că pentru toate preparatele explorate a fost caracteristic un efect terapeutic mai pronunțat în afecțiunea fluorică a cordului, fapt ce s-ar explica prin particularitățile morfopatologice ale miocardului cunoscute la acțiunea cardiotoxică a fluorului, și anume, prevalarea hipertrofiei asupra fibrozei și micronecrozelor. Hipertrofia, spre deosebire de fibroză, poate regresa, iar gradul de reversibilitate determină și calitatea restabilirii funcționale. În ICC indusă de fluoroză spirulina după două săptămâni de administrare a condiționat creșterea debitului cardiac cu 14,9%, în timp ce fără tratament incrementul acestui parametru a constituit dor 4,7%. În insuficiența cardiacă congestivă indusă de NE și Dx spirulina a determinat aceeași rată de creștere a valorii DC - 12,7%, pe cand efectul terapeutic al soluțiilor apropiate a fost îndeosebi de slab în cazul ICC induse de doxorubicină. Acest lucru ar fi datorat modificărilor morfopatologice cu un caracter inert, cum ar fi fibroza, distrofiile mușchiului cardiac, țesutul conjunctiv. Spirulina probabil a stimulat mai adecvat viabilitatea cardiomiocitelor intacte, mobilizând eficient rezervele adaptiv-compensatorii.

Tabelul 3

Modificările funcției-pompă pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea fluorică a cordului

Lot	Jet aortal, ml/min	Flux coronar, ml/min	Debit cardiac, ml/min
1. Martor	26,8±1,7	15,3±1,1	42,1±2,4
2. Până la tratament	17,3±0,9	9,6±0,6	26,9±1,5
3. Fără tratament	18,1±0,9* +4,6**	10,1±0,6* +5,2**	28,2±1,5* +4,7**
4. Propranolol	18,4±1,0* +6,3**	10,2±0,7* +5,9**	28,6±1,6 +6,3**
5. Izoptină	18,5±0,9* +6,9**	10,3±0,6* +7,3**	28,8±1,6* +7,0**
6. Digoxină	18,9±1,1* +9,2**	10,1±0,6* +5,2**	29,0±1,6* +7,6**
7. Captopril	18,4±1,1* +6,3**	11,2±0,7* +16,7**	30,2±1,8* +12,2**
8. Spirulina	19,4±1,1* +12,1**	11,5±0,6* +19,8**	30,9±1,8* +14,9**

45 Notă: * - semnificativ, comparativ cu lotul de până la tratament

** - devierile procentuale față de nivelul de până la tratament

Tabelul 4

Modificările funcției-pompă pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea norepinefrinică a cordului

MD 1854 F1 2002.02.28

7

Lot	Jet aortal, ml/min	Flux coronar, ml/min	Debit cardiac, ml/min
1. Martor	26,8±1,7	15,3±1,1	42,1±2,4
2. Până la tratament	16,2±0,9	11,2±0,8	27,4±1,6
3. Fără tratament	16,9±0,9* +4,2**	11,8±0,8* +5,5**	28,7±1,6* +4,7**
4. Propranolol	17,1±1,1* +5,8**	11,9±0,8* +6,3**	29,0±1,6* +5,8**
5. Izoptină	17,2±1,1* +6,4**	12,1±0,8* +8,4**	29,3±1,6* +7,1**
6. Digoxină	17,6±1,1* +8,8**	11,9±0,8* +6,3**	29,5±1,7* +7,7**
7. Captopril	17,3±1,2* +6,8**	12,5±0,8* +11,6**	29,8±1,7* +8,8**
8. Spirulină	18,1±1,1* +11,8**	12,7±0,8* +13,3**	30,8±1,9* +12,7**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

Tabelul 5

Modificările funcției-pompă a ventriculului stâng pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea doxorubicinică a cordului

Lot	Jet aortal, ml/min	Flux coronar, ml/min	Debit cardiac, ml/min
1. Martor	26,8±1,7	15,3±1,1	42,1±2,4
2. Până la tratament	15,8±0,9	10,6±0,8	26,4±1,5
3. Fără tratament	16,4±0,9* +4,0**	11,2±0,8* +5,6**	28,0±1,6* +6,1**
4. Propranolol	16,7±1,1* +5,7**	11,3±0,8* +6,7**	28,0±1,6* +6,1**
5. Izoptină	16,6±1,0* +5,3**	11,5±0,8* +8,3**	28,1±1,6* +6,4**
6. Digoxină	16,6±1,1* +5,3**	11,2±0,8* +6,1**	27,8±1,6* +5,5**
7. Captopril	17,0±1,2* +7,6**	11,4±0,8* +7,5**	28,4±1,8* +7,6**
8. Spirulină	17,5±1,0* +10,7**	11,7±0,8* +10,7**	29,23±1,6* +12,7**

5 Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

Merită atenție faptul că spirulina în măsură echilibrată a condiționat creșterea valorii jetului aortal și a fluxului coronarian. Acest fapt mărturisește despre capacitatea spirulinei de a ameliora atât abilitatea de ejecție a ventriculului stâng, cât și abilitatea de perfuzie a bazinului coronarian. Ultimul aspect este foarte important, dat fiind faptul că asigură o aprovizionare cu sânge adecvat raportată la necesitățile miocardului. Digoxina, spre exemplu, a condiționat o creștere net mai slabă a fluxului coronarian, comparativ cu a jetului aortal, fapt ce poate fi explicat concludent prin disproporția dintre efectul inotrop pozitiv și efectul vasorelaxant din bazinul coronarian.

10

Captoprilul, spre exemplu, a determinat o creștere net mai slabă a jetului aortal, comparativ cu a fluxului coronarian. Fenomenul dat are în bază efectul vasorelaxant bine documentat al blocantelor enzimei de conversie, care nu este asociat cu o ameliorare echilibrată a abilității de ejecție a ventriculului stâng, fapt ce vine să confirme beneficiul terapeutic retardiv al acestei grupe de preparate.

15

Propranololul și izoptina au realizat o creștere net mai inferioară a jetului aortal și a fluxului coronarian.

20

Ameliorarea funcției-pompă a ventriculului stâng, funcția integrală a cordului, a fost realizată în baza restabilirii capacității contractile a miocardului, precum și a relaxării diastolice.

Tabelele 6, 7 și 8 estimează particularitățile restabilirii celor mai semnificativi indicatori ai contractilității miocardului (indicele Veragut, indicele Opie și presiunea sistolică dezvoltată de VS) în funcție de tratamentul aplicat.

Tabelul 6

25 Modificările presiunii PSVS (mm Hg), indicelui Veragut (1/s) și indicelui Opie (mm Hg \cdot min⁻³) ai ventriculului stâng pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea fluorică a cordului

Lot	PSVS	Ind. Veragut	Ind. Opie
1. Martor	152,0±8,0	108,0±7,0	25,7±1,6
2. Până la tratament	104,0±6,0	81,0±6,5	15,7±0,9
3. Fără tratament	110,0±6,0* +5,8**	87,0±7,1* +7,4**	16,9±1,1* +7,6**
4. Propranolol	114,0±6,0* +9,6**	92,0±7,3 +13,5**	16,8±1,2* +7,0**
5. Izoptină	115,0±6,6* +10,6**	93,0±7,2 +14,9**	17,1±1,3* +8,9**
6. Digoxină	117,0±6,4* +12,5**	95,0±7,1 +17,3**	17,1±1,2* +8,9**
7. Captopril	113,0±6,2* +8,7**	92,0±7,4 +13,5**	17,2±1,5* +9,5**
8. Spirulină	122,0±7,3* +17**	99,0±7,9+22,2**	18,4±1,7* +17,2**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

Tabelul 7

MD 1854 F1 2002.02.28

8

Modificările PSVS (mm Hg), indicelui Veragut (1/s) și indicelui Opie (mm Hgmin⁻³) ai ventriculului stâng pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea norepinefrinică a cordului

Lot	PSVS	Ind. Veragut	Ind. Opie
1. Martor	152,0±8,0	108,0±7,0	25,7±1,6
2. Până la tratament	108,0±6,0	80,0±6,4	17,4±1,1
3. Fără tratament	113,0±6,0* +5,8**	86,0±6,9* +7,5**	18,5±1,4* +6,3**
4. Propranolol	118,0±6,0* +9,3**	90,0±7,2 +12,5**	19,1±1,5* +9,7**
5. Izoptină	115,0±6,4* +6,5**	88,0±6,8 +10**	18,9±1,6* +8,6**
6. Digoxină	117,0±6,9* +8,3**	92,0±7,7 +15**	18,9±1,4* +8,6**
7. Captopril	119,0±7,1* +10**	94,0±7,2 +17,5**	19,4±1,5* +11,5**
8. Spirulină	123,0±7,8* +13,9**	97,0±7,6 +21,2**	20,0±1,8* +15**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

Tabelul 8

5 Modificările PSVS (mm Hg), indicelui Veragut (1/s) și indicelui Opie (mm Hgmin⁻³) ai ventriculului stâng pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea doxorubicinică a cordului

Lot	PSVS	Ind. Veragut	Ind. Opie
1. Martor	152,0±8,0	108,0±7,0	25,7±1,6
2. Până la tratament	103,0±6,0	78,0±6,0	16,7±1,1
3. Fără tratament	107,0±6,0* +3,9**	83,0±6,7* +6,4**	17,7±1,2* +5,9**
4. Propranolol	112,0±7,0* +8,8**	87,0±7,2 +11,5**	18,7±1,4* +11,9**
5. Izoptină	111,0±7,4* +7,7**	86,0±6,7 +10,3**	18,6±1,3* +11,4**
6. Digoxină	114,0±7,9* +10,4**	90,0±7,1 +15,4**	18,4±1,2* +11,4**
7. Captopril	113,0±7,1* +9,7**	88,0±7,0 +12,8**	18,9±1,6* +13,2**
8. Spirulină	118,0±7,3* +14,8**	94,0±7,3 +20,5**	19,5±1,7* +16,8**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

Acești indici funcționali sunt de mare semnificație în estimarea performanțelor contractile ale miocardului.

10 Analiza tabelelor 6, 7 și 8 pune în evidență faptul că spirulina la un grad mai superior a condiționat ameliorarea capacității contractile a miocardului în toate tipurile ICC experimentale. Valorile PSVS, indicelui Veragut și indicelui Opie au crescut respectiv cu 17, 22,2 și 17,2% în afecțiunea FE; cu 13,9, 21,2 și 15% în afecțiunea NE; 14,8, 20,5 și 16,8% în afecțiunea Dx a cordului. Acest lucru corelează bine cu ameliorarea mai concludentă a indicatorilor funcției-pompă.

15 Din grupul preparatelor analoage merită atenție efectul digoxinei și al captoprilului. Digoxina a realizat o ameliorare mai concludentă comparativ cu celelalte soluții apropiate a presiunii sistolice a VS și a indicelui Veragut, efectul dat fiind mai slab cu 5...6% decât al spirulinei. Captoprilul, însă, a realizat o creștere mai considerabilă, comparativ cu celelalte soluții apropiate, a valorii indicelui Opie, efectul dat fiind mai slab cu 3...7% decât al spirulinei.

20 Indicele Opie este un parametru integral al contractilității miocardului, întrucât permite de a evalua și capacitatea cordului de a realiza o frecvență adecvată de contracții (valoarea lui este calculată ca produsul dintre presiunea aortală medie și FCC). Captoprilul, astfel, a condiționat o creștere mai concludentă a frecvenței contracțiilor cardiace decât celelalte soluții apropiate, efectul respectiv fiind net mai slab, comparativ cu cel al spirulinei (tab. 9). De aceea, chiar la o creștere a PSVS mai joasă ca cea realizată de
25 digoxină, captoprilul a condiționat o creștere mai concludentă a valorii indicelui Opie.

MD 1854 F1 2002.02.28

9

Tabelul 9

Dinamicul frecvenței contracțiilor cardiace (1/min) pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunile fluorică, norepinefrinică și doxorubicinică a cordului

Lot	FCC martor	FCC afecțiune F	FCC afecțiune NE	FCC afecțiune Dx
	284±10			
1. Până la tratament		210±10	230±12	226±13
2. Fără tratament		220±10* +4,8**	238±12* +3,5**	234±13* +3,5**
3. Propranolol		215±10* +2,4**	241±13* +5,1**	242±12* +7,1**
4. Izoptină		218±10* +3,8**	242±12* +5,2**	242±12* +7,1**
5. Digoxină		216±10* +3,0**	240±12* +5,2**	236±13* +4,4**
6. Captopril		225±12* +7,1**	254±12* +6,5**	244±11* +7,9**
7. Spirulină		229±11* +8,7**	248±13* +7,6**	247±12* +9,3**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

5 Propranololul și izoptina au condiționat o creștere practic de două ori mai joasă a valorilor PSVS, indicelui Veragut și indicelui Opie, comparativ cu efectul spirulinei.

10 În acest context este important de menționat că spirulina a realizat o creștere maximă a contractilității izometrice a miocardului, evaluată prin indicele Veragut. Abilitatea contracției izometrice a miocardului este de mare considerație fiziologică pentru funcția de bază a cordului, funcția-pompă, întrucât anume în cadrul acestei faze a revoluției cardiace se dezvoltă presiunea intramiocardică, necesară pentru evacuarea sângelui în faza de ejeție.

15 Restabilirea performanțelor contractile ale cordului afectat este dependentă nu numai de calitatea formării punților acto-miozinice în sistolă, dar este indispensabil legată și de calitatea dezbinării acestor legături în diastolă. Ultimul fenomen, estimat ca compleanță diastolică, determină gradul de umplere a cavității ventriculului stâng în diastolă, deci abilitatea includerii mecanismului Starling, care este cel mai efektiv și economic din punct de vedere energetic, mecanism de adaptare a cordului în diferite tipuri de suprasolicități.

20 Se consideră dovedit faptul, în baza investigațiilor clinico-experimentale, că afectarea diastolei reprezintă cea mai prematură expresie a incompetenței cardiace, indiferent de geneza ei. Mai mult ca atât, este vehiculată ipoteza că ameliorarea performanțelor relaxării diastolice ar fi și cea mai prematură expresie a restabilirii funcționale a cordului afectat. Acest lucru a fost demonstrat și de noi în cadrul investigațiilor experimentale, realizate pe parcursul ultimilor 10 ani în Laboratorul de Cardiomiopatii și Miocardite al Institutului de Cardiologie. Astfel, este de mare valoare estimarea gradului de restabilire a relaxării diastolice în cadrul metodei propuse de noi, de ameliorare a performanțelor cordului în insuficiența cardiacă congestivă.

25 Indicatorii funcționali fideli ai calității diastolei sunt: presiunea telediastolică a ventriculului stâng, stîfnesul diastolic și viteza max. de relaxare. Dinamicul acestor parametri în cadrul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni poate fi estimat din tabelele 10, 11 și 12.

Tabelul 10

30 Modificările presiunii telediastolice (mm Hg), stîfnesului diastolic (mm Hg/ml) și Vit. max. relaxare pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămâni în afecțiunea fluorică a cordului

Lot	PTD	SD	Vit. max. R
1. Martor	5,7±0,25	38,6±3,1	7400±400
2. Până la tratament	12,6±0,8	78,8±5,40	5400±300
3. Fără tratament	10,4±0,7* -17,5**	65,2±3,4* -17**	5680±310* +5**
4. Propranolol	9,8±0,6* -22**	60,8±3,3* -23**	5800±320* +7**
5. Izoptină	9,8±0,6* -22**	60,1±3,3* -24**	5900±330* +9**
6. Digoxină	10,1±0,5* -20**	62,4±3,9* -21**	5750±320* +6**
7. Captopril	9,5±0,51* -25**	57,0±3,1* -28**	5930±340* +10**
8. Spirulină	8,7±0,4* -31**	51,6±2,8* -35**	6100±350* +13**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

MD 1854 F1 2002.02.28

10

Tabelul 11

Modificările presiunii telediastolice (mm Hg), stîfnesului diastolic (mm Hg/ml) și Vit. max. relaxare pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămîni în afecțiunea norepinefrinică a cordului

Lot	PTD, %	SD, %	Vit. max. R, %
1. Martor	5,70±0,25	38,6±3,1	7400±400
2. Până la tratament	14,5±0,8	82,4±6,2	5750±270
3. Fără tratament	12,5±0,8* -14**	69,1±4,1* -16**	5990±300* +4**
4. Propranolol	10,6±0,7* -27**	60,2±3,8* -27**	6080±340* +6**
5. Izoptină	10,8±0,7* -26**	60,4±3,9* -27**	6100±310* +6**
6. Digoxină	12,0±0,8* -17**	61,5±3,3* -25**	6050±350* +5**
7. Captopril	10,4±0,5* -28**	59,0±3,4* -28**	6300±340* +9,6**
8. Spirulină	9,3±0,5* -36**	56,8±3,5* -31**	6450±340* +12**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

5

Tabelul 12

Modificările presiunii telediastolice (mm Hg), stîfnesului diastolic (mm Hg/ml) și Vit. max. relaxare pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 săptămîni în afecțiunea doxorubicinică a cordului

Lot	PTD	SD	Vit. max. R
1. Martor	5,7±0,25	38,6±3,1	7400±400
2. Până la tratament	15,1±1,1	93,7±6,6	5680±280
3. Fără tratament	13,8*±0,9* -10**	81,6±6,4* -13**	5870±350* +3**
4. Propranolol	12,7±0,8* -16**	75,3±5,2* -20**	5980±330* +5**
5. Izoptină	12,9±0,9* -15**	75,5±5,4* -20**	5960±310* +5**
6. Digoxină	13,0±0,8* -14**	77,7±5,7* -17**	5960±320* +5**
7. Captopril	12,1±0,7* -20**	70,0±4,9* -25**	6175±335* +9**
8. Spirulină	11,2±0,7* -26**	64,9±4,7* -31**	6350±340* +12**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

10 Datele obținute au arătat că tratamentul cu spirulină s-a asociat cu cel mai înalt grad de ameliorare a relaxării diastolice în toate tipurile de insuficiență cardiacă congestivă. Valorile PTD și SD s-au micșorat în mediu cu 1/3, iar viteza max de relaxare a crescut cu circa 12...13%.

Mai aproape de spirulină s-a dovedit a fi efectul captoprilului, în timp ce digoxina a realizat o acțiune de ameliorare a diastolei mai slabă decât propranololul și izoptina.

15 Așadar, s-au conturat cert unele particularități distincte ale acțiunii preparatelor timp de 2 săptămîni asupra insuficienței cardiace congestive, indusă prin administrarea îndelungată în doze cardiotoxice a fluorului, norepinefrinei și doxorubicinei.

1. Spirulina a condiționat cel mai înalt grad de ameliorare a funcției-pompă, a contractibilității și a relaxării diastolice a cordului, comparativ cu soluțiile apropiate explorate.

20 2. Captoprilul a realizat un efect de ameliorare a funcției-pompă mai slab, comparativ cu spirulina, dar mai puternic ca digoxina, izoptina și propranololul. Acest reviriment a fost datorat mai cu seamă acțiunii de ameliorare a diastolei decât a contractibilității miocardului.

3. Digoxina a condiționat o creștere mai slabă a funcției-pompă, comparativ cu spirulina și captoprilul, fapt ce s-a datorat efectului de stimulare a capacității contractile a miocardului, care nu a fost acompaniat de o ameliorare concludentă a diastolei.

25 După cum se vede, spirulina, prin efectul echilibrat de îmbunătățire a contractibilității și relaxării diastolice, a determinat cea mai optimă ameliorare a performanțelor cordului în insuficiența cardiacă congestivă, în cadrul administrării ei de scurtă durată (două săptămîni) în doza zilnică de 0,3 mg/kg.

30 Totodată trebuie de menționat că în unele cazuri efectul preparatului farmacologic este retardiv, deci apare după un timp îndelungat de administrare. Sau, dimpotrivă, beneficiul terapeutic estimat în faza inițială de administrare, retardiv, este atenuat și de regulă se recurge la substituția lui cu alt remediu.

Pentru a caracteriza mai concludent efectul spirulinei de ameliorare a performanțelor cordului în insuficiență cardiacă congestivă s-a evaluat și acțiunea retardivă a preparatului (administrare timp de 2 luni de zile).

35 Analiza tabelelor 13, 14 și 15 permite de a aprecia dinamicul celor mai semnificativi indici ai funcției-pompă (debitul cardiac), contractibilității miocardului (indicele Veragut) și relaxării diastolice (stîfnesul diastolic) pe fundalul administrării preparatelor timp de 2 luni de zile.

S-a constatat că în cadrul administrării de lungă durată spirulina a realizat cel mai concludent efect de ameliorare a statusului funcțional al cordului afectat. Incrementul debitului cardiac a constituit în mediu 33...40%. Important este că în afecțiunea fluorică și afecțiunea norepinefrinică a miocardului DC pe

MD 1854 F1 2002.02.28

11

5 fundal de aplicare timp de 2 săptămâni a spirulinei a atins valori ne semnificative vis-a-vis de nivelul martor. În afecțiunea doxorubicinică DC a rămas semnificativ mai jos decât valoarea martor, fapt ce s-ar explica prin prezența unor modificări structurale ale miocardului cu caracter ireductibil, inert, cum ar fi scleroza, fibroza, atrofie, distrofie, decelate în cadrul diferitelor explorări clinico-experimentale (Unverferth D.V., Baker P. B. Doxorubicin cardiotoxicity. // Cancer Great Rev., 1982, 92, p. 149-164; Mortensen S.A, Olsen H.S, Baandrup U. Chronic anthracycline cardiotoxicity: hemodinamic and histopatological manifestations suggesting a restrictiv endomiocardial disease. // Br. Heart J., 1986, 55, p. 274-282; Singal P. K., Deally C.M.R., Weinberg L.E. Subcellular effects of doxorubicin in the heart: a concise review. // J. Mol. Cell. Cardiol., 1987, 19, p. 817-826).

10

Tabelul 13

Modificările debitului cardiac (ml/min), indicelui Veragut (1/s) și a stifnesului diastolic (mm Hg/ml) pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 luni de zile în afecțiunea fluorică a cordului

Lot	DC	Ind. Veragut	SD
1. Martor	42,1±2,4	108,0±7,0	38,6±3,1
2. Până la tratament	26,9±1,5	81,0±6,5	78,8±5,4
3. Fără tratament	31,6±1,6* +17,4**	90,0±7,7* +11,1**	56,7±3,1* -28**
4. Propranolol	33,9±1,7* +26**	95,0±7,7 +17,3**	49,7±2,8* -37**
5. Izoptină	34,3±1,7* +27,5**	97,0±7,8 +19,8**	49,2±2,7* -38**
6. Digoxină	32,8±2,0* +22**	96,0±7,9 +18,5**	52,8±2,9* -33**
7. Captopril	34,9±2,1* +30**	99,0±7,7 +22,2**	46,8±2,6* -41**
8. Spirulină	37,1±2,0 +40**	104,0±8,0 +28,4**	42,1±2,4 -46**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

15

Tabelul 14

Modificările debitului cardiac (ml/min), indicelui Veragut (1/s) și a stifnesului diastolic (mm Hg/ml) pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 luni de zile în afecțiunea norepinefrinică a cordului

Lot	DC	Ind. Veragut	SD
1. Martor	42,1±2,4	108,0±7,0	38,6±3,1
2. Până la tratament	27,4±1,6	80,0±6	82,4±6,2
3. Fără tratament	30,7±2,0* +12,0**	89,0±6,9* +11,3**	62,7±3,6* -24**
4. Propranolol	33,2±1,8* +21,2**	94,0±7,5 +17,5**	52,1±3,5* -37**
5. Izoptină	33,1±2,0* +20,8**	93,0±7,6 +16,3**	52,6±3,6* -36**
6. Digoxină	33,3±2,2* +21,5**	94,0±7,9 +17,5**	54,2±3,7* -34**
7. Captopril	34,9±2,0* +27,4**	98,0±7,8 +22,5**	49,9±2,9* -39**
8. Spirulină	36,6±2,2 +33,6**	103,0±8,1 +28,8**	44,2±2,5 -46**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

20

Tabelul 15

Modificările debitului cardiac (ml/min), indicelui Veragut (1/s) și a stifnesului diastolic (mm Hg/ml) pe fundalul tratamentului aplicat timp de 2 luni de zile în afecțiunea doxorubicinică a cordului

Lot	DC	Ind. Veragut	SD
1. Martor	42,1±2,4	108,0±7,0	38,6±3,1
2. Până la tratament	26,4±1,6	78,0±6	93,7±6,6
3. Fără tratament	29,4±1,7* +11,4**	86,0±7,3* +10,3**	74,2±5,5* -21**
4. Propranolol	31,3±2,1* +18,6**	90,0±7,7 +15,4**	67,2±4,2* -28**
5. Izoptină	31,5±2,0* +20,1**	90,0±7,8 +15,4**	66,7±4,0* -29**
6. Digoxină	30,9±2,2* +17**	92,0±8,1 +17,9**	68,3±4,6* -27**
7. Captopril	32,7±2,1* +23,9**	96,0±7,8 +23**	57,9±4,4* -38**
8. Spirulină	34,9±2,2* +32,2**	101,0±8,0 +29,5**	52,6±3,9* -44**

Notă: aceeași ca și pentru tabelul 3

25

Pentru afecțiunea Dx este caracteristic cel mai jos grad de restabilire naturală (fără aplicarea tratamentului) a performanțelor funcționale ale cordului. Deci, particularitățile tabloului morfopatologic al cordului afectat sunt de mare considerație în aspect de prognoză a calității restabilirii funcționale a cordului afectat.

Datele obținute în cadrul tratamentului de lungă durată încă o dată au confirmat faptul că revirimentul funcției-pompă este indispensabil de ameliorarea relaxării diastolice. Creșterea debitului cardiac până la valori ne semnificative comparativ cu indicele de referință în ICC indusă de fluor și norepinefrină s-a asociat cu micșorarea stifnesului diastolic până la valori cu deviere neveritabilă față de nivelul martor

MD 1854 F1 2002.02.28

12

(SD s-a diminuat cu circa 45%). Efectul celorlalte soluții apropiate nu s-a manifestat printr-un așa grad de redresare a acestor indici funcționali (DC și SD au rămas semnificativ deviați, comparativ cu nivelul mator). În acest context, este de menționat că mai aproape de efectul retardiv al spirulinei s-a dovedit a fi efectul captoprilului. Dacă în cadrul tratamentului de scurtă durată efectul captoprilului de ameliorare a statusului funcțional al cordului afectat concure evident cu efectul digoxinei, iar în cazul restabilirii unor indici funcționali (jetul aortal, presiunea sistolică, indicele Veragut) chiar ceda, atunci în cadrul tratamentului de lungă durată efectul captoprilului a fost net mai superior.

5

Acest fapt vine să confirme sugestiile existente despre particularitățile efectului terapeutic al acestor două preparate: captoprilul realizează o remodelare notabilă funcțională și morfologică a miocardului la o aplicare de lungă durată, în timp ce digoxina este utilă ca remediu de ameliorare a performanțelor funcționale ale cordului în cadrul unei digitalizări de scurtă durată (retardiv începe să se manifeste sindromul de intoxicație glicozidică).

10

Efectul propranololului și al izoptinei s-a dovedit a fi mai slab, atât în tratamentul de scurtă durată, cât și retardiv.

15

Așadar, în ansamblu, datele prezentate demonstrează cu certitudine că spirulina asigură un efect de ameliorare a funcției-pompă, capacității contractile și relaxării diastolice net mai superior, comparativ cu efectul preparatelor aplicate astăzi în tratamentul insuficienței cardiace congestive: propranololul, izoptina, digoxina și captoprilul.

20

Se poate rezuma că acest beneficiu ar fi datorat proprietăților spirulinei de a optimiza mobilizarea rezervelor adaptiv-compensatorii ale cardiomiocitelor intacte pe un fundal de restabilire adecvată a potențialului energetic al miocardului, luând în considerație efectul de ameliorare a relaxării diastolice, indispensabil de abilitatea energoaprovizionării. Totodată este de subliniat efectul spirulinei de optimizare a remodelării morfo-funcționale a cardiomiocitelor afectate reversibil, luând în considerație revirimentul progresiv în cadrul aplicării retardive a preparatului (pe parcursul a 2 luni de zile).

25

30 (57) Revendicare:

Metodă de tratament în insuficiența cardiacă congestivă care include administrarea remedului în cantitate eficientă, **caracterizată prin aceea că** în calitate de remediu se folosește extract de spirulină în doză de 0,3 mg/kg zilnic *per os*.

35

(56) Referințe bibliografice:

1. Чазов Е. И. Болезни органов кровообращения. Москва, Медицина, 1997, с. 831
2. Ralph A. Kelly, Thomas W. Smith. Drugs Used in the Treatment of Heart Failure. Eugene Braunwald, A Textbook of Cardiovascular Medicine, Philadelphia, 5-th Edition, 1997, p. 394
3. Lionel H. Opie. Drugs For The Heart. 4-th Edition, 1995, p 400
4. Gabriel M. Khan. Cardiac Drug Therapy, London, 4-th edition, 1996, p. 443

Șef Secție:

EGOROVA Tamara

Examinator:

IUSTIN Viorel

Redactor:

CANȚER Svetlana