

Universitatea de Medicină și Farmacie

„Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

IMPLICAREA STRESULUI OXIDATIV ÎN PATOLOGIA ULCEROASĂ GASTRO-DUODENALĂ

Rezumatul tezei de doctorat

Doctorand

Simona Nicoleta Martura

Conducător științific

Prof. dr. Petru Adrian Mircea

2010

CUPRINS

CUVÂNT INTRODUCATIV	5
INDEX DE ABREVIERI	6
PARTEA GENERALĂ	8
Capitolul 1. Stresul oxidativ – noțiuni generale	9
1.1. Oxigenul - considerații generale.....	9
1.2. Stresul oxidativ – definiție.....	9
1.3. Consecințele stresului oxidativ.....	10
1.3.1. Consecințe fiziologice.....	10
1.3.2. Consecințe patologice.....	11
1.4. Radicalii liberi.....	16
1.4.1. Introducere.....	16
1.4.2. Definiție, generalități.....	16
1.4.3. Surse de radicali liberi.....	18
1.4.3.1. Sursele exogene.....	18
1.4.3.2. Surse endogene.....	18
1.5. Apărarea antioxidantă.....	20
1.5.1. Introducere.....	20
1.5.2. Definiție, clasificare, mecanism de acțiune.....	21
1.5.3. Surse de antioxidanți.....	25
Capitolul 2. Reglarea secreției acide gastrice	27
Capitolul 3. Apărarea mucoasei gastrice	29
3.1. Factorii de apărare ai mucoasei gastroduodenale.....	29
3.1.1. Secreția de mucus și bicarbonat.....	30
3.1.2. Secreția de prostaglandine.....	31
3.1.3. Microcirculația mucoasei.....	32
3.1.4. Capacitatea de regenerare a epiteliului mucoasei gastrice.....	33
3.2. Apărarea antioxidantă a mucoasei gastroduodenale.....	33
Capitolul 4. Agresiunea asupra mucoasei gastro-duodenale	39
4.1. Factorii de agresiune cunoscuți ai mucoasei gastro-duodenale.....	39
4.1.1. Helicobacter pylori.....	39
4.1.2. Fumatul și alcoolul.....	43
4.1.3. Antiinflamatoarele nonsteroidiene.....	44
4.2. Implicarea agresiunii prin radicali liberi în patologia ulceroasă gastroduodenală.....	45
CONTRIBUȚII PERSONALE	49
Capitolul 1. Introducere	50
Capitolul 2. Obiectivele generale ale cercetării	51
Capitolul 3. Metodologia generală de cercetare	52
3.1. Explorarea balanței oxidanți/antioxidanți din sânge și țesutul gastric.....	52
3.1.1. Indicatorii pentru stresul oxidativ.....	53
3.1.2. Indicatorii pentru apărarea antioxidantă.....	53
3.2. Explorarea anatomopatologică a stomacului.....	54
3.2.1. Studiul macroscopic.....	54
3.2.2. Studiul microscopic.....	54
3.3. Aprobarea etică.....	55
3.4. Prelucrarea statistică a rezultatelor.....	55
Capitolul 4. Evoluția parametrilor stresului oxidativ în urma expunerii digestive cronice la aspirină - studiu experimental la șobolani	56

4.1. Introducere.....	56
4.2. Obiectivele cercetării	58
4.3. Material și metodă.....	58
4.4. Rezultate	61
4.5. Discuții.....	68
4.6. Concluzii	71
Capitolul 5. Evoluția sub tratament a parametrilor stresului oxidativ la pacienții cu ulcer duodenal cu infecție cu H. pylori - studiu clinic.....	72
5.1. Introducere.....	72
5.2. Obiectivele cercetării	74
5.3. Material și metodă	74
5.4. Rezultate	77
5.5. Discuții	85
5.6. Concluzii	88
Capitolul 6. Evoluția sub tratament a parametrilor stresului oxidativ la pacienții cu gastrită cronică cu și fără infecție cu H. pylori - studiu clinic.....	89
6.1. Introducere.....	89
6.2. Obiectivele cercetării	90
6.3. Material și metodă	91
6.4. Rezultate	94
6.5. Discuții	106
6.6. Concluzii.....	109
Capitolul 7. Studiu comparativ al balanței oxidanți/antioxidanți între pacienții cu gastrită cronică cu și fără infecție cu H. pylori, respectiv între pacienții cu gastrită cronică și ulcer duodenal cu infecție cu H. pylori.....	110
7.1. Introducere.....	110
7.2. Obiectivele cercetării.....	111
7.3. Material și metodă.....	111
7.4. Rezultate.....	113
7.5. Discuții	115
7.6. Concluzii.....	117
Capitolul 8. Concluzii generale.....	118
Capitolul 9. Contribuții personale și priorități ale cercetării din teza de doctorat.....	120
Bibliografie.....	122

Cuvinte cheie: Stres oxidativ, antioxidanti, ulcer duodenal, gastrita cronica, aspirina, ulcer gastric experimental.

❖ **Introducere**

Există o evidență îngrijorătoare privind participarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO) în etiopatogenia unor afecțiuni gastrointestinale care evoluează cu inflamație și ulcerul peptic; în plus există dovezi puternice care sprijină rolul radicalilor liberi (RL) în patogeneza injuriilor mucoasei gastrice cauzate de *Helicobacter pylori* și alți factori de agresiune [1-4]. Rolul SRO în aceste boli, precum și efectele protectoare ale produselor cu potențial antioxidant asupra țesuturilor afectate reprezintă lucruri de interes actual. Rezultatele cercetărilor raportate în ultimii ani sugerează că RL sunt co-responsabili pentru leziunile mucoasei tractului digestiv și pentru inițierea procesului inflamator [5,6].

Patogeneza exactă a leziunilor mucoasei gastrice induse de RL nu este complet elucidată. Se crede că RL inițiază cascada peroxidării membranelor, ceea ce conduce la distrugerii ale mucoasei și

întreruperea integrității membranelor biologice. De asemenea, s-a sugerat că RL sunt implicați în procesele de distrucție a numeroase molecule biologice și proteine, dereglează ADN-ul și promovează procesul de carcinogeneză [7-9].

Antioxidanții, prin reducerea frecvenței reacțiilor de formare ale RL și blocarea propagării celor deja formați, pot fi utili în protejarea mucoasei gastrice față de leziunile oxidative, respectiv prin accelerarea vindecării ulcerelor gastrice [10, 11].

Cercetările anterioare asupra implicațiilor stresului oxidativ (SO) în patologia ulceroasă gastroduodenală indusă de diferiți factori au prezentat o serie de rezultate, multe dintre acestea având un caracter contradictoriu.

În acest context, este firesc interesul în creștere pentru cercetarea efectelor și mecanismelor SO, respectiv pentru identificarea unor modalități de contracarare sau diminuare a acestor efecte negative. De asemenea aceste observații au constituit o adevărată provocare pentru cercetare, motivând studiile pe care le-am desfășurat, atât în domeniul clinic, cât și în cel experimental.

Teza de doctorat este alcătuită din două părți: partea generală și partea de contribuții personale. În prima parte am realizat o sinteză a datelor din literatură, cu mențiunea ca acestea sunt în număr redus, majoritatea utilizând modele experimentale animale, iar la nivel mondial se constată o acumulare de cunoștințe într-o dinamică permanentă. În partea de contribuții personale, structurată în patru studii, am urmărit să demonstrăm implicarea stresului oxidativ în patologia ulceroasă cronică gastroduodenală și să nuanțăm terapia adresată acestor afecțiuni prin asocierea unei terapii antioxidante.

❖ **Obiective generale**

1. Realizarea unui **model experimental** de ulcere gastrice cronice prin expunere digestivă cronică la aspirină, pe care să se poată studia modificările balanței oxidanti-antioxidanti în ser și țesutul gastric.
2. Aprecierea efectelor administrării terapiei antisecretorii gastrice, respectiv a unui preparat cu potențial antioxidant, asupra balanței oxidanți/antioxidanți din ser și țesutul gastric în expunerea experimentală digestivă cronică la aspirină.
3. Studiul efectului terapiei antiulceroase, respectiv în asociere cu un preparat antioxidant, asupra dinamicii parametrilor de stres oxidativ din ser și țesut gastric la **pacienții cu ulcer duodenal și infecție cu Helicobacter pylori**.
4. Studiul efectului terapiei antiulceroase, respectiv în asociere cu un preparat antioxidant, asupra dinamicii parametrilor de stres oxidativ din ser și țesut gastric la **pacienții cu gastrită cronică cu sau fără infecție cu Helicobacter pylori**.
5. Aprecierea diferențelor indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric între pacienții cu **gastrite fără infecție și cei cu infecție cu Helicobacter pylori**;
6. Aprecierea diferențelor indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric între pacienții cu **gastrite și cei cu ulcer duodenal** cu infecție cu Helicobacter pylori.

❖ **Parametri urmăriți**

Din serul și țesutul gastric ale animalelor de experiență, respectiv ale pacienților din studiu, s-au dozat: (1) parametrii stresului oxidativ: malondialdehida totală (MDA) și proteinele carbonilate (PC); (2) parametrii apărării antioxidante: capacitatea de donator de hidrogen (DH) și grupările sulfhidril (SH). De asemenea am apreciat aspectul macroscopic și histologic al mucoasei gastroduodenale, precum și simptomatologia clinică generală.

❖ **Prelucrarea statistică**

Prelucrarea statistică a rezultatelor obținute a inclus stabilirea tipului de distribuție a rezultatelor: simetria și aplatizarea distribuției, normalitatea distribuției (testele Kolmogorov-Smirnov și Shapiro-Wilk), calculul indicatorilor statistici descriptivi (medie, deviație standard, mediană) și stabilirea semnificației diferențelor dintre loturile comparate; testele inferențiale folosite pentru

aprecierea semnificației diferențelor dintre loturi au fost alese pe baza distribuției rezultatelor. Au fost utilizate programele SPSS 13.0 și Medcalc 11.0.

Evoluția parametrilor stresului oxidativ în urma expunerii digestive cronice la aspirină - studiu experimental la șobolani

❖ Obiectivul studiului

Obiectivul studiului a fost realizarea unui model experimental de ulcere gastrice prin expunere digestivă cronică la aspirină, pe care să se poată studia modificările balanței oxidanti-antioxidanti. De asemenea am dorit să observăm dacă administrarea terapiei antisecretorii gastrice, respectiv antioxidante (vit. A, C, E și seleniu) determină o înclinare a acestei balanțe în favoarea antioxidantilor.

❖ Material și metodă

Condiții- Studiul s-a desfășurat în Centrul de cercetare al Catedrei de Fiziologie al Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca. S-au utilizat 40 șobolani albi rasa Wistar, de sex masculin, cu vârsta de cca 10 săptămâni, cu o greutate cuprinsă între 175-205 g. Animalele au fost menținute în biobaza Catedrei de Fiziologie a Universității de Medicină, în condiții standard de laborator, la o temperatură de 23+/-2 °C, cu o durată de 12 ore expunere la lumină și 12 ore întuneric, cu apă și hrană ad libitum. Animalele au fost lăsate să se aclimatizeze 1 săptămână înainte de începerea experimentului.

Loturi- Animalele de experiență au fost împărțite în 4 loturi egale, astfel:

- **lotul I**, martor - a primit prin gavaj zilnic apă distilată timp de 7 zile;
- **lotul II** - a primit prin gavaj zilnic aspirină suspendată în carboximetil celuloză, în doză de 200 mg/Kg corp, timp de 7 zile;
- **lotul III**- a primit prin gavaj zilnic aspirină suspendată în carboximetil celuloză, în doză de 200 mg/Kg corp, asociat cu inhibitori de pompă de protoni (pantoprazol în doză de 60 micromoli/Kg corp) în cele 7 zile;
- **lotul IV**- a primit prin gavaj zilnic aspirină suspendată în carboximetil celuloză, în doză de 200 mg/Kg corp, asociat cu inhibitori de pompă de protoni (pantoprazol în doză de 60 micromoli/Kg corp) și un preparat cu potențial antioxidant; cel din urmă prezenta o compoziție mixtă ce asigura o doză zilnică de seleniu 0.25 mg/Kg corp, provitamina A 50 mg/Kg corp, vitamina C 250 mg/Kg corp și vitamina E 40 mg/ Kg corp

După ultima doză primită prin gavaj, animalelor nu li s-a mai administrat hrană timp de 24 de ore, înainte de sacrificare [12-16].

Pe tot parcursul experimentului, animalele luate în studiu au fost monitorizate zilnic din punct de vedere al stării fizice generale și comportamentului; de asemenea, au fost marcate în vederea cântăririi individuale, atât la inițierea, cât și la finalizarea experimentului.

Recoltarea probelor biologice

Recoltarea probelor de sânge s-a realizat de la nivelul sinusului venos orbital (aproximativ 1 ml/animal de experiență). Apoi animalele au fost eutanasiate prin dislocare cervicală și s-a efectuat necropsia în vederea punerii în evidență a stomacului și aprecierea aspectului mucoasei gastrice. După încheierea procesului de evaluare macroscopică, porțiunile gastrice periulceroase și cele de aspect normal (în cazurile lipsite de imagini patologice) au fost excizate și ulterior utilizate în scopul examinării histopatologice, respectiv pentru determinarea markerilor tisulari de stres oxidativ.

Examinarea macroscopică a leziunilor gastrice- Leziunile au fost cuantificate astfel [17, 18]: scor 0- fără ulcerații sau până la 3 ulcerații punctiforme; scor 1- mai mult de 3 ulcerații punctiforme; scor 2- între 1 și 5 ulcere de dimensiuni mici (<2 mm); scor 3- mai mult de 5 ulcere mici cu diametre mai mici de 2 mm; scor 4- unul sau mai multe ulcere gigante, cu diametrul de peste 2 mm.

❖ Rezultate

1. Administrarea de aspirină a determinat *în ser* o scădere semnificativă ($p=0.002$) a capacității DH; la nivelul *țesutului gastric* a produs o scădere semnificativă a valorilor MDA ($p=0.010$), respectiv a grupărilor SH ($p=0.001$).
2. Administrarea preventivă de IPP a determinat *în ser* o creștere semnificativă a capacității DH ($p=0.009$), iar la nivelul *țesutului gastric* a produs o scădere semnificativă a MDA ($p=0.04$) față de lotul la care s-a administrat aspirină.
3. Administrarea preventivă de IPP a determinat *în țesutul gastric* o scădere semnificativă ($p=0.001$) a valorilor MDA, dar și a markerilor antioxidanți ($p=0.001$) față de lotul martor.
4. Suplimentarea cu antioxidanți a terapiei antisecretorii gastrice a determinat *la nivel seric* o scădere semnificativă a valorilor MDA față de lotul care a primit numai aspirină ($p=0.03$), respectiv față de martori ($p=0.02$); de asemenea a indus o scădere semnificativă ($p=0.04$) a valorilor grupărilor SH față de lotul tratat cu IPP;
5. Suplimentarea cu antioxidanți a terapiei antisecretorii gastrice a determinat *în țesutul gastric* o scădere a indicatorilor antioxidanți față de lotul martor ($p=0.001$ pentru SH), respectiv față de lotul la care s-a administrat doar aspirină ($p=0.004$ pentru DH, $p=0.04$ pentru SH); în schimb a determinat o creștere semnificativă ($p=0.001$) a DH față de lotul tratat cu IPP.
6. Suplimentarea cu antioxidanți a terapiei antisecretorii gastrice a determinat *în țesutul gastric* o creștere a valorilor MDA față de lotul care a primit aspirină, respectiv lotul tratat cu IPP.
7. Administrarea cronică de aspirină a produs leziuni ulceroase ale mucoasei gastrice la toate animalele de experiență;
8. Terapia preventivă cu IPP a îmbunătățit semnificativ aspectul anatomopatologic al mucoasei gastrice a animalelor la care s-a administrat aspirină;
9. Suplimentarea cu antioxidanți a terapiei antiulceroase a protejat în plus față de agresiunea aspirinei, leziunile mucoasei gastrice fiind comparabile cu cele ale animalelor din lotul martor.

Evoluția sub tratament a parametrilor stresului oxidativ la pacienții cu ulcer duodenal cu infecție cu *H. pylori* - studiu clinic

❖ Obiectivul studiului

Obiectivul studiului a fost observarea efectele administrării terapiei de eradicare, respectiv antiulceroase, asupra balanței indicatorilor de stres oxidativ și aspectului mucoasei gastroduodenale la pacienții diagnosticați cu ulcer duodenal, precum și dacă administrarea de antioxidanți (vit. A, C, E și seleniu) exercită un efect de protecție al acesteia.

❖ Material și metodă

Studiul s-a desfășurat în perioada 2004-2008 în Clinica Medicală I pe un număr de 86 pacienți cu diagnosticul de ulcer duodenal (UD) stabilit pe criterii clinice, endoscopice și histologice. Prezența infecției concomitente cu *Helicobacter pylori* s-a dovedit prin testul ureazei și prin metoda histologică pentru eșantioane bioptice recoltate la nivelul antrului gastric. Toți pacienții au fost informați asupra studiului și au semnat consimțământul scris. De asemenea au fost evaluați atât la momentul diagnosticului, cât și la 7 zile după terminarea terapiei indicate.

Loturile de studiu

Pacienții au fost împărțiți în două loturi astfel:

- **Lot I**- 42 de pacienți cu ulcer duodenal cu infecție cu *Helicobacter pylori* (UD Hp+) care au primit terapie antisecretorie gastrică, respectiv terapie de eradicare pentru Hp;
- **Lot II**- 44 de pacienți cu ulcer duodenal cu infecție cu *Helicobacter pylori* (UD Hp+) care au primit terapie antisecretorie gastrică, respectiv terapie de eradicare pentru Hp; în plus, pe tot parcursul terapiei antiulceroase au primit și un compus cu proprietăți antioxidante.

Distribuția pacienților nu a înregistrat diferențe semnificative în funcție de vârstă și sex.

Tratament

- **Terapia antisecretorie gastrică** - s-a efectuat cu inhibitori de pompă de protoni (IPP): Omeprazol, în doză de 2x20 mg/zi timp de 6 săptămâni [19-22].
- **Terapia de eradicare pentru infecția cu *Helicobacter pylori*** - în primele 7 zile de tratament s-au asociat Amoxicilină 2x1000 mg/zi și Claritromicină 2x500 mg/zi.
- **Terapia antioxidantă** - a constat în administrarea pe toată durata tratamentului antiulceros a unui compus cu proprietăți antioxidante (Triovit 2x1 cps/zi), având în compoziția fiecărei capsule: seleniu 50 micrograme, provitamina A (beta-caroten) 10 mg, vitamina C (acid ascorbic) 100 mg și vitamina E (acetat de DL-tocoferol) 40 mg.

Recoltarea probelor biologice (sânge și țesut)

S-a realizat înainte de inițierea terapiei, respectiv la 7 zile după terminarea acesteia. S-au recoltat aproximativ 10 ml sânge venos, care a fost imediat centrifugat timp de 5 minute la 3500 rotații/min. După obținerea plasmei, aceasta a fost congelată și păstrată până în momentul prelucrării în vederea determinării parametrilor de stres oxidativ. Țesutul a fost prelevat sub formă de eșantioane biotice recoltate la nivelul antrului gastric; fragmentele de biopsie au fost utilizate pentru testul ureazei, pentru examenul histopatologic și, respectiv, pentru determinarea parametrilor de stres oxidativ.

❖ Rezultate

1. La pacienții cu ulcer duodenal și infecție cu Hp, **terapia antiulceroasă convențională** a determinat *la nivel seric*, o scădere înalt semnificativă a markerilor prooxidanti (MDA: $p < 0.001$; PC: $p < 0.001$), respectiv o creștere foarte semnificativă a markerilor antioxidanți (capacitatea de DH: $p = 0.02$; grupările SH: $p = 0.04$).
2. *În țesutul gastric*, terapia antiulceroasă convențională a condus la scăderea înalt semnificativă a indicatorilor prooxidanti (PC: $p < 0.001$), respectiv la creșterea foarte semnificativă a indicatorilor antioxidanți (capacitatea de DH: $p = 0.016$).
3. **Asocierea unui preparat antioxidant la terapia clasică antiulceroasă** a determinat *la nivel seric*, o scădere foarte semnificativă a markerilor prooxidanti (MDA: $p < 0.001$; PC: $p < 0.001$), respectiv o creștere înalt semnificativă a markerilor antioxidanți (capacitatea de DH: $p = 0.002$; grupările SH: $p = 0.002$).
4. *În țesutul gastric*, asocierea de antioxidanți la terapia antiulceroasă convențională, a condus la scăderea semnificativă a indicatorilor prooxidanti (PC: $p < 0.001$), respectiv la creșterea semnificativă a indicatorilor antioxidanți (capacitatea de DH: $p = 0.008$).
5. Atât în cazul **terapii antiulceroase convenționale**, cât și în cazul **asocierii unui preparat cu potențial antioxidant**, am constatat vindecarea macroscopică și histologică a leziunilor, fără diferențe semnificative din punctul de vedere al ratei de succes.
6. Evoluția clinică a pacienților a fost favorabilă la ambele loturi, fără diferențe semnificative din punctul de vedere al expresiei subiective a bolii.
7. **Suplimentarea cu antioxidanți** nu a determinat o ameliorare suplimentară semnificativă (coeficientul de corelație *Spearman* $p > 0.05$) a balanței indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric, în comparație cu situația în care s-a administrat doar terapia antiulceroasă convențională.

Evoluția sub tratament a parametrilor stresului oxidativ la pacienții cu gastrită cronică cu și fără infecție cu *H. pylori* - studiu clinic

❖ Obiectivul studiului

Obiectivul studiului a fost observarea implicării stresului oxidativ în leziunile inflamatorii ale mucoasei gastrice. În plus am dorit să cercetăm efectele administrării terapiei de eradicare, respectiv antiulceroase asupra mucoasei gastroduodenale la pacienții diagnosticați cu gastrită cronică cu și fără infecție cu *Helicobacter pylori*, precum și dacă administrarea de antioxidanți (vit. A, C, E și seleniu)

exercită un rol de protecție al mucoasei.

❖ **Material si metodă**

Studiul s-a desfășurat în perioada 2004-2008 în Clinica Medicală I pe un număr de 123 pacienți cu diagnosticul de gastrită cronică (GC) stabilit pe criterii clinice, endoscopice și histologice. Prezența infecției concomitente cu *Helicobacter pylori* s-a dovedit prin testul ureazei și prin metoda histologică pentru eșantioane bioptice recoltate la nivelul antrului gastric. Toți pacienții au fost informați asupra studiului și au semnat consimțământul scris. De asemenea au fost evaluați atât la momentul diagnosticului, cât și la 7 zile după terminarea terapiei indicate.

Loturile de studiu

Pacienții au fost împărțiți în patru loturi astfel:

- **Lot I** - 28 de pacienți cu gastrită cronică fără infecție cu *Helicobacter pylori* (GC Hp-) care au primit terapie antisecretorie gastrică;
- **Lot II** - 34 de pacienți cu gastrită cronică fără infecție cu *Helicobacter pylori* (GC Hp-) care au primit terapie antisecretorie gastrică; în plus au primit un compus cu proprietăți antioxidante administrat pe tot parcursul terapiei antiulceroase.
- **Lot III** - 37 de pacienți cu gastrită cronică cu infecție cu *Helicobacter pylori* (GC Hp+) care au primit terapie antisecretorie gastrică, respectiv de eradicare pentru Hp;
- **Lot IV** - 24 de pacienți cu gastrită cronică cu infecție cu *Helicobacter pylori* (GC Hp+) care au primit terapie antisecretorie gastrică, respectiv de eradicare pentru Hp; în plus au primit un compus cu proprietăți antioxidante administrat pe tot parcursul terapiei antiulceroase.

Distribuția pacienților nu a înregistrat diferențe semnificative în funcție de vârstă și sex.

Tratament

- **Terapia antisecretorie gastrică** - s-a efectuat cu inhibitori de pompă de protoni (IPP): Omeprazol, în doză de 2x20 mg/zi timp de 2 săptămâni [19-22].
- **Terapia de eradicare pentru infecția cu *Helicobacter pylori***- în primele 7 zile de tratament s-au asociat Amoxicilină 2x1000 mg/zi și Claritromicină 2x500 mg/zi.
- **Terapia antioxidantă** - a constat în administrarea pe toată durata tratamentului antiulceros a unui compus cu proprietăți antioxidante (Trioivit 2x1 cps/zi), având în compoziția fiecărei capsule: seleniu 50 micrograme, provitamina A (beta-caroten) 10 mg, vitamina C (acid ascorbic) 100 mg și vitamina E (acetat de DL-tocoferol) 40 mg.

Recoltarea probelor biologice (sânge și țesut)

S-a realizat înainte de inițierea terapiei, respectiv la 7 zile după terminarea acesteia. S-au recoltat aproximativ 10 ml sânge venos, care a fost imediat centrifugat timp de 5 minute la 3500 rotații/min. După obținerea plasmei, aceasta a fost congelată și păstrată până în momentul prelucrării în vederea determinării parametrilor de stres oxidativ. Țesutul a fost prelevat sub formă de eșantioane bioptice recoltate la nivelul antrului gastric; fragmentele de biopsie au fost utilizate pentru testul ureazei, pentru examenul histopatologic și, respectiv, pentru determinarea parametrilor de stres oxidativ.

❖ **Rezultate**

1. La pacienții cu **gastrite cronice fără infecție cu *H. pylori*, terapia cu IPP** a determinat în rândul *prooxidanților din ser* o scădere semnificativă a PC ($p=0.034$), însă fără variații semnificative ale MDA ($p=0.079$); la nivelul *țesutului gastric* nivelul PC a scăzut foarte semnificativ ($p<0.001$);
2. La acești pacienți, *antioxidanții* nu au înregistrat variații semnificative nici la nivel *seric* (DH: $p=0.072$, SH: $p=0.373$), și nici în *țesutul gastric* (DH: $p=0.092$);
3. La pacienții cu **gastrite cronice fără infecție cu *H. pylori*, terapia cu IPP și antioxidanți** a determinat în rândul *prooxidanților din ser* o scădere înalt semnificativă atât a MDA ($p=0.001$), cât și a PC ($p<0.001$); la nivelul *țesutului gastric*, nivelul PC a scăzut foarte semnificativ ($p<0.001$);
4. La acești pacienți, în rândul *antioxidanților serici*, terapia a determinat o creștere semnificativă a grupărilor SH ($p=0.036$), dar fără variații semnificative ale DH ($p=0.058$); în *țesutul gastric*, nivelul

DH a înregistrat o creștere semnificativă ($p=0.013$);

5.La pacienții cu **gastrite cronice și infecție cu H. pylori, terapia cu IPP, respectiv de eradicare**, a determinat în rândul *prooxidantilor din ser* o scădere semnificativă atât a MDA ($p=0.004$), cât și a PC ($p=0.001$); la nivelul *țesutului gastric*, nivelul PC a scăzut foarte semnificativ ($p<0.001$);

6.La acești pacienți, *antioxidanții serici* nu au înregistrat variații semnificative (DH: $p=0.137$, SH: $p=0.376$); însă în *țesutul gastric* am înregistrat o creștere semnificativă a DH ($p=0.039$);

7.La pacienții cu **gastrite cronice și infecție cu H. pylori, terapia cu IPP, respectiv de eradicare, și antioxidanți** a determinat în rândul *prooxidantilor din ser* o scădere semnificativă atât a MDA ($p=0.003$), cât și a PC ($p=0.022$); la nivelul *țesutului gastric*, nivelul PC a scăzut foarte semnificativ ($p<0.001$);

8.La acești pacienți, *antioxidanții serici* nu au înregistrat variații semnificative (DH: $p=0.203$, SH: $p=0.626$); însă în *țesutul gastric* am înregistrat o creștere semnificativă a DH ($p=0.038$);

9.Atât în cazul **terapii cu IPP, respectiv de eradicare**, cât și în cazul **asocierii unui preparat cu potențial antioxidant**, am constatat vindecarea macroscopică și histologică a leziunilor, fără diferențe semnificative din punctul de vedere al ratei de succes.

10. Evoluția clinică a pacienților a fost favorabilă la toate loturile, fără diferențe semnificative din punctul de vedere al expresiei subiective a bolii.

11. **Suplimentarea cu antioxidanți** nu a determinat o ameliorare suplimentară semnificativă (coeficientul de corelație *Spearman* $p>0.05$) a balanței indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric, în comparație cu situația în care s-a administrat doar terapia cu IPP, respectiv de eradicare.

Studiu comparativ al balanței oxidanți/antioxidanți între pacienții cu gastrită cronică cu și fără infecție cu H. pylori, respectiv între pacienții cu gastrită cronică și ulcer duodenal cu infecție cu H. pylori

❖ Obiectivul studiului

Obiectivele acestui studiu au fost aprecierea diferențelor indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric între pacienții cu **gastrite fără infecție** și cei cu infecție cu *Helicobacter pylori*, respectiv între pacienții cu **gastrite și cei cu ulcer duodenal** cu infecție cu *Helicobacter pylori*.

❖ Material și metoda

Am luat în considerare toți pacienții incluși în studiile clinice derulate în cursul cercetării din teză, însumând un număr de 209 pacienți. Pentru acești pacienți am utilizat pentru evaluare valorile indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesut obținute la momentul diagnosticului.

Pacienții au fost consultați în perioada 2004–2008 în Clinica Medicală I. Diagnosticul de gastrită cronică sau ulcer duodenal a fost stabilit pe criterii clinice, endoscopice și histologice. Prezența infecției concomitente cu *Helicobacter pylori* s-a dovedit prin testul ureazei și prin metoda histologică pentru eșantioane bioptice recoltate la nivelul antrului gastric. Toți pacienții au fost informați asupra studiului și au semnat consimțământul scris.

Loturile de studiu

Pacienții au fost împărțiți în trei loturi astfel:

- **Lot I-** 62 de pacienți cu gastrită cronică fără infecție cu *Helicobacter pylori* (GC Hp-);
- **Lot II-** 61 de pacienți cu gastrită cronică cu infecție cu *Helicobacter pylori* (GC Hp+).
- **Lot III-** 86 de pacienți cu ulcer duodenal cu infecție cu *Helicobacter pylori* (UD Hp+)

Distribuția pacienților nu a înregistrat diferențe semnificative în funcție de vârstă și sex.

Recoltarea probelor biologice (sânge și țesut)

Fiecărui pacient i s-au recoltat aproximativ 10 ml sânge venos, utilizat pentru obținerea plasmei, care a fost congelată și păstrată până în momentul prelucrării în vederea determinării parametrilor de stres oxidativ. Țesutul a fost prelevat sub formă de eșantioane bioptice recoltate la nivelul antrului

gastric; fragmentele de biopsie au fost utilizate pentru testul ureazei, pentru examenul histopatologic și, respectiv, pentru determinarea parametrilor de stres oxidativ.

❖ Rezultate

1. La pacienții cu **gastrită cronică**, nu am constatat diferențe semnificative ale nivelurilor indicatorilor de stres oxidativ *din ser* între loturile cu infecție și fără infecție cu *Helicobacter pylori* (MDA: $p=0.750$; PC: $p=0.276$; DH: $p=0.721$; SH: $p=0.528$).

2. Infecția cu *Helicobacter pylori* nu a determinat la nivelul *țesutului antral* o diferență semnificativă între indicatorii de stres oxidativ la pacienții cu gastrită cronică (PC: $p=0.410$; DH: $p=0.550$).

3. La pacienții cu **infecție cu *Helicobacter pylori***, în rândul *prooxidanților serici* am constatat un nivel semnificativ mai crescut al *proteinelor carbonilate* ($p<0.001$) la lotul cu ulcer duodenal față de lotul cu gastrită; *malondialdehida* nu a înregistrat diferențe semnificative ($p=0.240$).

4. La acești pacienți, în rândul *antioxidanților serici* am observat un nivel semnificativ mai scăzut al *grupărilor sulfhidril* ($p=0.034$) la lotul cu ulcer duodenal față de lotul cu gastrită; capacitatea de donor de hidrogen nu a înregistrat diferențe semnificative ($p=0.255$).

5. În țesutul gastric nu am înregistrat diferențe semnificative ale nivelurilor indicatorilor de stres oxidativ între pacienții cu gastrite și cei cu ulcer duodenal.

Concluzii generale

1. **Expunerea experimentală digestivă cronică la aspirină** determină o scădere semnificativă a nivelului antioxidantilor serici și în țesutul gastric, fara a aduce modificări importante ale nivelului indicatorilor prooxidanti serici; *administrarea preventivă a terapiei cu IPP* se însoțește de ameliorarea balantei stresului oxidativ prin creșterea apărării antioxidante serice și reducerea nivelului indicatorilor prooxidanti în țesutul gastric; *suplimentarea cu antioxidanți* determină o creștere evidentă a aparării antioxidante a țesutului gastric față de situația în care s-a administrat doar terapie cu IPP, fenomen care nu este evidențiat și la nivel seric.

2. Expunerea cronică la aspirină determină leziuni ulceroase ale mucoasei gastrice la toate animalele de experiență; terapia preventivă cu IPP a îmbunătățit semnificativ aspectul anatomopatologic al mucoasei gastrice la animalele la care s-a administrat aspirină. Suplimentarea cu antioxidanți a terapiei antiulceroase a protejat în plus față de agresiunea aspirinei, leziunile mucoasei gastrice fiind comparabile cu cele ale animalelor din lotul martor.

3. La pacienții cu **ulcer duodenal și gastrite cronice cu sau fara infecție cu Hp**, *terapia antiulceroasă convențională, respectiv asocierea de antioxidanți*, determină o ameliorare semnificativa a balantei stresului oxidativ în ser și în țesutul gastric, exprimata prin scăderea indicatorilor prooxidanti, respectiv prin creșterea indicatorilor antioxidanți.

4. Atât în cazul *terapiei antiulceroase convenționale*, cât și în cazul *asocierii unui preparat cu potențial antioxidant*, se constată vindecarea macroscopică și histologică a leziunilor, fără diferențe semnificative din punctul de vedere al ratei de succes verificată endoscopic; de asemenea, evoluția clinică a pacienților este favorabilă, fără diferențe semnificative din punctul de vedere al expresiei subiective a bolii.

5. *Adăugarea medicației antioxidante* nu determină o ameliorare suplimentară semnificativă a balanței indicatorilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric, în comparație cu situația în care se administrează doar terapie antiulceroasă convențională.

6. La pacienții cu **gastrite cronice**, infecția cu *Helicobacter pylori* nu determină modificări semnificative ale nivelului indicatorilor de stres oxidativ nici la nivel seric și nici în țesutul gastric.

7. La pacienții cu **infecție cu *Helicobacter pylori***, nu există diferențe semnificative ale nivelurilor indicatorilor de stres oxidativ *din țesutul gastric* între cei cu gastrite cronice și cei cu ulcer duodenal; insa, in ser, pacientii cu ulcer duodenal prezintă un nivel semnificativ crescut al indicatorilor prooxidanti, respectiv un nivel semnificativ scăzut al indicatorilor antioxidanți.

Contribuții personale și priorități ale cercetării din teza de doctorat

- Am reușit realizarea unui model experimental de ulcere gastrice prin expunere digestivă cronică la aspirină, model care a permis studiul dinamicii parametrilor de stres oxidativ din ser și țesutul gastric.
- Am demonstrat că infecția cu *Helicobacter pylori* nu determină modificări ale parametrilor de stres oxidativ în serul și țesutul gastric al pacienților cu gastrită cronică.
- Am demonstrat că asocierea preparatelor cu potențial antioxidant la terapia antiulceroasă, respectiv de eradicare pentru Hp, într-o aplicare pe o perioadă de timp scurtă sau medie, nu aduce un beneficiu asupra balanței oxidanti-antioxidanti din ser și țesutul gastric, respectiv asupra aspectului anatomopatologic al mucoasei gastrice, la pacienții cu gastrită cronică sau ulcer duodenal.

Bibliografie selectivă

1. Demir S, Yilmaz M, Koseoglu M, et al. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk J. Gastroenterol.* 2003; 14(1):39-43.
2. Nair, Satheesh MD, Norkus, et al. Micronutrient Antioxidants in Gastric Mucosa and Serum in Patients with Gastritis and gastric Ulcer: Does *Helicobacter pylori* Infection Affect the Mucosal levels?. *Journal of Gastroenterology* 2000;30:381-385.
3. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TRJ, et al. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut* 1994; 35: 179-185.
4. Perry MA, Wadhwa S, Parks DA, et al. Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach. *Gastroenterology*; 1986; 90: 362-367.
5. Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of medical and Biological Research* 2002; 35: 523-534.
6. Bala G, Czerwionka-Szaflarska M, Drewa G, et al. An evaluation of the impact of supplementation with antioxidants vitamins on oxidation stress parameters in children with chronic recurrent gastroduodenitis. *Med Sci Monit* 2002; 8: 14-18.
7. Ito M, Guth PH. Role of oxygen-derived free radicals in hemorrhagic shock induced gastric lesions in rat. *Gastroenterology* 1985; 88:1162-1167.
8. Yoshikawa T, Yoshida N, Miyagawa H, et al. Role of lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by burn shock in rats. *J Clin Biochem Nutr* 1987; 2: 163-170.
9. Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1988; 240: 1302-1309.
10. Dejica D. Stresul oxidativ în bolile digestive. În: Dejica D (ed.). *Stresul oxidativ în bolile interne*. Ed. Casa Cărții de Știință Cluj-Napoca 2000: 337-402.
11. Hahn K, Park I, Kim Y, et al. Role of rebapimide on induction of heat-shock proteins and protection against reactive oxygen metabolite-mediated cell damage in cultured gastric mucosal cells. *Free Rad Biol and Med* 1997; 22 (4): 711-716.
12. Fornai M, Natale G, Colluci R, et al. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID- induced gastric mucosal damage. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2005; 372: 79-87.
13. Banerjee D, Maity B, Nag SK, et al. Healing Potential of *Picrorhiza kurroa* (Scrophulariaceae) rhizomes against indomethacin-induced gastric ulceration: a mechanistic exploration. *BMC Compl and Alt Med* 2008; 8(3): 1-14.
14. Jainu M, Vijai Mohan K, Shyamala Devi CS. Gastroprotective effect of *Cissus quadrangularis* extract in rats with experimentally induced ulcer. *Indian J. Med. Res.* 2006; 123: 799-806.
15. Ozdil S, Yanardag R, Koyuturk M, et al. Protective effects of ascorbic acid, DL- α tocopherol acetate, and sodium selenate on ethanol-induced gastric mucosal injury of rats. *Biological Trace Element Research* 2004; 99 (1-3): 173-189.
16. Nur Azlina MF, Nafeeza MI, Khalid BAK. Effect of Tocotrienol on Lipid Peroxidation in Experimental Gastritis Induced by Restraint Stress. *Pakistan Journal of Nutrition* 2005; 4 (2): 69-72.
17. Cioli V, Silvestrini B, Dordoni F. Evaluation of the potential of gastric ulceration after administration of certain drugs. *Experimental and molecular pathology* 1967; 6: 68-83.
18. Tajuddin, Ahmad S, Latif A, et al. Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& Perry. (clove) on sexual behaviour of normal male rats. *BMC Complement Altern Med.* 2003 ; 3: 6.
19. <http://aeholland.com/ticprotonpump404.pdf>.
20. <http://www.pbm.va.gov/reviews/ppiabbreviatedreview.pdf>
21. Hunt RH, Cederberg C, Dent J, et al. Optimizing acid suppression for treatment of acid related diseases. *Dig Dis Sci* 1995; 40(Suppl. 2): 24S-49S.
22. Leodolter A, Kulig M, Brascha H, et al. A meta-analysis comparing eradication, healing and relapse rates in patients with *Helicobacter pylori*-associated gastric or duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1949-1958.

CURRICULUM VITAE

I. DATE PERSONALE

Nume: Martura

Prenume: Simona Nicoleta

Data și locul nașterii: 18 februarie 1978, loc. Bistrița, jud. Bistrița-Năsăud

Domiciliul: Strada Lt. Călin; nr. 1; ap. 6; loc. Bistrița, jud. Bistrița-Năsăud

Starea civilă: căsătorită

Naționalitate: română

Email: restemans@yahoo.com

II. STUDII

- gimnaziale: 1984- 1992- Școala Generală Nr. 3, Bistrița
- liceale: 1992-1996- Liceul Teoretic „Andrei Muresanu” Bistrița , profil Chimie- Biologie
- superioare; 1997-2003- Facultatea de Medicină Generală, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

III. ACTIVITATE PROFESIONALĂ

- doctorand cu frecvență la UMF, „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca- 01.11.2003-31. 10.2007
- medic rezident gastroenterologie Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca- 10.03.2005-31.03.2010
- stagii de gastroenterologie cu studenții Facultății de Medicină UMF Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca (anii IV și V), secția română - 2005-2009.
- octombrie 2009- promovarea examenului pentru obținerea titlului de medic specialist în gastroenterologie.

IV. ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

1. Lucrare de diplomă „ Implicațiile stresului oxidativ în expunerea la radiații ultraviolete. Efectul protector al preparatelor de seleniu”.

2. Cursuri postuniversitare

- mai 2004- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca. Catedra de Fiziologie. „Implicațiile stresului oxidativ în patologia clinică”.
- ianuarie- februarie 2006- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca. Clinica Medicală I. „Ultrasonografie generală (modul I) – pt. obținerea atestatului de formare complementară”.
- decembrie 2006- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca. Clinica Medicală III. „Endoscopie digestivă superioară diagnostică și terapeutică”.
- februarie 2006- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca. Clinica Medicală I., „Tehnici imunologice în diagnosticul clinic. Curs practic.”
- ianuarie 2007- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca. Clinica Medicală I. „Hemostaza – actualități, aplicații clinice”.
- martie 2008- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca., „Curs despre tulburări funcționale digestive”.
- iunie 2009- Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca. „ Actualități în gastroenterologie, hepatologie, endoscopie și oncologie digestivă”.

3. Participări la manifestări științifice

- **naționale**

- Al XXVI-lea Simpozion de gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă Timișoara. Iunie 2005.
- Simpozionul „, Studiul Field și controlul riscului cardiovascular în diabetul zaharat tip 2”. 6 martie 2006, Sibiu.
- Simpozionul „, Rolul claritromicinei în tratarea afecțiunilor aparatului respirator”. 22-23 martie 2006, Cluj-Napoca.
- Al X-lea Congres de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă Iasi. Iunie 2008.
- Al XXIX-lea Simpozion de gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă Cluj-Napoca. iunie 2009.
- The 10th Congress of the Romanian Society of Physiological Sciences, 6th-7th June, 2008, Cluj-Napoca.
- Simpozionul „,Implicațiile stresului oxidativ în patologia digestivă neoplazică și non-neoplazică”. 4 decembrie 2007, Cluj-Napoca.

- **internationale**

- Simpozionul Internațional „,Perspectivele agriculturii în mileniul III”, USAMV, 7-10 octombrie 2009, Cluj-Napoca
- XXI^e Cours Intensif Europeen SMIER Digestiv Endoscopy. 28-29 novembre 2008, Nancy, France.

4. Lucrări științifice publicate ca prim autor/ co-autor

- **publicate în extenso**

- Vălean S, Armean P, Resteman S, Nagy G, Mureșan A, Mircea PA. Cancer mortality in Romania, 1955-2004. Digestive sites: esophagus, stomach, colon and rectum, pancreas, liver, gallbladder and biliary tree. J Gastrointest Liver Dis 2008; 17: 9-14.
- Simona Martura, Doina Daicoviciu, Soimita Suci, Adriana Mureșan, Doinita Crișan, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Oana Damian. The involvement of oxidative stress in the ulcerous pathology induced in the rats by aspirin. Physiology 2009; 19.3(63): 20-25.
- Simona Martura, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Romeo Chira, Adrian Căținean, Adriana Mureșan, Doina Daicoviciu, Șoimița Suci. Implication of Oxidative Stress in the Human Gastro-Duodenal Pathology Induced by Helicobacter Pylori. Bulletin UASVM, Veterinary Medicine 2009; 66(1): 152-159.

- **comunicate**

- Mureșan Adriana, Suci Șoimița , Mircea P., Orasan R., Resteman Simona. Implicațiile stresului oxidativ în patologia gastrică nonneoplazică. A XXII-a Conferință Națională a Societății Române de Științe Fiziologice, “Mecanisme fiziologice integrative de la nivel celular la nivel sistemic” iunie 2007- Prezentare orală.
- Roberta Mânzat, Petru Adrian Mircea, Simona Vălean, Romeo Chira, Gabriel Gușetu, Simona Resteman. Seroconversia în sistemul HBsAg/Ac și HBeAg/Ac spontană sau post terapeutică, la pacienți cu hepatită cronică virală B depistată în copilărie - Congresul Național de Hepatologie București 2007 - Sesiunea Postere.
- Simona Resteman, Doina Daicoviciu, Șoimița Suci, Nicoleta Decea, Simona Vălean , R.Chira, A. Căținean, I. David, Adriana Mureșan, P.A. Mircea. Variația pre și posttratament a parametrilor stresului oxidativ la pacienții cu ulcer duodenal, respectiv gastrită cronică Helicobacter pylori pozitivi. Simpozionul „,Implicațiile stresului

oxidativ in patologia digestivă neoplazică si non-neoplazică, 4 decembrie 2007, Cluj-Napoca- Prezentare orală.

- Simona Martura, Petru A. Mircea, Adriana Mureșan, Doina Daicoviciu, Șoimița Suciu, Doinița Crișan, Simona Vălean. Implicarea stresului oxidativ în patologia ulceroasă indusă de aspirină la șobolani. „Al XXIX-lea Simpozion de gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă” Cluj-Napoca 2009 - Sesiunea postere.
- Roberta Mânzat, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Adriana Bîntînțan, Simona Martura. Seroconversia în sistemul HBeAg/Ac și HBsAg/Ac la pacienți cu hepatită cronică virală B depistată în copilărie. „Al XXIX-lea Simpozion de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă” Cluj-Napoca 2009- Prezentare orală.
- Simona Martura, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Romeo Chira, Adrian Căținean, Adriana Mureșan, Doina Daicoviciu, Șoimița Suciu. Implication of Oxidative Stress in the Human Gastro-Duodenal Pathology Induced by Helicobacter Pylori. Simpozionul Internațional „Perspectivele agriculturii în mileniul III”, USAMV, 7-10 octombrie 2009, Cluj-Napoca- Prezentare orală.
- Simona Vălean, Simona Martura, D Farcău, Alexandru Pârvan, Nicolae Miu, Magda Petrescu, Petru Adrian Mircea. Infecția cu Helicobacter pylori în raport cu vârsta și patologia benignă gastro-duodenală asociată, la o populație endoscopică. „Al XXX-lea Simpozion de Gastroenterologie, Hepatologie și Endoscopie Digestivă” Craiova 2010- Sesiunea postere.

5. Membru al asociațiilor profesionale

- Membră în Colegiul Medicilor din Romania

5. Proiecte de cercetare

- 2004-2007- membru in grantul CNCSIS tip A cod 1305 „, Studiu experimental și clinic privind intervenția stresului oxidativ in patologia eso-gastro-duodenală non-neoplazică și neoplazică”.

6. Limbi străine

- engleză
- franceză

7. Utilizare PC

- Aplicații Office: Word, Excel, PowerPoint.
- Aplicații analiză statistică: SPSS.

University of Medicine and Pharmacy

“Tuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

**INVOLVEMENT OF OXIDATIVE STRESS IN GASTRO-
DUODENAL ULCEROUS PATHOLOGY**

Abstract of doctoral thesis

Doctoral student

Simona Nicoleta Martura

Scientific leader

Prof. dr. Petru Adrian Mircea

2010

TABLE OF CONTENTS

FOREWORD	5
INDEX OF ABBREVIATIONS	6
GENERAL PART	8
Chapter 1. Oxidative stress – general notions	9
1.1. Oxygen-general considerations	9
1.2. Oxidative stress – definition.....	9
1.3. Consequences of oxidative stress.....	10
1.3.1. Physiological consequences.....	10
1.3.2. Pathological consequences.....	11
1.4. Free radicals.....	16
1.4.1. Introduction.....	16
1.4.2. Definition, generalities.....	16
1.4.3. Sources of free radicals	18
1.4.3.1. Exogenous sources.....	18
1.4.3.2. Endogenous sources.....	18
1.5. Antioxidant defence	20
1.5.1. Introduction.....	20
1.5.2. Definition, classification, mechanism of action.....	21
1.5.3. Sources of antioxidants.....	25
Chapter 2. Adjustment of gastric acid secretion	27
Chapter 3. Defense of gastric mucosa	29
3.1. Defense factors of gastroduodenal mucosa	29
3.1.1. Secretion of mucus and bicarbonate	30
3.1.2. Secretion of prostaglandins.....	31
3.1.3. Microcirculation of mucosa	32
3.1.4. Regeneration capacity of epithelium of gastric mucosa	33
3.2. Antioxidant defense of gastroduodenal mucosa	33
Chapter 4. Aggression on gastro-duodenal mucosa	39
4.1. Known factors of aggression of gastro-duodenal mucosa	39
4.1.1. Helicobacter pylori.....	39
4.1.2. Smoking and alcohol.....	43
4.1.3. Non-steroid anti-inflammatory	44
4.2. Involvement of aggression by free radicals in the gastro-duodenal ulcerous pathology	45
PERSONAL CONTRIBUTIONS	49
Chapter 1. Introduction	50
Chapter 2. General objectives of research	51
Chapter 3. General research methodology	52
3.1. Exploration of balance oxidants/antioxidants from blood and gastric tissue	52
3.1.1. Indicators for oxidative stress	53
3.1.2. Indicators for antioxidant defense	53
3.2. Anatomic pathological exploration of stomach	54
3.2.1. Macroscopic study.....	54
3.2.2. Microscopic study.....	54
3.3. Ethical approval.....	55
3.4. Statistic processing of results	55
Chapter 4. Evolution of parameters of oxidative stress following the chronic digestive exposure to aspirin – experimental study in rats	56

4.1. Introduction.....	56
4.2. Objectives of research.....	58
4.3. Material and method.....	58
4.4. Results	61
4.5. Discussions.....	68
4.6. Conclusions	71
Chapter 5. Evolution under treatment of parameters of oxidative stress in patients with duodenal ulcer with infection with H. pylori – clinical study.....	72
5.1. Introduction.....	72
5.2. Objectives of research.....	74
5.3. Material and method	74
5.4. Results	77
5.5. Discussions	85
5.6. Conclusions.....	88
Chapter 6. Evolution under treatment of parameters of oxidative stress in patients with chronic gastritis with and without infection with H. pylori – clinical study.....	89
6.1. Introduction.....	89
6.2. Objectives of research.....	90
6.3. Material and method	91
6.4. Results	94
6.5. Discussions	106
6.6. Conclusions.....	109
Chapter 7. Comparative study of balance oxidants/antioxidants between patients with chronic gastritis with and without infection with H. pylori, respectively between patients with chronic gastritis and duodenal ulcer with infection with H. pylori.....	110
7.1. Introduction.....	110
7.2. Objectives of research.....	111
7.3. Material and method.....	111
7.4. Results.....	113
7.5. Discussions	115
7.6. Conclusions.....	117
Chapter 8. General conclusions.....	118
Chapter 9. Personal contributions and priorities of research in the doctoral thesis	120
Bibliography.....	122

Key words: oxidative stress, antioxidants, duodenal ulcer, chronic gastritis, aspirin, experimental gastric ulcer.

❖ Introduction

There is a concerning evidence regarding the participation of reactive species of oxygen (SRO) in the ethiopathogeny of gastro-intestinal afflictions that evolve with inflammation and peptic ulcer; moreover, there is strong evidence that supports the role of free radicals (RL) in the pathogenesis of injuries of gastric mucosa caused by *Helicobacter pylori* and other factors of aggression [1-4]. The role of SRO in these diseases, and the protective effects of products with antioxidant potential on the affected tissues represent topical issues. The results of research reported in the last years suggest that free radicals are responsible for the lesions of mucosa of digestive tract and for the initiation of inflammatory process [5,6].

The exact pathogenesis of lesions of gastric mucosa induced by free radicals is not completely elucidated. It is believed that free radicals initiate the cascade of peroxidation of membranes, which

leads to destructions of mucosa and interruption of integrity of biological membranes. It has been suggested that free radicals are involved in the processes of destruction of many biological molecules and proteins, deregulate DNA and promote the process of carcinogenesis [7-9].

The antioxidants, by reduction of frequency of reactions of formation of free radicals and the blocking of propagation of the free radicals already formed can be useful in the protection of gastric mucosa from the oxidative lesions, respectively by acceleration of healing of gastric ulcers [10, 11].

The previous research on the implications of oxidative stress (SO) in gastro-duodenal ulcerous pathology induced by different factors presented a series of results, many of them having a contradictory character.

In this context, it is only natural the growing interest in the investigation of effects and mechanisms of SO, respectively in the identification of methods of fight or reduction of these negative effects. These observations were a real challenge for research, motivating the studies I carried out in the clinical and experimental field.

The doctoral thesis is made of two parts: the general part and the part of personal contributions. In the first part I made a synthesis of data from literature, with the mention that they are in low number, most of them using animal experimental models, and at world level we can notice an accumulation of knowledge in a permanent dynamics. In the part of personal contributions, structured in four studies, I aimed at demonstrating the involvement of oxidative stress in the chronic gastro-duodenal ulcerous pathology and varying the therapy addressed to these afflictions by association of an antioxidant therapy.

❖ **General objectives**

1. Realization of an experimental model of chronic gastric ulcers by chronic digestive exposure to aspirin, on which we can study the modifications of balance of oxidants-antioxidants in serum and gastric tissue.
2. Appreciation of effects of administration of gastric anti-secretion therapy, respectively a medication with antioxidant potential on the balance oxidants-antioxidants from serum and gastric tissue in the chronic digestive experimental exposure to aspirin.
3. Study of effect of anti-ulcer therapy, respectively in association with an antioxidant medication on the dynamics of parameters of oxidative stress from serum and gastric tissue in patients with duodenal ulcer and infection with **Helicobacter pylori**.
4. Study of effect of anti-ulcer therapy, respectively in association with an antioxidant medication on the dynamics of parameters of oxidative stress from serum and gastric tissue in patients with chronic gastritis with or without infection with **Helicobacter pylori**.
5. Appreciation of differences of indicators of oxidative stress from serum and gastric tissue between patients with gastritis without infection and patients with infection with *Helicobacter pylori*;
6. Appreciation of differences of indicators of oxidative stress from serum and gastric tissue between patients with gastritis and patients with duodenal ulcer with infection with *Helicobacter pylori*.

❖ **Sought parameters**

From the serum and gastric tissue of experimental animals, respectively patients from the study, were dosed: (1) parameters of oxidative stress: total malondialdehida (MDA) and carbonilated proteins (PC); (2) parameters of antioxidant defense: capacity of donor of hydrogen (DH) and groups of sulphurhidril (SH). I appreciated the macroscopic and histological aspect of gastro-duodenal mucosa, and the general clinical symptomatology.

❖ **Statistic processing**

The statistic processing of results obtained included the determination of the type of distribution of results: symmetry and flatness of distribution, normality of distribution (tests Kolmogorov-Smirnov

and Shapiro-Wilk), calculation of statistic descriptive indicators (average, standard deviation, median) and determination of significance of differences between compared lots; inferential tests used for the appreciation of significance of differences between lots were selected based on the distribution of results. I used the programs SPSS 13.0 and Medcalc 11.0.

Evolution of parameters of oxidative stress following the chronic digestive exposure to aspirin – experimental study in rats

❖ Objective of study

The objective of study was the realization of an experimental model of gastric ulcers by chronic digestive exposure to aspirin, on which can be studied the modifications of balance oxidants-antioxidants. We also wanted to see if the administration of gastric anti-secretion therapy, respectively antioxidants (vitamin A, C, E and selenium) determines an inclination of this balance in favour of antioxidants.

❖ Material and method

Conditions- the study was carried out in the Research Center of the Physiology Department of the University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca. We used 40 white rats Wistar breed, male, aged 10 weeks, with a weight between 175-205 g. The animals were maintained in the biobase of the Physiology Department of the University of Medicine, in standard laboratory conditions, at a temperature of 23 ± 2 °C, with a duration of 12 hours of exposure to light and 12 hours darkness, with water and food ad libitum. The animals were left to accommodate for 1 week before the start of experiment.

Lots- The animals of experience were divided in four equal lots, as follows :

- **Lot I**, witness – received by daily gavage distilled water for 7 days;
- **Lot II** – received by daily gavage aspirin suspended in carboximethyl cellulose, in dose of 200 mg/kilo body, for 7 days;
- **Lot III**- received by daily gavage aspirin suspended in carboximethyl cellulose, in dose of 200 mg/kilo body associated with inhibitors of pump of protons (pantoprazolum in dose of 60 micromoles /kilo body) in 7 days;
- **Lot IV**- received by daily gavage aspirin suspended in carboximethyl cellulose, in dose of 200 mg/kilo body associated with inhibitors of pump of protons (pantoprazolum in dose of 60 micromoles /kilo body) and a medication with antioxidant potential; the latter presented a mixed composition that assured a daily dose of selenium 0.25 mg/kilo body, provitamin A 50 mg/kilo body, vitamin C 250 mg/kilo body and vitamin E 40 mg/ kilo body.

After the last dose received by gavage, the animals did not receive food for 24 hours before sacrifice [12-16].

During the experiment, the animals taken in study were monitored daily from the point of view of general physical condition and behaviour; they were also marked in view of individual weighing at the onset and end of experiment.

Taking biological samples

The taking of blood samples was done from the level of orbital venous sinus (1 ml/animal of experience). Then the animals were killed by cervical dislocation and the necropsy was done in view of highlighting the stomach and appreciation of aspect of gastric mucosa. After the conclusion of the process of macroscopic evaluation, the peri-ulcerous gastric parts and the parts with normal aspect (in cases without pathological images) were excised and then used for histopathological examination, respectively for the determination of tissular markers of oxidative stress.

Macroscopic examination of gastric lesions – the lesions were quantified as follows [17, 18]: score 0- without ulcerations or up to 3 punctiform ulcerations; score 1- more than 3 punctiform ulcerations;

score 2- between 1 and 5 ulcers of small sizes (<2 mm); score 3- more than 5 small ulcers with diameter smaller than 2 mm; score 4- one or more gigantic ulcers, with diameter over 2 mm.

❖ **Results**

- 1.The administration of aspirin determined in serum a significant decrease ($p=0.002$) of capacity DH; at the level of *gastric* tissue it caused a significant decrease of values MDA ($p=0.010$), respectively groups SH ($p=0.001$).
2. The preventive administration of IPP determined in serum a significant increase of the capacity of DH ($p=0.009$), and at the level of *gastric tissue* it caused a significant decrease of MDA ($p=0.04$) compared to the lot to which aspirin was administered.
- 3.The preventive administration of IPP determined *in gastric tissue* a significant decrease ($p=0.001$) of values MDA, and antioxidant markers ($p=0.001$) compared to the witness lot.
- 4.The supplementation with antioxidants of gastric anti-secretion therapy determined at serum level a significant decrease of values MDA compared to the lot that received only aspirin ($p=0.03$), respectively compared to witnesses ($p=0.02$); it also induced a significant decrease ($p=0.04$) of values of groups SH compared to the lot treated with IPP;
- 5.The supplementation with antioxidants of gastric anti-secretion therapy determined in gastric tissue a decrease of antioxidant indicators compared to the witness lot ($p=0.001$ for SH), respectively compared to the lot to which only aspirin was administered ($p=0.004$ for DH, $p=0.04$ for SH); but it determined a significant increase ($p=0.001$) of DH compared to the lot treated with IPP.
- 6.The supplementation with antioxidants of gastric anti-secretion therapy determined in gastric tissue an increase of values MDA compared to the lot that received aspirin, respectively the lot treated with IPP.
- 7.The chronic administration of aspirin caused ulcerous lesions of gastric mucosa in all animals of experience;
- 8.The preventive therapy with IPP significantly improved the anatomic pathological aspect of gastric mucosa of animals to which aspirin was administered;
- 9.The supplementation with antioxidants of anti-ulcer therapy protected extra from the aggression of aspirin, and the lesions of gastric mucosa were comparable to the lesions of gastric mucosa of animals from the witness lot.

Evolution under treatment of parameters of oxidative stress in patients with duodenal ulcer with infection with *H. pylori* – clinical study

❖ **Objective of study**

The objective of the study was the observation of the effects of administration of eradication therapy, respectively anti-ulcer therapy, on the balance of indicators of oxidative stress and aspect of gastro-duodenal mucosa in patients diagnosed with duodenal ulcer, and whether the administration of antioxidants (vitamin A, C, E and selenium) exerts an effect of protection of it.

❖ **Material and method**

The study was carried out in the period 2004-2008 in the Medical Clinic I on a number of 86 patients with the diagnosis of duodenal ulcer (UD) determined by clinical, endoscopic and histological criteria. The simultaneous presence of infection with *Helicobacter pylori* was proven by the test of urease and by histological method for bioptical samples taken at the level of gastric antrum. All the patients were informed on the study and signed the written consent. They were evaluated at the moment of diagnosis and 7 days after the end of indicated therapy.

Lots of study

The patients were divided in two lots as follows:

- **Lot I-** 42 patients with duodenal ulcer with infection with *Helicobacter pylori* (UD Hp+) who

received gastric anti-secretion therapy, respectively eradication therapy for Hp;

• **Lot II**- 44 patients with duodenal ulcer with infection with *Helicobacter pylori* (UD Hp+) who received gastric anti-secretion therapy, respectively eradication therapy for Hp; during the whole anti-ulcer therapy, they received a medication with antioxidant properties.

The distribution of patients did not record significant differences depending on age and gender.

Treatment

-*Gastric anti-secretion therapy* - it was done with inhibitors of pump of protons (IPP): Omeprazol, in dose of 2x20 mg/day for 6 weeks [19-22].

-*Eradication therapy for infection with Helicobacter pylori* – in the first 7 days of treatment we associated Amoxicillin 2x1000 mg/day and Clarythromycin 2x500 mg/day.

-*Antioxidant therapy* – consisted of administration for the whole duration of anti-ulcer treatment, of a medication with antioxidant properties (Triovit 2x1 capsules/day), having in composition of each capsule: selenium 50 micrograms, provitamin A (beta-carotene)10 mg, vitamin C (ascorbic acid) 100 mg and vitamin E (acetate of DL-tocopherol) 40 mg.

Taking biological samples (blood and tissue)

It was done before the initiation of therapy, 7 days after its end. We took 10 ml of venous blood, which was immediately centrifuged for 5 minutes at 3500 rotations/min. After obtaining the plasma, it was frozen and kept until the moment of processing for the determination of parameters of oxidative stress. The tissue was taken under the form of bioptical samples taken at the level of gastric antrum; the biopsy fragments were used for the test of urease, for the histopathological examination and for the determination of parameters of oxidative stress.

❖ Results

1.In the patients with duodenal ulcer and infection with Hp, **the conventional anti-ulcerous therapy** determined at serum level a highly significant decrease of prooxidant markers (MDA: $p<0.001$; PC: $p<0.001$), respectively a very significant increase of antioxidant markers (capacity of DH: $p=0.02$; groups SH: $p=0.04$).

2.In *gastric tissue*, the conventional anti-ulcerous therapy led to the highly significant decrease of prooxidant indicators (PC: $p<0.001$), respectively to the very significant increase of antioxidant indicators (capacity of DH: $p=0.016$).

3.**The association of an antioxidant medication with the classical anti-ulcerous therapy** determined at *serum level*, a very significant decrease of prooxidant markers (MDA: $p<0.001$; PC: $p<0.001$), respectively a highly significant increase of antioxidant markers (capacity of DH: $p=0.002$; groups SH: $p=0.002$).

4.In *gastric tissue*, the association of antioxidants with conventional anti-ulcerous therapy led to the significant decrease of prooxidant indicators (PC: $p<0.001$), respectively the significant increase of antioxidant indicators (capacity of DH: $p=0.008$).

5.In the case of conventional anti-ulcerous therapy and in case of association of a medication with antioxidant potential, I noticed the macroscopic and histological healing of lesions, without significant differences from the point of view of success rate.

6.The clinical evolution of patients was favourable in both lots, without significant differences from the point of view of subjective expression of disease.

7.**The supplementation with antioxidants** did not determine a supplementary significant improvement (correlation coefficient *Spearman* $\rho>0.05$) of the balance of indicators of oxidative stress from serum and gastric tissue, compared to the situation when only the conventional anti-ulcerous therapy was administered.

Evolution under treatment of parameters of oxidative stress in patients with chronic gastritis with and without infection with *H. pylori* – clinical study

❖ Objective of study

The objective of the study was the observation of involvement of oxidative stress in the inflammatory lesions of gastric mucosa. We wanted to investigate the effects of administration of eradication therapy, respectively anti-ulcerous therapy on the gastro-duodenal mucosa in patients diagnosed with chronic gastritis with and without infection with *Helicobacter pylori* and whether the administration of antioxidants (vitamin A, C, E and selenium) exerts a role of protection of mucosa.

❖ Material and method

The study was carried out in the period 2004-2008 in the Medical Clinic I on a number of 123 patients with the diagnosis of chronic gastritis (GC) determined by clinical, endoscopic and histological criteria. The simultaneous presence of infection with *Helicobacter pylori* was proven by the test of urease and by histological method for bioptical samples taken at the level of gastric antrum. All the patients were informed on the study and signed the written consent. They were evaluated at the moment of diagnosis and 7 days after the end of indicated therapy.

Lots of study

The patients were divided in four lots as follows:

- **Lot I** - 28 patients with chronic gastritis without infection with *Helicobacter pylori* (GC Hp-) who received gastric anti-secretion therapy.
- **Lot II** - 34 patients with chronic gastritis without infection with *Helicobacter pylori* (GC Hp-) who received gastric anti-secretion therapy; they also received a medication with antioxidant properties administered during the anti-ulcerous therapy.
- **Lot III** - 37 patients with chronic gastritis with infection with *Helicobacter pylori* (GC Hp+) who received gastric anti-secretion therapy, respectively eradication therapy for Hp;
- **Lot IV** - 24 patients with chronic gastritis with infection with *Helicobacter pylori* (GC Hp+) who received gastric anti-secretion therapy, respectively eradication therapy for Hp; they also received a medication with antioxidant properties administered during the anti-ulcerous therapy.

The distribution of patients did not record significant differences depending on age and gender.

Treatment

-*Gastric anti-secretion therapy* - it was done with inhibitors of pump of protons (IPP): Omeprazol, in dose of 2x20 mg/day for 2 weeks [19-22].

-*Eradication therapy for infection with *Helicobacter pylori** – in the first 7 days of treatment we associated Amoxicillin 2x1000 mg/day and Clarythromycin 2x500 mg/day.

-*Antioxidant therapy* – consisted of administration for the whole duration of anti-ulcer treatment, of a medication with antioxidant properties (Triovit 2x1 capsules/day), having in composition of each capsule: selenium 50 micrograms, provitamin A (beta-carotene)10 mg, vitamin C (ascorbic acid) 100 mg and vitamin E (acetate of DL-tocopherol) 40 mg.

Taking biological samples (blood and tissue)

It was done before the initiation of therapy, 7 days after its end. We took 10 ml of venous blood, which was immediately centrifuged for 5 minutes at 3500 rotations/min. After obtaining the plasma, it was frozen and kept until the moment of processing for the determination of parameters of oxidative stress. The tissue was taken under the form of bioptical samples taken at the level of gastric antrum; the biopsy fragments were used for the test of urease, for the histopathological examination and for the determination of parameters of oxidative stress.

❖ Results

1.In the patients with **chronic gastritis without infection with *H. pylori*, the therapy with IPP** determined in the prooxidants from serum a significant decrease of PC ($p=0.034$), but without significant variations of MDA ($p=0.079$); at the level of *gastric tissue* the level of PC dropped significantly ($p<0.001$);

2. In these patients, *the antioxidants* did not record significant variations at serum level (DH: $p=0.072$, SH: $p=0.373$), and in gastric tissue (DH: $p=0.092$);
3. In patients with **chronic gastritis without infection with *H. pylori*, the therapy with IPP and antioxidants** determined in the prooxidants from serum a highly significant decrease of MDA ($p=0.001$), and of PC ($p<0.001$); at the level of *gastric tissue*, the level of PC decreased very significantly ($p<0.001$);
4. In these patients, in the serum antioxidants, the therapy determined a significant increase of groups SH ($p=0.036$), but without significant variations of DH ($p=0.058$); *in gastric tissue*, the level of DH recorded a significant increase ($p=0.013$);
5. In patients with **chronic gastritis and infection with *H. pylori*, the therapy with IPP, respectively eradication therapy determined in the prooxidants from serum a significant decrease of MDA** ($p=0.004$), and of PC ($p=0.001$); at the level of *gastric tissue*, the level of PC decreased very significantly ($p<0.001$);
6. In these patients, *the serum antioxidants* did not record significant variations (DH: $p=0.137$, SH: $p=0.376$); but in *gastric tissue* we recorded a significant increase of DH ($p=0.039$);
7. In patients with chronic gastritis and infection with ***H. pylori*, the therapy with IPP, respectively eradication therapy, and antioxidants** determined in the prooxidants from serum a significant decrease of MDA ($p=0.003$), and of PC ($p=0.022$); at the level of *gastric tissue*, the level of PC decreased very significantly ($p<0.001$);
8. In these patients, *the serum antioxidants* did not record significant variations (DH: $p=0.203$, SH: $p=0.626$); but in *gastric tissue* we recorded a significant increase of DH ($p=0.038$);
9. In the case of therapy with IPP, respectively eradication therapy, and in case of association of a medication with antioxidant potential, we noticed the macroscopic and histological healing of lesions, without significant differences from the point of view of success rate.
10. The clinical evolution of patients was favourable in all lots, without significant differences from the point of view of subjective expression of disease.
11. **The supplementation with antioxidants** did not determine a supplementary significant improvement (correlation coefficient *Spearman* $\rho>0.05$) of the balance of indicators of oxidative stress from serum and gastric tissue, compared to the situation when only the therapy with IPP, respectively eradication therapy was administered.

Comparative study of balance oxidants/antioxidants between patients with chronic gastritis with and without infection with *H. pylori*, respectively between patients with chronic gastritis and duodenal ulcer with infection with *H. pylori*

❖ Objective of study

The objectives of this study were the appreciation of differences of indicators of oxidative stress from serum and gastric tissue between patients with gastritis without infection and patients with gastritis with infection with *Helicobacter pylori*, respectively between patients with gastritis and patients with **duodenal ulcer** with infection with *Helicobacter pylori*.

❖ Material and method

I took into consideration all the patients included in clinical studies carried out during the research of thesis, a total number of 209 patients. For these patients I used for evaluation the values of indicators of oxidative stress from serum and tissue obtained at the moment of diagnosis.

The patients were examined in the period 2004-2008 in Medical Clinic I. The diagnosis of chronic gastritis or duodenal ulcer was established by clinical, endoscopic and histological criteria. The simultaneous presence of infection with *Helicobacter pylori* was proven by test of urease and by

histological method for bioptical samples taken at the level of gastric antrum. All the patients were informed of the study and signed the written consent.

Lots of study

The patients were divided in three lots as follows:

- **Lot I**- 62 patients with chronic gastritis without infection with *Helicobacter pylori* (GC Hp-);
- **Lot II**- 61 patients with chronic gastritis with infection with *Helicobacter pylori* (GC Hp+).
- **Lot III**- 86 patients with duodenal ulcer with infection with *Helicobacter pylori* (UD Hp+)

The distribution of patients did not record significant differences depending on age and gender.

Taking biological samples (blood and tissue)

From each patient we took 10 ml of venous blood, used for obtaining the plasma, which was frozen and kept until the moment of processing for the determination of parameters of oxidative stress. The tissue was taken under the form of bioptical samples taken at the level of gastric antrum; the biopsy fragments were used for the test of urease, for the histopathological examination and for the determination of parameters of oxidative stress.

❖ Results

1. In the patients with chronic gastritis, we did not notice significant differences of levels of indicators of oxidative stress from serum between the lots with infection and without infection with *Helicobacter pylori* (MDA: $p=0.750$; PC: $p=0.276$; DH: $p=0.721$; SH: $p=0.528$).
2. The infection with *Helicobacter pylori* did not determine a significant difference at the level of *antrum tissue* between the indicators of oxidative stress in patients with chronic gastritis (PC: $p=0.410$; DH: $p=0.550$).
3. In patients with infection with ***Helicobacter pylori***, in the serum prooxidants, we noticed a higher level of carbonilated proteins ($p<0.001$) in the lot with duodenal ulcer compared to the lot with gastritis; *malondialdehida* did not record significant differences ($p=0.240$).
4. In these patients, in the serum antioxidants we noticed a lower level of groups of sulphurhidril ($p=0.034$) in the lot with duodenal ulcer compared to the lot with gastritis; the capacity of donor of hydrogen did not record significant differences ($p=0.255$).
5. In gastric tissue we did not record significant differences of levels of indicators of oxidative stress between the patients with gastritis and patients with duodenal ulcer.

General conclusions

1. **The chronic digestive experimental exposure to aspirin** determines a significant decrease of level of serum antioxidants and in gastric tissue, without bringing important changes of level of indicators of serum prooxidants; *the preventive administration of therapy with IPP* is accompanied by the improvement of balance of oxidative stress by increasing the serum antioxidant defense and reducing the level of indicators of prooxidants in gastric tissue; *the supplementation with antioxidants* determines an obvious increase of antioxidant defense of gastric tissue compared to the situation when only therapy with IPP was administered, phenomenon that is not highlighted at serum level.
2. The chronic exposure to aspirin determines ulcerous lesions of gastric mucosa in all the animals of experience; the preventive therapy with IPP improved significantly the anatomic pathological aspect of gastric mucosa in the animals to which aspirin was administered. The supplementation with antioxidants of anti-ulcerous therapy protected extra from the aggression of aspirin, and the lesions of gastric mucosa are comparable with the lesions of gastric mucosa of animals from the witness lot.
3. In patients with **duodenal ulcer and chronic gastritis with or without infection with Hp**, *the conventional anti-ulcerous therapy, respectively the association of antioxidants* determines a significant improvement of balance of oxidative stress in serum and in gastric tissue, expressed by reduction of indicators of prooxidants, respectively the increase of indicators of antioxidants.
4. In the case of conventional anti-ulcerous therapy and in case of association of a medication with

antioxidant potential, I noticed the macroscopic and histological healing of lesions, without significant differences from the point of view of success rate checked endoscopically. The clinical evolution of patients was favourable in both lots, without significant differences from the point of view of subjective expression of disease.

5. *The addition of antioxidant medication* does not determine a supplementary significant improvement of balance of indicators of oxidative stress from serum and gastric tissue, compared to the situation when only conventional anti-ulcerous therapy is administered.

6. In patients with chronic gastritis, the infection with *Helicobacter pylori* does not determine significant changes of the level of indicators of oxidative stress at serum level and in gastric tissue.

7. In patients with infection with **Helicobacter pylori**, there are no significant differences of levels of indicators of oxidative stress from gastric tissue between patients with chronic gastritis and patients with duodenal ulcer; but in serum, the patients with duodenal ulcer have a high significant level of indicators of prooxidants, respectively a low significant level of indicators of antioxidants.

Personal contributions and priorities of research from doctoral thesis

- I managed to make an experimental model of gastric ulcers by chronic digestive exposure to aspirin, model which allowed the study of dynamics of parameters of oxidative stress from serum and gastric tissue.
- I proved that the infection with *Helicobacter pylori* does not determine changes of parameters of oxidative stress in serum and gastric tissue of patients with chronic gastritis.
- I proved that the association of medication with antioxidant potential with anti-ulcerous therapy, respectively eradication therapy for Hp, in an application over a short or average period of time does not bring any benefit on the balance oxidants-antioxidants from serum and gastric tissue, respectively on the anatomic pathological aspect of gastric mucosa in patients with chronic gastritis or duodenal ulcer.

Selective bibliography

1. Demir S, Yilmaz M, Koseoglu M, et al. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk J. Gastroenterol.* 2003; 14(1):39-43.
2. Nair, Satheesh MD, Norkus, et al. Micronutrient Antioxidants in Gastric Mucosa and Serum in Patients with Gastritis and gastric Ulcer: Does *Helicobacter pylori* Infection Affect the Mucosal levels?. *Journal of Gastroenterology* 2000;30:381-385.
3. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TRJ, et al. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut* 1994; 35: 179-185.
4. Perry MA, Wadhwa S, Parks DA, et al. Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach. *Gastroenterology*; 1986; 90: 362-367.
5. Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of medical and Biological Research* 2002; 35: 523-534.
6. Bala G, Czerwionka-Szaflarska M, Drewa G, et al. An evaluation of the impact of supplementation with antioxidants vitamins on oxidation stress parameters in children with chronic recurrent gastroduodenitis. *Med Sci Monit* 2002; 8: 14-18.
7. Ito M, Guth PH. Role of oxygen-derived free radicals in hemorrhagic shock induced gastric lesions in rat. *Gastroenterology* 1985; 88:1162-1167.
8. Yoshikawa T, Yoshida N, Miyagawa H, et al. Role of lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by burn shock in rats. *J Clin Biochem Nutr* 1987; 2: 163-170.
9. Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1988; 240: 1302-1309.
10. Dejica D. Stresul oxidativ în bolile digestive. În: Dejica D (ed.). *Stresul oxidativ în bolile interne*. Ed. Casa Cărții de Știință Cluj-Napoca 2000: 337-402.
11. Hahn K, Park I, KimY, et al. Role of rebapimide on induction of heat-shock proteins and protection against reactive oxygen metabolite-mediated cell damage in cultured gastric mucosal cells. *Free Rad Biol and Med* 1997; 22 (4): 711-716.
12. Fornai M, Natale G, Colluci R, et al. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID- induced gastric mucosal damage. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2005; 372: 79-87.
13. Banerjee D, Maity B, Nag SK, et al. Healing Potential of *Picrorhiza kurroa* (Scrofulariaceae) rhizomes against

- indomethacin-induced gastric ulceration: a mechanistic exploration. *BMC Compl and Alt Med* 2008; 8(3): 1-14.
14. Jainu M, Vijai Mohan K, Shyamala Devi CS. Gastroprotective effect of *Cissus quadrangularis* extract in rats with experimentally induced ulcer. *Indian J. Med. Res.* 2006; 123: 799-806.
 15. Ozdil S, Yanardag R, Koyuturk M, et al. Protective effects of ascorbic acid, DL- α tocopherol acetate, and sodium selenate on ethanol-induced gastric mucosal injury of rats. *Biological Trace Element Research* 2004; 99 (1-3): 173-189.
 16. Nur Azlina MF, Nafeeza MI, Khalid BAK. Effect of Tocotrienol on Lipid Peroxidation in Experimental Gastritis Induced by Restraint Stress. *Pakistan Journal of Nutrition* 2005; 4 (2): 69-72.
 17. Cioli V, Silvestrini B, Dordoni F. Evaluation of the potential of gastric ulceration after administration of certain drugs. *Experimental and molecular pathology* 1967; 6: 68-83.
 18. Tajuddin , Ahmad S, Latif A, et al. Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& Perry. (clove) on sexual behaviour of normal male rats. *BMC Complement Altern Med.* 2003 ; 3: 6.
 19. <http://aeholland.com/ticprotonpump404.pdf>
 20. <http://www.pbm.va.gov/reviews/ppiabbreviatedreview.pdf>
 21. Hunt RH, Cederberg C, Dent J, et al. Optimizing acid suppression for treatment of acid related diseases. *Dig Dis Sci* 1995; 40(Suppl. 2): 24S-49S.
 22. Leodolter A, Kulig M, Brascha H, et al. A meta-analysis comparing eradication, healing and relapse rates in patients with *Helicobacter pylori*-associated gastric or duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1949-1958.

CURRICULUM VITAE

I. PERSONAL DATA

Last name: Martura

First names: Simona Nicoleta

Date and place of birth: 18th February 1978, Bistrița, Bistrița-Năsăud county

Domicile: Strada Lt. Călin; nr. 1; ap. 6; Bistrița, Bistrița-Năsăud county

Marital status: married

Nationality: Romanian

Email: restemans@yahoo.com

II. STUDIES

- Secondary school: 1984- 1992- General School no. 3, Bistrița
- High school: 1992-1996- Theoretical High School “Andrei Muresanu” Bistrița , profile chemistry-biology
- Higher education: 1997-2003- Faculty of General Medicine, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

III. PROFESSIONAL ACTIVITY

- PhD student with attendance at UMF,, Iuliu Hațieganu “ Cluj-Napoca- 01.11.2003-31. 10.2007
- Resident doctor in gastroenterology at Clinical Hospital of Emergency Cluj-Napoca- 10.03.2005-31.03.2010
- Internships of gastroenterology with the students of Faculty of Medicine of UMF Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca (years IV and V), Romanian department - 2005-2009.
- October 2009- pass of exam for obtaining the title of specialist physician in gastroenterology.

IV. SCIENTIFIC ACTIVITY

1. Degree paper “Implications of oxidative stress in the exposure to ultraviolet radiations. The protective effect of selenium tablets”.

2. Postgraduate courses

- May 2004- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Physiology Department. „Implications of oxidative stress in clinical pathology”.
- January-February 2006- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Medical Clinic I. “General ultrasonography (module I) – for obtaining the certificate of complementary qualification”.
- December 2006- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Medical Clinic III. “Superior digestive endoscopy in diagnosis and therapy”.
- February 2006- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Medical Clinic I. « Immunologic techniques in clinical diagnosis. Practical course. »
- January 2007- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. Medical Clinic I. “Hemostasia – topical issues, clinical applications”.
- March 2008- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. “Course about functional digestive afflictions”
- June 2009- University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca. “Topical issues in gastroenterology, hepatology, endoscopy and digestive oncology”.

3. Participations in scientific events

- **national**

- The 26th Symposium of gastroenterology, hepatology and digestive endoscopy of Timișoara. June 2005.
- Symposium “Study Field and control of cardiovascular risk in diabetes type 2”, 6th March 2006, Sibiu.
- Symposium “Role of clarythromycin in the treatment of diseases of respiratory apparatus”. 22nd-23rd March 2006, Cluj-Napoca.
- the 10th Congress of Gastro-enterology, Hepatology and Digestive Endoscopy, Iasi. June 2008.
- the 29th Symposium of gastro-enterology, hepatology and digestive endoscopy, Cluj-Napoca. June 2009.
- The 10th Congress of the Romanian Society of Physiological Sciences, 6th-7th June, 2008, Cluj-Napoca.
- Symposium “Implications of oxidative stress in neoplastic and non-neoplastic digestive pathology”, 4th December 2007, Cluj-Napoca.

- **international**

- International Symposium “Prospects of agriculture in the 3rd millennium”, USAMV, 7-10th October 2009, Cluj-Napoca
- XXI^e Cours Intensif Europeen SMIER Digestive Endoscopy. 28-29 novembre 2008, Nancy, France.

4. Scientific works published as first author or co-author

- **published in extenso**

- Vălean S, Armean P, Resteman S, Nagy G, Mureșan A, Mircea PA. Cancer mortality in Romania, 1955-2004. Digestive sites: esophagus, stomach, colon and rectum, pancreas, liver, gallbladder and biliary tree. J Gastrointestin Liver Dis 2008; 17: 9-14.
- Simona Martura, Doina Daicoviciu, Soimita Suci, Adriana Mureșan, Doinita Crișan, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Oana Damian. The involvement of oxidative stress in the ulcerous pathology induced in the rats by aspirin. Physiology 2009; 19.3(63): 20-25.
- Simona Martura, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Romeo Chira, Adrian Căținean, Adriana Mureșan, Doina Daicoviciu, Șoimița Suci. Implication of Oxidative Stress in the Human Gastro-Duodenal Pathology Induced by Helicobacter Pylori. Bulletin UASVM, Veterinary Medicine 2009; 66(1): 152-159.

- **releases**

- Mureșan Adriana, Suci Șoimița , Mircea P., Orasan R., Resteman Simona. Implications of oxidative stress in non-neoplastic gastric pathology. The 22nd National Conference of Romanian Society of Physiologic Sciences, “Physiologic integrative mechanisms from cell level to system level” June 2007- oral presentation.
- Roberta Mânzat, Petru Adrian Mircea, Simona Vălean, Romeo Chira, Gabriel Gușetu, Simona Resteman. Seroconversion in system HBsAg/Ac and HBeAg/Ac spontaneous or post therapeutic, in patients with chronic viral hepatitis B detected in childhood - National Congress of Hepatology of Bucharest 2007 – session of posters.
- Simona Resteman, Doina Daicoviciu, Șoimița Suci, Nicoleta Decea, Simona Vălean, R.Chira, A.

Cătinean, I. David, Adriana Mureșan, P.A. Mircea. Variation before and after treatment of parameters of oxidative stress in patients with duodenal ulcer, respectively chronic gastritis with infection with *Helicobacter pylori*. Symposium “Implications of oxidative stress in neoplastic and non-neoplastic digestive pathology”, 4th December 2007, Cluj-Napoca- oral presentation.

- Simona Martura, Petru A. Mircea, Adriana Mureșan, Doina Daicoviciu, Șoimița Suciu, Doinița Crișan, Simona Vălean. Implication of oxidative stress in ulcerous pathology induced by aspirin in rats. “The 29th Symposium of gastroenterology, hepatology and digestive endoscopy” Cluj-Napoca 2009 – session of posters.
- Roberta Mânzat, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Adriana Bințișan, Simona Martura. Seroconversion in system HBeAg/Ac and HBsAg/Ac in patients with chronic viral hepatitis B detected in childhood. “The 29th Symposium of Gastro-enterology, Hepatology and Digestive Endoscopy” Cluj-Napoca 2009- oral presentation.
- Simona Martura, Petru A. Mircea, Simona Vălean, Romeo Chira, Adrian Cătinean, Adriana Mureșan, Doina Daicoviciu, Șoimița Suciu. Implication of Oxidative Stress in the Human Gastro-Duodenal Pathology Induced by *Helicobacter Pylori*. International symposium “Prospects of agriculture in the 3rd millennium”, USAMV, 7-10th October 2009, Cluj-Napoca- oral presentation.
- Simona Vălean, Simona Martura, D Farcău, Alexandru Pârvan, Nicolae Miu, Magda Petrescu, Petru Adrian Mircea. Infection with *Helicobacter pylori* in relation to age and gastro-duodenal benign pathology associated, in an endoscopic population. “The 30th Symposium of Gastro-enterology, Hepatology and Digestive Endoscopy” Craiova 2010 - session of posters.

5. Member of professional associations

- Member of College of Physicians of Romania

5. Research projects

- 2004-2007- member in grant CNCSIS type A code 1305 “Experimental and clinical study regarding the intervention of oxidative stress in the eso-gastro-duodenal non-neoplastic and neoplastic pathology”

6. Languages: English, French

7. PC use

-Applications Office: Word, Excel, PowerPoint.

-Applications of statistic analysis: SPSS