Curs imunodiagnostic în cercetarea clinică

Prof univ dr Oana Cristina Arghir

0722636201; arghir_oana@yahoo.com

Curs I

Introducere în imunitate. Terminologie. Istoric. Self/nonself. Imunitatea înăscută și dobândită

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Alergia

- Terminologie din limba greacă: αλλεργία,
- Înseamnă reacție diferită, reacție anormală, disproporționată, exagerată și excesivă a sistemului imunitar al unui organism, față de antigenele exogene, care sunt bine tolerate de subiecții normali.
- Specialitatea medicală care se ocupă cu studiul bolilor în care sunt implicate procese alergice

Terminologia alergiei

- Inițial, termenul de alergie era echivalent cu termenul de *hipersensibilitate (HS)*.

- Ulterior, pe măsura progresului cunoștințelor științifice din domeniul imunologiei, termenul de alergie a suferit modificări în sens restrictiv.

- S-au diferențiat 2 tipuri majore de HS:
- *hipersensibilitatea imunologică* și
- *hipersensibilitatea non-imunologică*.

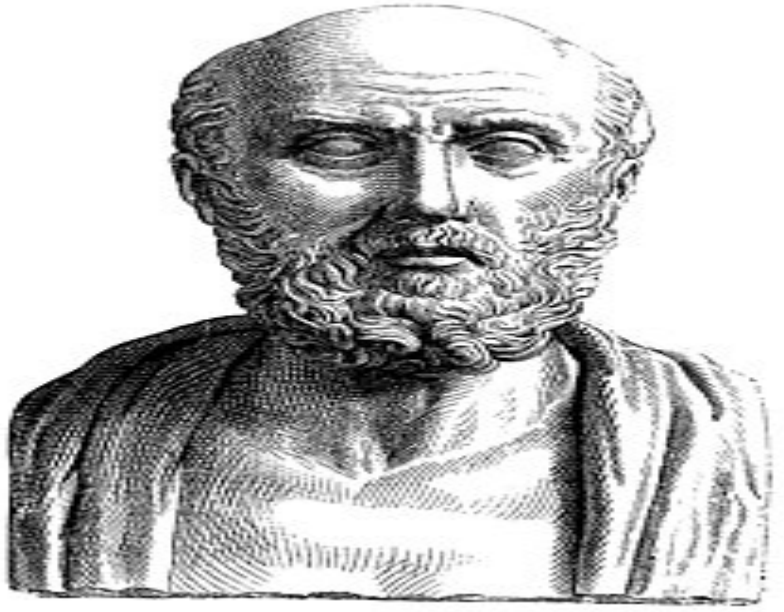
Hipersensibilitate (HS) imunologică

- În cadrul hipersensibilității imunologice s-au diferențiat :
  - *hipersensibilitatea imunologică de tip **alergic*** (față de antigenele exogene, numite alergeni) și
  - *hipersensibilitatea imunologică de tip **auto-imun*** (față de antigenele endogene, numite *auto-antigene*, care sunt structuri proprii ale organismului, percepute în mod patologic ca antigene de către sistemul imunitar).

- Astăzi, termenul de alergie este restrâns la hipersensibilitatea imunologică de tip alergic.

Alergia în antichitate

- În secolul al IV-lea î.e.n., Hippocrate menționează faptul că anumite alimente, deși sănătoase și hrănitoare în principiu pentru majoritatea oamenilor, pot provoca îmbolnăviri la un număr mic de persoane.



Hipocrat, Hipocrate sau Hippocrates din Kos

- 460- 370 î.e.n.
- Cel mai vestit medic al Greciei antice
- Este considerat „părintele medicinei” ca recunoaștere a contribuțiilor sale de durată la domeniu ca fondator al Școlii Hipocratice de Medicină.
- Hippocrate este adesea prezentat ca model de perfecțiune al medicului antic. I se atribuie progresul mare în studiul sistematic al semiologiei, rezumând cunoașterea medicală a școlilor precedente și prescriind practici pentru medici prin Corpusul hipocratic.
- Numele lui este legat de Jurământul lui Hipocrate, un adevărat codice moral al unui medic în exercitarea profesiunii sale, jurământ prestat și în zilele noastre de către absolvenții facultăților de medicină.

Alergia în antichitate

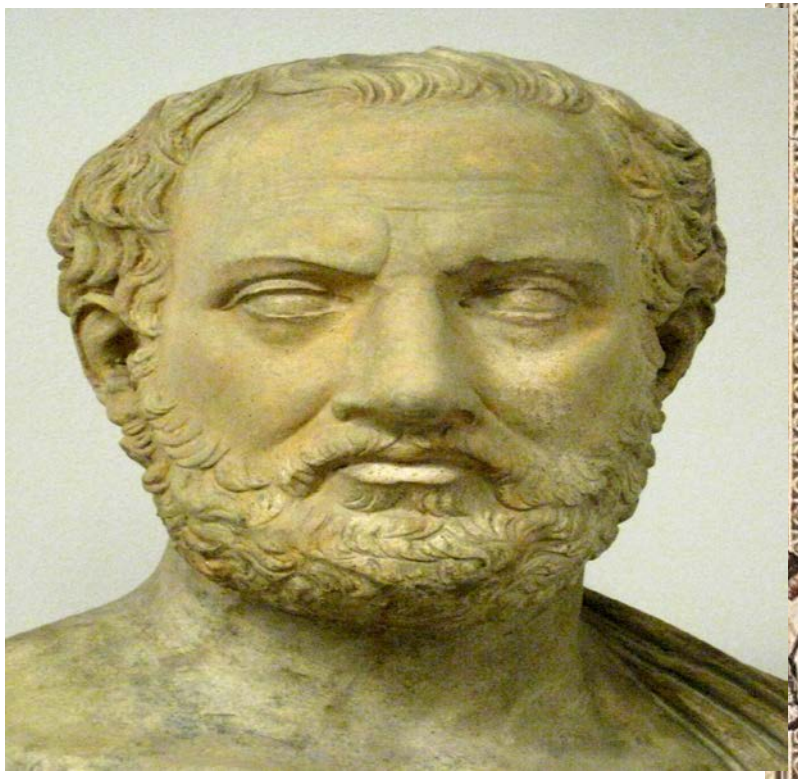
- În secolul I î.e.n., filozoful și poetul roman Lucrețius (Titus Lucretius Carus; 94-55 î.e.n) scrie în cartea *Despre natura lucrurilor* :

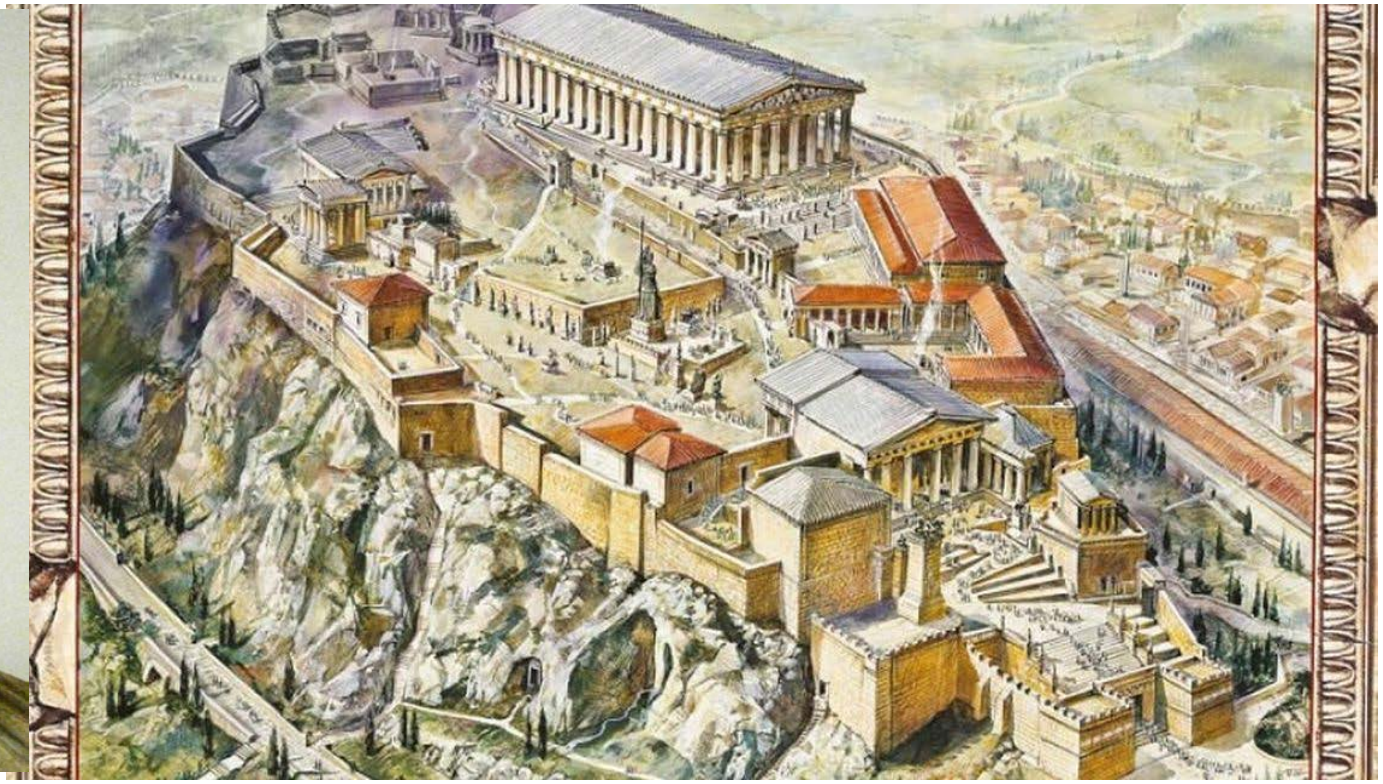
- *”Ceea ce este bun pentru unii poate fi otrăvitor pentru alții”.*

- *La fel și cu alergenii care sunt inofensive la pesoanele normale, nonatopice, nonalergice.*

Primele referiri la imunitate

- Cele mai vechi referiri scrise la fenomenul imunității
  - Tucidide, marele istoric al războiului peloponeziac – Istoria războiului peloponeziac
  - Epidemia de ciumă din Atena, în 430 î.Hr.- 1/3 din populație moare





Pericle, 495-429 î.e.n.

- Mare orator,
- Democrat autentic,
- Om politic al Greciei Antice,
- Șeful partidului democrat,
- Conducătorul Atenei 443-429 î.e.n.-
- Supranumit "Olimpianul"
- Mare protector al științelor și artelor
- Simbolizează gloria Eladei
- Secolul V î.e.n. a fost supranumit "*Secolul lui Pericle*"



„Pericle, fiul lui Xanthippos, a înălţat el însuşi templele acestea şi le-a închinat zeilor.“

Herodot vs Tucidide: Cine e părintele istoriei?



Alergia în antichitate

- În secolul al II-lea e.n.,Galen (129- 200/216? e.n.) menționează reacții anormale provocate de anumite plante, fără a încerca să găsească explicația acestui fenomen.

- Aelius Galenus sau Claudius Galenus din Pergam (sau Galen, Galenos) a fost ultimul mare medic al Antichității.
- Considerat unul dintre fondatorii anatomiei și farmacologiei,
- Influența scrierilor sale (peste 500 texte) s-a păstrat timp de peste un mileniu asupra medicinii ebraice, creștine și musulmane.



Alergia în Evul mediu

- La jumătatea secolului al XVI-lea, reacțiile la agenți externi încep să atragă atenția, fiind semnalate câteva cazuri de *febră de trandafir* (de fapt febra de fân).

- În sec al XVI-lea (1565), chirurgul italian Leonardo Botallo descrie pentru prima oară *simptomele febrei de fân*, pornind de la observațiile efectuate asupra unui pacient căruia trandafirii îi provocau strănut, mâncărimi nazale și dureri de cap.

- Tot în secolul al XVI-lea, alt medic italian, Pietro Andrea Mattioli, descrie cazul unui pacient care se îmbolnăvea ori de câte ori venea în contact cu pisici (*astmul alergic*).

Istoric

- Variola - Mortalitate 35%;
- Ultimul caz atestat 26 oct 1977;

- Tehnica variolării în sec al XV-lea
  - China
  - Crustele uscate derivate din pustulele de variolă erau inhalate



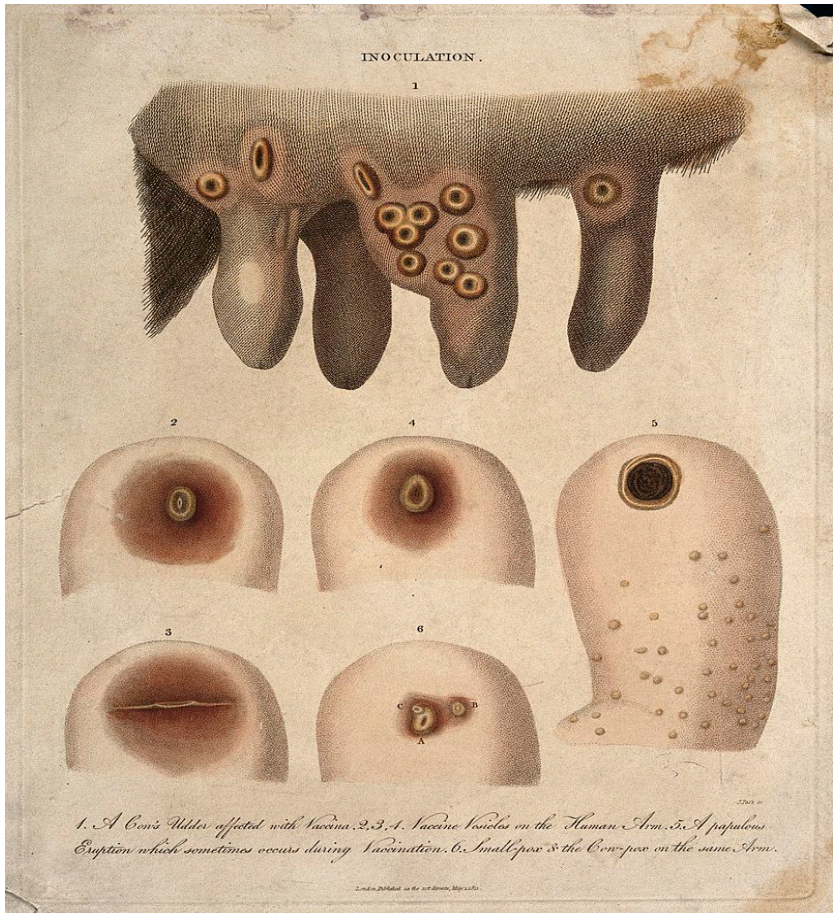
Istoric

- Tehnica variolării în sec al XVIII-lea
  - Turcia
  - Crustele uscate derivate din pustulele de variolă inserate în mici tăieturi ale pielii;
  - În 1718, Lady Mary Wortley Montagu, soția ambasadorului britanic la Constantinopol, a observat efectele pozitive ale variolării asupra populației native și a efectuat tehnica propriilor copii;
    - A importat metoda în Anglia.



Istoria primului vaccin atestat

- Femeile, care mulgeau vacile, contractau adesea variolă, dar aveau forme limitate de boală.
- Termenul „vaccin” provine de fapt de la „variolae vaccinae” - variola vacii.
- La sfârșitul sec al XVIII-lea, Edward Jenner (și alții) au investigat vaccinarea persoanelor cu variolă ca o modalitate de prevenire a variolei
- James Phipps a primit primul vaccin al lui Jenner, 1798.



Eradicarea variolei

- Edward Jenner (1749-1823)
- părintele imunologiei,
- unul din cei 100 de britanici de vază (2002)

- A creat vaccinul împotriva variolei



Eradicarea variolei - Edward Jenner (1749-1823)

- Vaccinul împotriva variolei a cauzat frecvent efecte secundare la persoanele imunodeprimate sau cu diateză atopică:
    - Vaccinia generalizată apare în decurs de o săptămână de la vaccinare, producând leziuni cutanate ușoare.
    - Eczema vaccinatum a fost frecventă la persoanele cu antecedente de eczeme.
    - Vaccinia progresivă gravă provoca ulcere și necroze.



Principiile vaccinării și pasteurizării

- Louis Pasteur (1822-1895)
- Principiile vaccinării (holeră, antrax, rabie) și pasteurizării
  - virulența atenuată a unui agent patogen viu
- El denumește vaccinul de la vacca (lat) în onoarea lui Jenner.
- Competiția Koch – Pasteur



Premiul Nobel pentru imunologie, 1901

- Emil Adolf von Behring (1854-1917)
- Studentul lui Robert Koch
- Fondatorul terapiei cu seruri
  - Antidifteric (1890, Erich Wernicke)
  - Antitetanos (Shibasaburo Kitasato)
  - Serul poate transfera imunitatea
- Premiul Nobel 1901 antitoxina difterică

Imunologia celulară – Fagocitoza

- Ellie Metchnikoff (1845-1916)
- Pionier al imunologiei umorale și celulare
- Părintele imunologiei celulare
- A descris fagocitoza ca parte fundamentală a procesului imun, 1892



Premiul Nobel pentru imunologie, 1908

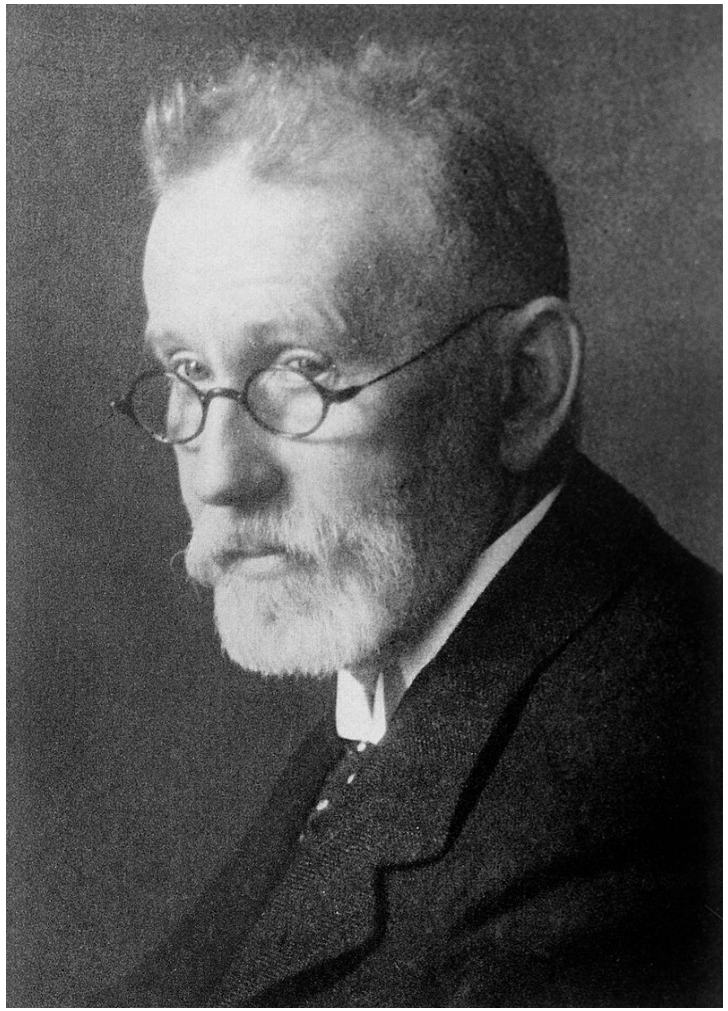
- Fagocitoza, parte fundamentală a procesului imun, 1892
- Fagocitele - Celule devoratoare care intervin în inflamația acută și cronică
- Imunitatea în bolile infecțioase
- *“Există o formă de imunitate dobândită care nu e transferabilă prin ser fără să apreciem rolul limfocitelor în acest proces” (*Ellie Metchnikoff; 1845-1916)



Premiul Nobel pentru imunologie, 1908

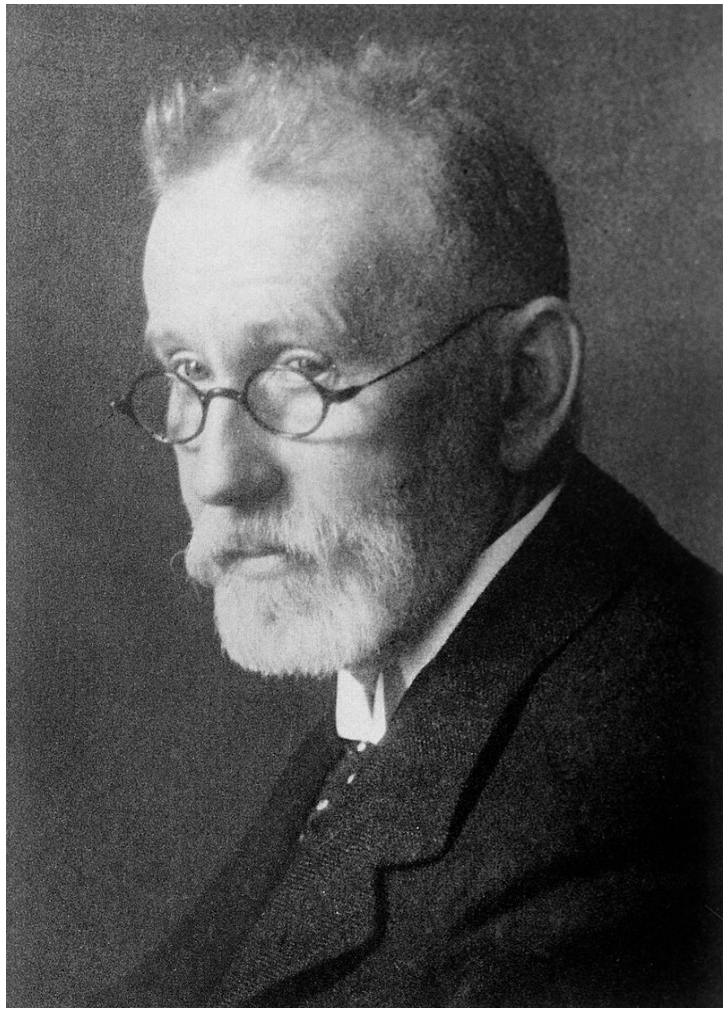
- Paul Ehrlich (1854 – 1915)

- Colorația Gram, albastru de metilen
- Hematologie, imunologie, chimioterapie
- Autoimunitatea – horror autotoxicus
- Magic bullet (conjugat Ac- medicament)
- A descoperit tratamentul sifilisului în 1909
  - (Salvarsan)



Serul antidifteric

- Paul Ehrlich (1854 – 1915)
- Ser antidifteric descoperit de P Erlich împreună cu Emil Adolf von Behring (1854-1917)
- Premiul Nobel în 1908, pentru bazele teoretice ale imunologiei
- A descris un gen de rickettsii îi poartă numele (Ehrlichia)
- Crater al lunii a fost botezat în 1970



Vaccinul antidifteric

- Vaccinul antidifteric (mixt de toxină difterică și ser terapeutic antitoxină), 1913;



- Timbru de comemorare (1954) Ehrlich & Behring (colegi la Institutul Robert Koch)



Alergia în Epoca Modernă

- În secolul al XIX-lea, medicul britanic John Bostock descrie, în 1819, manifestările clinice ale febrei de fân (rinita alergică), care va fi numită o vreme *catarul lui Bostock*, fiind considerată apanajul claselor mijlocii și superioare.
- Termenul actual de *alergie* a fost introdus în medicină de medicul pediatru vienez Clemens von Pirquet, în 1906.
- El a observat că pacienții trataţi cu ser antidifteric obținut de la cai prezentau simptome ale unei boli care nu avea nici o legătură cu difteria.
- Corpul pacienților *reacționa diferit* - unii prezentau o reacție alergică.

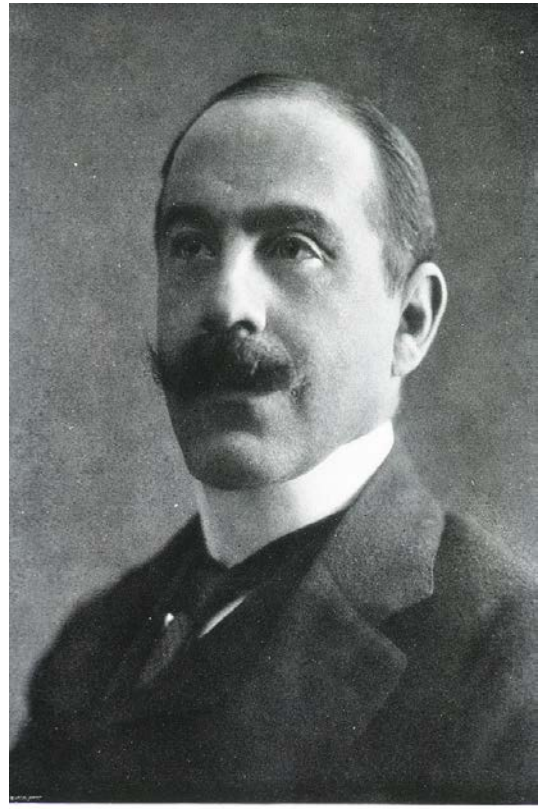
Premiul Nobel pentru imunologie, 1919

- Jules Bordet (1870-1961)
- Descoperirea rolului sistemului complement în cadrul sistemului imun.
- 1895, efectul bacteriolitic al alexinei (componentă din ser)
- 1899, hemoliza după expunerea la ser imun, proces care implică complementul seric.



Rolul complementului seric în practica medicală

- Reacția Bordet Wassermann cu rol în serodiagnosticul sifilisului
- descoperită de August von Wassermann (1866-1925)
- test serologic pentru diagnosticarea sifilisului bazat pe fixarea C seric (tehnică folosită și azi).

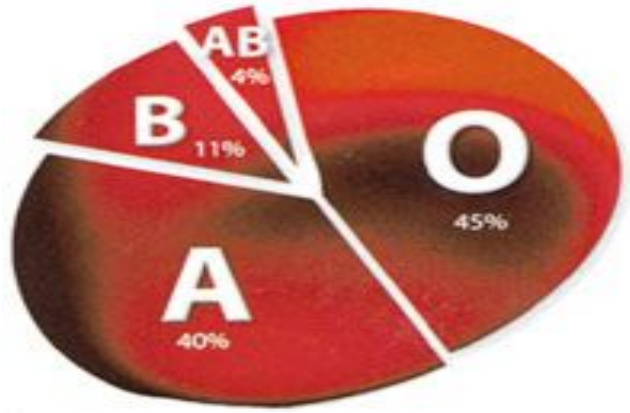


* 1866 Professeur August Von WASSERMANN

Premiul Nobel pentru imunologie, 1930

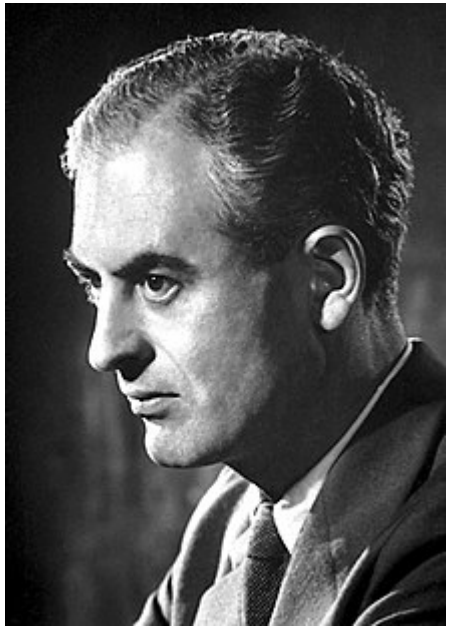
- Karl Landsteiner (1868-1943)
  - 1900, identifică grupele sanghine- aglutininele, factorul Rhesus
  - Transfuzia cu sânge cu aceeași grupă de sânge
  - Părintele medicinei transfuzionale
  - **1920 imunologie și alergie**
  - Specificitatea nelimitată a Ac inclusiv la diverse substanțe chimice de sinteză
  - 1909, identifică virusul poliomielitei împreună cu Erwin Popper, Constantin Levaditi





Premiul Nobel pentru imunologie, 1960

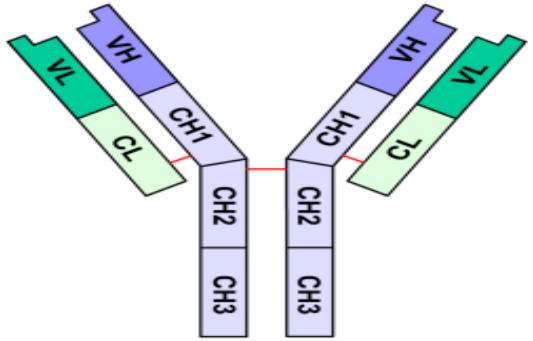
- Peter Brian Medawar (1915-1987)
  - Toleranța imună dobândită
  - Rejectul de grefă de organ- Părintele transplantului



- Frank Macfarlane Burnet (1889-1985)
  - Teoria selecției clonale
  - Producerea anticorpilor, 1941
  - Bolile autoimune patogenie și terapie, 1963
  - Recunoașterea imunologică a self-ului
  - Virusul gripei
  - Coxiella burnetti (Febra Q)



Premiul Nobel pentru imunologie, 1972



- Gerald Maurice Edelman (1929-2014)
- Rodney Robert Porter (1917-1985)





- Structura chimică a anticorpilor
- Punțile disulfidice
- Secvențierea aminoacizilor

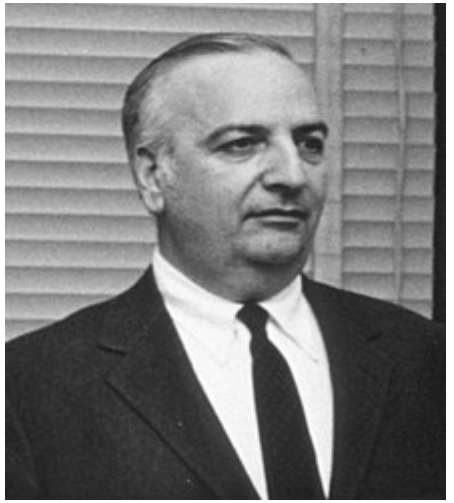
Premiul Nobel pentru imunologie, 1980

- Descoperirea genelor complexului major de histocompatibilitate care codifică proteinele celulare de suprafață importante în distincția dintre self și non-self

- Baruj Benacerraf (1920-2011)

- Jean-Baptiste-Gabriel-Joachim Dausset (1916-2009)

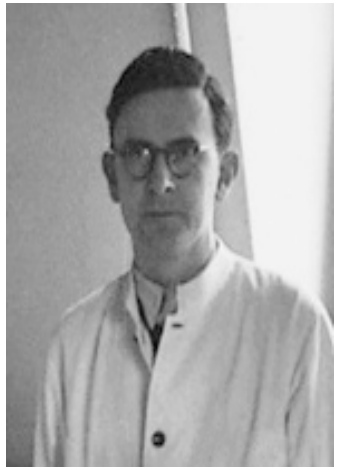
- George Davis Snell (1903-1996)
  - Conceptul antigenelor
  - Transplant de organe



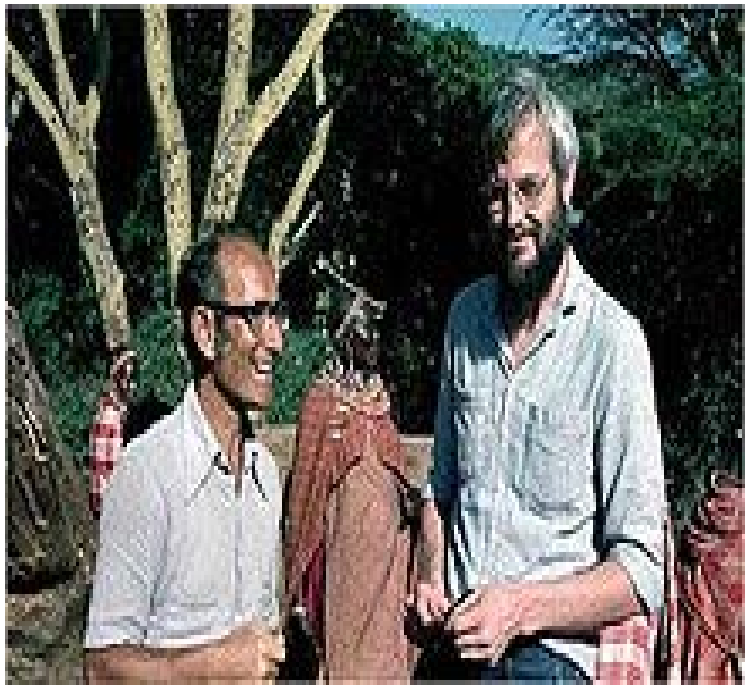


Premiul Nobel pentru imunologie, 1984

- Anticorpii monoclonali



- Niels Kaj Jerne (1911-1994)
  - Selecția naturală în formarea anticorpilor
- Georges Jean Franz Köhler (1946-1995)
- César Milstein (1927-2002)
  - A dezvoltat tehnologia hibridomului cuplat cu progresia secvențierii acizilor nucleici pentru a pune în evidență modificările de la nivelul Ac după întâlnirea cu Ag
  - **Teste de imunodiagnostic**
  - **Memoria imunologică**
  - **Imunitatea protectivă**



Premii Nobel în imunologie, 1987-1996

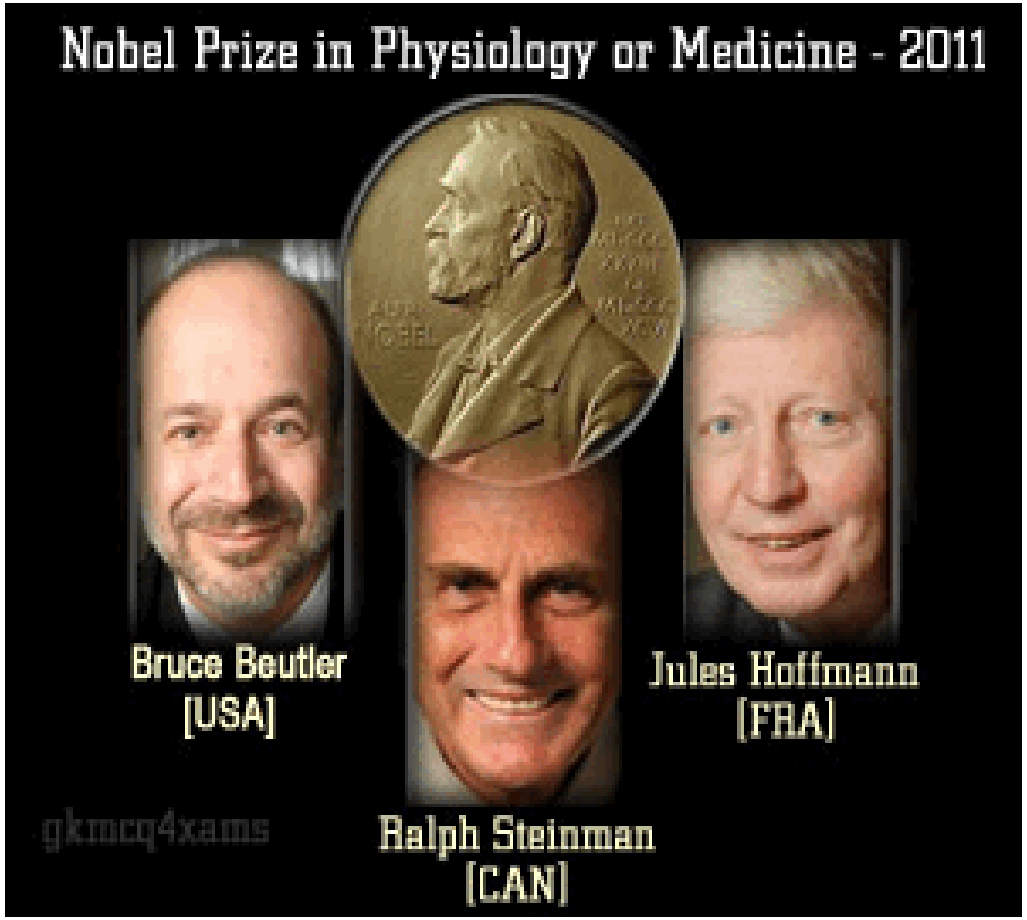
- 1987, Susumu Tonegawa (1939-),
  - Descoperirea originii genetice a marii diversități a anticorpilor (Ac)

- 1989, J Michael Bishop (1936-) & Harold E Varmus (1939-),
  - Descoperirea originii celulare a oncogenelor retrovirale

- 1996 Peter C Doherty (1940-) & Rolf M Zinkernagel (1944-)
  - Descrierea mecanismelor prin care moleculele MHC sunt folosite de leucocite în detecția și distrugerea celulelor infectate viral
  - Specificitatea apărării imune mediate celular

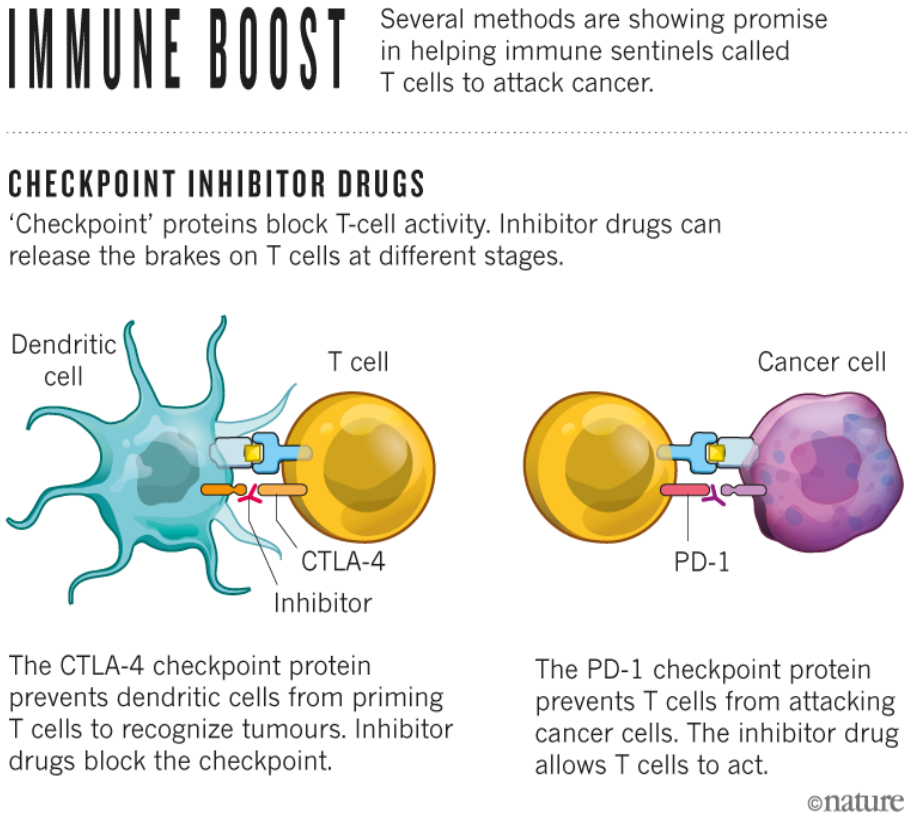
Premiul Nobel pentru imunologie, 2011

- Activarea imunității înnăscute
  - Bruce Beutler, Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA
  - Jules Hoffman, French National Centre for Scientific Research, Institute of Cell and Molecular Biology, Strasbourg, France
- Rolul celulelor dendritice în imunitatea adaptativă
  - Ralph Steinman, Rockefeller University, New York, USA



Premiul Nobel pentru imunoterapia oncologică, 2018

- James Allison - University of Texas, Anderson Cancer Center, Houston, USA
- Tasuku Honjo - Kyoto University, Japan
- Inhibarea reglării imune negative
- Medicamente care inhibă mecanismele CTLA-4 & PD-1
- ‘immune checkpoint therapy’
- Anti PD-1 eficient în cancerele pulmonare & renale, limfoame și melanoame.
- Terapie combinată anti CTLA-4 și PD-1.



Progresul cunoașterii

- Progresele înregistrate în ultimii ani în domeniul imunologiei au elucidat fenomenele moleculare ce au loc la diverși Ag, inclusiv la administrarea unor medicamente, dar apariţia unor efecte secundare nedorite previzibile sau imprevizibile este greu de evitat.

- Un număr mare de maladii se caracterizează printr-o varietate de anormalităţi imunologice, autoimunitate şi deficienţe în reglarea imunităţii.

- Astmul bronșic alergic a fost definit din perspectiva fenotipurilor inflamatorii.

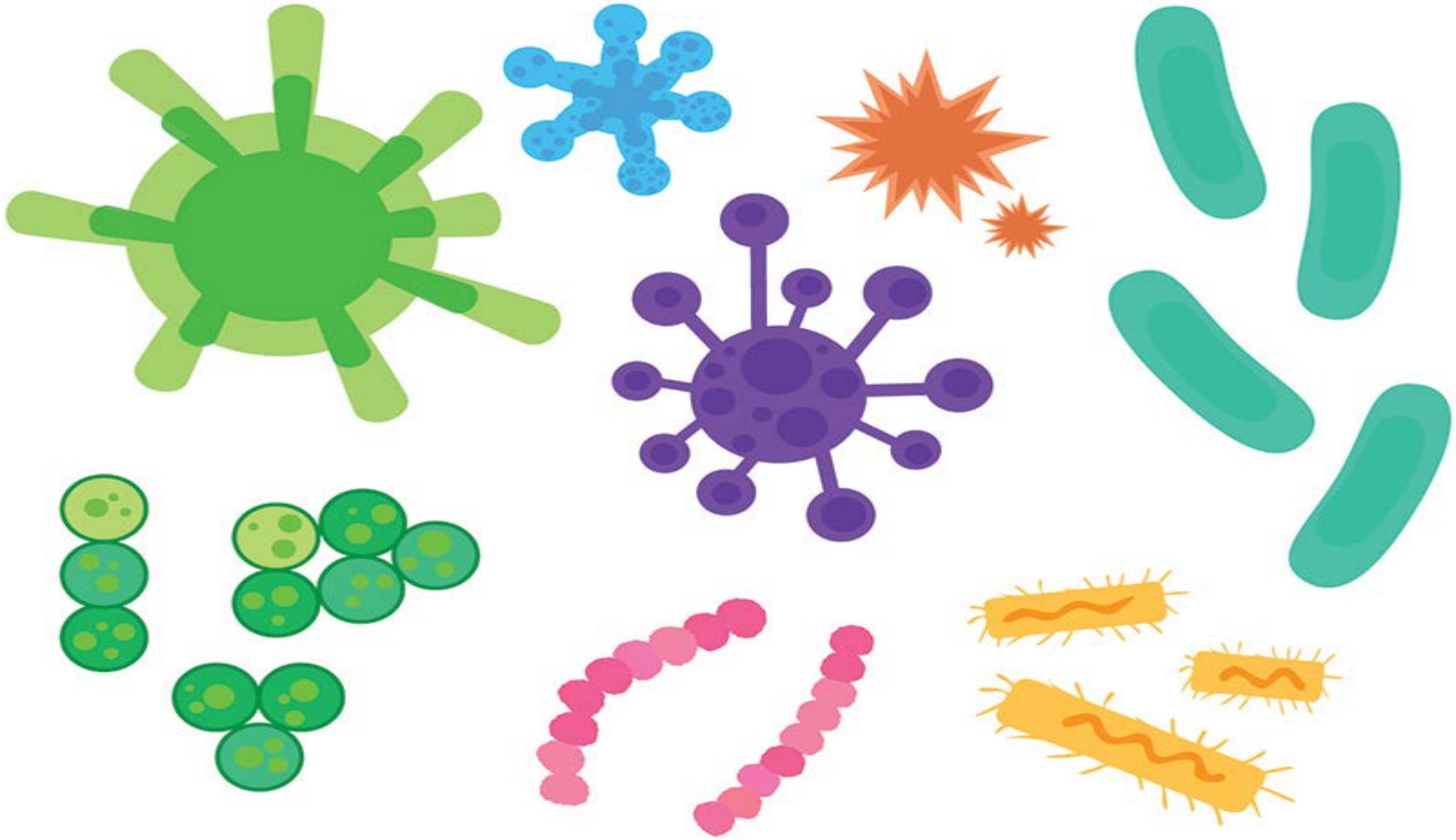
- În imunologia tumorilor canceroase, au fost descrise etapele interacţiunii între sistemul imun şi celulele canceroase şi apariţia neoplasmului la pacienţii cu boli ale sistemului imun.

ALERGOLOGIE SI IMUNOLOGIE CLINICA

- Alergologia este o specialitate medicală din cadrul imunologiei clinice care se ocupă cu diagosticarea și tratarea alergiilor.

- Alergia și imunologia implică gestionarea afecțiunilor legate de sistemul imunitar.

Imunologia, o știință complexă




STAND

Rezistență și imunitate

- Existenţa tuturor organismelor vii este condiţionatã de activitatea unor mecanisme de rezistenţă şi de imunitate, capabile să-și protejeze individualitatea, prin mecanisme de recunoaştere şi diferenţiere a substanţelor proprii (**self**) de cele străine (**nonself**).

Mecanismele de rezistență și imunitate

- Mecanismele de rezistenţă şi imunitate sunt prezente pe toată scara evolutivă a organismelor, începând cu bacteriile şi sunt într-o continuă și complexă evoluţie.

- În mod normal, aceste mecanisme sunt :
- perfect tolerante faţă de self,
- se activează şi reacţionează mai mult sau mai puţin agresiv pentru a îndepărta, a neutraliza sau a distruge substanţele nonself.

Self Nonself

- Organismul încearcă să-și protejeze structurile proprii (**self**) se protejeze de structurile **non-self** punând în gardă **sistemul imun**.

- Fie ca este vorba despre substante chimice, praf, polen, intepaturi de insecte sau medicamente, orice alergen provenit din mediul extern care pătrunde în corpul uman produce o reacție la nivelul acestuia.

- Intensitatea reacției imune , în funcție de trigger sau alti factori interni, poate fi de la moderată pana la severă.

- Unele persoane sunt mai predispuse să facă alergii – este vorba despre cele care au un istoric de alergie în familie.

Funcțiile majore ale sistemului imun

- Sistemul imun are 2 funcții majore:
  - **Recunoașterea selfului**
  - **Răspuns - Reacția la nonself**

Antigenele de histocompatibilitate

- La om, MHC se numește sistemul antigen leucocitar uman (HLA);
- Funcția fiziologică a moleculelor MHC este aceea de prezentare a antigenelor limfocitelor T (limfocitele T recunosc antigenele doar dacă sunt prezentate într-un complex alături de molecule MHC);
- tipul I de MHC este responsabil de prezentarea de antigene intracelulare (antigene virale, tumorale sau antigene self) limfocitele CD8+;
- clasa II de MHC prezintă antigene extracelulare (antigene bacteriene) limfocitele CD4+.

Imunitatea înnăscută și dobândită

- Răspuns imun = răspuns colectiv coordonat la introducerea unor substanțe străine (Ag) într-un organism mediat de celule și molecule ale sistemului imun.

- Rolul sistemului imun(organe, celule, molecule):
- Apărarea împotriva microbilor
- Apărarea împotriva creșterii celulelor tumorale
  - Distrugerea celulelor tumorale
- Homeostazia
  - Distrugerea celulelor anormale sau celule moarte (Leucocite, Hematii, complexe Ag Ac)

Răspunsul imun

- Functie de originea reactivității imune:
- Imunitate înnăscută,
- Imunitate dobandită pe cale naturală sau artificială (postvaccinal).

- Funcție de efectorul celular:
- Imunitate umorală,
- Imunitate celulară.

Imunitatea înnăscută (Non-Specifică)

- Bariere fiziologice
  - pH (stomac)
  - Temperatura (febra)
  - Factori solubili (interferoni, lisozim)

- Bariere inflamatorii
  - Vasodilație
  - Permeabilitate capilară
  - Infiltrație leucocitară
    - Chemotactism
    - Aderență
    - Permeabilitate capilară

- Bariere fagocitice
  - Celule specializate să performeze fagocitoza (macrofage, neutrofile)

Imunitatea adaptativă (Specifică)

- 4 Caracteristici:
  - Memorie
  - Diversitate
  - Specificitate Antigenică
  - Recunoaștere Self/nonself

Imunitatea adaptativă activă și pasivă

Imunitate	Activă	Pasivă
Naturală	Infecție clinică, sub-clinică	Lapte matern, transplacentar
Artificială	Vaccinare: Germeni vii, omorâți, Ag purificați	Seruri imune, Celule imune

Răspunsuri imune

Bariere mecanice & secretorii

Piele & Mucoase

Suprafețe rapid regeneratare, mișcări peristaltice, covorul mucociliar, tusea, voma, lacrimile, urina

Invazie & infecție

Imunitate înnăscută (II)

Apărare celulară și umorală

lizozim, secreții mucoase, glande sebacee, aciditatea gastrică, organisme comensale, complementul, fagocitoza, NK cel

Colaborare II IA
Macrofage secretă citokine (IA)
Mf/DCs prezintă Ag
Limfocitele cresc eficacitatea Mf (II)

Inflamație (CRP, Hi, Kinine)

Imunitate adaptativă (IA)

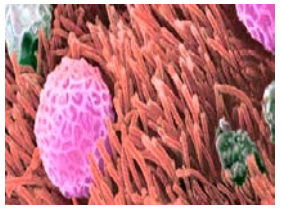
Apărare celulară și umorală

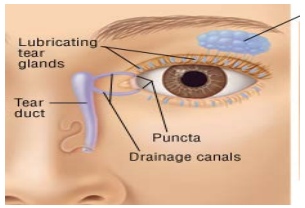
LB, Anticorpi, citokine, LT helper, T citotoxice

Imunitatea înnăscută

- Bariere mecanice și secretorii
  - skin, acidic pH in stomach, covorul muco-ciliar

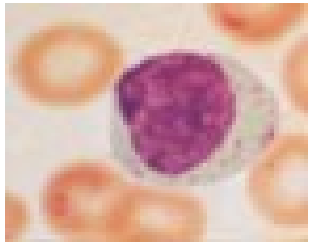




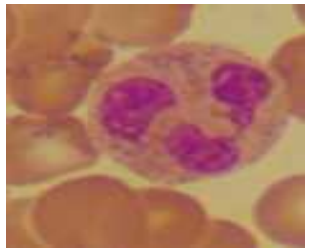


- Mecanisme umorale
  - lizozim, proteine esențiale, complement, interferoni

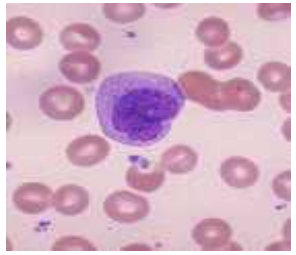
- Mecanisme celulare
  - Celule natural killer NK, neutrofile, monocitele migrează în țesuturi și devin macrofage, bazofile, mastocite, bazofile, eozinofile



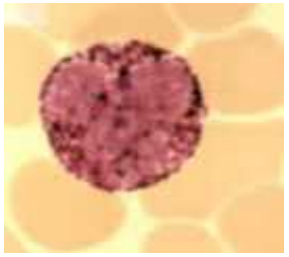
Celule NK



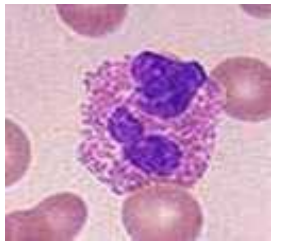
Neutrofile



Monocite
Macrofage



Bazofile &
Mastocite



Eozinofile

Răspunsul imun

- **Favorabil**
- conferă protecție imunologică = apărare împotriva microorganismelor patogene și împotriva celulelor care au suferit transformări maligne

- **Nefavorabil**
- determină fenomene alergice, autoimune,
- Intervenție împotriva țesuturilor străine transplantate

Curs II
Organe și țesuturi ale sistemului imun. Celulele imune. Mediatorii moleculari

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

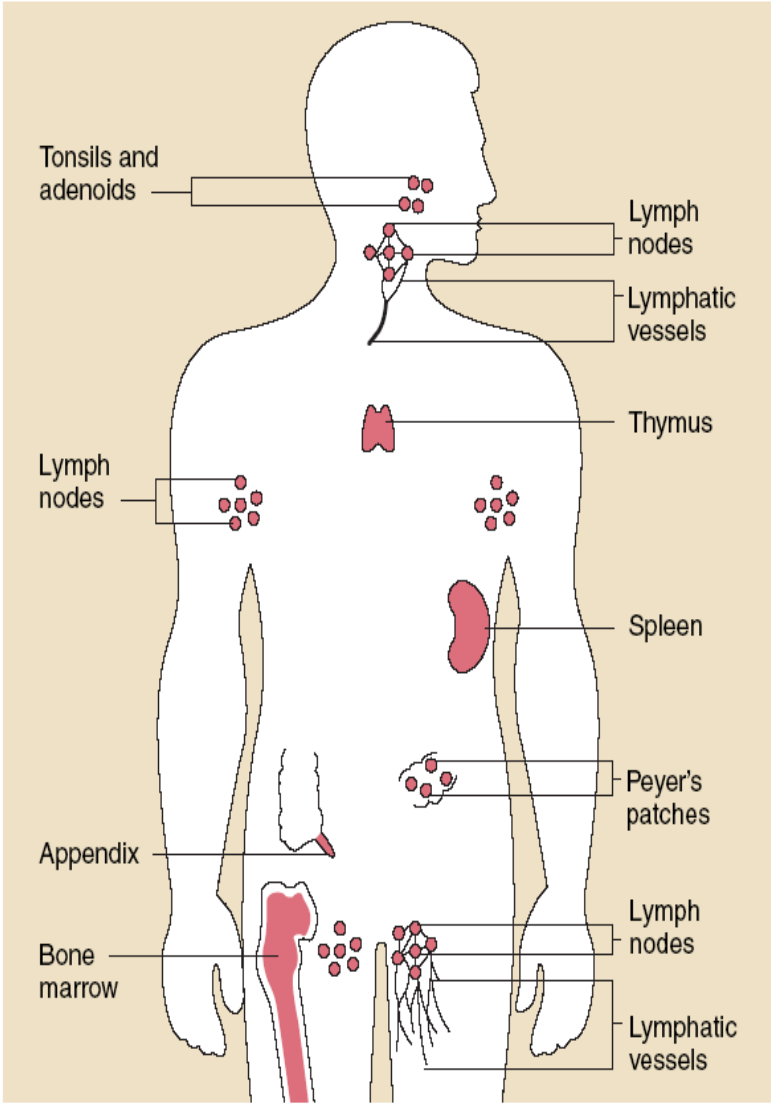
Clasificare:

- Organe și țesuturi ale sistemului imun (SI)
  - măduva osoasă,
  - timus,
  - ganglioni limfatici,
  - splină,
  - SI asociat mucoaselor.
- Celule SI
  - Fagocite
  - Limfocite
  - APC (Antigen-presenting cells- Celule prezentatoare de antigen)
- Mediatorii moleculari ai reactivității imunitare –
  - complement,
  - citokine,
  - interleukine,
  - interferoni.

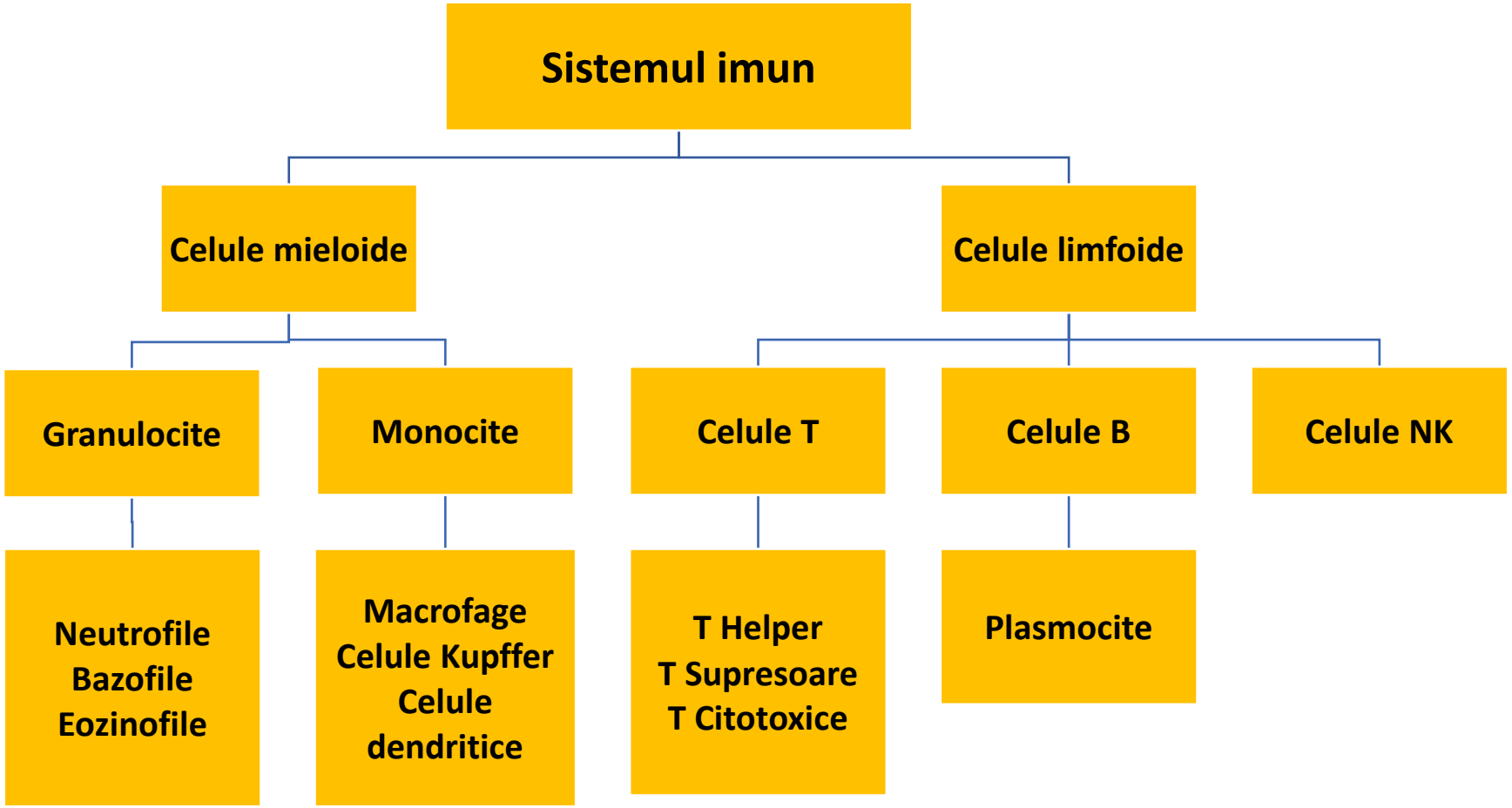
Organele sistemului imun

- **Primare**: dezvoltarea și maturarea celulelor imune
  - Măduva osoasă: diferențierea și maturarea celule B
  - Timus: maturarea celulelor T
  - Bursa lui Fabricius: maturarea celulelor B

- **Secundare**: activarea celulelor imune
  - Splină
  - Ganglioni limfatici
  - Țesut limfoid asociat mucoasei



Celulele sistemului imun



Celulele sistemului imun

Fagocite:

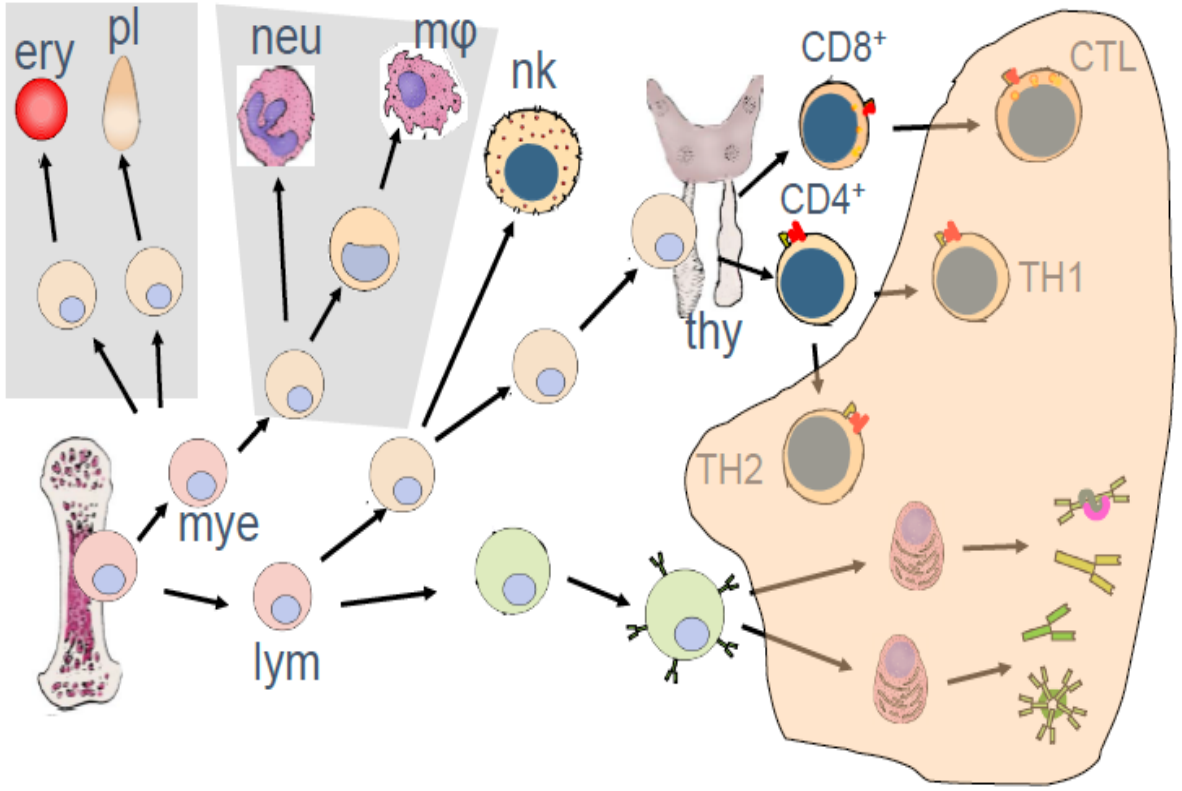
- Macrofage
- Granulocite
- Celule dendritice

Limfocite:

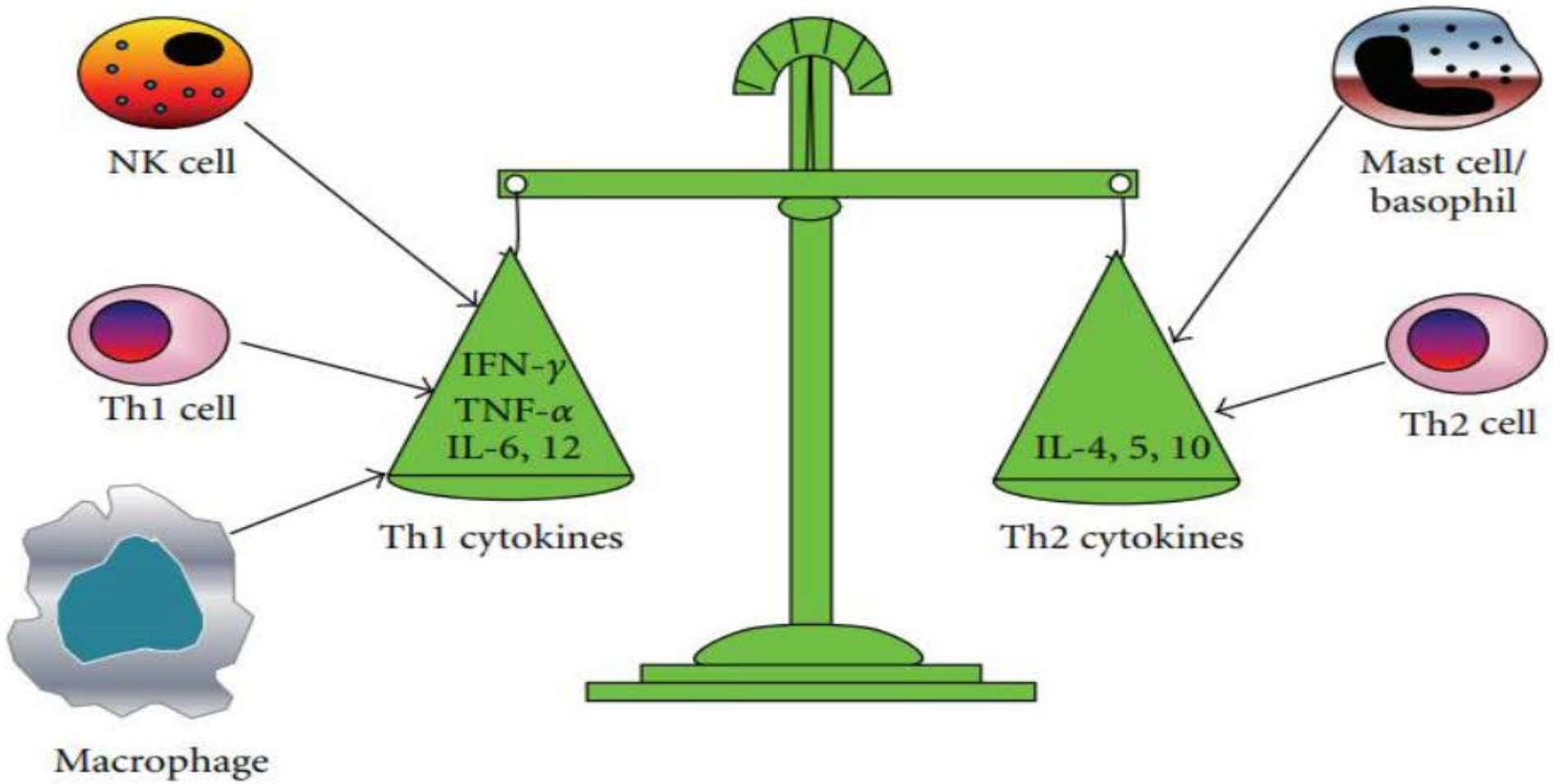
- Celule T
- Celule B

Celule prezentatoare de Antigen:

- Celule dendritice

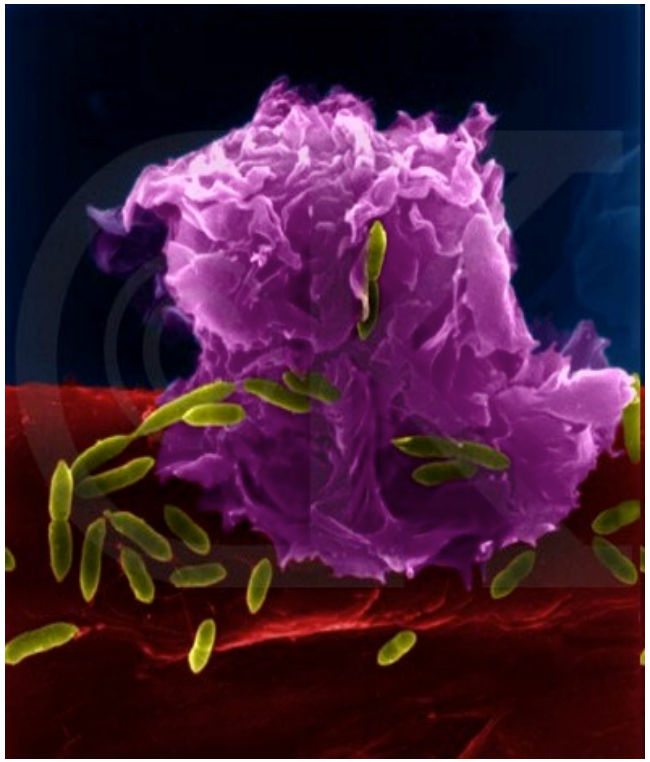


Echilibrul imunologic

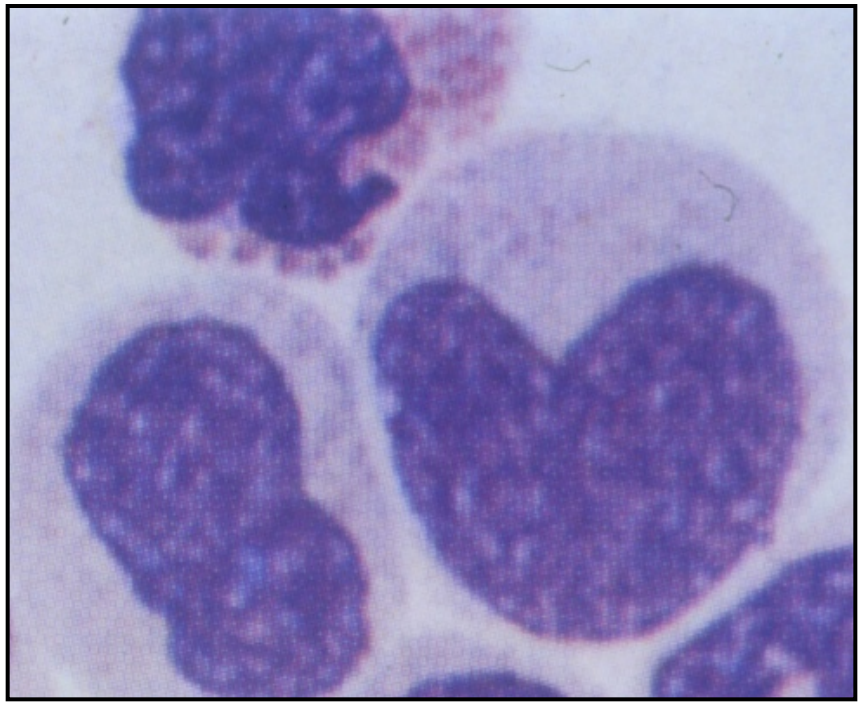


Fagocitele

- Răspunsul imun înnăscut
- Înglobează și digeră agenți patogeni și particule
- Recunosc **modelele specifice agentului patogen:**
  - Modele moleculare asociate agenților patogeni (PAMP)
  - Modele moleculare asociate microbilor (MAMP)
- Reglementează alte celule imune
  - Secretă mediatori
  - Contact direct
- Macrofage, granulocite, celule dendritice

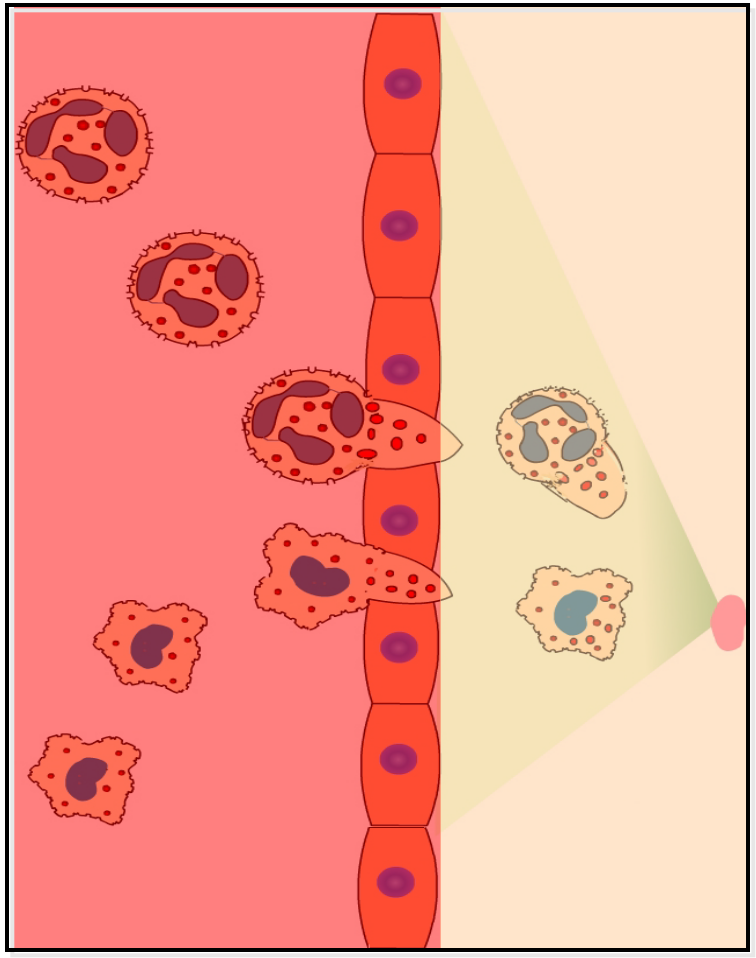


Fagocite - Macrofagele



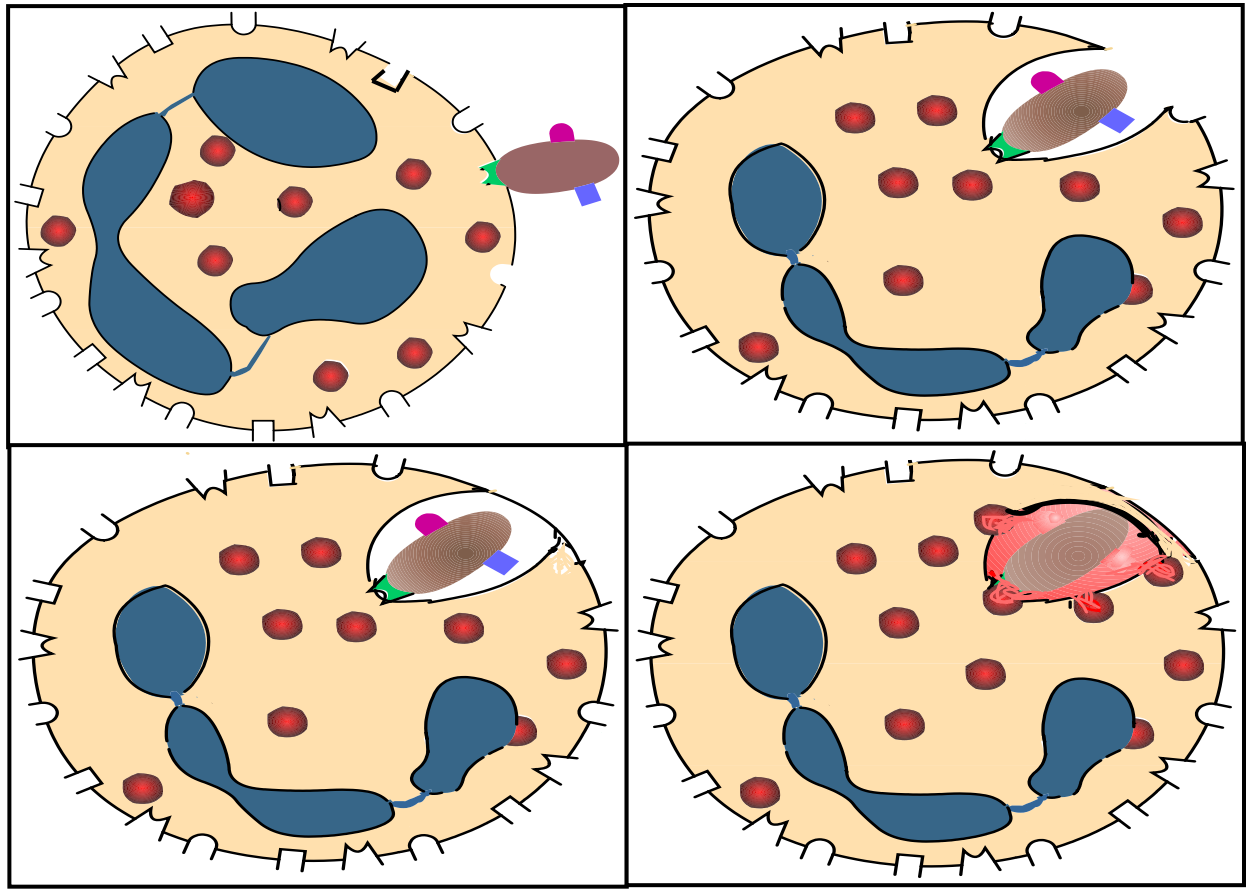
- Nucleu caracteristic
- Lizozomi
- Marker membranar CD14

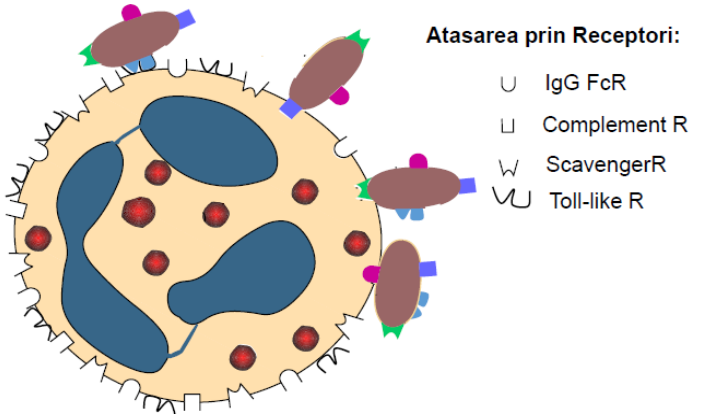
Raspunsul fagocitului în infecții



- Semnale SOS
  - peptide continand N-formil methionina
  - proteine din sistemul complement
  - citokine eliberate de macrofagele tisulare
- Răspuns fagocitic
  - Aderența vasculară
  - Diapedeza
  - Chemotaxie
  - Activare
  - Fagocitoză și distrugere

Fagocitoza





- Inițiere
- Atașare prin receptori
- Extinderea pseudopodelor
- Formarea fagozomului
- Fuzionarea granulelor
- Formarea fagolizozomului

Macrofagele, prin receptorii de suprafaţă NU vin niciodată în contact direct cu determinanţii Ag de suprafaţă ai bacteriilor => proces imunologic specific.

Etapele fagocitozei (1)

- **Endocitarea Ag captate**

- se realizează ca urmare a emiterii de pseudopode şi constituirea unor vacuole
- proces înalt consumator de energie

- **Prelucrare/procesare Ag endocitate, mai ales în compartimentul lizozomal**

- realizeză fragmentarea Ag nativ, cu generarea de numeroase fragmente ce poartă denumirea de epitopi
- din mai mulţi epitopi, macrofagele realizează selecţia epitopilor imunodominanţi (cei mai capabili de declanşarea unui răspuns imun)

- **Conservarea unei mici părţi din epitopii imunodominanţi în anumite subsectoare ale macrofagului**

- importantă pentru că din cantitatea conservată ulterior macrofagul va elibera mici cantităţi de epitopi, ceea ce conduce la întreţinerea în timp a răspunsului imun

Etapele fagocitozei (2)

- **Cuplarea majorităţii epitopilor imunodominanţi în moleculele MHC => în final complexe MHC-epitopi şi prezentarea Ag**

- complexele majore de histocompatibilitate (MHC)-epitopi sunt prezentate pe membrana macrofagelor
- prezentarea se realizeză în cuplu cu moleculele MHC I, MHC II
- epitopii sunt prezentaţi către Limfocitele T_H, care recunosc doar epitopii prezentaţi în complex cu MHC II
- din totalul macrofagelor:
    - periferice – 75% pot sintetiza MHC II
    - splenice – 50% pot sintetiza MHC II
    - hepatice – 25% pot sintetiza MHC II

Rolul Mf

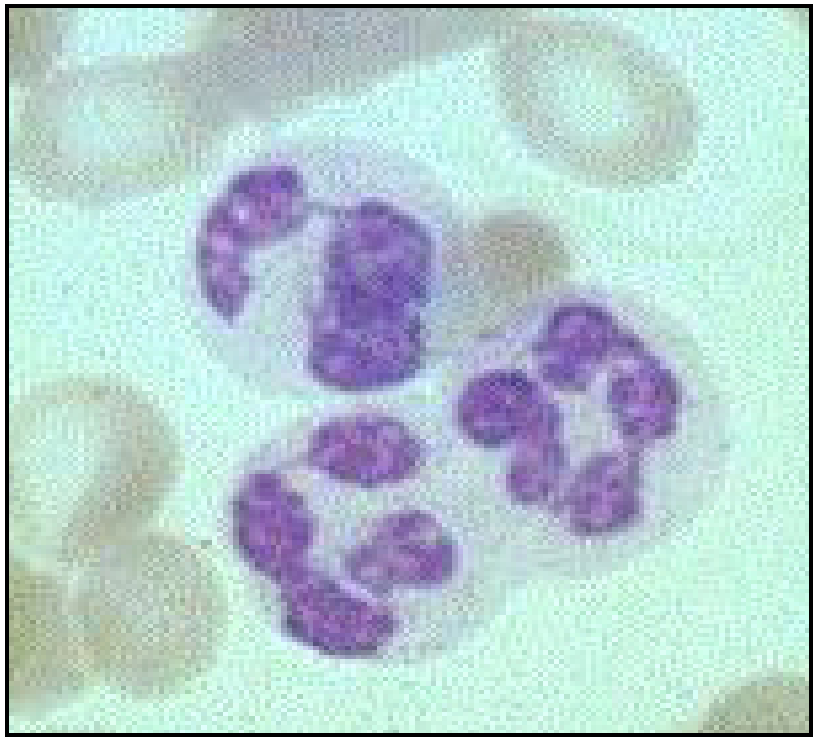
- transportul Ag tisulare prin limfaticele aferente către ariile timodependente (populate de Limfocitele T_H) ale organelor limfoide secundare.
  - Aceste arii timodependente sunt reprezentate de zona paracorticală în ggl limfatici şi de PALS intern în splină (PALS = stratul limfoid periarterial intern)

- dacă macrofagele elaborează şi MHC I şi MHC II => sunt implicate în generarea unor răspunsuri imune

- dacă Mf produc doar MHC I atunci NU sunt implicate în generarea de răspunsuri imune, ele participă în reacţii inflamatorii

- funcţia de APC e condiţionată de receptorii de suprafaţă şi de producerea de MHC II

Fagocite - Neutrofile (PNMs)



- Nucleu și citoplasmă caracteristice
- Granule
- Marker membranar CD 66

Caracteristicile granulelor neutrofilelor

Granulații primare	Granulații secundare
azurofiliacee; caracteristice pentru neutrofilele tinere;	Specifice pentru neutrofilele mature
Conțin proteine cationice, lizozim, defensine, elastaza și **mieloperoxidază**	contin lizozim, **lactoferina si proteina care leagă vit.B12**

Celulele dendritice

- produse de măduva hematogenă
- seamănă morfologic cu celulele dendritice din SNC
- au ca principală caracteristică morfologică faptul că în condiţii de repaus prezintă prelungiri citoplasmatice sau pseudopode
- pseudopodele au 3 caracteristici:
  - sunt numeroase sau foarte numeroase
  - sunt fine, efilate
  - sunt lungi, depăşesc de 4 – 5 ori diametrul celulei propriu-zise

Celulele dendritice

- NU reprezintă o clasă omogenă, ci una foarte heterogenă atât morfologic, cât şi funcţional

- Se disting 6 clase distincte, împărţite în 3 clase mai mari
  - **Nelimfoide**
  - **Limfoide**
  - **Circulante**

Celule dendritice nelimfoide

- *CD Langerhans* distribuite în:
- ţesutul cutanat (limita dermo – epidermică) unde formează un strat celular aproape continuu;
- submucoasa bucală;
- submucoasa tractului digestiv;
- submucoasa şi mucoasa colului uterin
- aspect atipic dendritic, sunt celule stelate (prezintă pseudopode puţine şi groase)
- ele dispun de receptori C_R, $F_c\gamma R$ din abundenţă, însă NU elaborează MHC II
- funcţia lor: transportă Ag de la nivelul ţ. cutanat sau alte locaţii către ariile timodependente ale organelor limfoide secundare.
- Prezintă Ag către LT_H

- *CD Interstiţiale*
- ele sunt distribuite ubicuitar la nivelul interstiţiilor celulare
- au aspect morfologic atipic dendritic (sunt stelate)
- seamănă cu CD Langerhans.
- prezintă receptori opsoninici, dar NU elaborează MHC II
- ele transportă Ag tisulare către ariile timodependente ale organelor limfoide secundare

Celule dendritice limfoide

- *CD Interdigitate*
- distribuite NUMAI în ariile timodependente ale organelor limfoide secundare
- celule tipic dendritice
- sunt cele mai mari producătoare de MHC II, însă NU au receptori de captare Ag (C_R, $F_c\gamma R$)

- *CD Foliculare*
- sunt prezente în foliculii limfoizi (aglomerări de limfocite B).
- sunt în zonele bursodependente: cortexul ganglionar, respectiv PALS extern a splinei
- expun pe suprafaţa lor în cantităţi enorme receptori de captare (C_R, $F_c\gamma R$).
- NU elaborează MHC II
- joacă un rol important în concentrarea în zone bursodependente a Ag declanşatoare, ceea ce favorizează recunoaşterea Ag de Limfocitele B.
- au o funcţie de filtru celular

Celule dendritice circulante

- *CD Sangvine*
- prezente NUMAI în circulaţie, dar în număr mic (sub 0,1% din totalul PMN)
- NU dispun de nici una din categoriile de molecule prezente pe suprafaţă

- *CD Văluroase*
- celule aplatizate care prezintă pe flancuri oscilaţii sau ondulaţii ale membranei
- sunt prezente NUMAI în limfă
- NU dispun de nici un fel de receptori şi nici NU elaborează molecule de MHC II

Celule Killer nespecifice

NK and LAK (lymphokine activated killer) cells

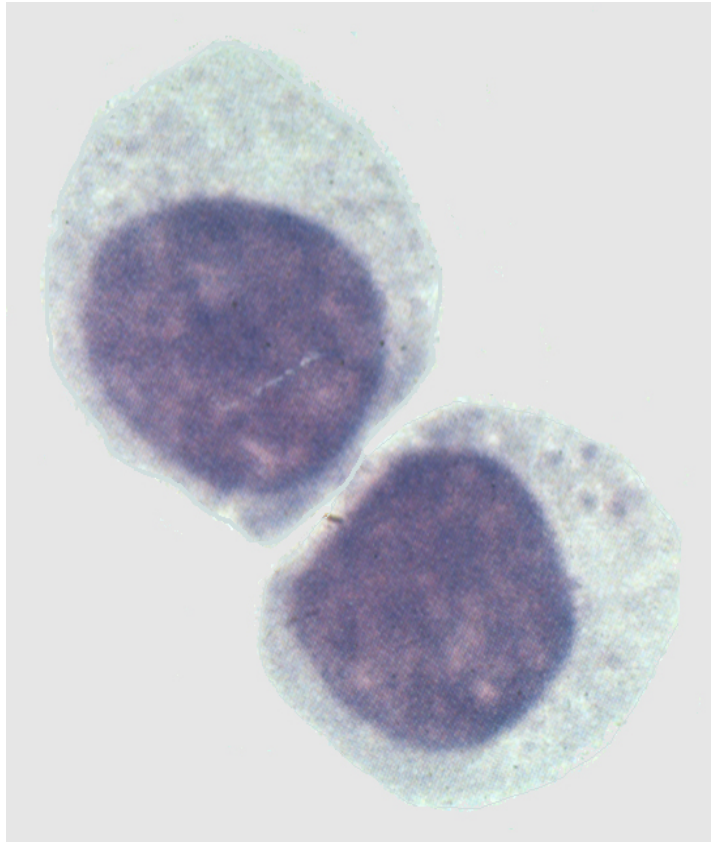
ADCC (K) cell (Antibody Dependent Cellular Citotoxicity)

Macrofage activate

Eozinofile

Ucid nonself și ținte self alterate

Celule Natural Killer (NK)



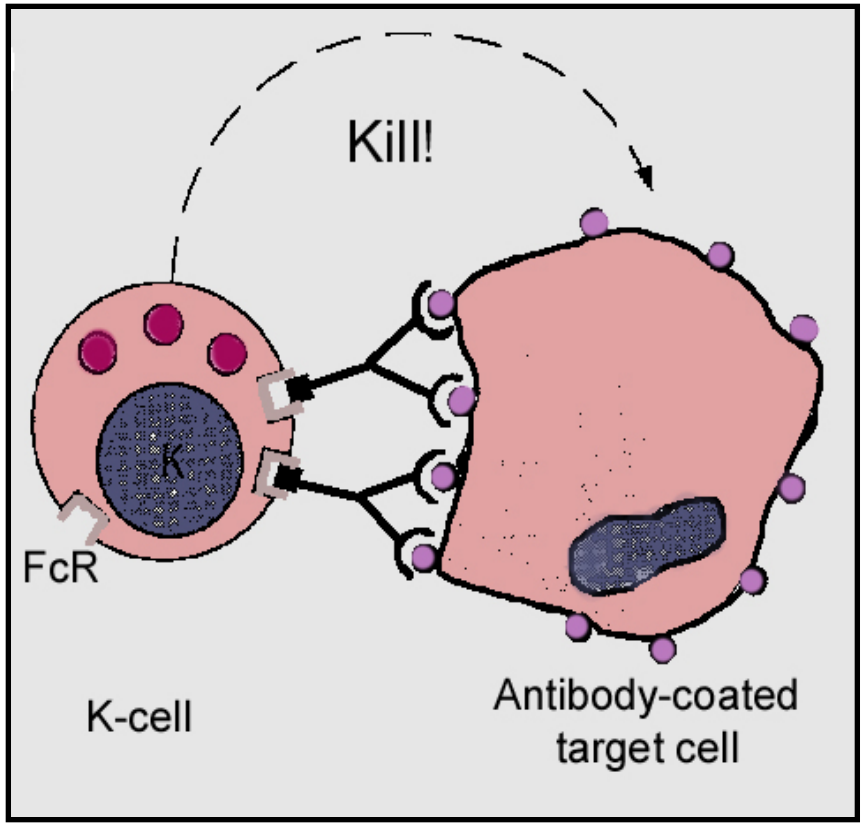
- Se mai numesc limfocite mari granulate (large granular lymphocytes - LGL)
- Distrug direct celulele infectate cu virus sau celule maligne
- Se identifică prin prezenta markerilor CD56 & CD16 și absența lui CD3
- Activate de IL2 si IFN-γ

Killer Cells

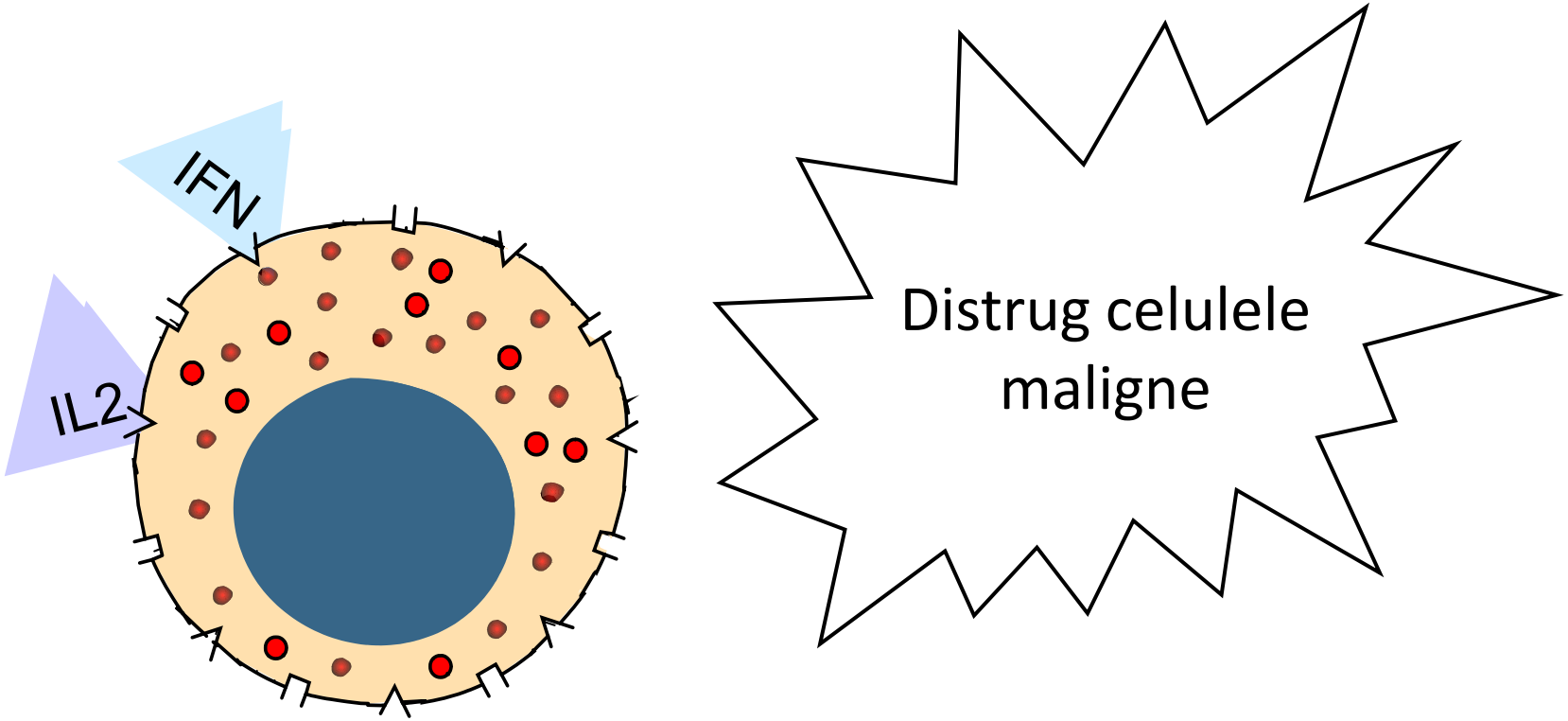
- Nedefinite morfologic
- mediate ADCC

(antibody dependent cellular cytotoxicity)

- au Fc receptor care inițiază distrugerea celulară
- Recunosc țintele acoperite cu Ac (antibody coated targets)
- Pot fi: NK cells (IgG), macrofage (IgG), eozinofile (IgE) sau alte celule (IgG)



Lymphokine Activated Killer (LAK) cell (celule killer activate de limfokine)



Limfocitele

- Imunitatea adaptativă
- Memorie imunologică: Recunosc **Ag**

- Celule B
  - Recunosc antigenul direct
  - Produc anticorpi (Ig)
- Celule T
  - Recunosc antigenul în asociere cu APC (antigen-presenting cells)
  - T helper (Th): Mediatori solubili
  - T cytotoxic cells (Tc): Omoară celulele infectate

Limfocitele

- Limfocitele efectoare pot fi localizate:
  - în circulaţie
  - în organele limfoide, unde sunt prezente majoritatea clonelor de L_B şi L_T

- L_B circulante NU pot fi activate pentru că în mod obişnuit ele NU difuzează extravascular
- $L_{Tcitotoxice}$ pot trece extravascular, dar NUMAI în condiţii speciale (dacă sunt celule cu memorie imunologică)

- Ag NU poate activa limfocitele circulante
- Ag pot activa limfocitele din organele limfoide (ggl, splină).
- Ag ajung acolo ca urmare a faptului că sunt preluate şi transportate acolo de APC

Limfocitele

- Fiecare tip de celulă, B sau T, prezintă specificitate pentru un anumit Ag.
- Sunt capabile să lege structuri moleculare particulare;
- Legăturile specifice sunt posibile datorită prezenței anumitor receptori pentru antigen:
- BCR – B cell receptor for antigen,
- TCR – T cell receptor for antigen

BCR, TCR – proprietăți diferite

- Structură diferită,
- Gene diferite de codificare,
- Diferiți epitopi de care se leagă

BCR, TCR – proprietăți comune

- Sunt proteine membranare,
- Sunt prezente în mii de copii identice expuse pe suprafața celulară,
- Sunt sintetizate înainte ca limfocitul să vină în contact cu Ag.
- Sunt codate de gene specifice,
- Au un locus unic de legare de o portiune a Ag denumita determinant antigenic sau epitop,
- Legarea se realizează prin forțe non-covalente,
- Reușita legării receptorului antigenic de epitop are drept efect:
- Stimularea celulei de a părăsi stadiul G0 și de a intra în ciclul celular;
- Aparitia mitozelor repetate ce duc la dezvoltarea unei clone de celule care poartă acelasi receptor antigenic: ***clonă de celule cu specificitate identică***

Limfocitele T

- Prezintă pe suprafața lor 2 tipuri de receptori (TCR):
  - Alpha/Beta (αβ) T cells,
  - Gamma/Delta (γδ) T cells;
- TCR (alpha/beta T cells) leagă un complex bimolecular de pe suprafața altor celule denumit antigen-presenting cell (APC).
- Acest complex include un fragment antigenic prezentat de către moleculele de histocompatibilitate;
- Acest complex antigen – molecula de histocompatibilitate a fost comparat cu un "hot dog"

Celulele T

- Aparțin uneia dintre cele două clase ce diferă prin prezența unor glicoproteine diferite denumite:
  - CD4,
  - CD8;
- Prezența uneia sau a celeilalte molecule influențează tipul de celulă de care se leagă limfocitul T:
  - CD8+ T cells leagă epitopi ce fac parte din clasa I a moleculelor de histocompatibilitate.
    - Majoritatea celulelor organismului uman prezintă expresia acestei clase;
  - CD4+ T cells leaga epitopi ce aparțin clasei II a moleculelor de histocompatibilitate.

Limfocitele B (LB)

- BCR leagă antigeni solubili,
- Moleculele de Ag legate sunt ingerate de celulele B prin endocitoză mediată de receptor,
- Ag este digerat în fragmente care sunt apoi exprimate pe suprafața celulară,
- Limfocitele Th specifice se leagă de celula B și eliberează limfokine care:
  - Stimulează LB să intre în ciclul celular și să dezvolte (prin mitoze repetate) clone de celule cu receptor BCR identic;
  - Diferențiază LB în plasmocit care va secreta acești receptori (BCR) solubili denumiți din acest moment – anticorpi (Ac)

Plasmocitul

- Celulă specializată în sinteza și secreția de Ac.
- Reticul endoplasmatic extrem de bine reprezentat, fapt pentru care nucleul ia o poziție excentrică,
- Secreția Ac are loc prin intermediul aparatului Golgi prin granule de secreție.

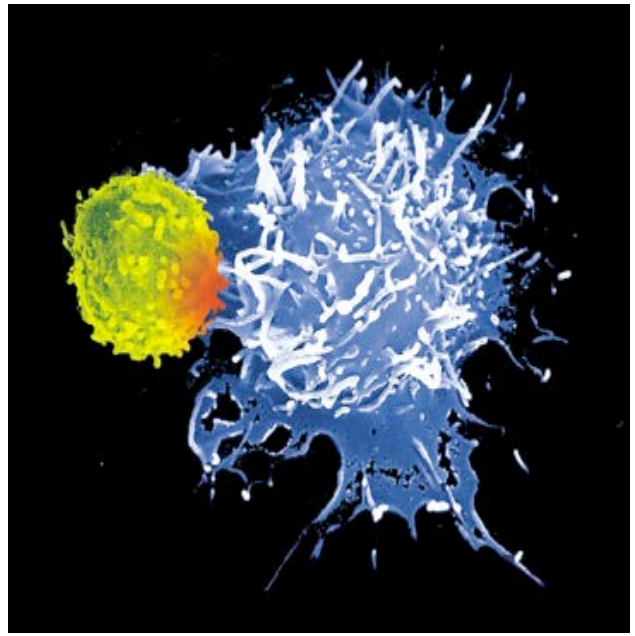
Anticorpogeneza

- Secreţia imunoglobulinelor plasmocitare are loc prin intermediul aparatului Golgi, unde moleculele de imunoglobuline (Ig) ajung prin mici vezicule care burjonează la suprafaţa sacilor ergastoplasmici.

- Din aceşti saci, prin tasare şi fragmentare, se formează mici sferule, înconjurate de o fină membrană: granule de secreţie;

- Granulele de secreţie, eliberate în citoplasmă, ajung la nivelul membranei periferice, unde membrana celulelor fuzionează cu ce celulară şi are loc o deschidere, care permite vărsarea conţinutului imunoglobulinic al granulelor în mediul extracelular

APC (Antigen-presenting cells)



- Veriga dintre imunitatea înnâscută și cea adaptativă
- Procesează antigenul și îl “prezintă” celulelor T
- Celulele dendritice
  - Fagocite și mobile
  - Rezidență pe suprafețele epiteliale și la nivelul țesutului limfoid
  - Mature în răspunsul la tiparele moleculare

APC

- Celule ce joacă un rol esenţial în iniţierea în organele limfoide secundare (ggl limfatici, splină) a unor răspunsuri imune, fie umorale, fie celulare faţă de Ag timodependente.
- În funcţie de profilul lor funcţional se împart în două categorii:
- APC profesionale
  - Macrofagele
  - Celule dendritice
  - Limfocite B
- APC ocazionale
  - Neutrofilele
  - Celulele endoteliale
  - Unele celule epidermice
-

APC profesionale macrofagele

- Celule produse de măduva hematogenă, ce lansează în circulaţia sistemică elemente tinere sub formă de *monocite*

- După un foarte scurt tranzit intracirculator (24-36h), trec în diverse ţesuturi şi organe, fiind atrase sub acţiunea unor factori chemotactici
- în final => *macrofage* care devin *macrofage activate*
- ajunse în stadiul de macrofag activat pot îndeplini funcţia de APC

Cum comunică celulele imune?

- Mediatori solubili
  - Extracelulari
  - Receptor/ligand-specifici
  - Paracrin (mod de secreție care acționează asupra țesuturilor învecinate) vs Endocrin
- Semnal transduct
- Contact direct:
  - Prezentare Antigen
  - Citotoxicitate

Mediatorii solubili ai răspunsului imun

- Molecule semnalizatoare
  - Înăscute: citokine, complement
  - Adaptative: citokine, anticorpi, chemokine, interleukine

- Molecule citotoxice
  - Înăscute: enzime, mediatori reactivi ai oxigenului
  - Adaptative: enzime, mediatori reactivi ai oxigenului

Citokinele

- “Proteine cu greutate moleculară micp ce stimulează sau inhibă diferențierea, proliferarea, sau funcția celulelor”
- Sunt sute
- Multifuncționale
- Funcții Overlapping
- Produse de celule imune & non-imune
  - O celulă poate produce mai multe citokine
  - O citokină poate fi produsă de mai multe celule
- Interleukine:
  - Subset de citokine care asigură comunicarea între leucocite
  - Numite consecutiv după desemnarea IL-

Citokine importante

Citokine	Principala sursă	Funcție
TNFα	Macrofage	Pro-inflamatorie
IL-1	Macrofage	Pro-inflamatorie
IL-2	Celule T	T cell growth factor
IL-10	T	Anti-inflamatorie
IFNγ	Celule T, NK	Pro-inflamatorie
TGFβ	Mai multe	Pro-inflamatorie, reglare

Chemokine

- Subset de citokine (*chemo*taxice)- din peste 50 de proteine mici secretate.
- “Familie structural legată de citokine, care induc chimiotaxia și activarea leucocitelor”
- Nomenclatura veche modificată în funcție de secvența N-terminal de aminoacizi
  - CXC= one amino acid separating two N-terminal cysteine residues
  - CX3C = three amino acids
  - CC= cysteines adjacent
  - C= only one cysteine present
- L designation = ligand,
- R designation = receptor

CXCL8 binds CXCR8

Chemokine

Chemokine	Denumire veche	Funcție
CXCL8	IL-8	Neutrophil chemotaxis
CCL2	Monocyte chemotactic protein-1	T cell and monocyte chemotaxis
CCL4	Macrophage inhbiting protein-1	T cell and monocyte chemotaxis
CCL5	RANTES	Eosinophil chemotaxis

Taxonomia chemokinelor

CC-chemokine		**Chimiochine CXC**		**CX 3 C-chimiochină**	
Liganzi	**Receptorii**	**Liganzi**	**Receptorii**	**Liganzi**	**Receptorii**
CCL2	CCR2	CXCL1	CXCR2 / CXCR1	CX 3 CL1	CX 3 CR1
CCL3	CCR1 / CCR5	CXCL2	CXCR2		
CCL4	CCR5	CXCL4L1	CXCR3		
CCL5	CCR1 / CCR3 / CCR5	CXCL5	CXCR2		
CCL7	CCR1 / CCR2 / CCR3	CXCL7	CXCR2		
CCL8	CCR3 / CCR5	CXCL8	CXCR1		
CCL13	CCR2 / CCR3	CXCL9	CXCR3		
CCL19	CCR7	CXCL10	CXCR3		
CCL20	CCR6	CXCL11	CXCR3		
CCL21	CCR7	CXCL12	CXCR4 / R7		
CCL25	CCR9	CXCL14	Necunoscut		
CCL27	CCR10	CXCL17	Necunoscut		

Chemokinele

- Proprietățile biologice ale celulelor tumorale sunt reglementate de o multitudine de citokine și factori de creștere, care includ agoniștii receptorilor factorului de creștere epidermică și membrii familiei factorului β de creștere transformator.

- Chemokinele funcționează ca mediatori ai progresiei tumorii.
- Proteine mici, imunomodulatoare cu posibile roluri cheie în carcinogeneză și, prin urmare, pot fi ținte potențiale pentru abordări terapeutice noi.

Cum comunică celulele imune?

- Mediatori solubili
  - Extracelulari
  - Receptor/ligand-specifici
  - Paracrin (mod de secreție care acționează asupra țesuturilor învecinate) vs Endocrin
- Semnal transduct
- Contact direct:
  - Prezentare Antigen
  - Citotoxicitate

Mediatorii solubili ai răspunsului imun

- Molecule semnalizatoare
  - Înăscute: citokine, complement
  - Adaptative: citokine, anticorpi, chemokine, interleukine

- Molecule citotoxice
  - Înăscute: enzime, mediatori reactivi ai oxigenului
  - Adaptative: enzime, mediatori reactivi ai oxigenului

Citokinele

- “Proteine cu greutate moleculară micp ce stimulează sau inhibă diferențierea, proliferarea, sau funcția celulelor”
- Sunt sute
- Multifuncționale
- Funcții Overlapping
- Produse de celule imune & non-imune
  - O celulă poate produce mai multe citokine
  - O citokină poate fi produsă de mai multe celule
- Interleukine:
  - Subset de citokine care asigură comunicarea între leucocite
  - Numite consecutiv după desemnarea IL-

Citokine importante

Citokine	Principala sursă	Funcție
TNFα	Macrofage	Pro-inflamatorie
IL-1	Macrofage	Pro-inflamatorie
IL-2	Celule T	T cell growth factor
IL-10	T	Anti-inflamatorie
IFNγ	Celule T, NK	Pro-inflamatorie
TGFβ	Mai multe	Pro-inflamatorie, reglare

Chemokine

- Subset de citokine (*chemo*taxice)- din peste 50 de proteine mici secretate.
- “Familie structural legată de citokine, care induc chimiotaxia și activarea leucocitelor”
- Nomenclatura veche modificată în funcție de secvența N-terminal de aminoacizi
  - CXC= one amino acid separating two N-terminal cysteine residues
  - CX3C = three amino acids
  - CC= cysteines adjacent
  - C= only one cysteine present
- L designation = ligand,
- R designation = receptor

CXCL8 binds CXCR8

Chemokine

Chemokine	Denumire veche	Funcție
CXCL8	IL-8	Neutrophil chemotaxis
CCL2	Monocyte chemotactic protein-1	T cell and monocyte chemotaxis
CCL4	Macrophage inhbiting protein-1	T cell and monocyte chemotaxis
CCL5	RANTES	Eosinophil chemotaxis

Taxonomia chemokinelor

CC-chemokine		**Chimiochine CXC**		**CX 3 C-chimiochină**	
Liganzi	**Receptorii**	**Liganzi**	**Receptorii**	**Liganzi**	**Receptorii**
CCL2	CCR2	CXCL1	CXCR2 / CXCR1	CX 3 CL1	CX 3 CR1
CCL3	CCR1 / CCR5	CXCL2	CXCR2		
CCL4	CCR5	CXCL4L1	CXCR3		
CCL5	CCR1 / CCR3 / CCR5	CXCL5	CXCR2		
CCL7	CCR1 / CCR2 / CCR3	CXCL7	CXCR2		
CCL8	CCR3 / CCR5	CXCL8	CXCR1		
CCL13	CCR2 / CCR3	CXCL9	CXCR3		
CCL19	CCR7	CXCL10	CXCR3		
CCL20	CCR6	CXCL11	CXCR3		
CCL21	CCR7	CXCL12	CXCR4 / R7		
CCL25	CCR9	CXCL14	Necunoscut		
CCL27	CCR10	CXCL17	Necunoscut		

Chemokinele

- Proprietățile biologice ale celulelor tumorale sunt reglementate de o multitudine de citokine și factori de creștere, care includ agoniștii receptorilor factorului de creștere epidermică și membrii familiei factorului β de creștere transformator.

- Chemokinele funcționează ca mediatori ai progresiei tumorii.
- Proteine mici, imunomodulatoare cu posibile roluri cheie în carcinogeneză și, prin urmare, pot fi ținte potențiale pentru abordări terapeutice noi.

Efectele chemokinelor asupra proliferării celulelor tumorale

- Mulți factori de creștere și citokine acționează pentru a controla proliferarea celulară, fie într-un mod pozitiv, fie negativ.
- De ex, factorul de creștere epidermică (EGF) și membrii familiei înrudiți activează receptorul EGF (EGFR) și inițiază cascade biochimice divergente care duc la transcrierea genelor implicate în progresia ciclului celular și a altor procese necesare creșterii.
- În schimb, transformarea factorului de creștere-beta reglează negativ creșterea celulelor epiteliale prin inhibarea tranzitului ciclului celular.
- Căile de transducție a semnalului reglementate de acești și de alți factori de creștere se modifică frecvent în timpul tumorigenezei.

Chimiotaxie - chemotactism

- Fenomenul de atragere (chimiotaxie pozitiva)

- Fenomenul de respingere (chimiotaxie negativa)

a leucocitelor, macrofagelor, limfocitelor către focarul lezional.

Chemokine CXC:

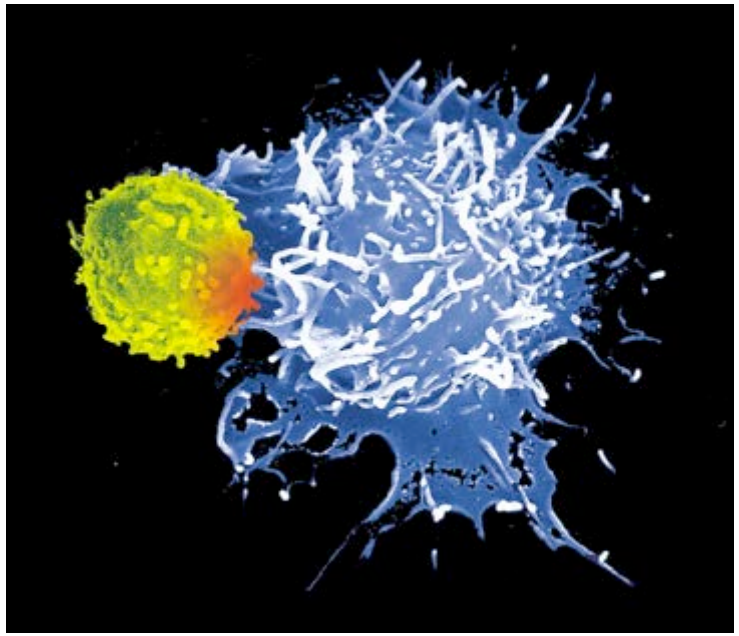
- Chemokinele CXC funcționează în general ca activatori și chimioatractori pentru neutrofile.
- Limfocitele constituie celulă țintă pentru majoritatea chemokinelor ELR $^{-}$ CXC.
- Chemokinele ELR $^{+}$ CXC joacă un rol important în creșterea celulelor melanomului.
- CXCL1 e implicat și în cancerele de piele non-melanom, inclusiv tumori de origine neuronală și carcinoame cu celule scuamoase.

Chemokine CC:

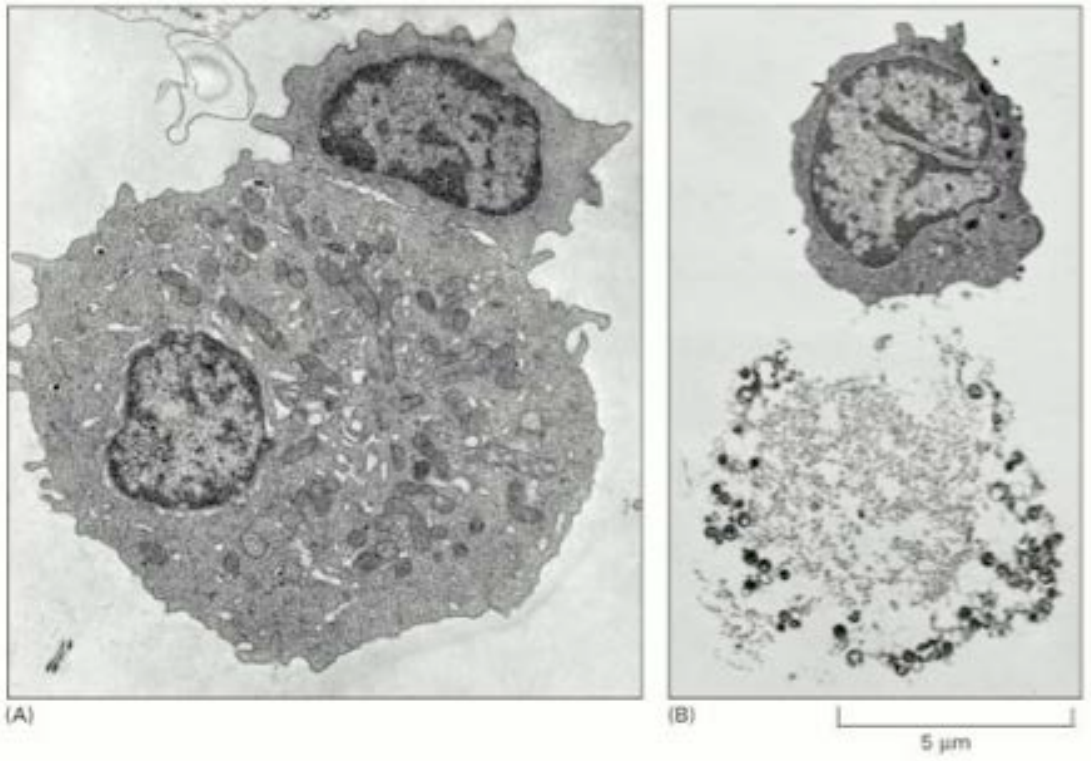
- Chimiochinele CC sunt implicate în recircularea limfocitelor și aderarea la organele secundare (CCL21), precum și în traficul de celule T în timus (CCL19).
- Chemokinele CC au și rol imunomodulator.
- CCL5
  - atrage monocitele, eozinofilele și celulele T de memorie
  - este unul dintre factorii supresori ai virusului imunodeficienței umane (HIV) secretat de celulele T $CD8^+$.
- În mod similar, CCL3 și CCL4 strâns înrudite sunt, de asemenea, capabile să inhibe infecția cu HIV a celulelor țintă, pe lângă funcțiile lor pro-inflamatorii.

Comunicarea prin contact direct

- Sinapsa imunologică- Antigen presentation cell



- Citotoxicitatea



Opsoninele

- Factori imunologici solubili care învelesc sau tapetează Ag corpusculare şi favorizează captarea Ag de APC

- Există 2 opsonine de importanţă:
  - **C_{3b}** a complementului (fragment rezultat din activarea factorului C_3 al complementului).
  - **IgG** se depun pe suprafaţa bacteriilor ca urmare a recunoaşterii determinantului Ag de suprafaţă.

Opsonine

- **C_{3b}** a complementului
- pusă în libertate în urma funcţionării continue a căii alterne a complementului.
- are ca particularitate faptul că se ataşează de orice membrană NON-SELF => depunerea ei pe suprafaţa bacteriei.

- Macrofagele captează foarte uşor aceste bacterii pentru că dispun pe suprafaţa lor de receptori ce pot angaja legături cu componenta C_{3b} a complementului (C_R)

- **IgG** se depun pe suprafaţa bacteriilor ca urmare a recunoaşterii determinantului Ag de suprafaţă.
- IgG angajează legături cu ei prin intermediul capătului F_{ab} al IgG.
- Astfel IgG proemină în lichidul interstiţial prin capătul F_c.
- Macrofagele pot angaja foarte uşor aceste legături prin F_c al IgG (au receptori pt F_c al IgG = receptori $F_c\gamma R$)

Sistemul complementului

- Complex proteine serice (>20) aflate în mod normal în stare inactivă, sintetizate de ficat, macrofage și fibroblaști.
- Nu se combină cu Ag izolat,
- Are afinitate slabă pt Ac,
- Se leagă doar de complexul Ag-Ac
- Prin fixarea pe complexul Ag-Ac dobândește o serie de proprietăți biologice , inclusiv de a deveni agresiv fata de structurile pe care s-a fixat
- Mediază o multitudine de efecte inflamatorii, inclusiv opsonizarea particulelor pentru fagocitoză, activarea leucocitelor, asamblarea complexului de atac al membranei.

Complementul C3

- C3 = componenta centrală a complementului
- heterodimer cu GM = 280kDa
- în concentraţii mari (0,5 – 1,5 mg/ml)
- Structura C3:
- 2 lanţuri bidirecţionale (N-terminal, C-terminal în direcţii opuse = antiparalele) asociate prin punţi disulfurice => heterodimeri

  - α (mai mare, GM 110kDa)
  - β (mai mic, GM 70kDa)

Activarea complementului

- se face „în cascadă”, pe 3 căi: clasică, alternă, a lectinelor.
- clivarea C3/C5 → asamblarea complexului de atac al membranei (MAC) din secvența terminală C5b-C9.

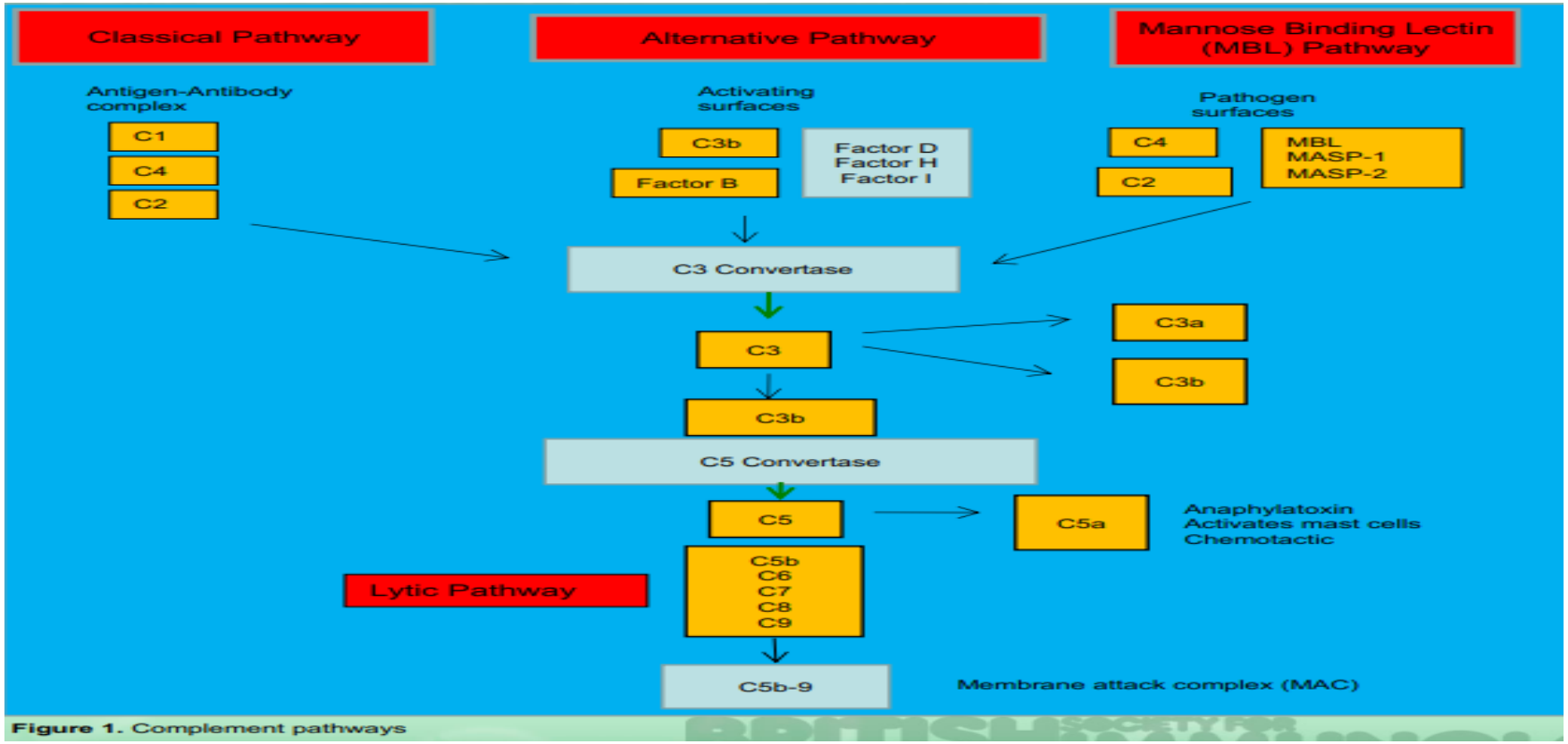


Figure 1. Complement pathways

Funcțiile complementului seric

1. Inflamatorie, fiind implicat in:
   - Activarea PMN, Mf
   - Marginația și diapedeza PMN, Chemotaxia
   - Degranularea mastocitelor
   - Creșterea permeabilității vasculare
   - Contracția musculaturii netede
2. Eliminarea complexelor imune
3. Funcția citotoxică
4. Neutralizarea virală
5. Opsonizarea

Reacţia de fixare a complementului (RFC)

- metodă de titrare a Ac, mai sensibilă decât reacțiile de precipitare și de aglutinare obișnuite, dar mai puțin sensibilă decât metoda hemaglutinării pasive.
- Se bazează pe proprietatea sistemului C’ de a se fixa pe complexul imun Ag-Ac.
- Pentru vizualizarea RFC e nevoie de utilizarea unui sistem hemolitic indicator deoarece complexul Ag-Ac format nu devine vizibil cu ochiul liber, RFC folosind doua sisteme Ag-Ac care sunt în competiție pentru o concentrație standard de C’

Aplicații practice:

- diagnosticul serologic al sifilisului – reactia Bordet-Wasserman
- diagnosticul serologic al infecțiilor produse de *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia spp., Rickettsia spp., Leptospira spp., Borrelia spp., Brucella spp*, virusuri

Reacții Ag-Ac cu markeri- reacția de imunofluorescență

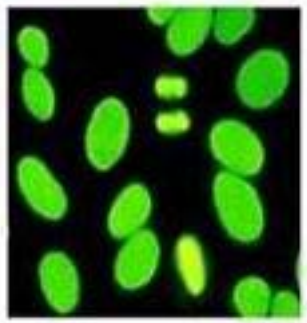
- diagnosticul serologic al infecțiilor produse de *Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumoniae, Leptospira spp., Borrelia burgdorferi, Helicobacter pylori, Toxoplasma gondii, Treponema palidum, Pneumocystis jiroveci*
- identificarea unor subpopulații de limfocite T, în special CD4 si CD8
- detectarea complexelor imune în bolile autoimune
- detectarea componentelor complementului în țesuturi
- determinarea hormonilor și a altor produse de sinteză, in situ
- localizarea Ag în secțiunile de țesut sau în compartimentele subcelulare

Reacții Ag-Ac cu markeri- reacția de imunofluorescență

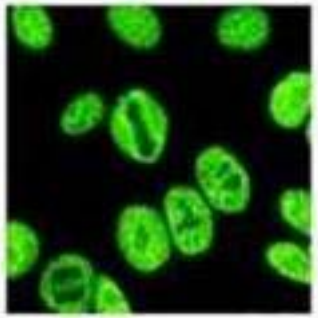
Imunofluorescența indirectă pentru evidențierea Ac antinucleari (AAN)

- AAN sunt anticorpi îndreptaţi impotriva antigenelor nucleare şi au fost descrişi într-o multitudine de afecţiuni autoimune sistemice şi organ-specifice.
- Substratul ANA tradiţional a fost reprezentat mult timp de secţiuni de ficat, rinichi sau stomac de şobolan.
- Substratul actual este reprezentat de linia celulară Hep-2 (human epithelial type 2 cells) izolată iniţial de la un carcinom laringian uman, aceasta permiţând recunoaşterea a peste 30 pattern-uri nucleare şi citoplasmatice determinate de peste 100 autoanticorpi diferiţi.

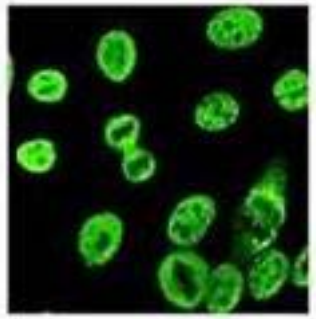
IIF pentru evidențierea anticorpilor antinucleari (ANA)



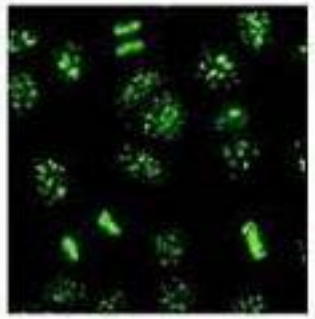
Aspect nuclear omogen



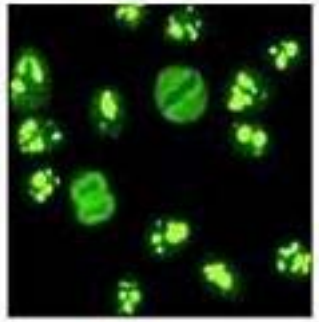
Aspect patat fin



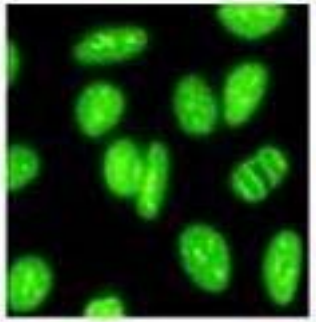
Aspect patat grosier



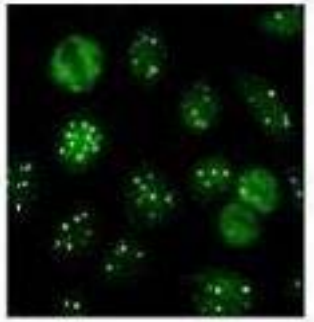
Aspect de tip centromer



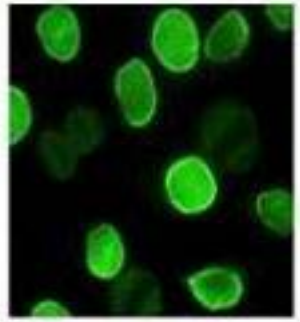
Aspect nucleolar omogen



Aspect nucleolar patat (Scl-70)



Aspect de puncte nucleare



Aspect membrana nucleara

Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)

- Descrişi pentru prima dată (1982) la pacienţi cu glomerulonefrită autoimună.

- Ac (IgG, mai rar IgA şi IgM) anti Ag din citoplasma granulocitelor neutrofile (ţinte moleculare fiind enzimele din granulaţiile primare sau azurofile ale granulocitelor neutrofile) şi monocitelor.

- 3 pattern-uri principale:
  - **citoplasmatic (c-ANCA)** – Ag fiind proteinaza3 (PR3),
    - component al granulaţiilor azurofile, al lizozomilor monocitari;
  - **perinuclear (p-ANCA)**, principalul Ag fiind mieloperoxidaza (MPO),
    - o proteină a granulaţiilor neutrofile implicată în procese metabolice (generarea de radicali de oxigen);
  - **atipic ANCA (x-ANCA),** Ag implicate fiind multiple: catepsina G, elastaza, lactoferina, catalaza, enolaza, lizozimul, BPI (proteină bacteridă care creşte permeabilitatea).

Testarea și raportarea ANCA

- Ghidurile internaţionale (*International Consensus Statement*) recomandă testarea şi raportarea ANCA utilizând metoda imunofluorescenţei indirecte (IIF) în combinaţie cu metoda imunoenzimatică care detectează specificitaţile ANCA pentru MPO şi PR3.

- Screening-ul este realizat prin imunofluorescenţă şi este urmat de metoda imunoenzimatică numai dacă rezultatul este pozitiv.

- O înaltă sensibilitate diagnostică pentru anticorpii ANCA este dobândită când se utilizează simultan, din start, imunofluorescenţa şi metoda imunoenzimatică.

- Acest lucru poate fi posibil utilizând o combinaţie de neutrofile fixate cu etanol, neutrofile fixate cu formalină, substrat Hep-2, ficat de primate şi spoturi tip microdrops cu amprente antigenice unice (MPO si PR3) în acelaşi câmp de incubaţie.

- O prediferenţiere a autoanticorpilor se poate face prin compararea pattern-urilor fluorescente, iar acestea se pot confirma reciproc.

- Prin combinarea substraturilor convenţionale cu amprentele antigenice definite anti-MPO şi anti-PR3, rezultatul testului de screening poate fi confirmat direct.

Curs III
Anticorpi & antigene.
Complexul de histocompatibilitate

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Anticorpii

- Toți Ac sunt Ig
  - sunt singurele structuri proteice sintetizate după un stimul antigenic
  - au capacitatea de a recunoaşte şi de a se combina specific cu antigenul inductor al răspunsului imun.
  - există în plasmă, lichid interstiţial şi secreţii
- Imunoglobulinele (Ig) sunt glicoproteine cu rol de Ac dar pot avea și alte roluri.
  - în mielomul multiplu sau în macroglobulinemia Waldenström a fost identificată proteina patologică Bence-Jones (poate fi identificată în sânge sau în urină; este vorba de o sinteză anormală de lanţuri uşoare; a fost descrisă de H. Bence Jones în 1847).
- Termenul de imunoglobuline (Ig) NU e similar cu gama-globulinele deoarece nu toţi anticorpii migrează electroforetic în regiunea „gama”

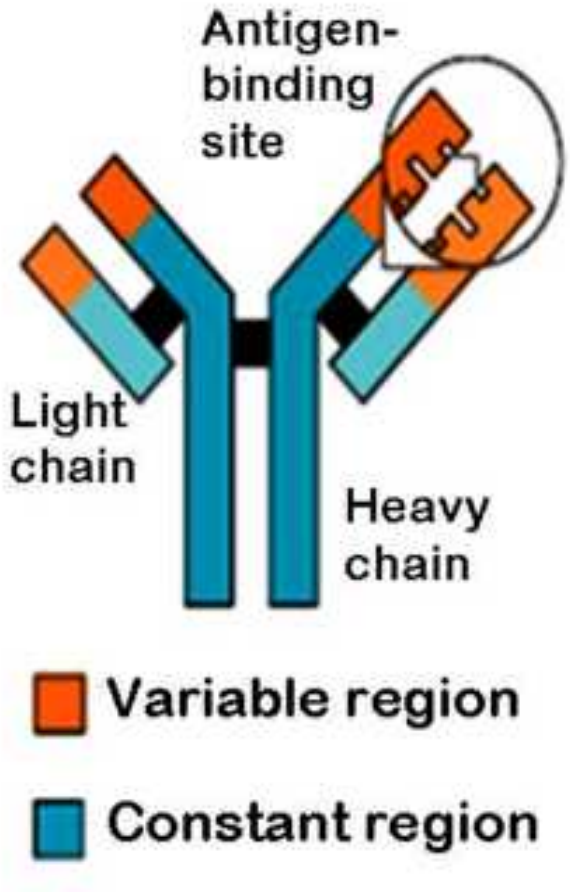
Structura de principiu a Ac

- indiferent de clasă, Ac sunt constituiţi din asocierea a 2 perechi de lanţuri
- forma monomerică e formată din asocierea unei perechi de lanţuri grele (lungi, G moleculară mare) şi una de lanţuri uşoare (scurte, G moleculară mică)
- Domeniile variabile VL şi VH formează locul unde AC se cuplează cu Ag (determinantul antigenic)= **epitop**.
- Faţa interioară a situsului anticorpului (situs combinativ) vine în contact direct cu epitopul şi se numeşte **paratop**.
- Faţa exterioară a situsului combinativ se numeşte **idiotip**.

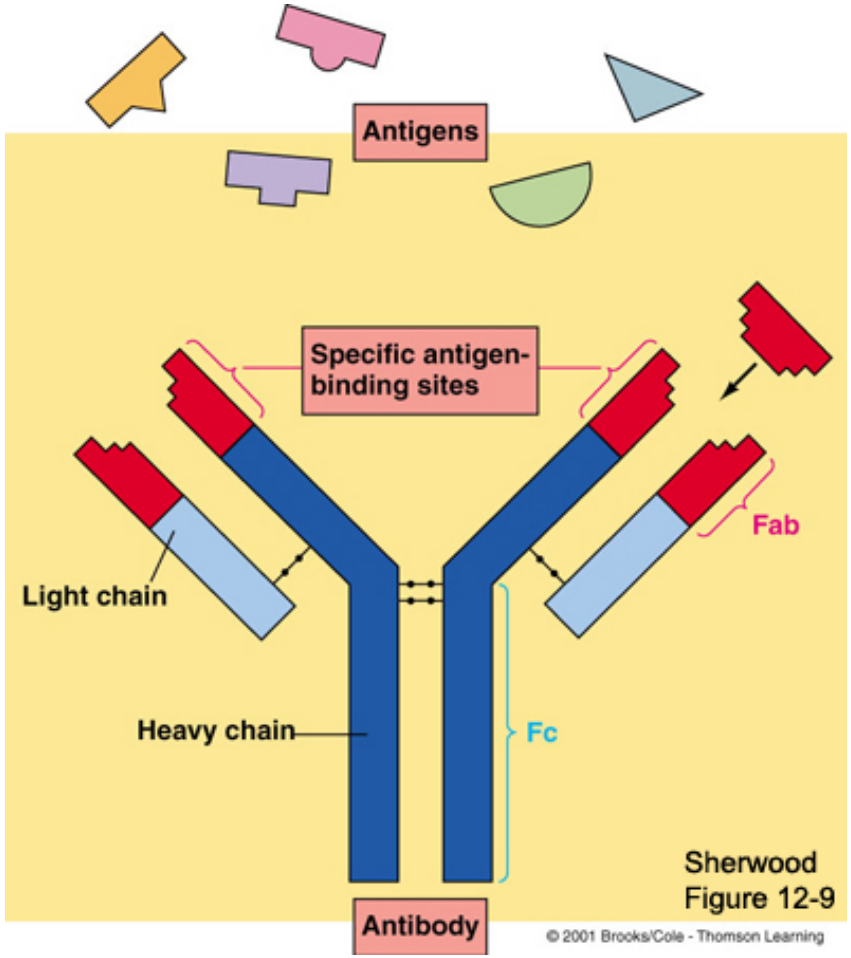
Anticorpii (imunoglobulinele)

- Formă de Y sau T
- Polipeptide
  - 2 lanțuri grele identice
  - 2 lanțuri ușoare identice

  - IgG, IgM, IgA, IgD, IgE



Ac structură și funcție



- Fab – fragment antigen binding

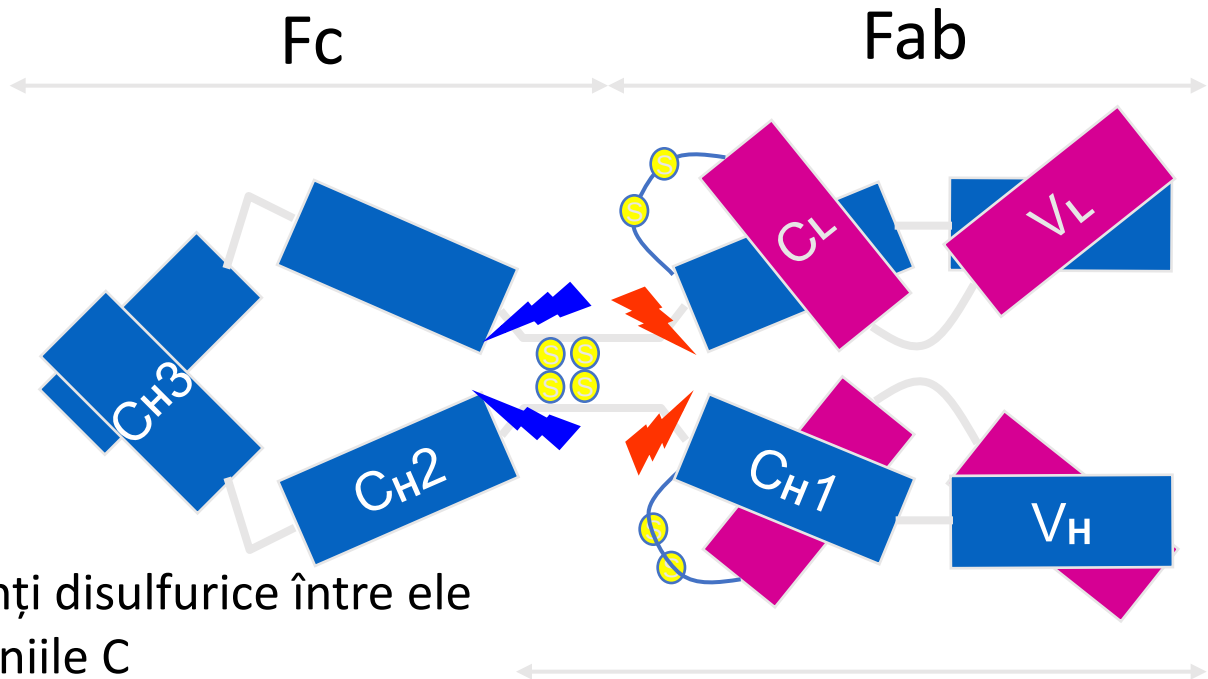
- Fc- Fragment constant
- Se leagă de receptorii celulari, proteinele complementului, molecule imune, inițiază opsonizarea, liza celulară și degranularea.

Imunoglobulinele (anticorpii)

- Ig sunt glicoproteine prezente în
  - plasmă,
  - lichidele extracelulare,
  - secreţii
- sunt molecule dotate cu proprietăţi de Ac, adică au capacitatea de a se combina specific şi sunt responsabile de recunoaşterea Ag inductor (declanşator) al răspunsului imun (RI).
- Ac - sunt implicaţi în finalizarea răspunsului imun mediat umoral (RIU)

- sunt implicaţi în iniţierea răspunsului imun mediat celular (RIC) (funcţie de opsonine)

Structura Ig - Monomer



Lanțuri ușoare cu punte între lanțul ușor și cel greu
κ , λ

2 lanțuri grele cu 2 punți disulfurice între ele
Domeniile C
α, δ, ε, γ, μ

Zone clivaj Pepsina poate degrada Ig la nivelul aa leucină din lanțul greu 1 x $(Fab)_2$ & 1 x Fc
Zone clivaj Papainã - 2 x Fab 1 x Fc

Categoriile de secvențe din lanțurile grele și ușoare

- secvenţele variabile
  - constituite din primii 110 aa, la capetele N-terminale (V).
  - poziţionate în oglindă => se asociază între ele şi constituie câte o mică cavitate ce poartă denumirea de **situs combinativ pentru Ag (SCAg)**, în care e recunoscut câte 1 determinant antigenic conformaţional, situat la exteriorul Ag nativ.
  - => Ac de recunoaştere monospecifică.

- secvenţele constante
  - poziţionate către capătul C-terminale al lanţurilor.
  - responsabile de unele efecte biologice ale Ac (activarea cascadei complementului pe calea clasică, fixarea Ac pe suprafaţa micro şi macrofagelor, pasajul transplacentar al Ac de la mamă la făt).

Secvențele constante ale lanțurilor

- Secvențele constante ale lanţurilor uşoare au aproape aceeaşi structură în cadrul tuturor claselor de Ig = secvenţe publice.

- Secvențele constante ale lanţurilor grele au aceeaşi structură doar în cadrul unei singure clase (un singur izotip) => 5 clase de Ig: A, D, G, E, M.

IgG Caracteristici generale

- formează 75% din totalul Ac din organism
- se află în concentraţiile cele mai mari în raport cu celelalte clase (variază între 1000-1500 mg/dl).
- Ac prototipici
- distribuiţi în cote egale între sectorul intravascular şi cel extravascular (în lichidele interstiţiale, respectiv intratisular)
- au durata de viaţă cea mai mare (variind între 3-4 săptămâni).
  - excepţie fac IgG_3, care au o durată de viaţă scurtă (5-7 zile)
- pot trece prin bariera hemato-placentară (după a 20-a săptămână de viaţă intra uterină).
- apar în RI secundar.

DH- 4 izotipuri de Ac de tip IgG:

- IgG_I – există 2 punţi disulfurice, situate între punctul de intersecţie şi CH_2
- IgG_{II} – există 4 punţi disulfurice, situate 2 câte 2 de o parte şi de alta a punctului de intersecţie
- IgG_{III} – există 15 punţi disulfurice, situate între punctul de intersecţie şi CH_2
- IgG_{IV} – există 2 punţi disulfurice, situate fiecare de o parte şi de alta a punctului de intersecţie
- în funcţie de numărul de punţi disulfurice, e condiţionată, durata de viaţă a acestor Ac.
- între durata de viaţă şi numărul de punţi disulfurice există o relaţie de invers proporţionalitate.
- Pe măsură ce numărul de punţi e mai mare pot suferi atacul enzimelor sau radicalilor liberi de O2 eliberaţi de factorii proceselor inflamatorii.

Particularităţi funcţionale ale subclaselor de IgG

- IgG_1
- subclasă majoră, 900mg/dl
- buni activatori de complement
- Ac responsabili de imunizarea pasivă a nou-născutului (trec uşor prin placentă)

- IgG_2
- clasă minoritară, 30mg/dl
- slabi activatori de complement

- IgG_3
- concentraţie de 100mg/dl
- mai buni activatori de complement decât IgG_2

- IgG_4
- concentraţii mici, 50mg/dl
- NU sunt activatori de complement
- Ac de tip IgG sunt caracteristici pentru RIU secundare (apar după cel de-al doilea contact cu acelaşi antigen)

DL- Ac de tip IgG:

- 2 tipuri de lanţuri uşoare:
- K – 2/3 din totalul lanţurilor uşoare
- Λ – 1/3 din totalul lanţurilor uşoare

- 2 fragmente:
- Fab (de legare a Ag)
- Fc (constant, cristalizabil)

Funcţiile şi structura Fab al IgG

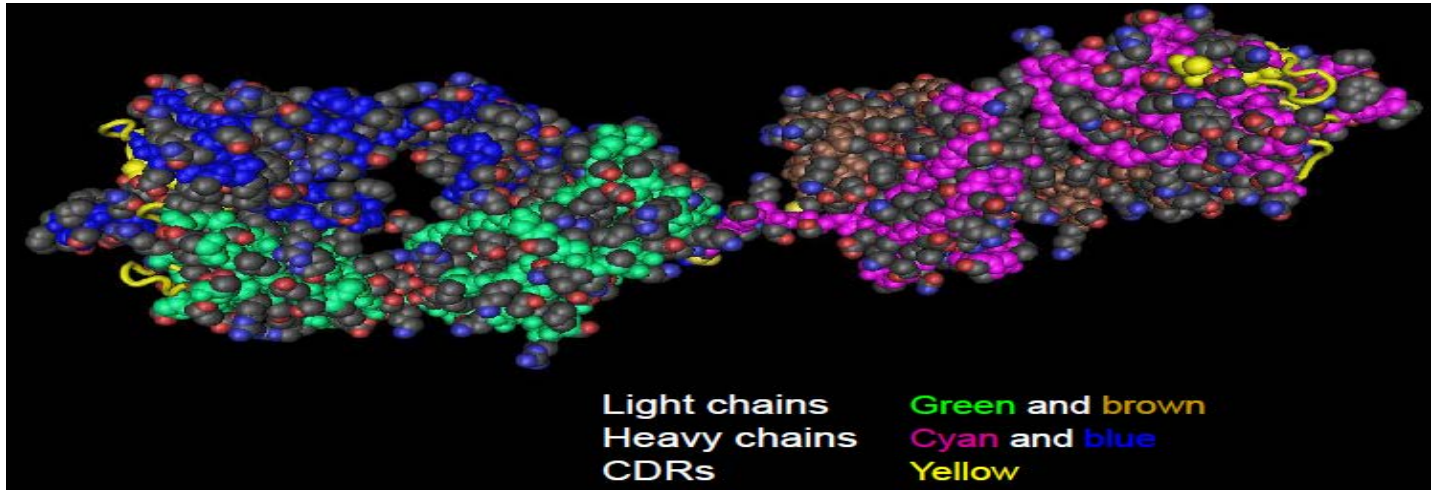
- rol foarte important în recunoaşterea Ag
- prin el pot recunoaşte orice tip de Ag nativ (Ag solubil, jucând rol important în eliminarea lor sub formă de complexe imune de către micro sau macrofage)
- prin el pot recunoaşte Ag corpusculare (IgG funcţionează ca opsonine şi favorizează endocitarea Ag de către macrofage)
- recunoaşterea antigenică e realizată prin situsul combinativ pt Ag (SCAg)

Structura şi funcţia SCAg

- cavitate de dimensiuni reduse (30-10-6 Å) rezultată în urma plicaturării VH-VL,
- permite atât acomodarea Ag, cât şi angajarea de legături cu acesta prin potrivire de formă sau complementaritate
- plicaturarea ce stă la baza SCAg e rezultatul existenţei unor punţi disulfurice intradomeniu
- în cadrul fiecărui domeniu există 3 punţi, ce creează 3 plicaturi
- în cadrul SCAg distingem 2 categorii de secvenţe:
- secvenţele de aa ce participă la realizarea recunoaşterii Ag
  - constituite din 8-15 aa
  - situate la nivelul vârfului intern al plicaturii.
  - realizează contactul cu Ag prin potrivire de formă (complementaritate) = regiuni determinante ale complementarităţii – CDR – adică CDR_1, CDR_2, CDR_3)
- secvenţele Fr (framework region)
  - sunt pereţii cavităţii
  - nu sunt implicate direct în stabilirea contactului cu Ag,

Regiuni determinante ale complementarităţii CDR

- cele mai importante in funcţia Ac sunt regiunile CDR - formează **paratopul**
  - substructura din SCAg direct responsabilă de angajarea unor legături specifice cu Ag inductor
- caracteristica fundamentală a paratopului e **specificitatea legăturii Ag-Ac**, care depinde de:
  - numărul & natura aa care intră în constituţia CDR,
  - poziţionarea în spaţiu a plicaturilor (a celor 6 CDR), dependentă de zona Fr



SCAg

- Recunoaşterea antigenică e realizată prin situsul combinativ pt Ag (SCAg)
- Idiotipul e specificitatea Ag a oricărui SCAg
- => SCAg poate avea 2 calităţi aparent contrarii:

  - structură de recunoaştere Ag

  - poate fi o structură Ag în sine.

- **Idiotopii** sunt structuri intens imunogene
- => RI faţă de un Ag NU e unic, ci un răspuns repetitiv, întreţinut de cateva ori.
- Răspunsul se repetă până când se formează Ac antiidiotip, numiţi copia internă a Ag.

Copia internă a antigenului

- RIU are ca rezultat Ac care prezintă SCAg complementare Ag inductor
- e posibil ca aceşti Ac să prezinte în SCAg idiotopi.
- SCAg idiotopi se comportă ca noi structuri Ag
- => declanşarea unui RIU specific, caracterizat prin generarea de Ac specifici, ce prezintă un SCAg complementar al generaţiai anterioare.
- Ac nou formaţi sunt Ac antiidiotip.
- SCAg al Ac antiidiotip seamănă conformaţional cu conformaţia spaţială a Ag inductor = imaginea internă a Ag (ea limitează RIU)

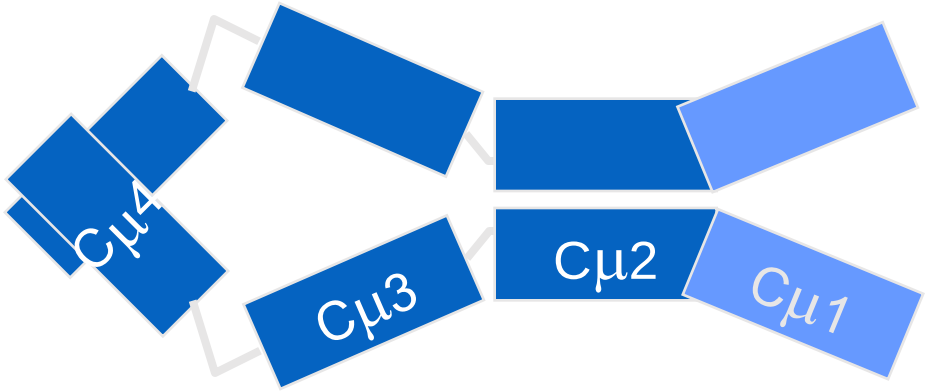
Funcţiile şi structura Fc al IgG

- CH_2 rol în declanşarea cascadei complementului pe calea clasică după ce Ag a fost recunoscut ca Ag specific

- CH_3 rol în medierea fagocitării (sunt Ag corpusculare), fixarea Ac de membrana micro şi macrofagelor care NU se face prin contact direct, ci prin 3 categorii de receptori FcγR: $FcγR_I$ – CD 64, $FcγR_{II}$ – CD 32, $FcγR_{III}$ – CD 16
  - Macrofage – fagocitare/endocitare a Ag corpusculare opsonizate prin IgG
  - NK – captarea Ag corpusculare opsonizate prin IgG.
  - Endocitarea nu e posibilă de obicei (diametrul redus al celulelor NK) rezultând activarea NK, eliberarea de enzime, radicali liberi de O2, perforine.
  - Distrug Ag corpusculare extracelulare şi fragmentele pot fi endocitate (procesul = ADCC – citotoxicitate celulară anticorp dependentă)

Monomeric IgM

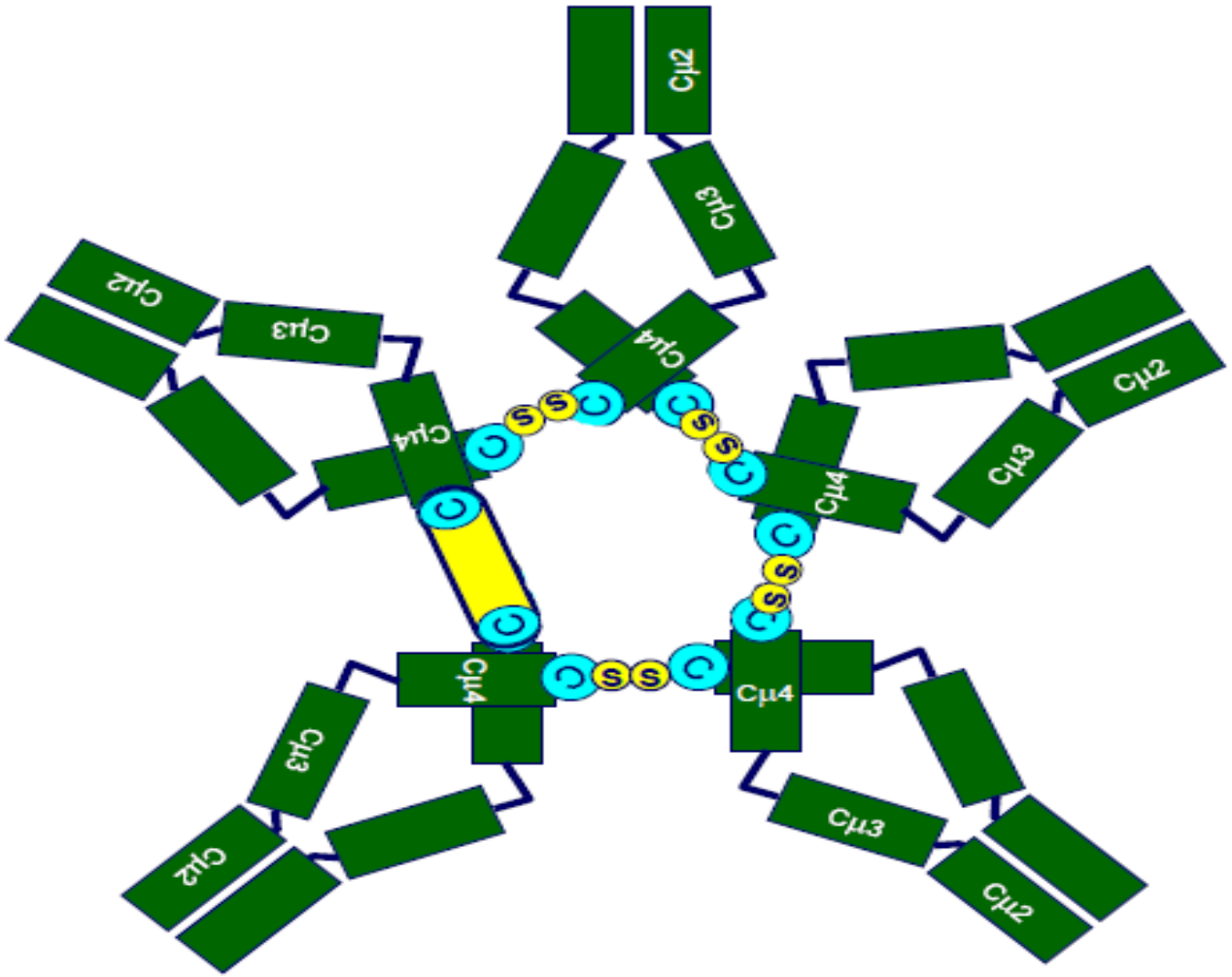
IgM există ca monomer pe suprafața celulelor B și au afinitate foarte scăzută pentru Ag



N.B. Numai lanțurile grele cu secvențe constante

Cμ4 conține regiuni citoplasmice și transmembranare și facilitează multimerizarea (penta și hexa) IgM

Pentamerizarea IgM



IgM Caractere generale

- concentraţii de 120-130mg/dl
- durată de viaţă scurtă (7-10 zile)
- primă linie de apărare antibacteriană şi antivirală
- acţionează ca **Ac aglutinanţi**
- dintre toate categoriile de Ac sunt cei mai activatori de complement pentru că dispun de 2 domenii activatoare de complement (CH_2 şi CH_3) şi sunt forme pentamerice, nu monomerice ca IgG (dispun de 20 de situsuri activatoare de complement şi NU doar de 2)
- sunt caracteristice pentru RIU primare
- are receptori pentru sistemul complement.
- NU poate trece prin bariera hemato-placentară.

Implicarea Ig G și Ig M în RIU

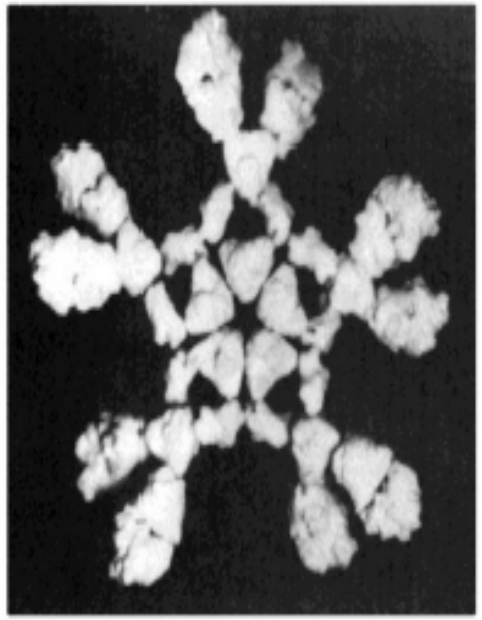
1. RIU Primare

- la primul contact cu Ag, se formează Ac NUMAI IgM
- concentraţia de IgM e moderat crescută – pentru că la primul contact cu Ag participă clone limfocitare TH şi B neexpansionate
- durata hiper IgM e limitată în timp – pentru că Ac IgM au durată scurtă de viaţă (conţin un număr mare de punţi disulfurice) şi pentru că la primul contact cu Ag NU există încă clone T/B cu memorie

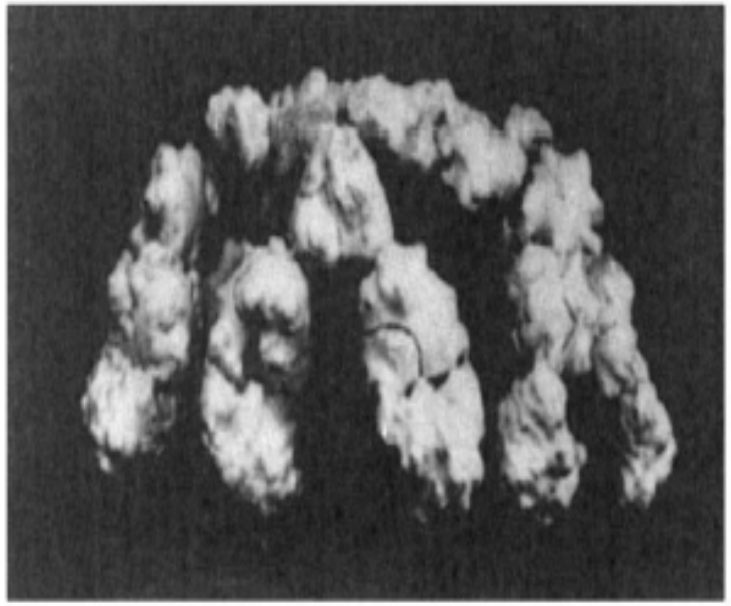
2. RIU Secundare

- La un contact repetitiv cu acelaşi Ag, se formează Ac NUMAI IgG
- LT_H2 produc IL-4 care inhibă producţia de IgM
- concentraţiile de IgG sunt mari sau foarte mari – pentru că la contacte repetitive cu acelaşi Ag participă clone T sau B deja expansionate ca urmare a contactelor Ag precedente
- durata hiper IgG e prelungită în timp (3 – 4 săptămâni) – pentru că IgG au o durată de viaţă lungă şi pentru că participă clone T/B cu memorie imunologică

Modificări conformaționale ale IgM induse de Ag

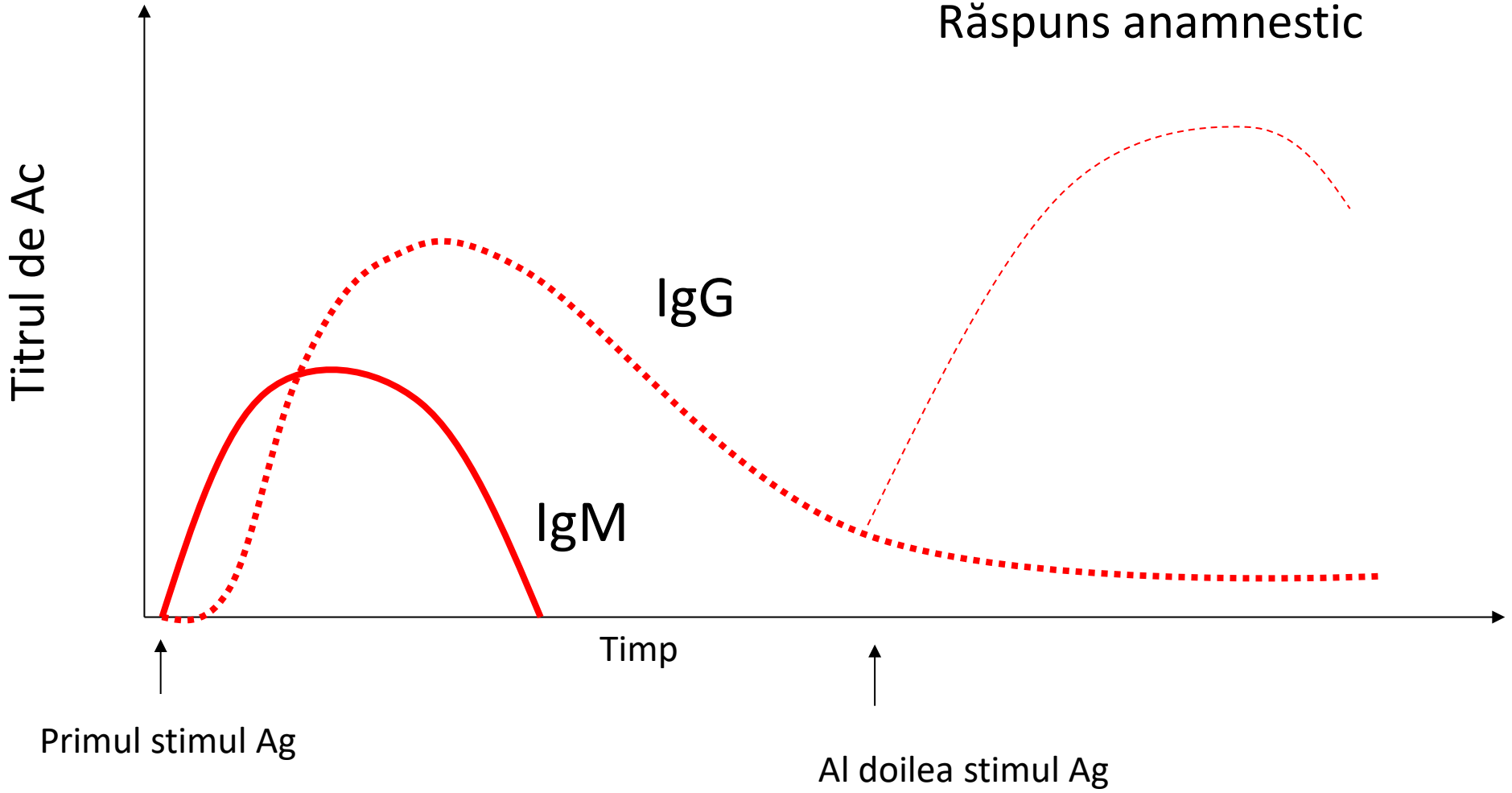


Nu fixează C



Eficient în fixarea C

Răspunsul secvențial IgM – IgG



IgA serică

- IgA exocrină sau secretorie cuprinde două subclase IgA1 (80%) şi IgA2 (20%),
- Se găseşte ca monomer (GM 160.000, 7 S), dimer sau trimer, ultimele două forme cu lanţul J de joncţiune.
- Acest ansamblu este înconjurat de unitatea secretorie sintetizată de celulele epiteliale ale tubului digestiv.
- IgA2 are o structură originală.
  - Lanţurile uşoare unite între ele printr-o punte disulfurică nu sunt legate printr-o legătură covalentă cu lanţurile grele.
- Concentraţia sanguină a IgA este de 2,4 g / l.
- Nu are receptori pentru sistemul complement.
- Nu trece prin bariera hemato-placentară.
- Nu participă la aglutinarea, precipitarea sau liza antigenelor corpusculare.
- Are activitate bactericidă mai mare decât IgG şi decât IgM.
- Rol important în apărarea la nivelul mucoaselor (digestivă, respiratorie etc) şi în reglarea ”compoziţiei” florei microbiene de la suprafaţa acestora.
- Este important ca nou-născutul să primească de la mamă colostrul şi apoi să fie alimentat pe cale naturală pentru a primi IgA (sinteza proprie începe după circa 1 lună de la naştere).

IgD

- Nivel seric scăzut
- Rolul insuficient cunoscut- receptor activ de diferenţiere celulară şi memorie.
- IgD se află, mai ales, la suprafaţa limfocitului B în asociere cu IgM unde ar putea juca rolul de.
- Nu are receptori pentru sistemul complement.
- Nu poate traversa bariera hemato-placentară.
- Concentraţia de IgD creşte în ser de la naştere şi până la vârsta de 15 ani.
- Creşte în serul femeilor însărcinate.

IgE

- Concentraţie serică este infimă (0,0001 g/l),
- Fixarea prin fragmentul Fc pe suprafaţa pe bazofile şi mastocite le conferă un rol important în inflamaţie şi hipersensibilitatea de tip imediat.
- Cuplarea cu Ag produce degranularea mastocitului cu declanşarea reacţiei alergice (tip I, imediat, anafilactic)[6].
- În serul persoanelor normale concentraţia IgE reprezintă mai puţin de 0.001% din totalul imunoglobulinelor.
- IgE deţin un rol important în medierea reacţiilor alergice care se produc în urma expunerii la alergeni a indivizilor susceptibili (atopici).

IgE

- Interacţiunea alergenilor cu IgE specifice de pe suprafaţa acestor celule determină eliberarea de histamină şi a altor substanţe vasoactive, iniţiind astfel reacţia alergică.
- Aproximativ jumătate din indivizii cu rinită alergică sau astm prezintă niveluri crescute de IgE; restul, deşi au concentraţii crescute de IgE alergen specifice, prezintă niveluri normale de IgE totale.
- Studiile au indicat că nivelul IgE totale este adesea crescut la pacienţii cu dermatită atopică, iar nivelul IgE tinde să se coreleze cu severitatea eczemei.
- Concentraţia IgE este de asemenea crescută la pacienţii cu infestări parazitare, aspergiloza bronhopulmonară alergică şi într-un anumit tip de imunodeficienţă (sindromul Job).

IgE

Crescute ↑

- astm bronsic extrinsec
- febra fânului
- eczema atopică
- parazitoze
- sindromul Job
- mielomul IgE
- ABPA

Scăzute ↓

- deficienţe ereditare
- imunodeficienţa dobândită
- sindromul ataxie-teleangiectazie
- mielom non-IgE

Antigenul

greacă: *anti*=contra şi *geano*=a naşte, a genera)

= orice substanţă de origine endogenă sau exogenă, care, odată ajunsă în organism, nu este recunoscută ca proprie (self) şi determină apariţia unui răspuns imun, ce vizează neutralizarea şi eliminarea ei

Condiţii de antigenicitate

- Să fie substanţă *non-self*, considerata străină de moleculele organismului. În anumite condiţii, structuri proprii ale organismului pot fi considerate "străine" de către sistemul imunitar.
- Fiecare proteină din organism are o secvenţă proprie de aminoacizi, recunoscută ca "self" (proprie) de sistemul imunitar.
- Dacă sunt înlocuiţi aminoacizii din anumite poziţii, structura proteinei se modifică. Efectorii imunităţii sesizează imediat modificările şi nu mai recunosc molecula, considerând-o "străină".
- Să aibă masă moleculară mai mare de 40 kDa.
- Să îşi menţină arhitectura în spaţiu (structură sterică).
- Să persiste în ţesuturi o perioadă de timp suficientă pentru a produce un răspuns imun.
- Să aibă un grad de înrudire filogenetică cât mai îndepărtat de ţesuturile organismului inoculat.
- Cu cât sursa este mai îndepărtată filogenetic, cu atât reacţia la stimulul antigenic este mai puternică.

Proprietățile Ag

- **IMUNOGENITATE** este proprietatea unui antigen complet, de a declanșa un raăspuns imun, umoral sau celular, ori de câte ori pătrunde în organism pe o cale adecvată.

- **SPECIFICITATE** = proprietatea Ag de a reacționa strict cu produsele rezultate ca urmare a declanșării răspunsului imun, fie ca acestea sunt molecule atasate membranelor celulare cu funcție de receptori limfocitari T sau B pentru Ag.

Factori care influenteaza imunogenicitatea

A.Contributia Antigenului (Imunogenului)

- **Originea exogena** (Sistemul imun face distinctia intre self si non-self astfel incat moleculele straine sunt automat considerate imunogene)
- **Marimea** (cu cat molecula este mai mare cu atat ea va fi mai imunogena)

- Compozitia chimica
  - Structuri primare — **Determinanti secventiali**
  - Structuri secundare
  - Structuri tertiare
  - Structuri cuaternare

  } **Determinanti conformationali**

Factori care influenteaza imunogenicitatea

A.Contributia Antigenului (Imunogenului)

- Originea exogena
- Marimea
- Compositia chimica
- Forma fizica
  - Particulate > Solubile
  - Denaturate > Native

Factori care influenteaza imunogenicitatea

A.Contributia Antigenului (Imunogenului)

- Originea exogena
- Marimea
- Compositia chimica
- Forma fizica
- **Degradabilitatea** – Antigenele care sunt fagocitate mai usor sunt in general mai imunogene
  - Procesarea Ag - Ag trebuie fagocitat, procesat si prezentat limfocitelor T helper de către celulele prezentatoare de antigen (Ag Presenting Cells - APC)

Factori care influenteaza imunogenicitatea

B.Contributia sistemului biologic

- **Genetica**
  - Speciei
  - Individului
    - Responders vs Non-responders

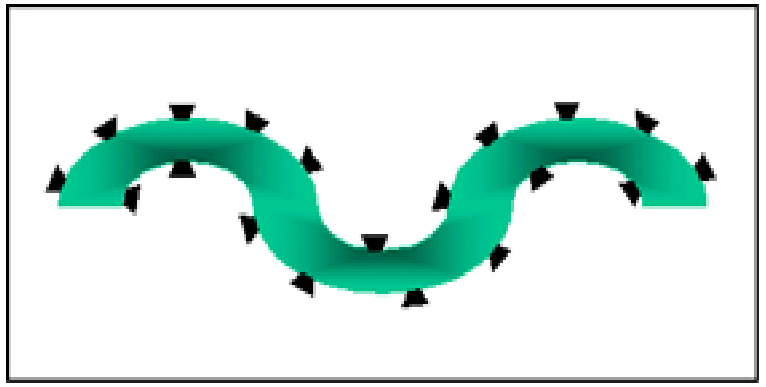
- **Vârsta** – De regula cei foarte tineri sau cei foarte batrani au o capacitate redusa de a declansa un raspuns imun ca rezultat al actiunii unui imunogen

Nu toate Ag existente in natura se caracterizeaza prin cele doua proprietati generale !

- Ag complete (imunogene) – prezinta dubla capacitate, aceea de a declansa raspuns imun si de a reactiona specific cu produsele rezultate (cu Ac sau cu receptorul de membrana)
- Ag incomplete (haptene) – Ag cu greutate moleculara mica si foarte mica care sunt capabile sa reactioneze cu imunoglobulinele specifice, dar nu pot initia un raspuns imun umoral tradus prin productie de Ac, decat daca sunt cuplate cu o macromolecula purtatoare (carrier)

Determinanti antigenici = epitopi

- Sunt subcomponente ale macromoleculei antigenice care se combina cu produsele rezultate in urma declansarii raspunsului imun
- La un singur antigen, acelasi epitop se poate repeta de mai multe ori



Clasificarea antigenelor în funcţie de origine

- **Antigene exogene =** antigene ce pătrund în organism din mediul extern, prin contact, inhalare, ingerare sau injectare.

- **Antigene endogene =** antigene ce au fost generate de celulele organismului, ca rezultat al metabolismului celular, sau ca rezultat al unei infecţii bacteriene sau virale.

Antigenele exogene

- 1. ***Antigene naturale***: formează categoria cea mai cuprinzătoare. Aici sunt incluse toate macromoleculele naturale din virusuri, microorganisme, fungi, plante şi animale. După dimensiuni se disting antigene moleculare (solubile) şi antigene corpusculare.
- 2. ***Antigene artificiale***: antigene naturale, modificate chimic prin cuplarea, cel mai adesea covalentă, cu una sau mai multe molecule mici, care le conferă o nouă individualitate antigenică şi o nouă specificitate de combinare cu anticorpii, în raport cu molecula de origine.
- 3. ***Antigene sintetice***: sunt polimeri de aminoacizi, cu secvenţă cunoscută, obţinuţi in vitro.

Antigenele endogene

- 1. *Antigene self* (autogene): antigene endogene care stimulează declansare unei reacţii autoimune.
- 2. *Antigene tumorale*: antigene ce sunt prezentate de MHC de clasă I pe suprafaţa celulelor tumorale.
- 3. *Antigene virale*.

Clasificarea antigenelor după înrudirea filogenetică

- **Idioantigene**: Sunt antigene specifice fiecărui individ, de ex. antigenele Complexului major de histocompatibilitate (MHC, după iniţialele în limba engleză).

- **Izoantigene**: Sunt antigene de grup, specifice doar unei părţi a populaţiei, de ex. antigenele grupelor sanguine (Rh, A, B).

- **Alloantigene**: Sunt antigene de specie, de ex. majoritatea antigenelor bacteriene.

Clasificarea antigenelor in functie de structura chimica

- PROTEINE = cel mai puternic imunogene
- GLICOPROTEINELE = puternic imunogene
- POLIZAHARIDELE = singure nu sunt imunogenice; in combinatie cu lipide sau proteine devin imunogene (ex: capsula lipopolizaharidica a pneumococului)
- ACIZII NUCLEICI = slab imunogeni
- LIPIDELE = pure, sunt in general nonimunogene

Tipuri de Antigene

A. T-independente

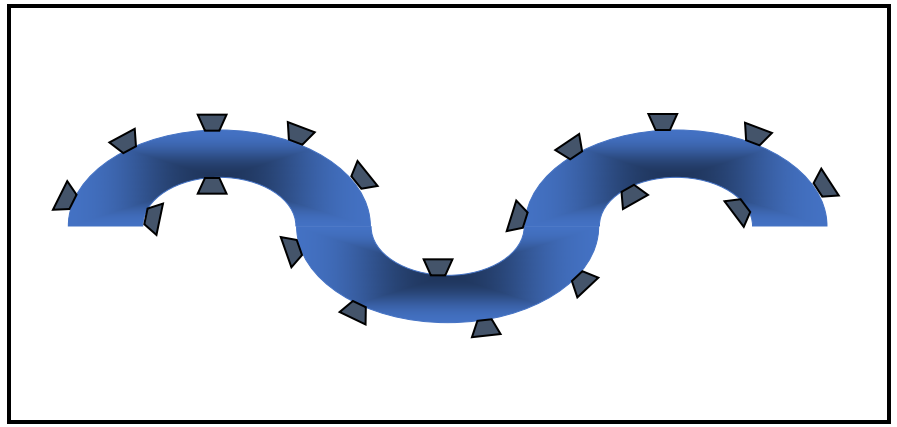
= antigene care pot stimula in mod direct limfocitele B pentru a produce anticorpi, fara sa fie instructate prealabil de limfocitele T

- In general, polizaharidele sunt antigene T-independente

Tipuri de Antigene

A. T-independente

- Proprietăți
  - Structura polimerica
  - Capabile de activare policlonala a limfocitelor B (Ag poate activa clonele specifice pentru alte Ag)
    - **Da -Tip 1 (TI-1)**
    - **Nu - Tip 2 (TI-2)**
  - Rezistenta la degradare



- Exemple:
  - Polizaharidele pneumococice,
  - Flagella

Tipuri de Antigene

B. T-dependente

= antigene care nu stimuleaza in mod direct productia de anticorpi fara ajutorul limfocitelor T

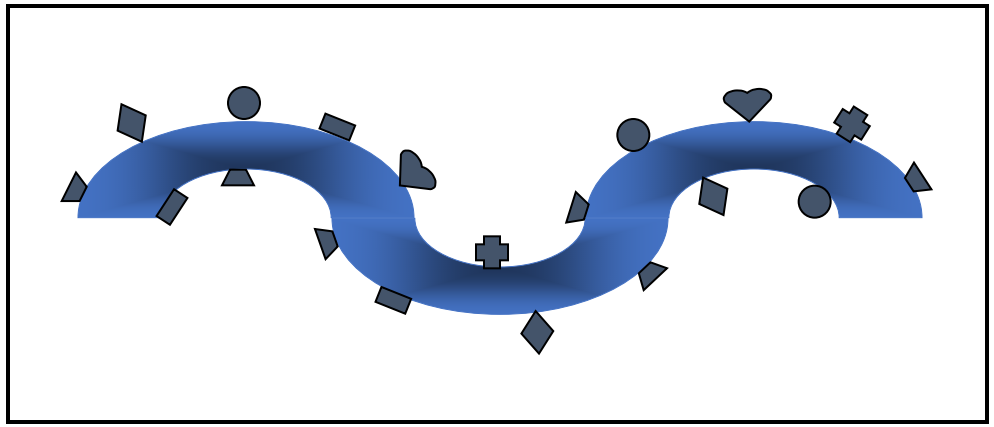
- Structuri caracterizate de prezenta de copii ale mai multor determinanti antigenici diferiti

Tipuri de Antigene

B. T-dependente

- Proteine

- <u>Exemple</u>
  - Proteine microbiene
  - Proteine Non-self sau alterate



Superantigene

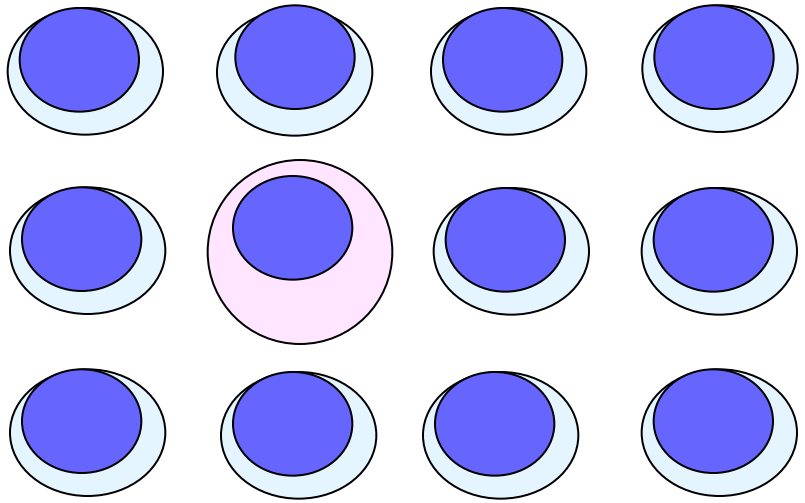
- Atunci cand sistemul imun intalneste un antigen T-dependent conventional, numai o mica parte (1 la 104 -105) din populatia de limfocite T este capabila sa recunoasca antigenul si sa se activeze (raspuns monoclonal/oligoclonal).

- Exista cateva tipuri de antigene care pot activa policlonal o mare parte dintre celulele T (pana 25%) = Superantigene

Superantigene

- Definitie

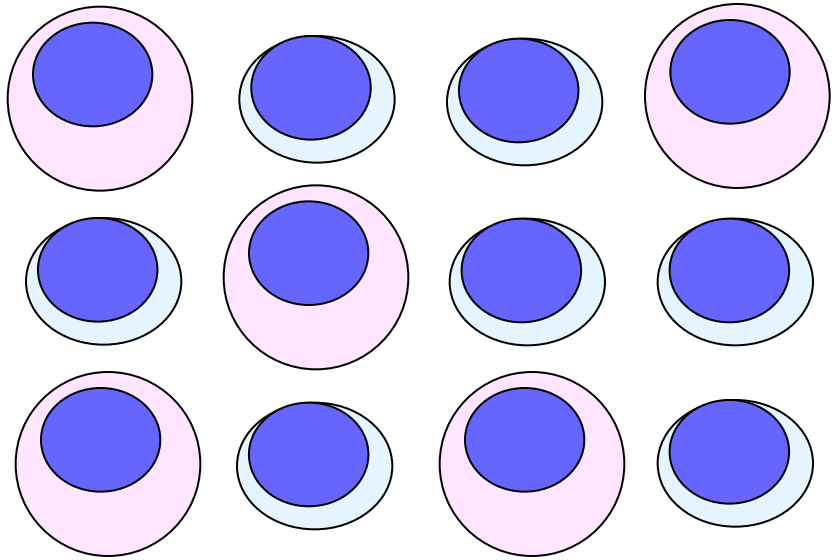
Antigen Conventional



Răspuns Monoclonal/Oligoclonal
al celulelor T

$1:10^4$ - $1:10^5$

Superantigen



Răspuns Policlonal

al celulelor T

1:4 - 1:10

Superantigene

- Exemple:
  - Enterotoxine Stafilococice
  - Toxina exfoliativa a Stafilococului
  - Toxina de soc toxic a Stafilococului
  - Exotoxine pirogene Streptococice

Răspunsul imun declanșat de Ag

- Antigenele pot fi clasificate în mai multe grupe: exogene/endogene, timodependente/ timoindependente etc.

- Proprietatea de a răspunde la un anumit Ag depinde de genele MHC, numite din acest motiv gene ale răspunsului imun.

- Doherty şi Zinkeragel au demonstrat în 1974 că răspunsul imun este limitat de complexul major de histocompatibilitate (MHC) individual

- Răspunsul imun umoral (RIU) este declanşat de antigene exogene timodependente şi independente MHC II,
- Răspunsul imun celular (RIC) este declanşat de Ag endogene timodependente MHC I.

- Limfocitele T secretă citokine care pot activa oricare din cele două tipuri de răspuns imun (RIU sau RIC)
- Limfocitele B (după proliferare şi blastizare) secretă imunoglobuline (anticorpi) implicate în RIU.

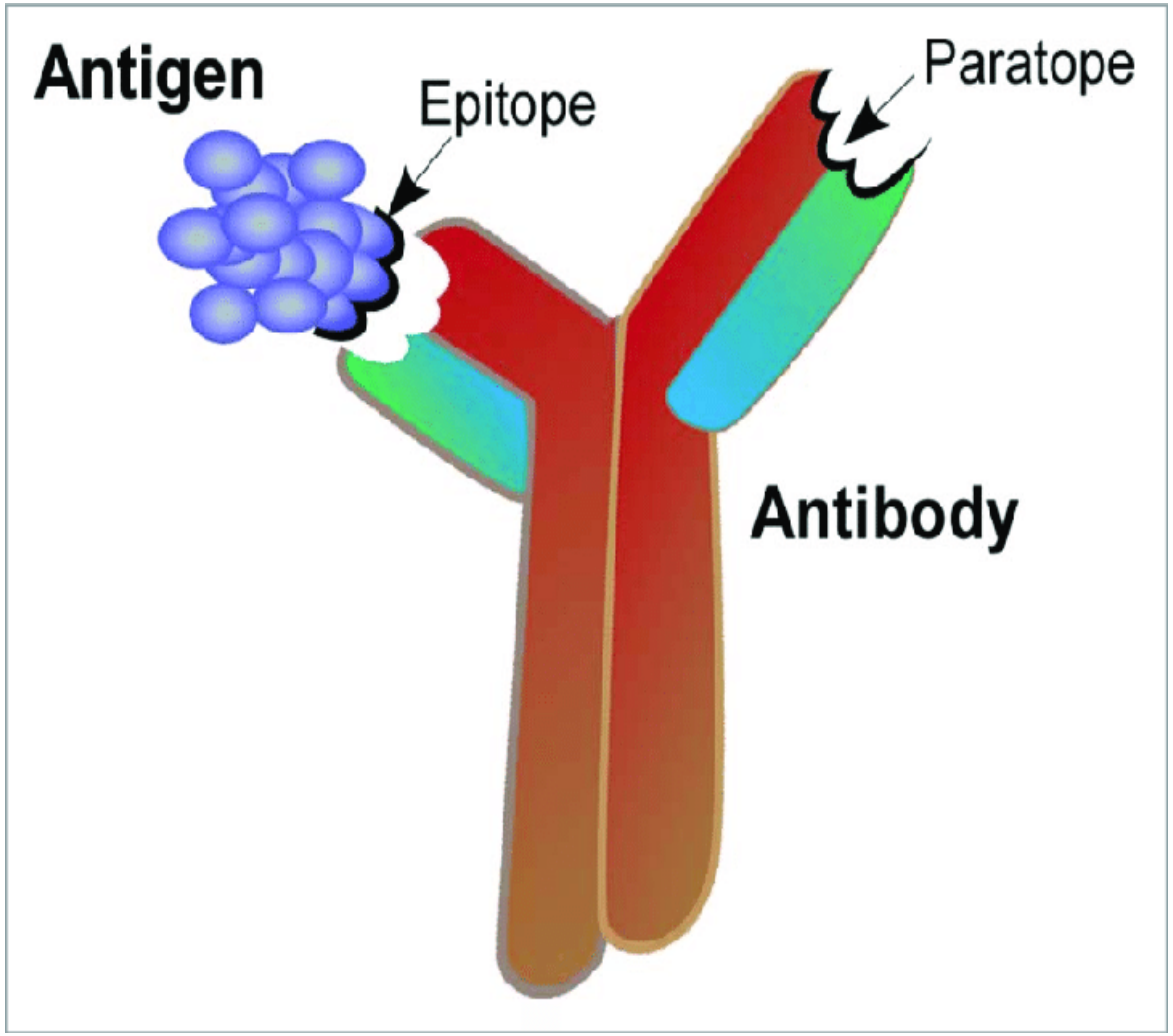
Antigenul

- pătrunde în organism și este captat de către celulele prezentatoare de antigen (APC) (macrofage, celule dendritice, limfocite B etc).
- Ag nu poate fi recunoscut ca atare de către sistemul imun deoarece doar o anumită parte a lui numită **epitop** prezintă proprietatea de imunogenicitate la valoare maximă şi poate declanşa un răspuns imun (RI).
- **Epitopii** rezultă după ce Ag este endocitat de către APC, prelucrat în lizozomi
- Epitopii vor fi prezentaţi limfocitelor în complex cu moleculele sistemului major de histocompatibilitate (MHC).

Reacţiile antigen – anticorp

- **Ag = substanța de origine exo- sau endogenă capabilă să declanșeze un răspuns imun**
  - Ag complete (imunogene) – prezinta dubla capacitate de a declanșa răspunsul imun si de a reacționa specific cu produsele rezultate (cu Ac sau cu receptorul de membrană)
  - Ag incomplete (haptene) – Ag cu greutate moleculară mică/ foarte mică ce sunt capabile sa reacționeze cu imunoglobulinele specifice, dar nu pot iniția un răspuns imun umoral tradus prin producție de Ac, decât dacă sunt cuplate cu o macromoleculă purtătoare (carrier)
- **Ac** = moleculă de natură proteică (globulină), produsă în limfocitele de tip B, capabilă să recunoască o particulă străină de organism denumită Ag.
- **Reacţia antigen – anticorp** este specifică și poate fi folosită pentru detectarea unui Ag necunoscut cu ajutorul unui Ac cunoscut sau a anticorpilor din serul pacienţilor folosind un antigen cunoscut

Reacția dintre Ag si Ac necesită interacțiunea determinantului antigenic (epitop) cu situsul de combinare al Ac (paratop).



Tipuri de reacții Ag Ac în funcție de starea fizica a Ag

- **Reacții de aglutinare**, produse *de Ag particulate* (celule bacteriene, eritrocite, Ag solubile adsorbite pe particule de latex, de colodiu etc);

- **Reactii de precipitare**, produse de *Ag macromoleculare*, aflate în stare coloidală (solubile): proteine, polizaharide, acizi nucleici, lipide;
  - precipitare în gel: imunodifuzia radiala simpla Mancini, dubla difuzie Ouchterlony
  - precipitare în mediu lichid: reacția Ramon, precipitarea în inel Ascoli

- **Reacții de fixare a complementului** (C), în care moleculele de Ac, după reacția cu Ag, activează cascada de proteine a C seric;

- **Reacții de neutralizare**, al căror rezultat este anularea efectului toxinelor, al activității enzimelor sau anularea infecțiozității virionilor

Tipuri de reacții Ag Ac

- **Reacțiile primare** sunt interacțiunile inițiale, consecutive legării celor doi reactanți, pe baza complementarității conformaționale și dependente de complementaritatea electrochimică.

- **Reacțiile secundare** ilustrează fenomenele ce apar **in vitro**, ca o consecință directă (neobligatorie) a interacțiunii primare, la circa 30 minute după interacțiunile primare.

- **Reacțiile terțiare** se produc **numai in vivo** și sunt o reflectare a consecințelor biologice ale interacțiunii primare:
- pot fi benefice (protectoare) sau defavorabile prin manifestări patologice de hipersensibilitate sau de fenomene autoimune.

Declanșarea răspunsului imun de către antigene

presupune în mod obligatoriu 3 aspecte :

- Selecția clonală – Ag selectează dintr-un repertoriu preexistent de limfocite doar pe cele care sunt Ag-specifice (au pe suprafața lor receptori ce pot recunoaște și stabili legături cu Ag-inductor)
- Activarea metabolică a limfocitelor selectate ca urmare a recunoașterii antigenice
- Expansiunea clonală – proliferarea impresionantă a limfocitelor ca urmare a stimularii activității metabolice limfocitare

Reacțiile imune secundare ale interacțiunii Ag Ac

- modalitatea fundamentală de investigare, apreciere si evaluare cantitativă a răspunsului imun,

- Datorită faptului că Ag poate avea mai mulți epitopi, iar Ac are minim 2 paratopi, complexele primare mici, solubile, interacționează între ele formând complexe secundare, ca o **rețea tridimensională**, insolubilă, mult mai stabilă decât complexele primare.

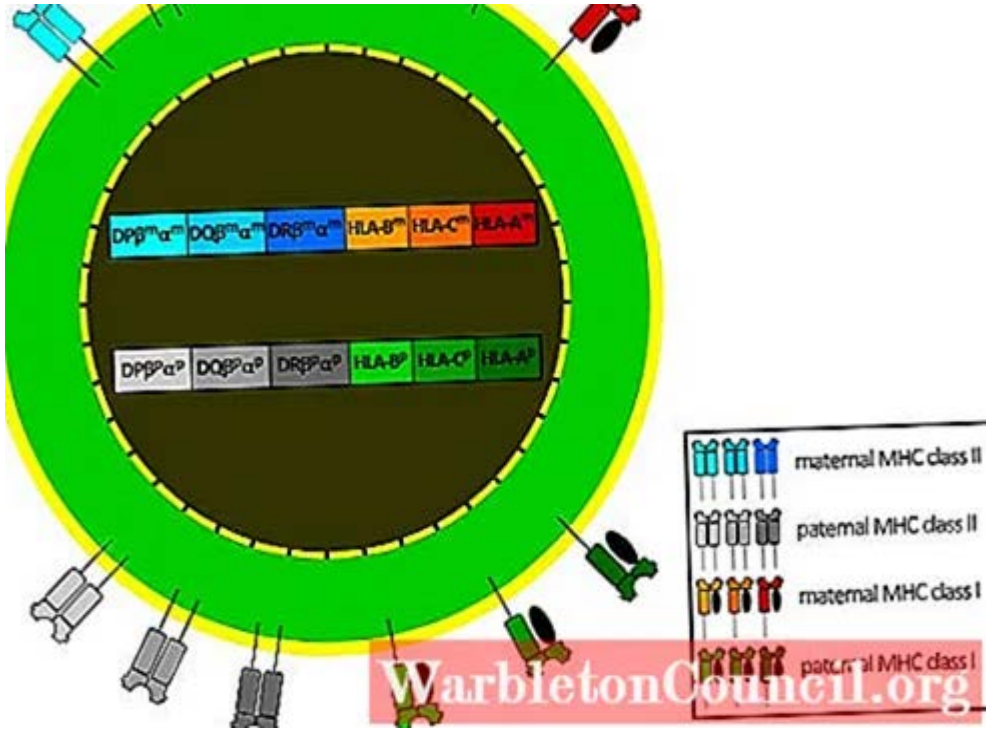
- In vivo, manifestările interacțiunilor secundare sunt dependente de natura reactanților și de condițiile de reacție.

Complexul major de histo-compatibilitate (MHC)

Termen folosit pentru a descrie o regiune genetică complexă și un set de produse proteice, implicate în reglarea răspunsurilor imune;

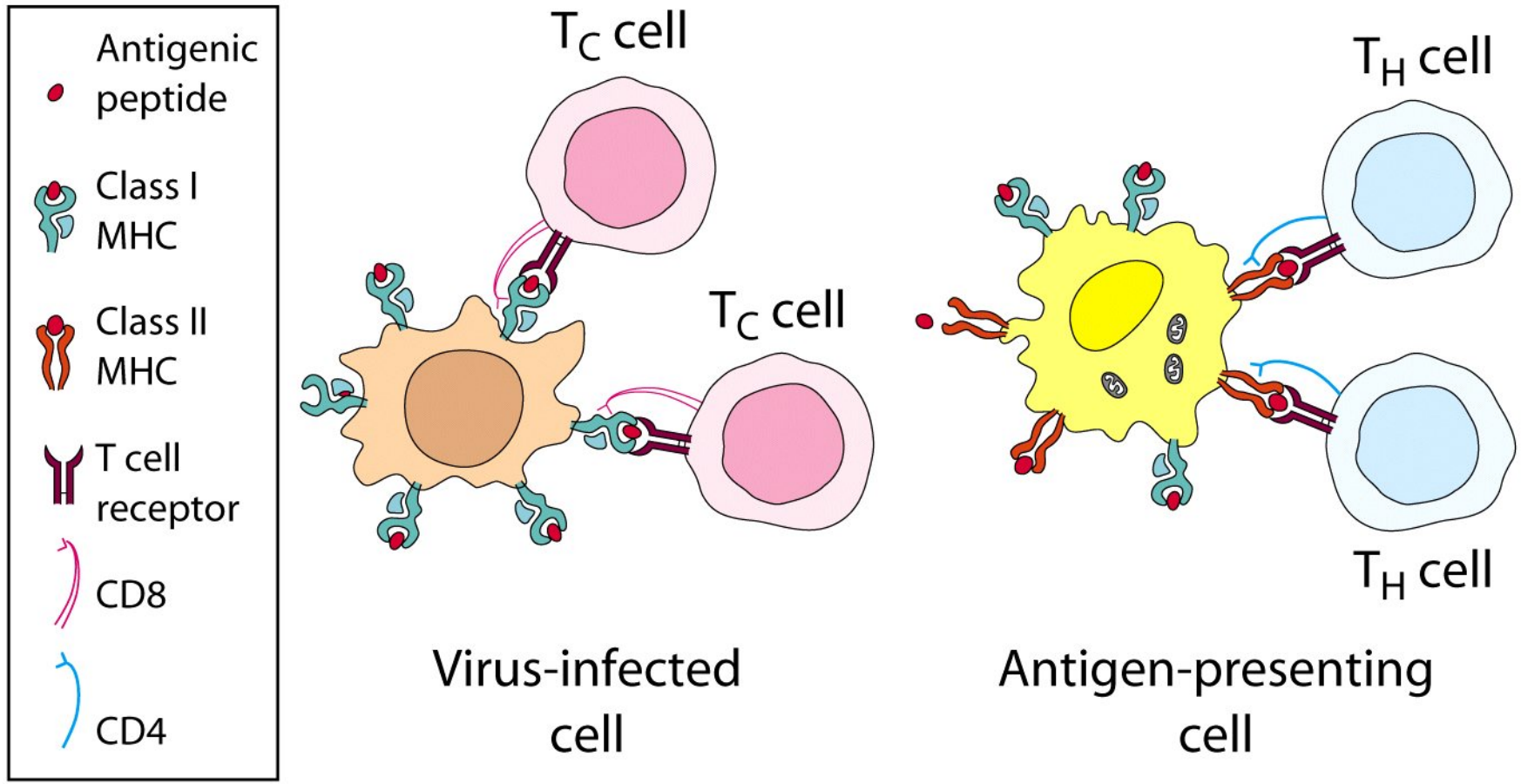
Grup de gene ce produc markeri celulari cu rol important în procesul de recunoaștere a self-ului, molecule de clasa I și de clasa II;

Gene polimorfe care codează proteinele de suprafață celulară (molecule MHC) esențiale în sistemul imun adaptativ



Complexul major de histo-compatibilitate (MHC)

- Human MHC class I & II = human leukocyte antigen (HLA)
- Mediază acceptul sau rejectul de grefă / susceptibilitatea la boli autoimune.
- Denumirea de „complex major de histocompatibilitate” (MHC) derivă din participarea acestor molecule la acceptarea sau respingerea grefelor de țesut, context în care au fost studiate pentru prima dată acum aproape 80 de ani.
- Moleculele codificate de această regiune genetică au un rol important în răspunsul imun celular, mediat de limfocitele T.


Antigenic peptide
Class I MHC
Class II MHC
T cell receptor
CD8
CD4
T_C cell
T_C cell
Virus-infected cell
T_H cell
T_H cell
Antigen-presenting cell

Limfocitele T

- Cea mai importantă funcţie a limfocitelor T este inducerea unui răspuns sau a unei reacţii imune specifice la Ag, prin recunoaşterea unor peptide antigenice fixate pe moleculele MHC (complex major de histocompatibilitate).
- În acest scop pe limfocitul T există un receptor pentru antigen (TCR), asociat întotdeauna cu un complex molecular transductor CD 3.
- 3 tipuri de limfocite:
- naive – mature care nu au avut contact cu Ag;
  - urmează să fie distruse în cazul în care într-o perioadă de 1-3 luni nu au contact antigenic
- efectoare
- cu memorie - care vor reacționa mai rapid la a doua stimulare cu același Ag.

LT care recunosc molecule ce nu sunt MHC

- Recent s-a fundamentat ideea conform căreia există o clasă nouă de LT care recunosc antigene prezentate de molecule ce nu sunt MHC-I sau MHC-II.
- Una dintre aceste clase de LT foloseşte un receptor pentru antigen ce recunoaşte antigene lipidice prezentate pe molecule CD1.
- CD1 sunt asemănătoare structural cu MHC-I, însă lanţurile CD1 formează un situs ce poate acomoda componente glicolipidice ale patogenilor microbieni.
- Astfel, complexele CD1-glicolipide servesc drept ţintă pentru recunoaşterea de către LT ce au un tip special de receptor: γδ TCR.
- Această prezentare a glicolipidelor microbiene pe molecule CD1 pare să fie responsabilă de recunoaşterea independentă de MHC a mycobacteriilor.

Activarea limfocitelor

- LT sunt activate doar de către antigenele timodependente

- Pentru activare Lf este nevoie de două semnale:
- unul care provine de la antigen
- altul care provine de la moleculele accesorii de pe
  - suprafața APC (B7/CD80) pentru LT
  - de pe suprafața LTh (CD40L) pentru LB.

Mecanism de activare LT specifice

- Activarea unui limfocit T specific se face printr-un mecanism dublu:

1. contactul (direct) celulă - celulă, cu o celulă prezentatoare de antigen (APC);
2. stimularea (indirectă) de către citokine: IL1, IL-6, IFN-g şi IL-2.

Limfocitul produce la rândul său atât IL-2 cât şi lanţul α al receptorului Il-2, contribuind la activarea altor LT specifice

Limfocitele T

- ajutătoare (T helper, CD4+) (LTh/Th) - veritabil „coordonator”, orientând răspunsul imun (RI) către RI celular sau către RI umoral.

- Există cinci subtipuri de LTh
- Th0,
- Th1,
- Th2,
- Th3,
- Th17

Limfocitele Th0

- limfocite tinere
- sub influenţa unor stimuli moleculari (IL-4, IL-12) se vor transforma în limfocite Th1 sau în limfocite Th2;
- limfocitele Th1 sintetizează limfotoxină, IL-2, IFN-γ, TNF-α și TNF-β
- au rol foarte important în apărarea anti-virală, şi anti-neoplazică (dar și în apărarea antifungică și anti-bacteriană),
- sunt implicate mai ales în RIC,
- stimulează switch-ul izotipic spre IgG2 și IgG3,
- amplifică rolul citotoxic al macrofagelor
- stimulează proliferarea LTc;

Limfocitele Th2

- sintetizează IL2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13;
- au rol mai ales în RIU,
- sunt implicate în reacţiile de hipersensibilitate,
- stimulează proliferarea LB și secreția de anticorpi;
- sunt stimulate de semnale venite de la bazofile și eozinofile (papaina duce la sinteza de IL-4 de către bazofile, care duce la stimularea răspunsului Th2)

Limfocitele Th3 (limfocitele T reglatorii)

- deprimă funcția altor limfocite
  - CD4+,
  - CD8+,
  - LB,
  - NK;
- secretă Il-10
  - inhibă Th1 și Th2, deci RIU și RIC
- secretă TGF- β
  - factor de creștere și transformare ce inhibă răspunsul imun;
- sunt limfocite helper CD4+ și CD25+;

Limfocitele Th17

- relativ recent identificate;
- se găsesc la interfaţa dintre mediul extern şi mediul intern (ex. la nivelul tegumentului, de-a lungul tractului gastrointestinal);
- au rol de protecţie la nivelul acestor suprafeţe,
- LTh-17 cu memorie reacționeaza față de antigenele Candida albicans
- sintetizează IL-6, IL-17 și TNF-α;
- implicate în inducerea și exacerbarea autoimunității și inflamației (datorită IL-17),
- activează RIC (importante în RI prin recrutarea neutrofilelor și macrofagelor la locul infecției),
- sunt în relație cu LT reglatorii care previn fenomenele inflamatorii și mediază toleranța imună
- secreția lor este stimulată de IL-23,

Limfocitele T supresoare (Ts, CD8+)

- Limfocitul T supresor este o celulă CD8+, ca şi LT citotoxic.
- Limfocitele Ts au rol în reglarea răspunsului imun, menţinându-l în limite normale.
- În lipsa Ts, orice stimul antigenic ar putea fi urmat de o proliferare anarhică a unei clone de limfocite (acele limfocite dotate cu receptorul specific pentru respectiva structură antigenică).
- În mod normal, între populaţiile de limfocite Th şi Ts există un echilibru, care se cuantifică prin raportul Th/Ts, raport care trebuie să fie supraunitar.
- Exemplul cel mai cunoscut în care valoarea raportului devine subunitară este infecţia HIV / SIDA.
- O parte dintre limfocitele T nu au funcţie efectoare şi se transformă în LT cu memorie.

Limfocitele T citotoxice (Tc, CD8+)

- Se referă în principal la LT CD8+, cu toate că această proprietate a fost observată şi la unele LT CD4+, cu următoarele diferențe:
- LTc CD8+ pot liza oricare dintre celulele organismului care exprimă molecule HLA I (HLA - human leukocyte antigen system)
- LTc CD4+ îşi limitează funcţia la celulele care exprimă molecule HLA II.
- realizează „supravegherea imunologică” prevenind multiplicarea anarhică a celulelor.
- când apar Ag tumorale, LTc au capacitatea de a le recunoaşte, de a se multiplica/activa şi de a le distruge.
- în „supravegherea” antitumorală, LTc sunt ajutate de celulele NK.

LTc

- Sindroame genetice transmise autozomal recesiv în cadrul cărora este afectată citotoxicitatea sau există mutații la nivelul genei ce codifică informația pentru sinteza de perforine.

- Aceste sindroame au fost asociate cu imposibilitatea controlării infecțiilor virale, mai ales cu CMV, EBV și HSV.

Mecanisme de distrugere a Ag de către LTc

- inducerea apoptozei prin intermediul unui receptor al ”morții celulare”, ceea ce duce la fragmentarea ADN-ului celulei țintă;
- ”atacul” asupra celulei țintă prin perforine (proteine ce rup membrana plasmatică sau lizozomală) și granzine (serin proteaze care lizează substraturi sau activează diverse proteaze) sintetizate și eliberate de către LTc.
- LTc au un rol important în apărarea împotriva celulelor infectate viral.
- Activitatea lor este intensificată de IFN-γ

Limfocitele T γδ (γδ T cells)

- sunt sechestrate la nivelul barierelor epiteliale sau la nivelul focarului inflamator,
- manifestă citotoxicitate față de diverse ținte,
- sunt activate direct de Ag (non-peptide de dimensiuni mici) fără a fi necesară prezentarea în conjuncție cu MHC,
- reacționează față de extractele mycobacteriene,
- se acumulează la nivelul focarului inflamator în boli cu implicare imună precum artrita reumatoidă sau sarcoidoza (cauza nu este cunoscută),
- sunt implicate atât în imunitatea înnăscută cât și în cea adaptativă, prin
  - secreția de citokine și chemokine
  - abilitatea de a ajuta LB să se transforme în limfocite cu memorie

Cupluri de adeziune LT APC

- În permanenţă, între APC şi LT se stabilesc cupluri de adeziune intercelulară.

- Este nevoie de prezenţa APC dar şi de o „colaborare bidirecţională” („crosstalk”) între APC şi LT (trebuie să existe o dublă activare a celor două tipuri de celule, în sens anterograd şi retrograd), întrucât în lipsa acestora, limfocitul T nu este capabil să capteze şi cu atât mai mult, să prelucreze Ag native T-dependente.

- Cuplurile de adeziune stabilesc un efect de „fermoar” între membrana APC şi LT, legătura având loc înainte ca TCR să vină în contact cu epitopul (cuplul se formează chiar dacă APC prezintă un epitop pentru care LT nu are receptori specifici).

Limfocitele B

- reprezintă 5% până la 15% din limfocitele din sânge (300 până la 600 elem/mm3)
- constituie majoritatea celulelor din foliculii limfatici, ganglioni şi splină.
- rolul lor esenţial este sinteza anticorpilor, în cursul RIU specific.
- provin din celulele stem hematopoietice (CD34+, CD38-).
- toată linia limfocitară B (celule imature sau mature) are markeri specifici de suprafaţă CD19 şi CD20, utilizaţi pentru identificarea celulelor B (ex. în citometria în flux);
- identificarea prin aceeaşi metodă a markerului CD10 permite încadrarea în stadiul de limfocit matur.
- Limfocitul B părăseşte măduva osoasă şi trece în „zonele B” din organele limfoide secundare (ganglioni limfatici, splină etc).

LB „naive” (virgine)

- LB naive dar mature (încă nu au avut contact cu antigenul, dar au fost maturate în măduva osoasă hematogenă) sunt stimulate de antigen;

- LB naiv este pregătit pentru a răspunde stimulului antigenic, deşi se găseşte în stare de repaus, în aşteptarea primei stimulări antigenice;

- LB captează antigenul, prin intermediul BCR (receptor pentru antigen de pe LB), îl procesează, prezintă epitopii în complex cu moleculele MHC II spre LTh CD4+.

LB activ

- Transformarea unui LB naiv într-un LB activ şi apoi în plasmocit necesită intervenţia succesivă a citokinelor (ca într-o „cascadă”).
- Activarea LB are loc datorită
  - recunoaşterii antigenice
  - secreţiei de IL-1 de către celula prezentatoare de antigen (APC)
  - secreţiei de IL-4 de către Th2.
- Limfocitul B activ exprimă receptori pentru alte interleukine, în special IL-5 şi IL-6 şi lanţul a al IL-2.
- LB se va divide şi va da naştere la numeroase celule identice în foliculul limfoid secundar

Diferențierea LB

- Sub acţiunea diferitelor citokine are loc comutarea izotipică (isotypic switch) de la IgM la IgG, IgA sau IgE;
- în urma acestei comutări plasmocitul va secreta IgG, IgA sau IgE.
- De exemplu, sub acţiunea IL-4 are loc comutarea izotipică a IgM în IgG sau IgE iar sub acţiunea IL-5 în IgA.
- Există şi limfocite B active care nu se transformă în plasmocite ci persistă sub formă de limfocite B cu memorie, cu o durată de viaţă lungă (asigurând spre exemplu protecţia faţă de o nouă îmbolnăvire, de ex. după scarlatină/infecție cu streptococul piogen de grup A, lizogenizat).

Funcțiile LB

1. Prezentarea antigenelor către LT;
   - Sunt APC profesionale numai în condiţii de activare metabolică.
   - Au capacitatea de a recunoaşte epitopii conformaţionali ai antigenelor şi de a-i prezenta limfocitelor T (RI la antigenele timo-dependente necesită cooperarea LB-LT)
   - Prezintă pe suprafaţa lor receptori de tip CR şi FcγR şi pot sintetiza molecule MHC II.
   - LB recunosc şi prezintă numai Ag solubile.
2. Sinteza imunoglobulinelor (anticorpilor).
3. Limfocitul B se diferenţiază progresiv într-un limfoblast sau imunoblast care secretă anticorpi de tip IgM (specific Ag timo-independente)
4. În cazul antigenelor timo-dependente, are loc trecerea de la răspunsul primar cu secreţie predominentă de IgM, la un răspuns secundar cu predominenţa IgG sau mai rar a IgA sau IgE.

Curs IV
Răspunsul imun mediat umoral și celular

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Rezistență și imunitate

- Existenţa tuturor organismelor vii este condiţionatã de activitatea unor mecanisme de rezistenţă şi de imunitate, capabile să-și protejeze individualitatea, prin mecanisme de recunoaştere şi diferenţiere a substanţelor proprii (**self**) de cele străine (**nonself**).

Mecanismele de rezistență și imunitate

- Mecanismele de rezistenţă şi imunitate sunt prezente pe toată scara evolutivă a organismelor, începând cu bacteriile şi sunt într-o continuă și complexă evoluţie.

- În mod normal, aceste mecanisme sunt :
- perfect tolerante faţă de self,
- se activează şi reacţionează mai mult sau mai puţin agresiv pentru a îndepărta, a neutraliza sau a distruge substanţele nonself.

Răspunsul imun

- Răspuns colectiv coordonat la introducerea unor substanțe străine (Ag) într-un organism mediat de celule și molecule ale sistemului imun.

- Rolul sistemului imun(organe, celule, molecule):
- Apărarea împotriva microbilor
- Apărarea împotriva creșterii celulelor tumorale
  - Distrugerea celulelor tumorale
- Homeostazia
  - Distrugerea celulelor anormale sau celule moarte (Leucocite, Hematii, complexe Ag Ac)

Tipuri de răspunsul imun

- **Functie de originea reactivității imune:**
- Imunitate înnăscută,
- Imunitate dobandită pe cale naturală sau artificială (postvaccinal).

- **Funcție de efectorul celular:**
- Imunitate umorală,
- Imunitate celulară.

Tipurile de răspuns imun

- Răspunsul imun mediat umoral
- Răspunsul imun mediat celular



Răspunsuri imune

Bariere mecanice & secretorii

Piele & Mucoase

Suprafețe rapid regeneratare, mișcări peristaltice, covorul mucociliar, tusea, voma, lacrimile, urina

Invazie & infecție

Imunitate înnăscută (II)

Apărare celulară și umorală

lizozim, secreții mucoase, glande sebacee, aciditatea gastrică, organisme comensale, complementul, fagocitoza, NK cel

Colaborare II IA
Macrofage secretă citokine (IA)
Mf/DCs prezintă Ag
Limfocitele cresc eficacitatea Mf (II)

Inflamație (CRP, Hi, Kinine)

Imunitate adaptativă (IA)

Apărare celulară și umorală

LB, Anticorpi, citokine, LT helper, T citotoxice

Răspunsul imun

- **Favorabil**
- conferă protecție imunologică = apărare împotriva microorganismelor patogene și împotriva celulelor care au suferit transformări maligne

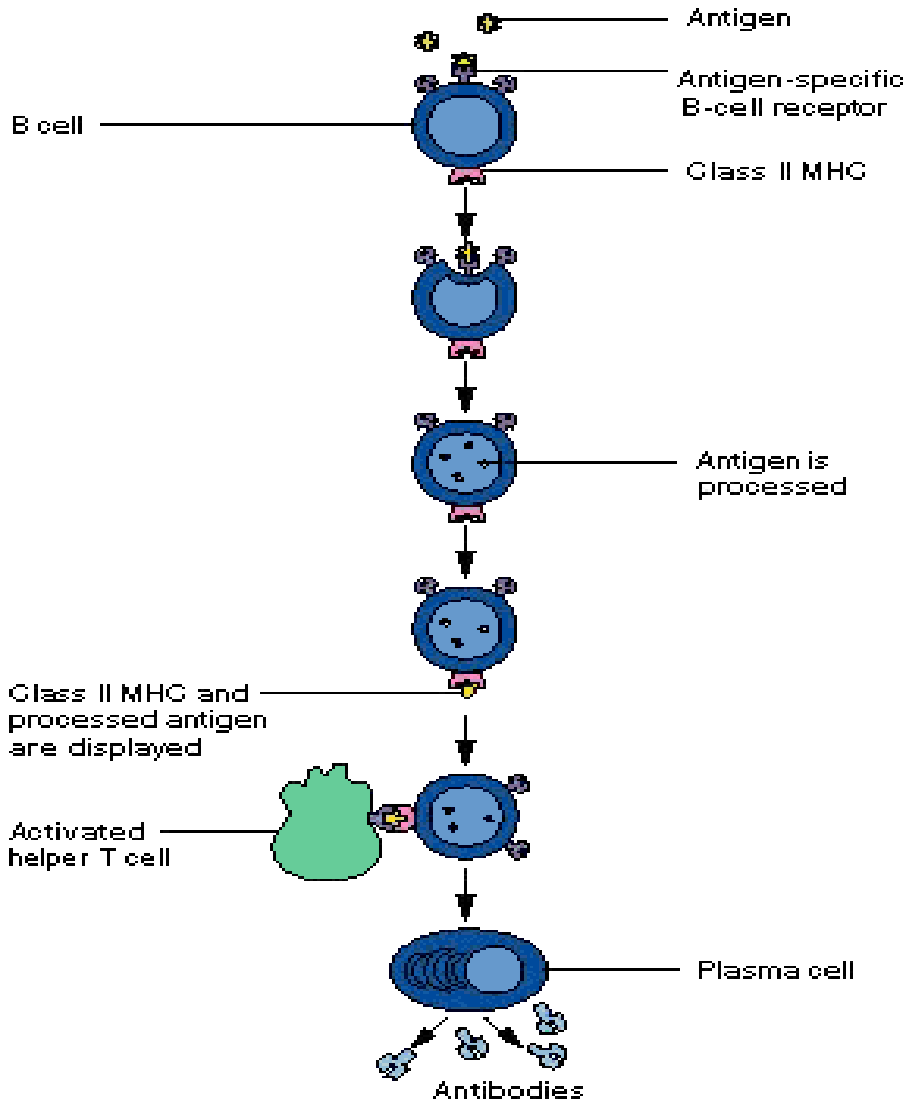
- **Nefavorabil**
- determină fenomene alergice, autoimune,
- Intervenție împotriva țesuturilor străine transplantate

Răspunsul imun umoral (RIU)

1. LB recunoaște specific Ag
   - Proliferează și se diferențiază în celule plasmatice care secretă Ac

2. Ac se leagă specific de Ag microbiene, distrug microbii prin mecanisme specifice

3. Unele LB evoluează spre celule cu memorie imunologică



Evaluarea răspunsului imun

- **Teste de investigare a imunității dobândite:**
- factori umorali: imunoglobuline cu rol de anticorpi, citokine, alte componente proteice specific
- factori celulari: aprecieri numerice si testări funcționale ale limfocitelor B și T

Explorarea RIU sistemic

- evaluarea diferitelor categorii de anticorpi prin reacții antigen-anticorp :
- dozarea imunoglobulinelor serice
- studiul limfocitelor B

Explorarea RIU local

- evaluarea concentrației IgA secretorii

Evaluarea RIU

Evaluarea diferitelor categorii de anticorpi prin reacții Ag - Ac :

- Reacții de aglutinare,
- Reacții de precipitare,
- Reacții de seroneutralizare,
- Reacții antigen-anticorp care implică prezența complementului,
- Reacții antigen-anticorp cu markeri (imunofluorescența, ELISA, RIA)

Dozarea imunoglobulinelor serice

- analiza electroforetică a serului
- analiza imunochimică
- tehnica imunodifuziei radiale simple,
- radiotestare pt IgE

Evaluarea RIU

Studiul limfocitelor B

evaluare numerică

- tehnici de rozetare
- tehnici de imunofluorescență
- stabilirea proporției de limfocite B prin flowcitometrie

evaluare funcțională

- apreciere numerică a LB B circulante (testul de transformare blastică limfocitară)

Declanșarea răspunsului imun de către antigene

presupune în mod obligatoriu 3 aspecte :

- Selecția clonală – Ag selectează dintr-un repertoriu preexistent de limfocite doar pe cele care sunt Ag-specifice (au pe suprafața lor receptori ce pot recunoaște și stabili legături cu Ag-inductor)
- Activarea metabolică a limfocitelor selectate ca urmare a recunoașterii antigenice
- Expansiunea clonală – proliferarea impresionantă a limfocitelor ca urmare a stimularii activității metabolice limfocitare

Interacțiunea Ag-Ac

- Evidențierea unor cantități foarte mici de Ag sau Ac, nedetectabile prin reacțiile clasice de aglutinare, precipitare sau de neutralizare utilizează:

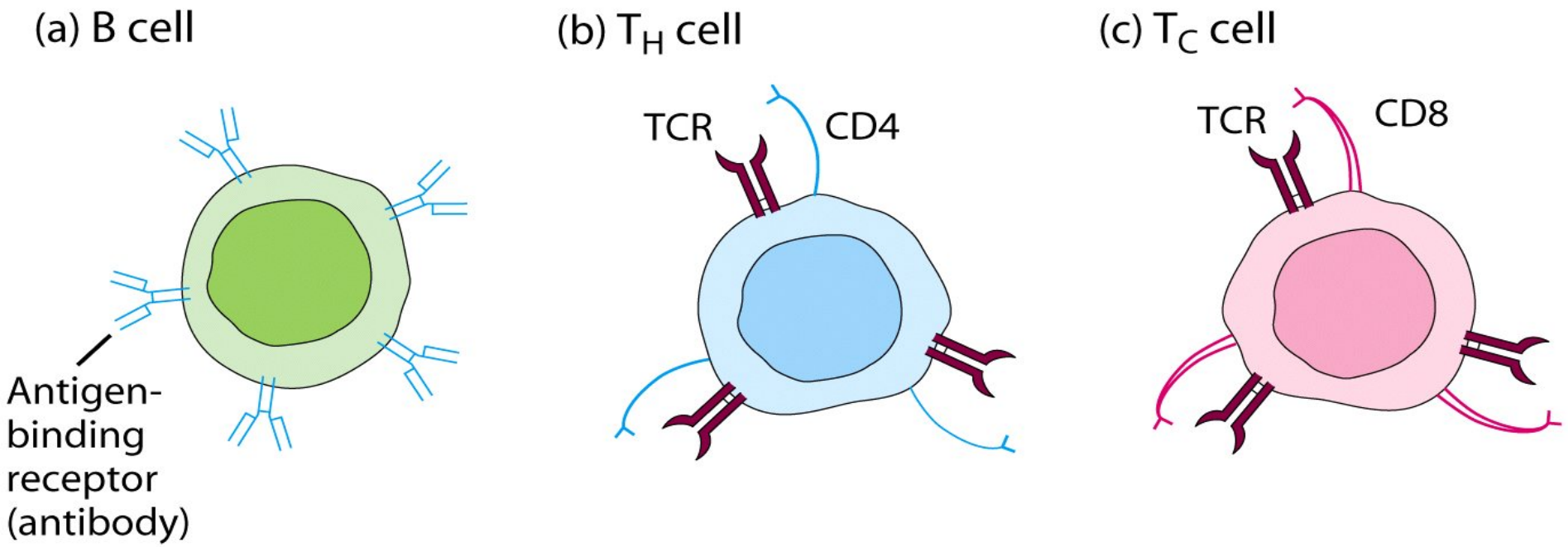
  - molecule marcate radioactiv (radioimunoanaliză),

  - molecule marcate enzimatic (enzimimunoanaliză)

  - molecule marcate cu fluorocromi (imunofluorescența)

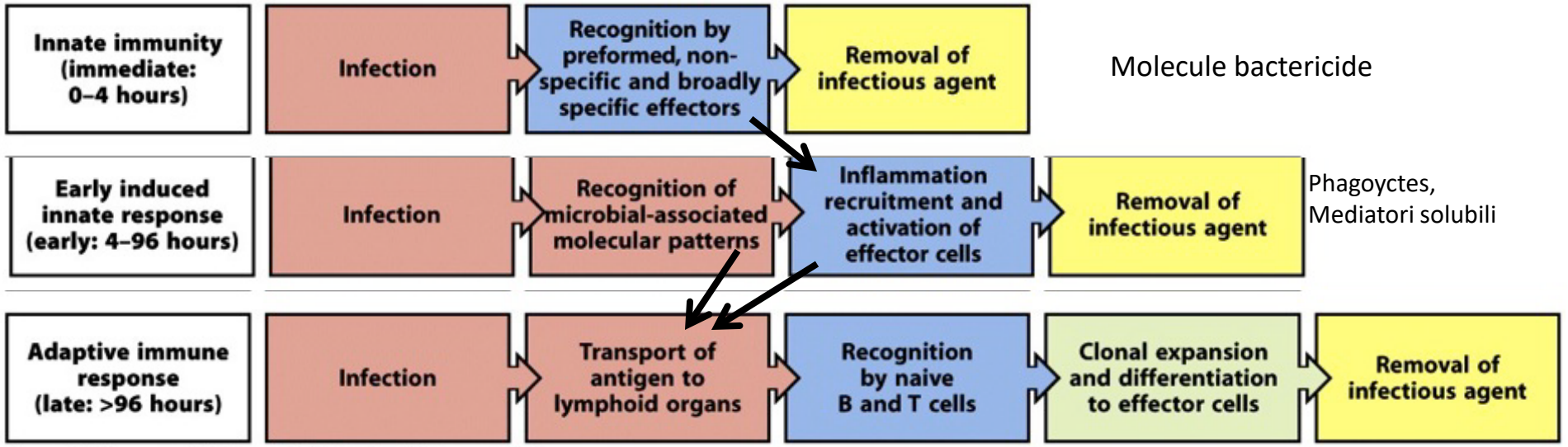
Imunitate umorală:
LB, Ac, Complement

Imunitate celulară:
LT, Th, TCR, NK, Tc



Receptorii care mediază recunoașterea imună dobândită:
Ac & T cell receptor (BCR, TCR)

Cronologia răspunsului imun



Răspunsul imun mediat celular (IMC)

RI Primar

- Stimularea formării de clone specifice celulelor T efectoare și cu memorie imunologică
- Câteva zile
- Nu limitează infecția

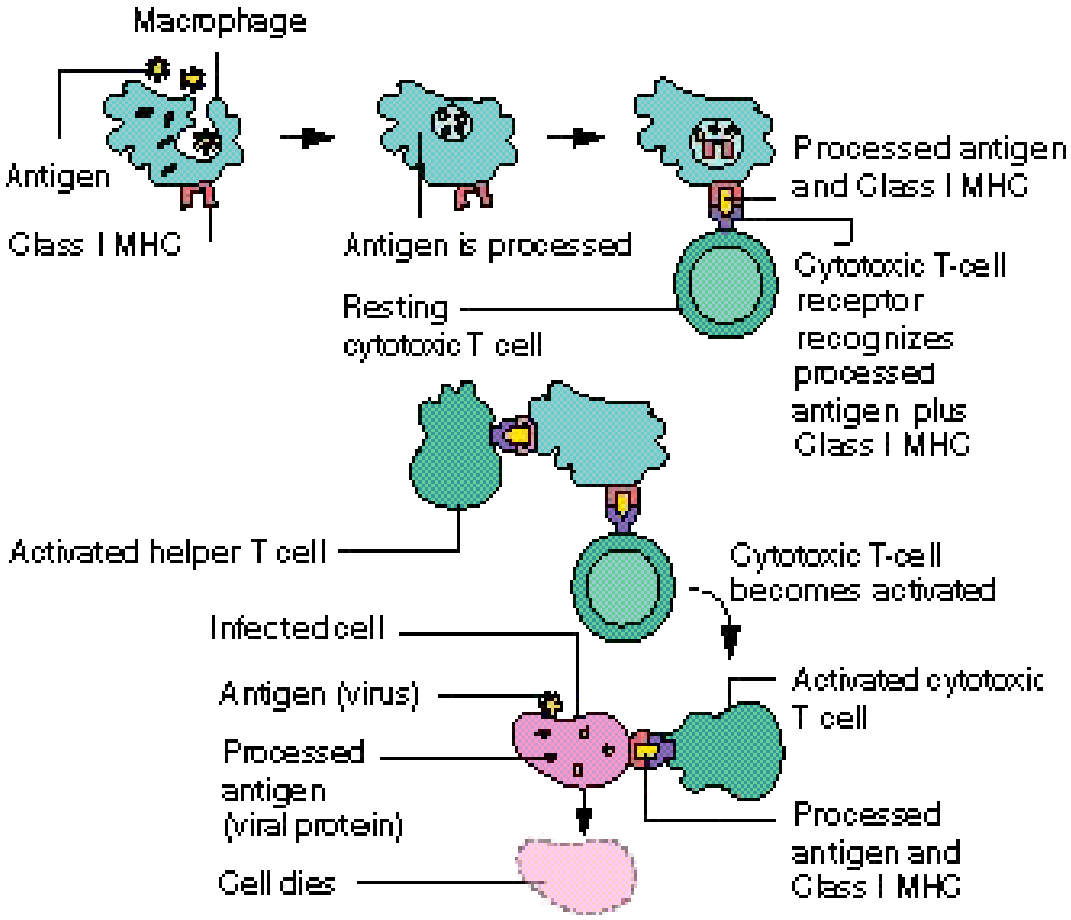
RI Secundar

- Mai pronunțat, rapid
- Eficient în limitarea infecției (reacțiile citotoxice împotriva paraziților intracelulari)
- Conduce la apariția memoriei celulare (hipersensibilitatea întârziată - Testul Tuberculinic)

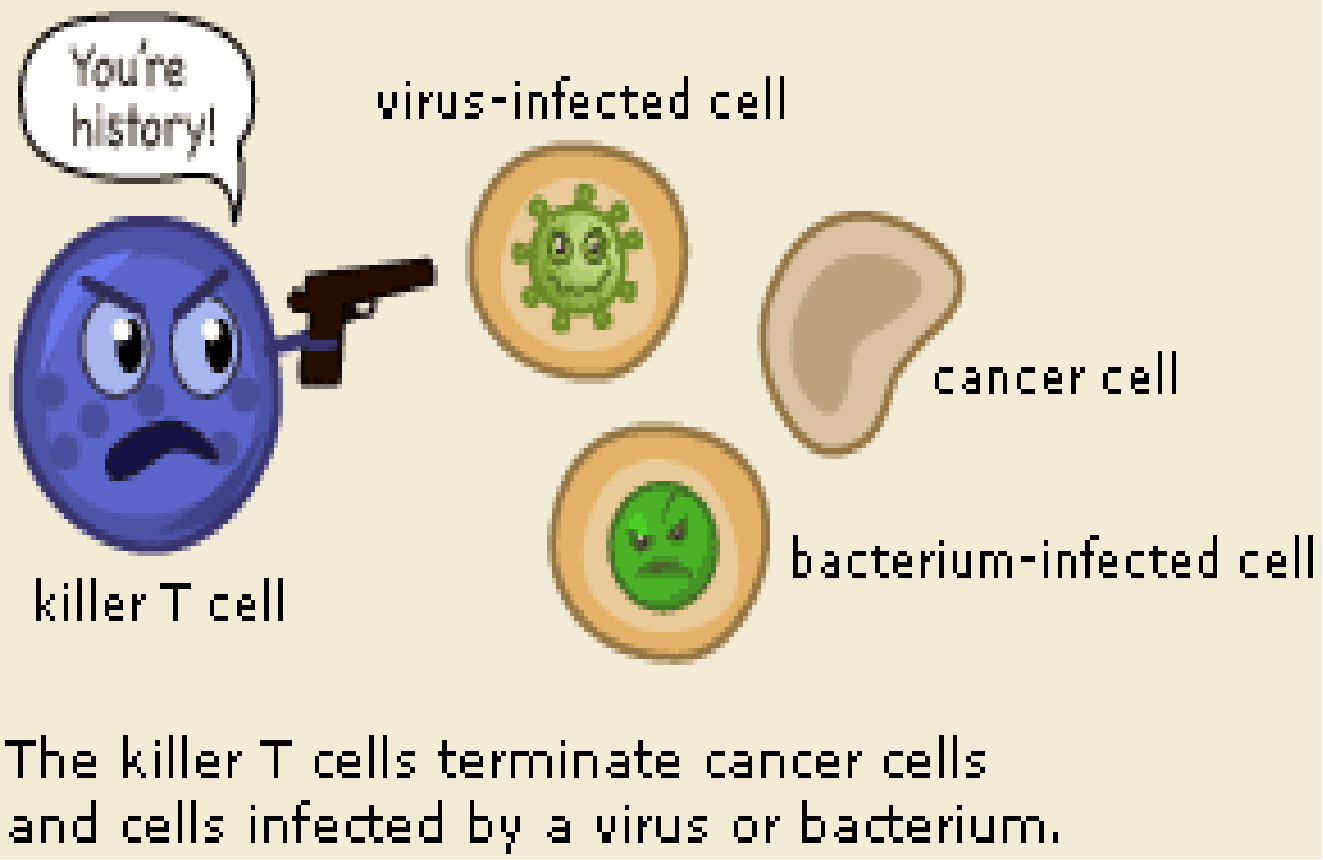
Răspunsul imun mediat celular (IMC)

1. Celulele T
   - Recunosc Ag de pe macrofage în funcție de clasa MHC
   - identifică moleculele de pe suprafața celulară
   - Ajută organismul să distingă selful de non-self
2. Celulele T în stadiul de celule efectoare pot distruge celulele infectate

- LT -h (CD4+)
  - Activează fagocitele
- LT-c (CD8+)
  - Distrug celulele infectate sau cele care conțin proteine microbiene



The good, the bad, the uggly…



Evaluarea RIC

Studiul limfocitelor T

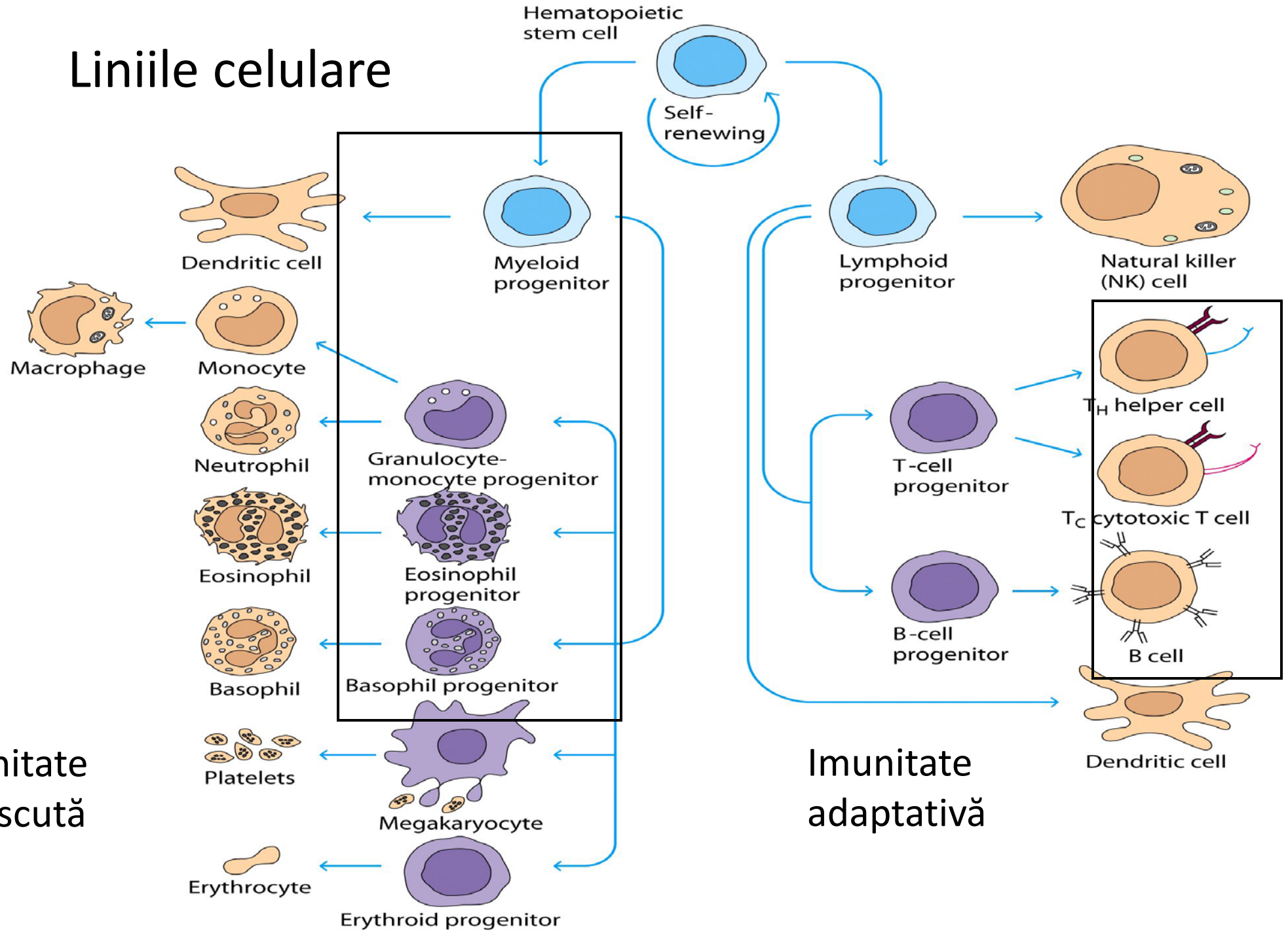
evaluare numerică:

- Teste de rozetare
- Citometria în flux

evaluare funcțională:

- testul de transformare blastică a limfocitelor T
- testul de inhibitie a migrării macrofagelor
- testul de citotoxicitate imună
- studiul producției de limfokine
- teste in vivo,
- teste cutanate

Liniile celulare



Imunitate înnăscută

Imunitate adaptativă

Evaluarea răspunsului imun

- **alegerea modalității de investigare imunologică** ține cont de utilitatea, sensibilitatea, specificitatea și valoarea predictivă a testului
- **sensibilitate** = rezultate adevărat pozitive (AP)/ rezultate adevărat pozitive(AP) + rezultate fals negative(FN)
- **specificitate** = rezultate adevărat negative(AN)/rezultate adevărat negative (AN) + rezultate fals pozitive (FP)
- **valoare predictivă pozitivă** = AP/(AP+FP) = proporția de pacienți cu rezultate pozitive care au cu adevărat boala
- **valoare predictivă negativă** = AN/(AN+FN) = proporția de pacienți cu rezultate negative care nu au boala.

Evaluarea răspunsului imun

- **alegerea modalității de investigare imunologică** ține cont de utilitatea, sensibilitatea, specificitatea și valoarea predictivă a testului
- **sensibilitate** = rezultate adevărat pozitive (AP)/ rezultate adevărat pozitive(AP) + rezultate fals negative(FN)
- **specificitate** = rezultate adevărat negative(AN)/rezultate adevărat negative (AN) + rezultate fals pozitive (FP)
- **valoare predictivă pozitivă** = AP/(AP+FP) = proporția de pacienți cu rezultate pozitive care au cu adevărat boala
- **valoare predictivă negativă** = AN/(AN+FN) = proporția de pacienți cu rezultate negative care nu au boala.

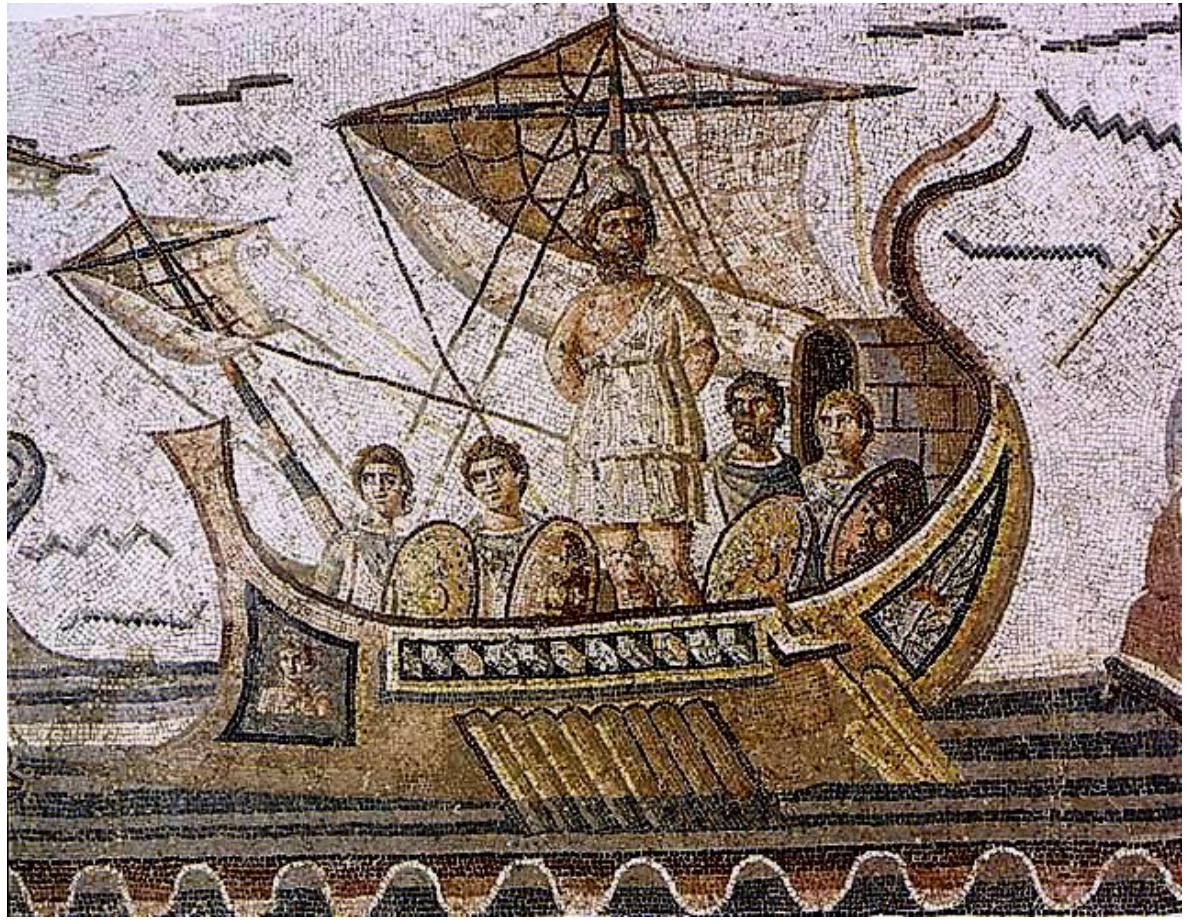
Could We Avoid Ulysses Syndrome in the Diagnosis of Tuberculosis Disease Based on IGRA Testing?

Oana Arghir, Ioan Arghir, Paraschiva Postolache, Elena Dantes, Simona Cambrea,

Chest. 2014;145(3_MeetingAbstracts):139A. doi:10.1378/chest.1825917

Testul IGRA detecția serică de gama interferon secretat de limfocitele T CD4 (Ag Nil 1) CD4+ CD8 (Ag Nil 2)

și sindromul Ulise



Stedman's Medical Dictionary definition of "Ulysses syndrome"

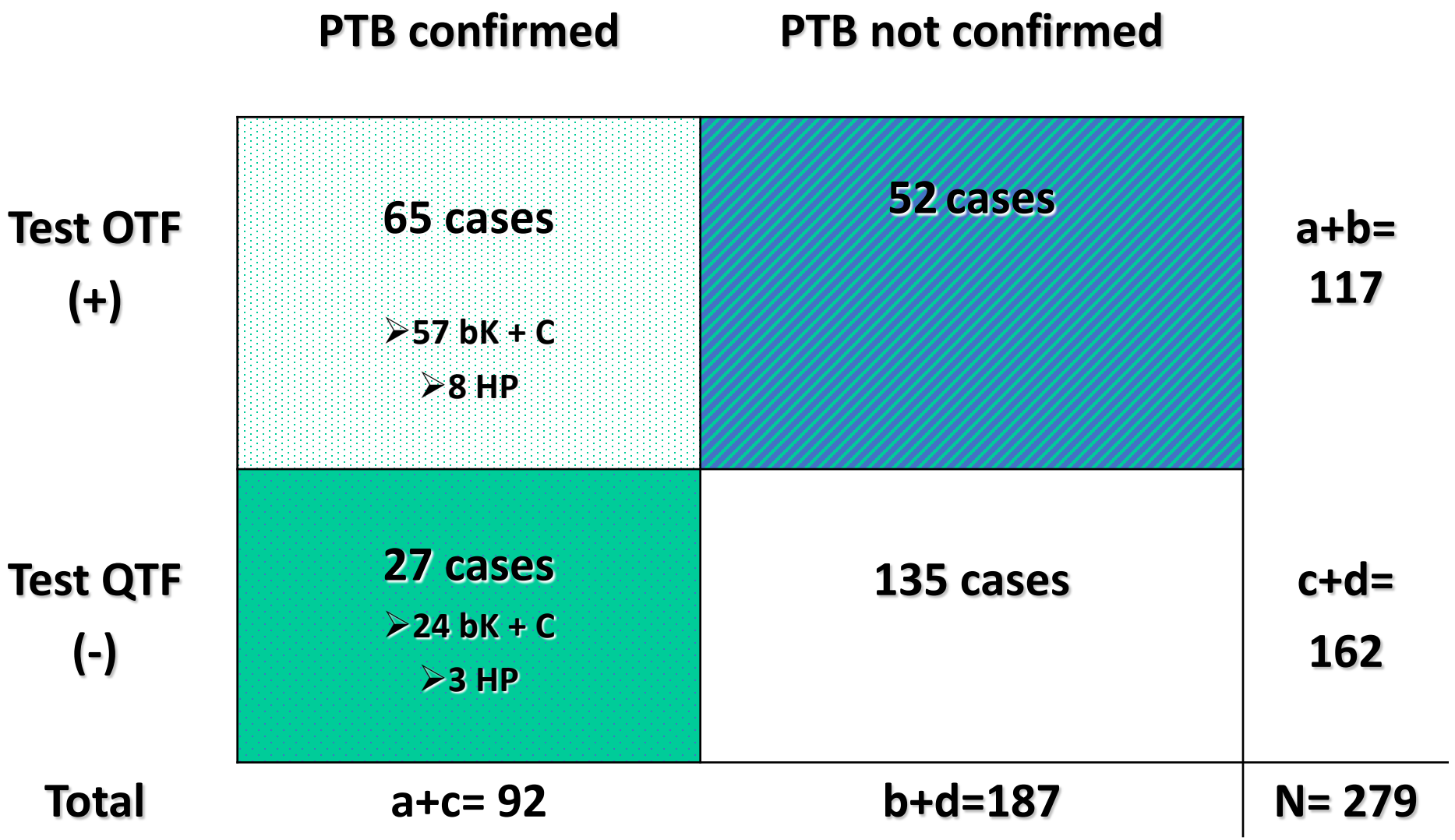
- Describes it as *"the effects of an intensive and prolonged medical intervention came as a result of a false-positive laboratory result or misinterpreted during routine investigations".*



Background IGRA vs TST

Test		Sensitivity for active TB	Specificity for TB infection	Specificity for active TB
		Percentage		
TST	Pai et al, 2008	77	59/97	
	Sester et Sotgiu et al, 2010	65		75
QFT-IT	Pai et al, 2008	**70**	96	-
	Sester et Sotgiu et al, 2010	**80**	-	**79**
T-SPOT.*TB*	Pai et al, 2008	90	93	-
	Sester et Sotgiu et al, 2010	81	-	59

Ulysses Syndrome in the diagnosis of Tuberculosis Disease based on IGRA testing



QuantiFeron sensibility & specificity

Quantiferon TB Gold	TB disease (+)	TB disease (-)
Test positive	a= 65	b= 52
Test negative	c= 27	d= 135
Total: 279 patients	a+c= 92	b+d= 187
	Sensibility = a/(a+c) 65/92 = 70.6%	False positive = b/(b+d) 52/187 = 27.8%
	Specificity = d/(b+d) 135/187 = 72.19%	Fals negative = c/(a+c) 27/92 = 29.34%

The impact of Ulysses syndrome is significantly associated with QTF GIT in misdiagnosing a third of TB disease's cases [n1=27 versus n2=52; OR= 4 (2.23<OR<7.21); RR= 2.67 (1.79<RR<3.98); CI=95%; $\chi 2$= 25.73; p<0.000].

Curs V
Reacții de hipersensibilitate (HS)

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Reacțiile de hipersensibilitate

- rezultatul expunerii la un anumit tip de antigen străin, fie pe corp, fie în organism;

- răspunsuri imune exagerate la alergeni.

Hipersensibilitatea

- Prin intermediul unor mecanisme imune, organismul prezintă reactivitate crescută, indusă specific de expunerea repetată la **structuri antigenice** (haptene).

- Dintre aceste structuri, **cele mai frecvente alergene** sunt:

- proteinele alergenice „*non-self*” (serice, bacteriene, virale),
- medicamentele (Penicilina),
- veninul de albine,
- țesuturile grefate,
- autoantigenele – țesuturi proprii care în urma unor procese patologice nu mai sunt recunoscute de către organism.

Tipuri de reacții de hipersensibilitate

- 4 tipuri de reacții de hipersensibilitate (HS) produse de sistemul imunitar
- Clasificarea Gell Coombs (1968)
- Tipurile I-III sunt umorale, mediate de anticorpi,
- Tipul IV este mediat de celulele T.

Tipul I HS imediată sau anafilactică

- Mediată de anticorpi IgE care sensibilizează inițial o persoană la un alergen și provoacă un răspuns inflamator rapid imediat (15-30 min) la o expunere ulterioară la Ag sensibilizant.
- Fenomene locale – generalizate sistemice

- Exemple:

- Alergiile care pot varia de la febra ușoară a fânului la anafilaxie/șoc anafilactic, edem Quincke, moarte.

Principale caracteristici

- specificitatea față de anumiți alergeni,
- existența unui contact sensibilizant (în prealabil),
- o perioadă de latență și contactul declanșator - reacție provocată de același antigen care a contribuit la contactul sensibilizant.

- În ceea ce privește specificitatea, este de menționat că sistemul imunitar poate produce până la 107 tipuri de celule diferite, care răspund la antigene specifice

Citokinele

- **Interleukinele:**
- IL4 polipeptid secretat de limfocitele Th2 şi de mastocit,
- factor activator al limfocitelor B,
- rol în inducerea sintezei de IgE.

- IL5 produsă tot de limfocitul Th2 dar şi de mastocit.
- principalul factor de diferenţiere, maturizare şi activare a eozinofilelor;

- **Interferonul gama**
- sintetizat de limfocitul Th1,
- inhibă sinteza de IgE la nivelul limfocitelor B.
- Prin acţiunea combinată a interferonului gama şi a IL4 are loc reglarea nivelului IgE.
- Predominenţa răspunsului Th2 (IL4) duce la creşterea nivelului de IgE
- Activarea Th1 (IFN –γ) contribuie la scăderea nivelului de IgE.

Termenul de ***„citokine”***

- Termen generic care grupează o serie de glicoproteine și proteine cu rol de ***mediatori în comunicarea intercelulară***.
- Secretate de celulele activate după stimulare,
- Se leagă de receptori de membrană specifici, prezenți fie pe altă celulă, fie pe celula care le-a secretat.
- Au masă moleculară cuprinsă între 15 și 30 de kilodaltoni.
- Sunt *mediatori ai imunității, inflamației, proliferării și diferențierii unor linii celulare*.

Citokinele

- ***imunohormoni*** sau ***hormoni reglatori ai răspunsului imun,*** întrucât sunt foarte active la concentrații foarte mici, fapt dovedit atât in vivo cât și in vitro.

- Diferența față de hormoni este aceea că citokinele acționează la nivel local, în timp ce hormonii acționează la distanță.

- Citokinele secretate de limfocite se numesc **limfokine** iar cele secretate de monocite se numesc **monokine.**
- Se cunosc momentan peste 50 de specii moleculare de citokine dar numărul de citokine care se descoperă este în continuă creștere, actualmente s-au descoperit peste 20 de interferoni și peste 18 tipuri de interleukine, funcția unora dintre ele nefiind încă pe deplin cunoscută.

  În uz se află deja medicamente bazate pe citokine, un exemplu relevant este reprezentat de interferonii care constituie terapia antivirală în hepatite.

Chemokinele

- Molecule cu masă moleculară mică
- Funcţia principală inducerea chemotactismului celular.
- În funcţie de prezenţa sau nu a unui aminoacid între cele 2 molecule de cisteină (C), chemokinele au fost împărţite în două clase:
- chemokinele C –C –iniţiază chemotactismul preponderent la nivelul monocitelor;
- chemokinele C –X –C –acţionează asupra limfocitelor, eozinofilelor şi neutrofilelor.
- Prin interacţiunea cu moleculele de adeziune, chemokinele iniţiază procesul de inflamaţie tisulară cu celule proinflamatorii.
- Moleculele de adeziune (CAM) –proteine identificate pe suprafaţa leucocitelor, celulelor epiteliale şi endoteliale;
- Activarea lor duce la ataşarea şi transvazarea leucocitelor din circulaţie către ţesuturi, favorizându-se infiltrarea organelor ţintă cu celule proinflamatorii.

Testarea hipersensibilității de tip I

- **Testele cutanate *prick-test*.**
- 25 preparate antigenice intradermice, stabilindu-se un martor pozitiv (histamina) și unul negativ pentru care nu se produc schimbări (soluție salină fiziologică).

Modificările cutanate apar în 5-15 minute și vor fi de 2 tipuri:

- **maculă** – produsă de descărcarea de histamină, cu prurit și edem
- **papulă** – cu aspect eritematos și dimensiuni mai mari.
- Un test (+) arată că există o mare probabilitate ca persoana respectivă să dezvolte hipersensibilitate de tip I, însă nu confirmă întru totul.
- Poate apărea și un răspuns tardiv (2-3 h) în cazul administrării intradermice de candidină și tricofitină.
- Răspunsul poate dura până la 24 h și este specific pentru o inflamație cronică la nivelul foselor nazale, plămânului sau pielii.
- **Dozarea Ig E** – sensibilitate mai mică decât în cazul testelor cutanate,
- **Testele *„patch”*** – intradermice locale, plasture sau godeu
- **Testul de provocare prin nebulizarea antigenului** – cu răspuns rapid în 20 minute constând în bronhospasm și cu răspuns tardiv în 4-8 ore, constând în eliberare de mediatori de novo și infiltrat celular.

Tipul II HS citotoxică

- Unul din mecanismele importante de apărare a organismului față de microrganisme, rolul său fiind atât distrugerea bacteriilor extracelulare și intracelulare, eliminarea celulelor infectate cu virusuri, cât și distrugerea unor paraziți sau fungi.

- Implică legarea anticorpilor IgG și IgM de antigenele fixate pe membrana celulară, fie că fac parte din structura acesteia, fie că sunt absorbite de aceasta și realizează un complex de atac al membranei celulare cu lezarea acesteia.

- Odată cu formarea complexului antigen – anticorp este activat sistemul complement, urmează liza membranei și distrugerea progresivă a celulei, care declanșează eliberarea de **tromboxan**, precursor al prostaglandinelor și leucotrienelor

- **Hipersensibilități citotoxice**
- Exemple:
- Reacțiile de transfuzie hemolitică
- Boala hemolitică a nou-născuților

Reacțiile de transfuzie hemolitică

- Transfuzii de sânge cu grupe sanghine incompatibile.
- Grupurile sanguine ABO sunt determinate de antigenele de pe suprafețele celulelor roșii din sânge și de anticorpii prezenți în plasma sanguină.
- O persoană cu grupa sanguină A are antigene A pe celulele sanguine și anticorpi B în plasma sanguină.
- Cei cu grupa sanguină B au antigeni B și anticorpi A.
- Dacă unei persoane cu sânge de tip A i s-a administrat o transfuzie de sânge cu sânge de tip B, anticorpii B din plasma destinatarilor s-ar lega de antigenii B de pe globulele roșii ale sângelui transfuzat.
- Anticorpii B determină celulele sanguine de tip B să se aglomereze (să se **aglutineze**).
- Efectul final e liza celulară.
- Fragmentele celulare din celulele moarte ar putea obstrucționa vasele de sânge, ducând la deteriorarea rinichilor și plămânilor.

Boala hemolitică a nou-născuților

- Pe lângă antigenele A și B, hematiile pot avea și antigene Rh pe suprafața lor.
- Dacă antigenii Rh sunt prezenți pe celulă, celula este Rh pozitivă (Rh +).
- Dacă nu, este Rh negativ (Rh-).
- Similar transfuziilor ABO, transfuziile incompatibile cu antigeni ai factorului Rh pot duce la reacții de transfuzie hemolitică.
- În cazul în care incompatibilitățile factorului Rh apar între mamă și copil, boala hemolitică ar putea apărea la sarcinile ulterioare.
  - Mamă Rh - cu un copil Rh +, expunerea la sângele copilului în ultimul trimestru de sarcină sau în timpul nașterii ar induce un răspuns imun la mamă: anticorpi împotriva antigenelor Rh +.
  - La al doilea copil Rh +, anticorpii mamei s-ar lega de celulele roșii din sânge Rh + al fătului, determinând liza.
- Pentru a preveni apariția bolii hemolitice, mamelor Rh - li se administrează injecții Rhogam pentru a opri dezvoltarea anticorpilor împotriva sângelui fătului Rh +.

Fenomene fiziopatologice în HS tip II

- acumularea de neutrofile, urmată de activarea lor, cu eliberare de enzime lizozomale și producere de reactivi toxici de oxigen, producând leziuni celulare și tisulare, mediate de complement;

- afectarea citotoxică a granulocitelor și a trombocitelor – granulocitopenia din LES
- leziuni ale membranei bazale de la nivelul rinichiului Sindromul Goodpasture
- reacții de respingere de grefă.

Tipul III HS prin complexe imune circulante

- Rezultă din formarea complexelor imune antigen-anticorp, care conțin concentrații mai mari de anticorpi (IgG) decât concentrațiile de antigen.
- Complexele imune se pot așeza pe suprafețele țesuturilor, unde declanșează răspunsuri inflamatorii.
- În încercarea de a îndepărta aceste complexe, țesutul subiacent este de asemenea deteriorat.
- Formarea cheagurilor de sânge și obstrucția vaselor de sânge.
- Aport inadecvat de sânge în zona afectată și moartea țesuturilor.

- Exemple:
- Reacția Arthus
- Boala serică (inflamația sistemică cauzată de depozitele de complex imunitar)
- Boli autoimune (Lupusul, Artrita reumatoidă, Polimiozita)
- Infecții persistente (lepră, hepatită virală, endocardită stafilococică, malarie),
- Inhalări de material antigenic (antigene aviare, actinomicete)

Fazele HS de tip III:

- Formarea complexelor imune antigen-anticorp, cu exces moderat de antigen și anticorpi de tip IgG și IgM;
- Acumularea complexelor anterior formate în rinichi, articulații, derm;
- Declanșarea procesului inflamator prin asocierea complementului la complexele imune, într-un interval de 7-10 ore de la contactul declanșator.

Tipul III HS

- Complexele imune activează o serie de căi ale răspunsului imun și sunt eliberate **amine vasoactive** care determină:
- retracția celulelor endoteliale,
- creșterea permeabilității vasculare,
- depunerea complexelor imune și expunerea colagenului, care va favoriza agregarea trombocitelor și formarea de microtrombi.
- Dimensiunea complexelor imune
- cele mari sunt preluate rapid de ficat, apoi sunt eliminate,
- cele mici rămân în circulație mai mult timp.
- Fenomenul de depunere a complexelor imune este dependent de regimul presional crescut și de prezența turbulențelor în circulația sangvină – în zonele de bifurcație arterială sau în zonele de filtru vascular (plexuri coroide și corpi ciliari).

Reacția Arthus

- Mediată de anticorpi din orice clasă de imunoglobuline
- Se poate declanșa în orice tip de țesut.

- Descrisă de Maurice Arthus și Nicholas Breton, după inocularea repetată, subcutanat, în același loc, a unui antigen solubil (ser de cal) la un animal (iepure, cobai, șoarece, inclusiv om).
- Manifestările apar după două ore, atingând maximum șase ore, dispar după 24-48 ore și constau în edem, eritem indurat, peteșii și uneori purpură necrotică sau chiar necroză.
- **Fazele reacției** sunt:
- formarea complexelor imune prin cuplarea anticorpilor circulanți cu antigenul local în exces;
- depunerea complexelor imune în stratul vascular subendotelial;
- fixarea complementului, urmată de aflux de neutrofile, mastocite, bazofile și eliberare de mediatori chimici (histamină, amine vasoactive etc.);
- necroza focală a pereților vasculari.

Boala serului – reacția Arthus sistemică

Se realizează prin administrarea unui ser imun heterolog (antidifteric, antitetanic, antirabic) și spre deosebire de șocul anafilactic, care se declanșează imediat, apare la câteva zile.

Etapele:

- complexarea proteinelor heterologe cu anticorpii anti-proteină heterologă și formarea complexelor imune antigen-anticorp;
- fixarea complementului;
- producerea depunerii tisulare, cu fenomene locale și simptome specifice (inflamarea ganglionilor, erupție eritematoasă, artralgii, edeme, afectarea sistemului nervos);
- vindecarea – apare în cateva săptămâni.

Boala plămânului de fermier

- Antigenul induce o reacție locală prin difuziunea anticorpilor precipitați,
- asemănătoare cu reacția Arthus,

- Apare la contactul cu fânul mucegăit (*Actinomyces thermophylus*)

- Se manifestă printr-o stare de asfixie declanșată în timpul nopții, care dispare în următoarele ore.

Principalele afecțiuni umane care implică formarea complexelor imune

- Glomerulonefrita extramembranară,
- Lupusul eritematos diseminat,
- Crioglobulinemia mixtă,
- Aspergiloza pulmonară,
- Periarterita nodoasă,
- Artrita reumatoidă.
- Afecțiuni ce au la origine infecții sensibilizante cu streptococi, mycoplasme, paraziți, virusuri,
- Alte procese autoimune.

Tipul IV HS întârziată, mediată celular

- Nu implică acțiuni ale anticorpilor,
- Celulele T sunt implicate în imunitatea mediată de celule,
- Un răspuns la celulele corpului care s-au infectat sau care transportă antigeni străini.
- Reacțiile de tip IV sunt reacții întârziate la antigenele asociate cu celulele, deoarece este nevoie de ceva timp până când apare un răspuns.
- Expunerea la un anumit antigen induce răspunsuri ale celulelor T și producerea de **celule T cu memorie** .
- La o expunere ulterioară la antigen, celulele de memorie induc un răspuns imun mai rapid și mai puternic care implică activarea macrofagelor.
- Răspunsul macrofagelor dăunează țesuturilor corpului.

- Exemple:
- Reacțiile tuberculinice,
- Astmul cronic (HS la alergeni inhalați)
- Dermatita de contact (la latex)

Tipul IV HS întârziată, mediată celular

- Apare mai târziu, la 48-72 de ore după contactul cu antigenul, implică limfocitele T și macrofagele și are o evoluție lentă.

- Martor la mecanismele protective față de
  - germenii intracelulari,
  - substanțe chimice care vin în contact și se leagă de membrana celulară.

- Răspuns imun celular, puțin exagerat.

Fazele instalării HS IV:

- prelucrarea antigenului sensibilizant de către macrofage;
- prezentarea acestuia către limfocitele T antigen reactive;
- recunoașterea antigenului,
- crearea clonei corespunzătoare de celule T,
- transformarea blastică,
- diferențierea în limfocite T efectoare și limfocite T cu memorie;
- eliberarea de limfokine (factori solubili)
- activarea altor limfocite și macrofage;
- la un nou contact cu antigenul, se repetă lanțul reacțiilor descrise mai sus, prin intermediul celulelor cu memorie.

Hipersensibilitatea de tip tuberculinic

- apare la cei infectați cu germeni precum:
  - *M. Tuberculosis*,
  - *M. Leprae*,
  - *Leichmania tropica*
- substanțe chimice (beriliu, zirconiu).
- Timpul de reacție este tot de 48-72 de ore,
- Aspectul clinic este de indurație locală,
- Efectele sunt maxime la nivelul dermului, însă pot atinge și epidermul.

Hipersensibilitatea granulomatoasă

- formă mai gravă,
- apare atunci când antigenul persistă și nu poate fi eliminat,
- caracterizată prin acumulare și proliferare de macrofage la nivelul originii granulomului, care apare undeva la 21-28 de zile după contactul sensibilizant și poate să persiste câteva săptămâni.
- Acest tip de reacție poate să survină după alte tipuri de hipersensibilități întârziate, în general după o perioadă de 3-4 săptămâni.
  - În cazul *M. Tuberculosis*, leziunea granulomatoasă conține și o zonă centrală de necroză, asemănătoare puroiului, numită **cazeum**, iar în jurul întregului ansamblu se află o zonă de fibroză și o cantitate mare de colagen.

Tipul IV HS cu celule T citotoxice

- **Celulele T citotoxice** sunt implicate în aceste tipuri de reacții și provoacă apoptoză (moarte celulară programată) în celulele cu antigenul identificat.

- Exemple:
- Dermatita de contact indusă de iederă otrăvitoare
- Respingerea țesutului transplantat.

Hipersensibilitatea de tip V

- Anticorpii nu se atașează la structurile celulare de suprafață, ci la receptorii membranari, pe care îi blochează.
- Este împiedicată aderarea liganzilor specifici receptorilor respectivi, iar semnalizarea celulară, importantă în îndeplinirea funcțiilor celulare, va fi compromisă.

- Exemple:
- Boala Basedow Graves
- Miastenia Gravis

Curs VI
Anafilaxia. Atopia. Alergia. Fenotipuri inflamatoare în astm și BPOC

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Tipuri de reacții alergice

- Reacțiile de hipersensibilitate
- Anafilaxia
- Alergia



Alergia

- reacție anormală și exagerată a sistemului imun al unei persoane la contactul cu anumite substanțe, numite alergeni

- termen introdus în medicină pentru prima dată în anul 1906 de către Clemens Peter von Pirquet (1874-1929), om de știință și medic de origine austriacă, pentru a descrie reacțiile de hipersensibilitate

- Atunci când în corpul nostru pătrund anumite substanțe din mediul extern (generic numite alergeni, fie că e vorba despre praf, pulberi chimice, medicamente, înțepături de insectă, polen etc.), sistemul nostru imun reacționează, rezultatul fiind o reacție alergică.

Alergia

- Terminologie din limba greacă: αλλεργία,
- Înseamnă reacție diferită, reacție anormală, disproporționată, exagerată și excesivă a sistemului imunitar al unui organism, față de antigenele exogene, care sunt bine tolerate de subiecții normali.
- Specialitatea medicală care se ocupă cu studiul bolilor în care sunt implicate procese alergice

Terminologia alergiei

- Inițial, termenul de alergie era echivalent cu termenul de *hipersensibilitate (HS)*.

- Ulterior, pe măsura progresului cunoștințelor științifice din domeniul imunologiei, termenul de alergie a suferit modificări în sens restrictiv.

- S-au diferențiat 2 tipuri majore de HS:
- *hipersensibilitatea imunologică* și
- *hipersensibilitatea non-imunologică*.

Atopia

- predispoziția unui individ de deveni sensibilizat si de a produce anticorpi de tip IgE ca răspuns la expunerea obișnuită la alergene de mediu

- prezența sa crește riscul dezvoltării unei boli alergice

Hipersensibilitatea

- Prin intermediul unor mecanisme imune, organismul prezintă reactivitate crescută, indusă specific de expunerea repetată la **structuri antigenice** (haptene).

- Răspunsuri imune excesive sau anormale ce determină apariția de
- simptome sau
- semne obiective
- inițiate prin expunere la un stimul (alergen) care este bine tolerat de indivizii normali.

Reacțiile alergice (hipersensibilitate)

- Practic, persoanele care dezvoltă alergie la materiale dentare pot prezenta frecvent, două tipuri de reacții:

- **Reacții imediate**: simptome ce apar în câteva minute până la o oră:
  - strănut repetat,
  - mâncărime de nas,
  - urticarie sau angioedem local,

- **Reacții tardive**: apar la 48 de ore de la contactul cu materialul dentar și se manifestă prin
  - înroșire,
  - edem,
  - ulceratie la locul de contact

AFECȚIUNI ALERGICE

- Paletă largă de afecțiuni alergice, care pot include:
- rinită alergică (febra fânului),
- alergii diverse: de la cele la medicamente și mâncare până la alergii la praf, la mucegai, la acarieni și la înțepături de insecte,
- astm,
- eczeme atopice,
- angioedem și angioedem ereditar,
- anafilaxia (o reacție alergică gravă, care poate pune viața în pericol),
- polipoză nazală,
- urticarie (erupții pe piele)
- alergii dentare

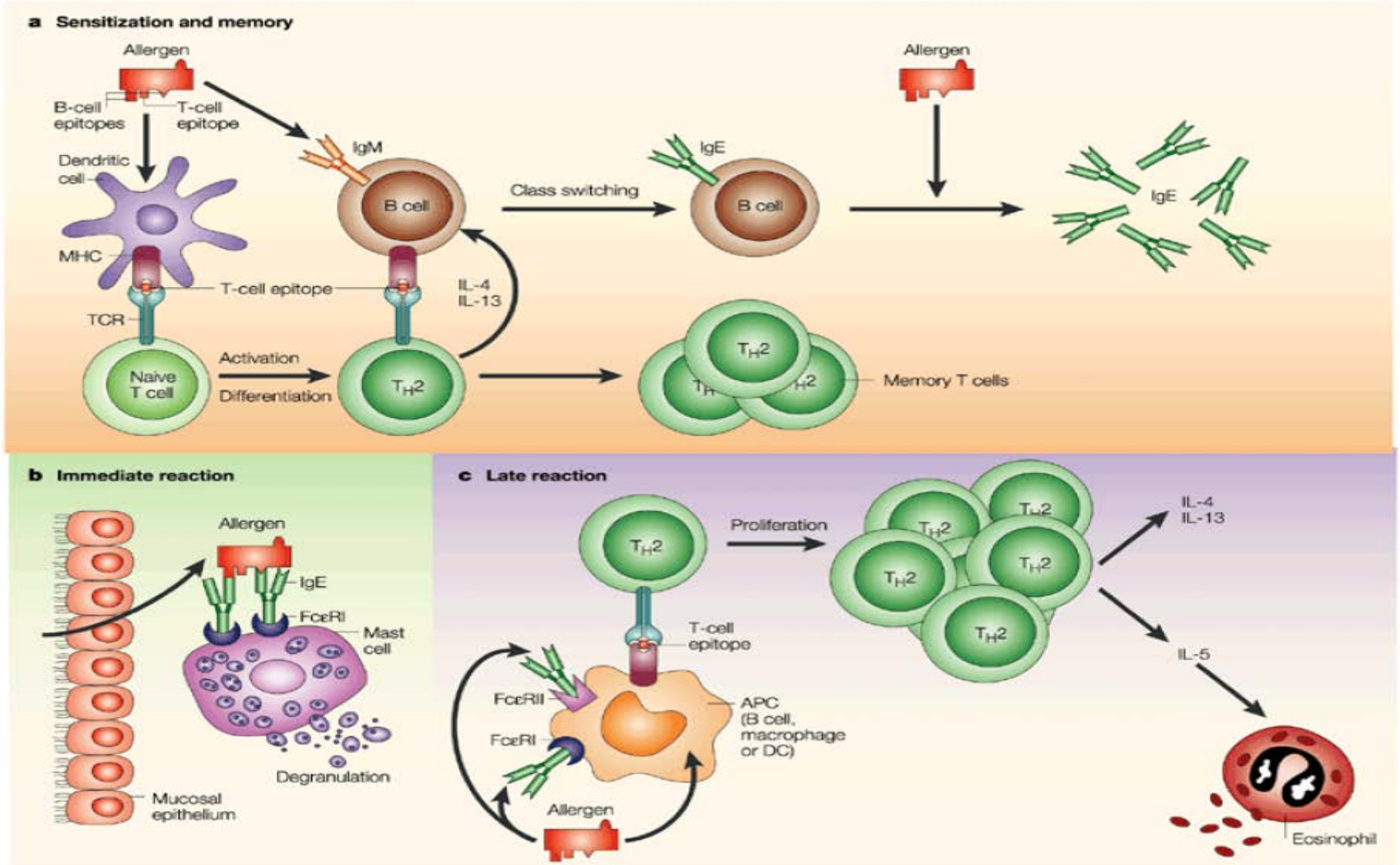
Anafilaxia locală

- Prezintă fenomene restrânse.
- Se produce atunci când alergenul ia contact cu organismul sensibilizat pe cale:
- Tegumentară –urticarie, angioedem;
- Mucoasă respiratorie –rinită alergică, astm;
- Digestivă –tulburări de tranzit.

Forma sistemică a anafilaxiei

- Apare atunci când pătrunderea în organism a alergenului se face parenteral.
- Reacție imună de gravitate extremă.
- Tabloul clinic este complex:
- Respirator –obstrucţie bronşică şi edem laringian;
- Cardio-vascular –hipotensiune, colaps cardiovascular, şoc;
- Digestiv –greată, vărsături, dureri abdominale, diaree (uneori hemoragică).

RHS tip I, anafilaxie



Nature Reviews | Immunology

Șocul anafilactic

- Antigenele răspunzătoare de declanșarea șocului anafilactic pot fi:
  - înțepăturile de albine (viespi),
  - injectarea unor medicamente (penicilina, miorelaxante, ACTH, etc.),
  - serurile heterologe folosite pentru obținerea imunității pasive (de exemplu serurile hiperimune antitetanice, antidifterice).

Edemul Quincke

- cuprinde fața, gura, uneori faringele și laringele, ducând la asfixie și în cele din urmă la deces.
- **Principalii agenți declanșatori:**
- polenul, acarienii, puful de casă, sporii de ciuperci,
- **Principalele manifestări**:
- Conjunctivite și rinite alergice
- Febra de fân,
- Traheita spasmodică,
- Astmul alergic.
- Urticarie, dermatită sau eczemă atopică
- Manifestări digestive: diaree, greață, vărsături.

Principalele etape ale reacției anafilactice

- **Contactul sensibilizan**t – primul contact cu antigenul, care duce la fomare de anticorpi citofil (citocorpi) de clasă Ig E sau unele clase de Ig G, care se fixează pe mastocite și bazofile prin fragmente Fc.

- **Contactul determinant**, declanșator - constă într-un nou contact cu alergenul, urmat de atașarea acestuia pe fragmentele de Fab ale anticorpilor Ig E fixați pe mastocite și bazofile, luând naștere fenomenul de degranulare.
- Acest proces de degranulare este dependent de ionii de calciu, iar creșterea AMPc inhibă procesul.

- Degranularea bazofilelor și mastocitelor va duce la eliberarea de mediatori chimici, care au ca efect fiziologic inflamația de tip anafilactic.

Principale caracteristici

- specificitatea față de anumiți alergeni,
- existența unui contact sensibilizant (în prealabil),
- o perioadă de latență și contactul declanșator - reacție provocată de același antigen care a contribuit la contactul sensibilizant.

- În ceea ce privește specificitatea, este de menționat că sistemul imunitar poate produce până la 107 tipuri de celule diferite, care răspund la antigene specific

- În majoritatea cazurilor, anticorpii responsabili de reacțiile alergice aparțin izotipului IgE

Mediatorii implicați în alergie

- Mediatori preformaţi,
- Mediatorii de novo,
- Citokinele,
- Chemokinele.

Efectele mediatorilor preformați în granule

- Histamina – bronhoconstricție, secreție de mucus, vasodilatație, permeabilitate vasculară;
- Triptaza – proteoliză;
- Kininogenaza – vasodilatație, permeabilitate vasculară, edem;
- ECF-A (Factor chemotactic eozinofilic al anafilaxiei) – atrage eozinofilele și neutrofilele, realizează eliberare de enzime proteolitice, apoi necroză.

Histamina

- Prin receptorii H1, histamina produce:
- constricţia musculaturii netede (bronşice, gastrointestinale),
- vasodilataţie,
- creşterea permeabilităţii vasculare (edem, eritem),
- creşterea producţiei de mucus.

- Prin receptorii H2, histamina produce:
- creşterea cAMP,
- creşterea secreţiei acide gastrice,
- stimularea celulelor Ts.

Mediatorii de novo

- **Prostaglandinele D2**
- Edem cu durere
- Contracţia musculaturii netede (bronşice, intestinale),
- Vasopresoare;

- **Leucotrienele**.
- LTB4 – atrag bazofilele
- LTC4, LTD4şi LTE4 cu efecte similare cu ale histaminei, dar mult mai puternice, apar la 4 –8 ore după contactul alergenic:
- constricţia musculaturii netede,
- cresc producţia de mucus,
- creşterea permeabilităţii vasculare,
- deprimă performanţa cardiacă.

- **Tromboxanii**(TxA2)
- contractă musculatura netedă.

- **Factorul de activare a trombocitelor**(PAF) derivat din metabolizarea fosfolipidelor de la nivelul membranei celulare.
- vasodilataţie,
- chemotactism,
- creşterea permeabilităţii vasculare,
- induce hiperreactivitate bronşică
- agregare plachetară,
- eliberare de histamină, heparină, amine,
- conduce la formare de microtrombi

Alergenii

- antigene de natură proteică, glicoproteică sau polizaharidică, ce sunt capabile să inducă formarea de anticorpi specifici de tip IgE

- nu toți alergenii determină în mod direct o reacție alergică, fiind necesară și interacțiunea cu alți factori favorizanți

- manifestările bolilor alergice apar în urma :
  - inhalării unor particule aeropurtate
  - contactului pielii cu anumiți compuși chimici
  - ingestiei de alimente sau substanțe chimice

Alergeni

- **Alergeni inhalaţi**
- Praful de casă (acarieni, scuame, peri de animale, insecte)
- Polenuri
- Mucegaiuri
- Pene
- Insecte

- **Alergeni orali**
- Alimente (ou, lapte, peşte, alune)
- Aditivi alimentari
- Medicamente

- **Alergeni injectabili**
- Extracte alergenice
- Venin de insecte
- Medicamente

- **Alergeni de contact**
- Substanţe chimice
- Uleiuri de plante
- Medicamente

Cele mai frecvente alergene

- proteinele alergenice „*non-self*” (serice, bacteriene, virale),
- medicamentele (Penicilina),
- veninul de albine,
- țesuturile grefate,
- autoantigenele – țesuturi proprii care în urma unor procese patologice nu mai sunt recunoscute de către organism.

Alergeni

- Printre cei mai comuni factori provocatori ai alergiilor se numără:
  - praful,
  - mucegaiul,
  - polenul,
  - produsele cosmetice,
  - medicamente,
  - detergenții, etc.

- Oricât de ciudat vi s-ar părea, alergiile pot apărea și în cabinetul stomatologic.

INVESTIGAȚII

- Metode de diagnostic:
- teste cutanate și
- teste de sânge : dozarea de IgE, eozinofile





POLUAREA ȘI ALERGIILE

- Intensitatea alergiilor poate lua forme severe, așa că n-ar strica să știm mai multe despre ele – ce sunt, ce le provoacă și cum le putem preveni.

- Poluarea masivă din prezent are efecte negative, iar alergiile și frecvența lor foarte mare sunt unele dintre acestea.

- Controlul eficient al alergiei necesită planificare, pricepere și răbdare.

- Odată identificată o afecțiune alergică prin testare, alergologul recomandă tratamentul și strategia de management a evoluției bolii.

Managementul eficient al alergiei

- 2 faze:
- evitarea declanșatorilor de alergeni pentru a reduce șansele unei reacții alergice folosind tratamente și alte măsuri pentru a vă reduce simptomele

- menținerea declanșatorilor de alergeni în afara casei dvs. poate fi o strategie eficientă, iar măsurile de evitare a alergenului includ: aer condiționat, dezumidificatoare, huse pentru perne, ochelari de soare pentru a ține polenul departe de ochi, evitarea declanșatorilor de alergii alimentare sau la materiale dentare

Fenotipuri particulare astm/BPOC între ghiduri și clinică

Expunerea profesională a brutarilor

- Faina conține în proporții variate
  - Enzime: α-amilază, celulază, hemicelulază, enzime din malț,, xilanază, proteaze, lipaze, glucoamilaze, glucozo-oxidaze, lipoxigenaze
  - **Aditivi**: drojdie, praf de ou, lapte praf, zahăr
  - Arome și mirodenii
  - Ingredienți chimici: conservanți, antioxidanți, agenți de albire
  - Contaminanți secundari depozitării: microbi sau fungi.

Pulberea de cereale conține în proporții variate

- Fungi (mai ales Fusarium, Aspergillus, Cladosporium & Alternaria)
- Mycotoxine
- Bacterii (inclusiv endotoxine)
- Enzime proteolitice
- Acarieni, insecte
- Excremente de rozătoare
- Nisip
- Reziduuri de pesticide

Material pus la dispoziție de conf dr Marina Ruxandra Oțelea

Expunerea profesională a brutarilor

- Făina = pulbere organică complexă ce a fost procesată prin morărit și care poate conține cereale precum:
  - Grâu (Triticum sp.),
  - Secară (Secale cereale),
  - Ovăz (Avena sativa),
  - Sorg (Panicum miliaceum),
  - Orz (Hordeum vulgare),
  - Orez (Oryza sativa)
  - Porumb (Zea mays),

  sau o combinație a acestora

≠

Pulberea de cereale = particule produse în timpul recoltării și manipulării cerealelor care nu au fost măcinate



Material pus la dispoziție de conf dr Marina Ruxandra Oțelea

CH(2)OPD(2) Mnemonic List

Community, Home, Occupation, Personal habits, Diet, Drugs

1. Mediul comunitar – Ex poluare, emisii radon
2. Mediul de acasă (în special modificări survenite în ultimele 4 luni): expunere la acarieni (da), animale domestice (nu), plante (nu), detergenți utilizați (posibil)
3. **Profesie + Mediul de la locul de muncă**
4. Obiceiuri: fumat (NF), nutriție (IMC 23 kg.m2)
5. APP de tip alergic (Nu știe)
6. AHC de tip alergic (Nu)
7. Descrierea detaliată a crizei:
    - Debut, succesiune simptome
    - Caracteristici ale dispneii
    - Circumstanțele de apariție a crizelor
    - Perioada intercritică

Testări alergice

PRICK TEST	30 minute
fungi	+
fulgi	-
polen	+/-
praf de casă	-
dermatophagoides-pteronissimus	+
alergeni microbieni	-
făină de grâu	+ + +
dermatophagoides pharinae	+ +
grup de cereale	++

Test de provocare bronșică

Principiu general:
- Demonstrarea legăturii între expunerea profesională și hipereactivitatea bronșică
- Presupun identificarea (în anamneză) a momentului de apariție a crizelor

Vărsarea făinei de grâu adusă de pacientă de la locul ei de muncă dintr-un vas în altul, în mod repetitiv, timp de 30 minute.

Spirometria s-a repetat din oră în oră.

- După aprox 2h de la oprirea testului, apare tuse iritativă, wheezing. Nu se percep raluri bronșice.
- Spirometria arată:

	Valori bazale	Valori după testul de provocare bronșică
VC	2.88 L	2,73 L (-6%)
FEV_1	2,47 L/s	1,96 L/s (-21%)
FEV_1/VC x l00	68,6	73,9
PEF	3,18 L/s	2,56 L/s (-19%)
MEF_{50}	2,88 L/s	2,01 L/s (-30%)

După administrarea unui β-agonist + O_2 → simptomele se remit

Criterii pentru stabilirea diagnosticului de astm bronşic profesional:

- Anamneza profesională sugestivă
- Stabilirea legăturii acţiunii agenţilor sensibilizanţi cunoscuţi sau presupuşi cu activitatea profesională – confirmarea rolului cauzal al alergenului prin **test de provocare bronșică specifică**
- Lipsa simptomelor pentru AB pînă la angajarea la serviciu sau agravarea evoluţiei AB după angajarea la serviciu

Criterii diagnostic astm bronșic profesional

Prezența a 4 criterii:

A. Dg clinic de astm și/sau demonstrarea hiperreactivității căilor aeriene ✔

B. Expunere profesională care să fi precedat apariția simptomelor de astm

C. Asocierea între simptome și activitatea profesională

D. Expunere și/sau demonstrarea modificărilor funcționale caracteristice astmul în relație cu mediul de muncă:

1. Expunere profesională la un agent etiologic cunoscut al astmului profesional
2. Modificarea VEMS sau PEF legată de expunerea profesională
3. Modificări legate de activitatea profesională la testarea în dinamică a hiperreactivității bronșice (e.g., test la Metacolină)
4. Test bronhomotor specific pozitiv

Rolul anamnezei profesionale în practica medicală curentă



Factorii de risc pentru BPOC

- Definiți
  - Fumatul
  - Expunerea ocupațională (pulberi, vapori, fum)
  - Deficitul de alfa-1-antitripsină
- Probabili
  - Poluarea atmosferică și biomasa
  - Factori economico-sociali
  - Expunerea la fumat în copilărie
  - Hiperreactivitatea căilor aeriene
- Posibili
  - Greutatea mică la naștere, istoric familial
  - Infecțiile respiratorii în copilărie
  - Grupa de sânge A, IgA nonsecretor, atopia



Fenotipul- trăsătură sau combinație de trăsături clinice, cu impact pe răspunsul terapeutic și pe evoluție

- Termenul propus de Snider GL, în 1989,
- Preluat, în 1995, de către ATS
- Inclus în ghiduri
  - diferențierea subgrupurilor BPOC,
  - Individualizarea tratamentului,
  - inițierea și evaluarea tratamentului farmacologic adecvat,
  - dar și pentru aprecierea calității vieții



BRITISH MEDICAL JOURNAL

LONDON SATURDAY JANUARY 22 1944

EMPHYSEMA OF THE LUNGS*

BY

RONALD V. CHRISTIE, M.D., D.Sc., F.R.C.P.

Professor of Medicine in the University of London; Physician to St. Bartholomew's Hospital

CHRONIC BRONCHITIS: A FIVE-YEAR FOLLOW-UP

BY

V. C. MEDVEI AND NEVILLE C. OSWALD

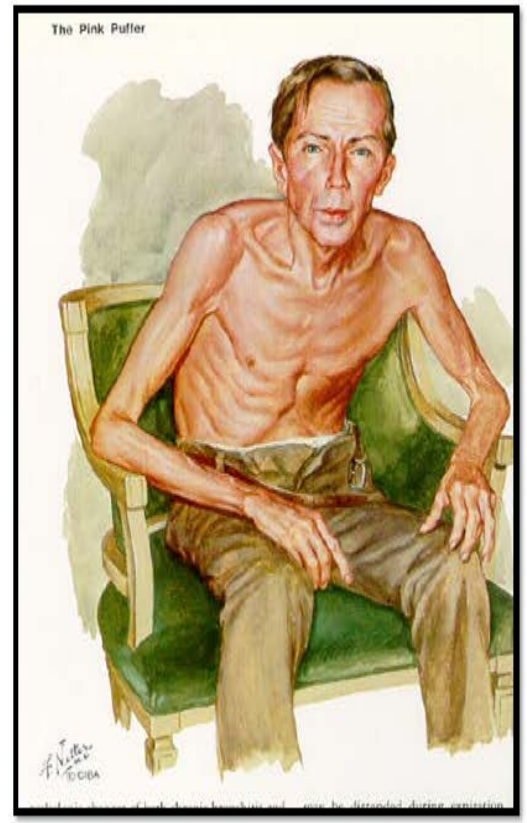
From the Brompton Hospital, London

(RECEIVED FOR PUBLICATION MAY 2, 1961)

"Blue Bloaters"



"Pink Puffers"



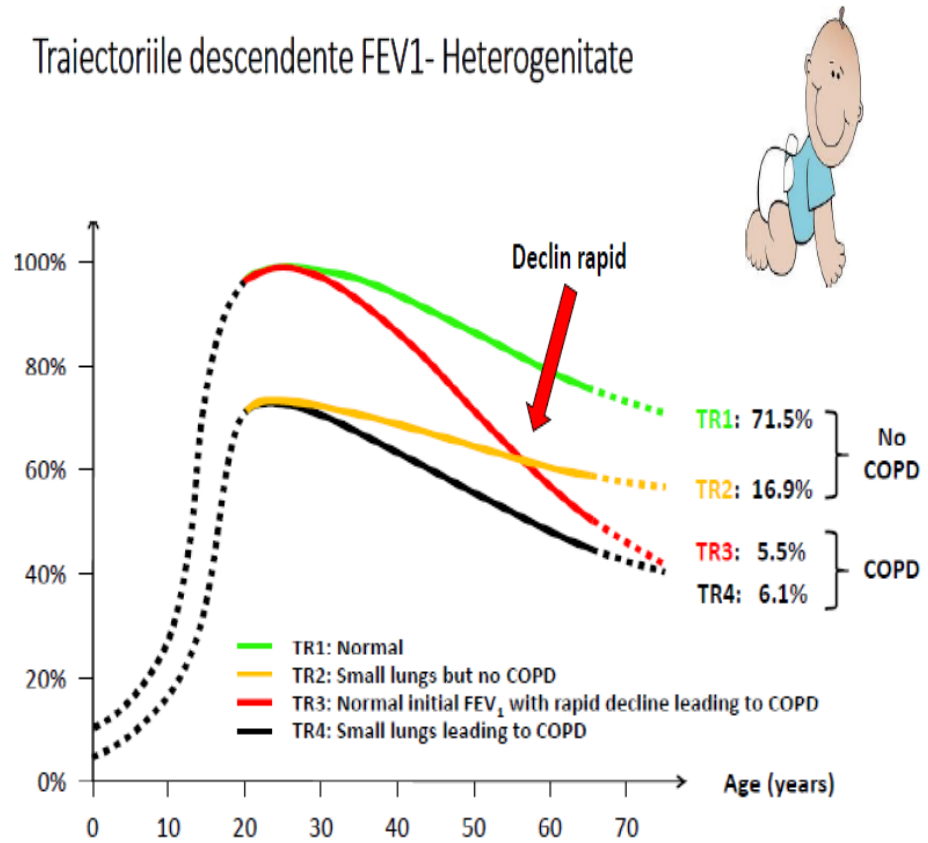
Frank H. Netter, MD - artist, physician, and most notably, a leading medical illustrator. (1906-1991)

Variabilitate/Heterogenitate

- Fenotipul exacerbatorului frecvent
- Fenotipul cașectic
- Fenotipul declinului FEV1 rapid
- Fenotipul cu reversibilitate FEV1 (ACO)
- Fenotipul cu inflamație sistemică
- Fenotipul nefumătorului
- Fenotipul DAAT
- Overlapping / comorbidități (cardiovasculare, metabolice, NBP, SASO, disfuncții musculare scheletice, tulburări neuro-cognitive, BRGE, osteoporoza și tulburările de nutriție)

Fenomenul îmbătrânirii- Paradigma progresiei BPOC

Traiectoriile descendente FEV1- Heterogenitate

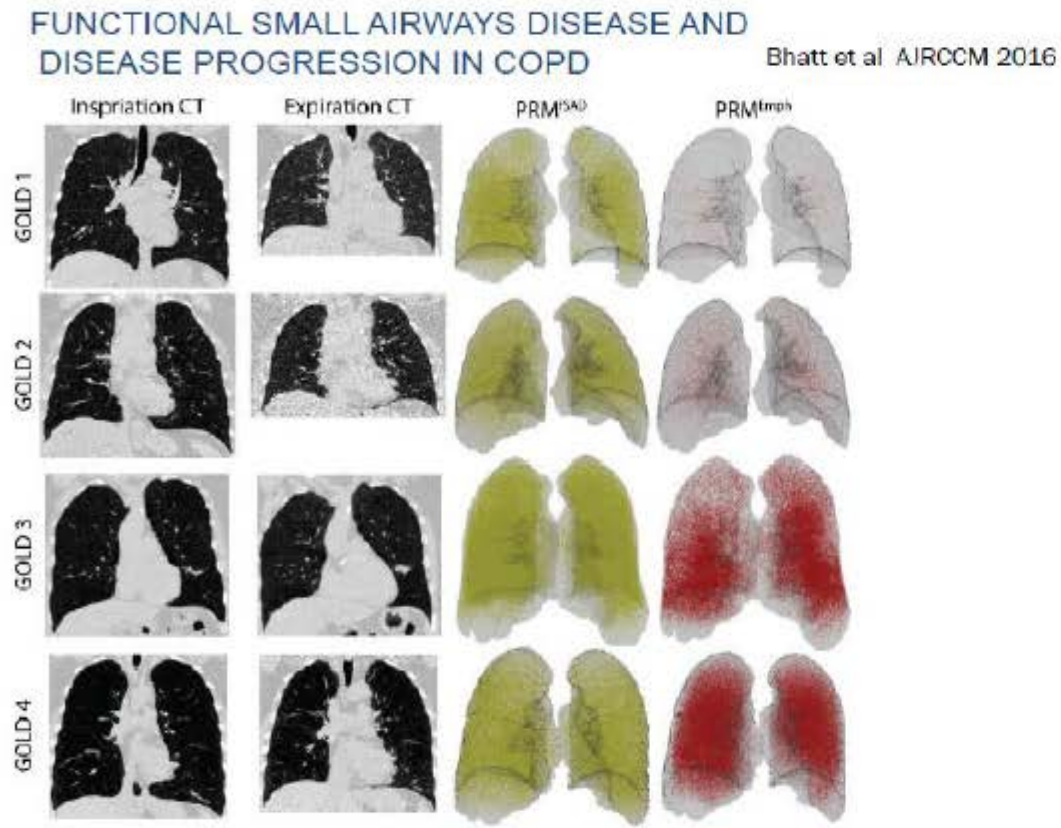


Fumatul
Sexul bărbătesc
Emfizemul
IMC scăzut
Astmul & HRB
TB,
DAAT,
HIV

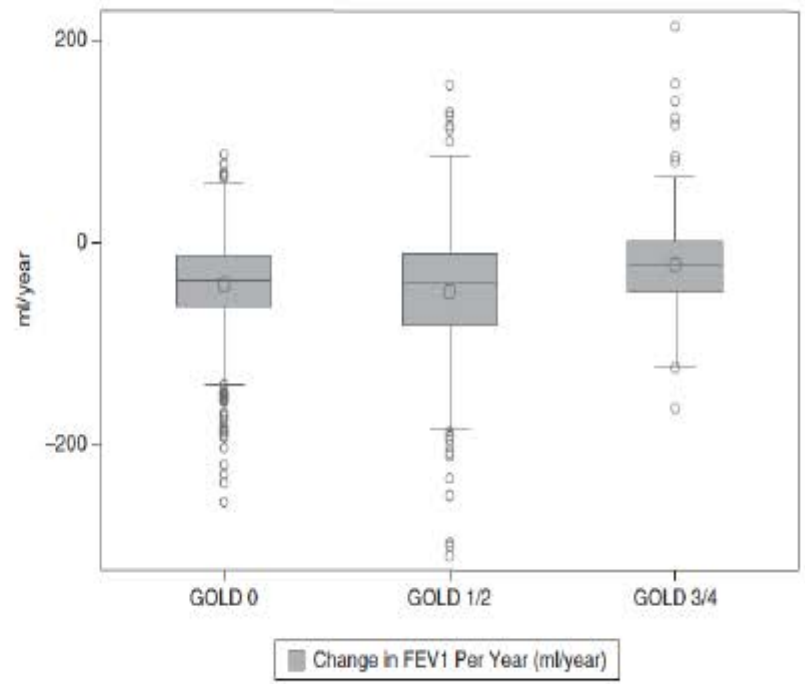
Absența terapiei
Exacerbările
Poluarea
Sărăcia

Lange P et al NEJM 2015;372:2

Asocierea dintre boala căilor aeriene mici și declinul FEV1



TREATABLE TRAITS BUT REALLY CLINICAL PHENOTYPES
Wisia Wedzicha, ERS, 2016



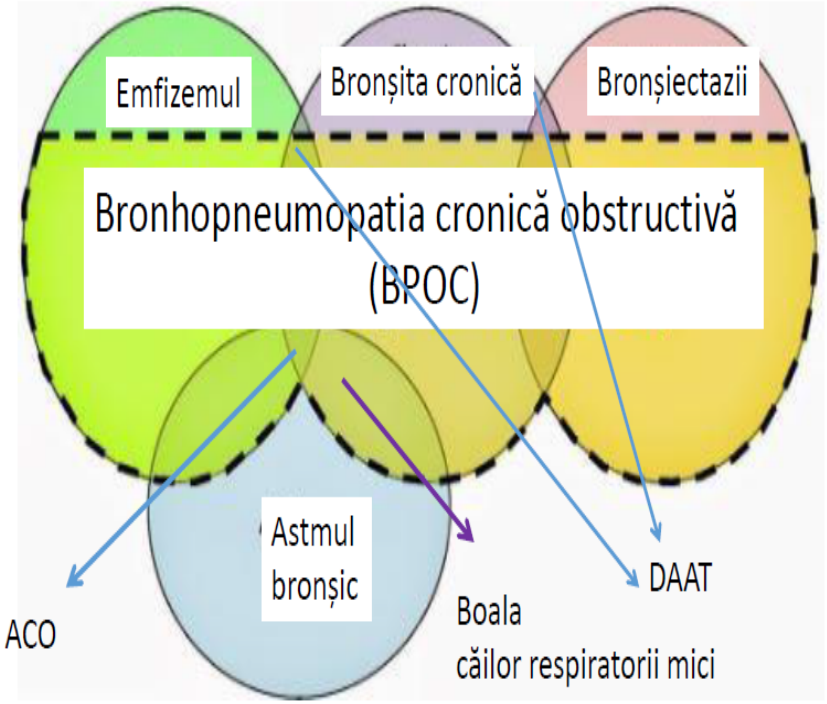
Bhatt et al AJRCCM 2016

Fenotipul exacerbatorului frecvent cu fenotip BCO/ACO

Asthma like

- Susceptibilitate individuală
- ≥ 2 exacerbări moderate care au necesitat AB/CS sau 1 exacerbare severă care a impus spitalizare;
- Exacerbarea= agravarea/acutizarea simptomelor ce impune o suplimentare a terapiei;
- Factori declanșatori infecțiile virale, bacteriene, expunerea la factori poluanți;
- Crește inflamația, hiperinflația;
- Pragul eozinofiliei sanghine trebuie evaluat
- Agravarea dispneei, cantității de spută,
- Inactivitate fizică,
- Hipoxemie, degradarea funcției ventilatorii, spitalizare, risc deces
- TEP, ICC

Diagrama Venn - Overlapping



Caz clinic –consult 05.12.2019

- Bărbat 67 ani, exfumător 35 PA, sevrat în urmă cu 10 ani (57 ani)
- Profesie frizer
- AHC – AVC
- BPOC diagnosticat în 1995 (42 ani)- în tratament cu LABA-LAMA (2017);
- Comorbidități:
  - Diabet zaharat tip II fără complicații - diagnosticat în 2016;
  - HTAE std II controlată;
  - CID Angor de efort;
  - Arteriopatie periferică obliterantă membrele inferioare std III cu restavilire flux arterial MIS prin endarterectomie de aortă abdominală cu arteriorafie și by-pass ileo-femural 2017;

Comorbidomul

- BPOC-ul este o boală cu prevalență, morbiditate și mortalitate în creștere, atât prin afectarea pulmonară, cât și prin complicațiile sistemice, extrapulmonare ale bolii, prin comorbidom.

- Concept nou - reflectă dimensiunea multimorbidă reală a BPOC-ului,

- 98% din pacienți au minim 2 comorbidități, diagnosticate anterior sau după diagnosticul BPOC,

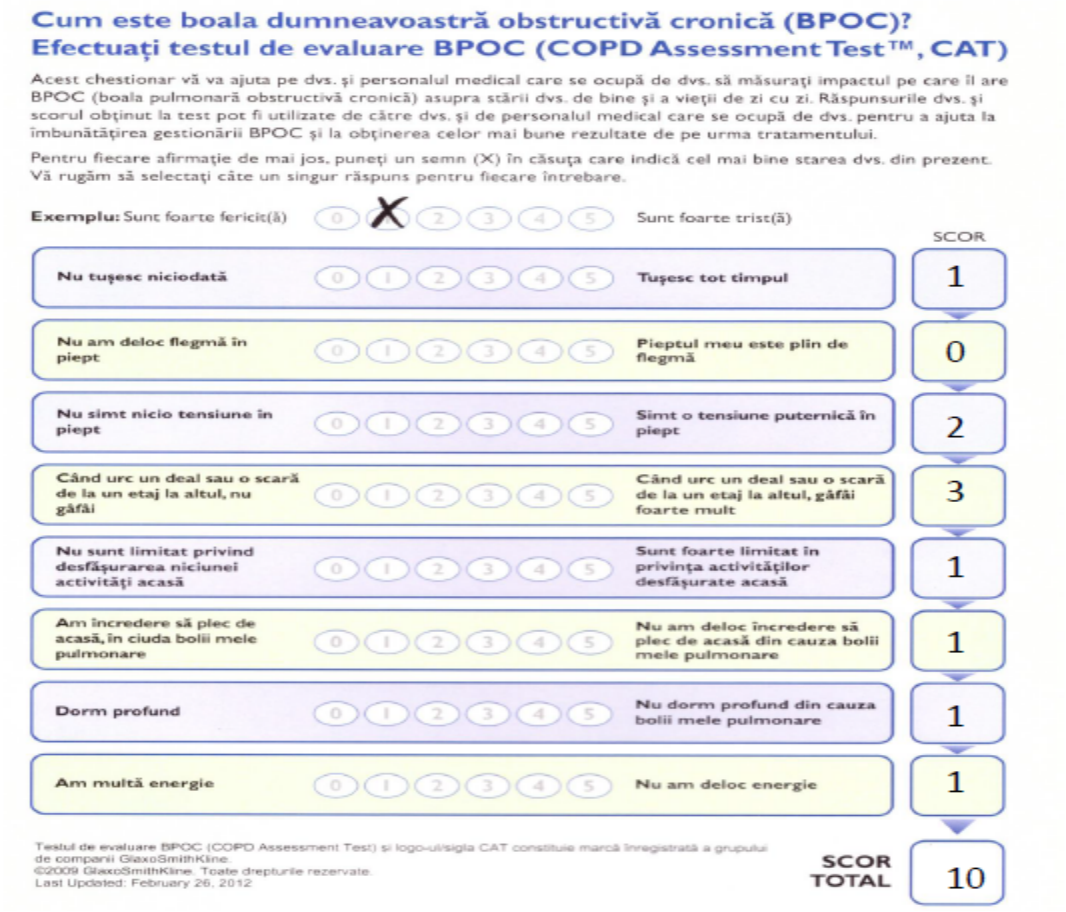
- Determină creșterea costurile serviciilor de asistență medicală, atât în rețeaua primară, cât și în cea secundară,

- Impact copleșitor în creșterea mortalității.

Evoluție

- Tratament cronic bronhodilatator dual
  - Aclidinium 340 mcg/Formoterol 12 mcg (2017/2019)
- Aderent la tratament
- Persoană activă –parcurge 3 km zilnic pe teren plat
- Spitalizări de zi 2/an - la interval de 6 luni;
- Fără spitalizări continue în intervalul 2017-2019;
- Exacerbări moderate: 1 în aprilie 2018; 1 în noiembrie 2019
- BPOC std II stabil cu FEV1 relativ staționar
  - redus cu 40% (XII 2019)- 42% (III 2019)- 40% (X 2018)- 37% (V 2018)
- Fără alte spitalizări continue în ultimele 18 luni
- Eozinofilie 9% = 900 elem/µl (XII 2019) la un pacient fără eozinofilie în istoric

Spitalizarea de zi decembrie 2019, cu eozinofilie 9%, FEV1 40%
În ultimele 12 luni 1 exacerbare moderată



Cum este boala dumneavoastră obstructivă cronică (BPOC)?
Efectuați testul de evaluare BPOC (COPD Assessment Test™, CAT)

Acest chestionar vă va ajuta pe dvs. și personalul medical care se ocupă de dvs. să măsurați impactul pe care îl are BPOC (boala pulmonară obstructivă cronică) asupra stării dvs. de bine și a vieții de zi cu zi. Răspunsurile dvs. și scorul obținut la test pot fi utilizate de către dvs. și de personalul medical care se ocupă de dvs. pentru a ajuta la îmbunătățirea gestionării BPOC și la obținerea celor mai bune rezultate de pe urma tratamentului.

Pentru fiecare afirmație de mai jos, puneți un semn (X) în căsuța care indică cel mai bine starea dvs. din prezent. Vă rugăm să selectați câte un singur răspuns pentru fiecare întrebare.

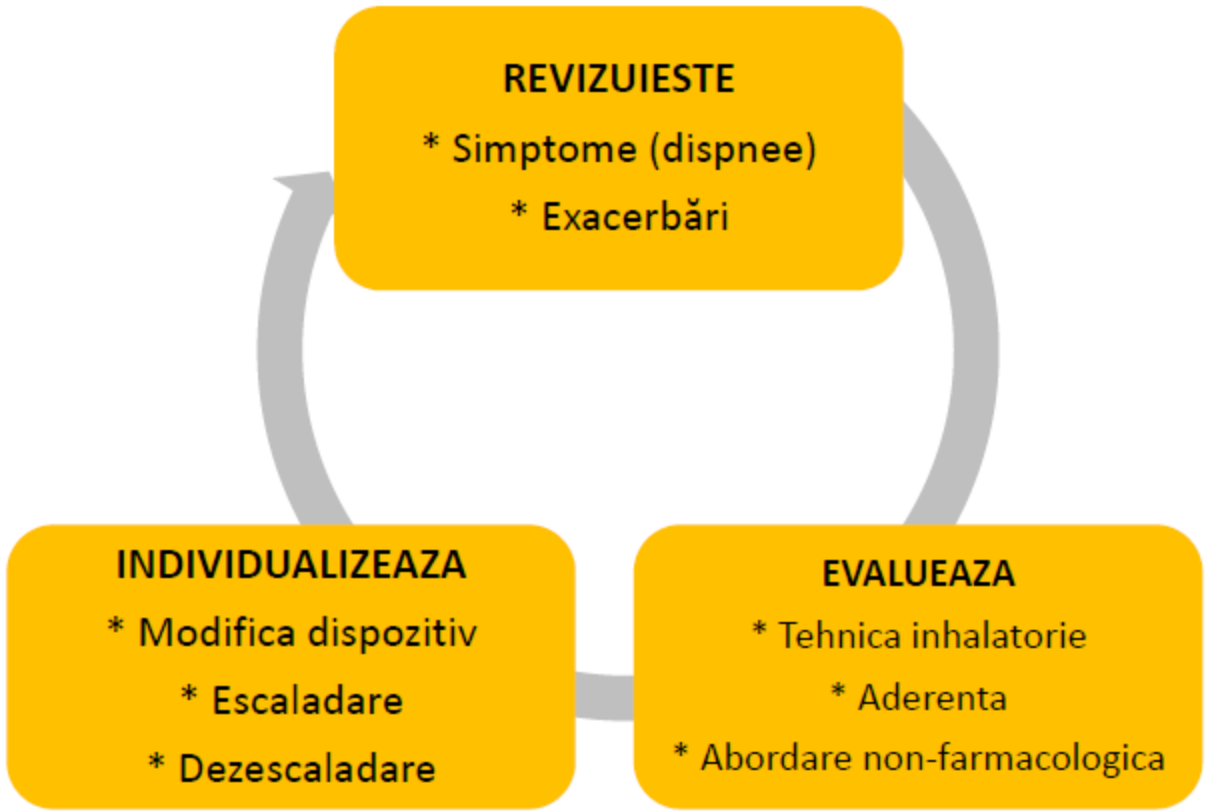
			SCOR
Exemplu: Sunt foarte fericit(ă)	0 X 2 3 4 5	Sunt foarte trist(ă)	
Nu tușesc niciodată	0 1 2 3 4 5	Tușesc tot timpul	1
Nu am deloc flegmă în piept	0 1 2 3 4 5	Pieptul meu este plin de flegmă	0
Nu simt nicio tensiune în piept	0 1 2 3 4 5	Simt o tensiune puternică în piept	2
Când urc un deal sau o scară de la un etaj la altul, nu gâfâi	0 1 2 3 4 5	Când urc un deal sau o scară de la un etaj la altul, gâfâi foarte mult	3
Nu sunt limitat privind desfășurarea niciunei activități acasă	0 1 2 3 4 5	Sunt foarte limitat în privința activităților desfășurate acasă	1
Am încredere să plec de acasă, în ciuda bolii mele pulmonare	0 1 2 3 4 5	Nu am deloc încredere să plec de acasă din cauza bolii mele pulmonare	1
Dorm profund	0 1 2 3 4 5	Nu dorm profund din cauza bolii mele pulmonare	1
Am multă energie	0 1 2 3 4 5	Nu am deloc energie	1
		SCOR TOTAL	10

Testul de evaluare BPOC (COPD Assessment Test) și logo-ul/sigla CAT constituie marcă înregistrată a grupului de companii GlaxoSmithKline.
©2009 GlaxoSmithKline. Toate drepturile rezervate.
Last Updated: February 26, 2012

Scala mMRC cuprinde 5 grade :

- gradul 0: fără dispnee în afară de efort intens;
- gradul 1: dispnee la mers susținut sau mers în urcuș;
- gradul 2: dispneea împiedică mersul în același ritm cu un individ de aceeași vârstă sau impune opriri pe teren plat;
- gradul 3: dispnee importantă, se oprește după mai puțin de 100 m;
- gradul 4: dispnee la îmbrăcat sau care împiedică părăsirea domiciliului.

1 exacerbare moderată în ultimele 12 luni + Eozinofilie 9%



Toxocaroza: parazitoză recidivantă- Albendazol

Manifestări respiratorii noiembrie 2019: Tuse , dispnee, asthma-like

8	**Ig E**			
	Ser / electrochemiluminiscenta (ECLIA)	204.4	UI/mL	Nou nascuti : <1.5 Copii: 5 saptamini - 1 ani : <15 1 - 5 ani : <60 6 - 9 ani : <90 10 - 15 ani : < 200 Adulti : <100

Imunologie

*LC	**Toxocara canis - Anticorpi IgG**			
	Ser / ELISA kit2	5.4	Index	<0.9: Negativ 0.9-1.1: Echivoc >1.1 Pozitiv

Tiparit la: 3/13/2019 11:51:08AM



Reevaluare 11 luni

- Beneficii LAMA + LABA
- Beneficiu Budesonide 400 mcg/zi ?
- Fără exacerbări – decembrie 2019 - noiembrie 2020
- Fără eozinofilie
- **BPOC moderat stabil**
- Poate fi BPOC-ul influențat de un management optim și de aderența la tratament ori este un fenotip al bolii bronhopulmonare ?

Concluzii:

- Rolul activității fizice zilnice
- **BPOC stabil cu eozinofilie secundară unei toxocaroze identificate pe parcursul evoluției**
- **Eozinofilia care survine la un pacient vârstnic, fără istoric de astm, trebuie investigată**
- Preferințele bolnavului trebuie respectate
- Importanța aderenței la tratament
- Tratamentul corect al comorbidităților
- Tratamentul BPOC e permanent – poate fi modificat dar nu întrerupt!
- Efectul sinergic al bronhodilatației duale LAMA (Aclidinium) +LABA (Formoterol)

Ghidurile nu sunt suficiente în evaluarea cazului clinic



- **Specific**
- **Direct**
- **Scurt**
- **Util**



Curs VII

Răspunsul imun antitumoral

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Răspunsul imun antitumoral

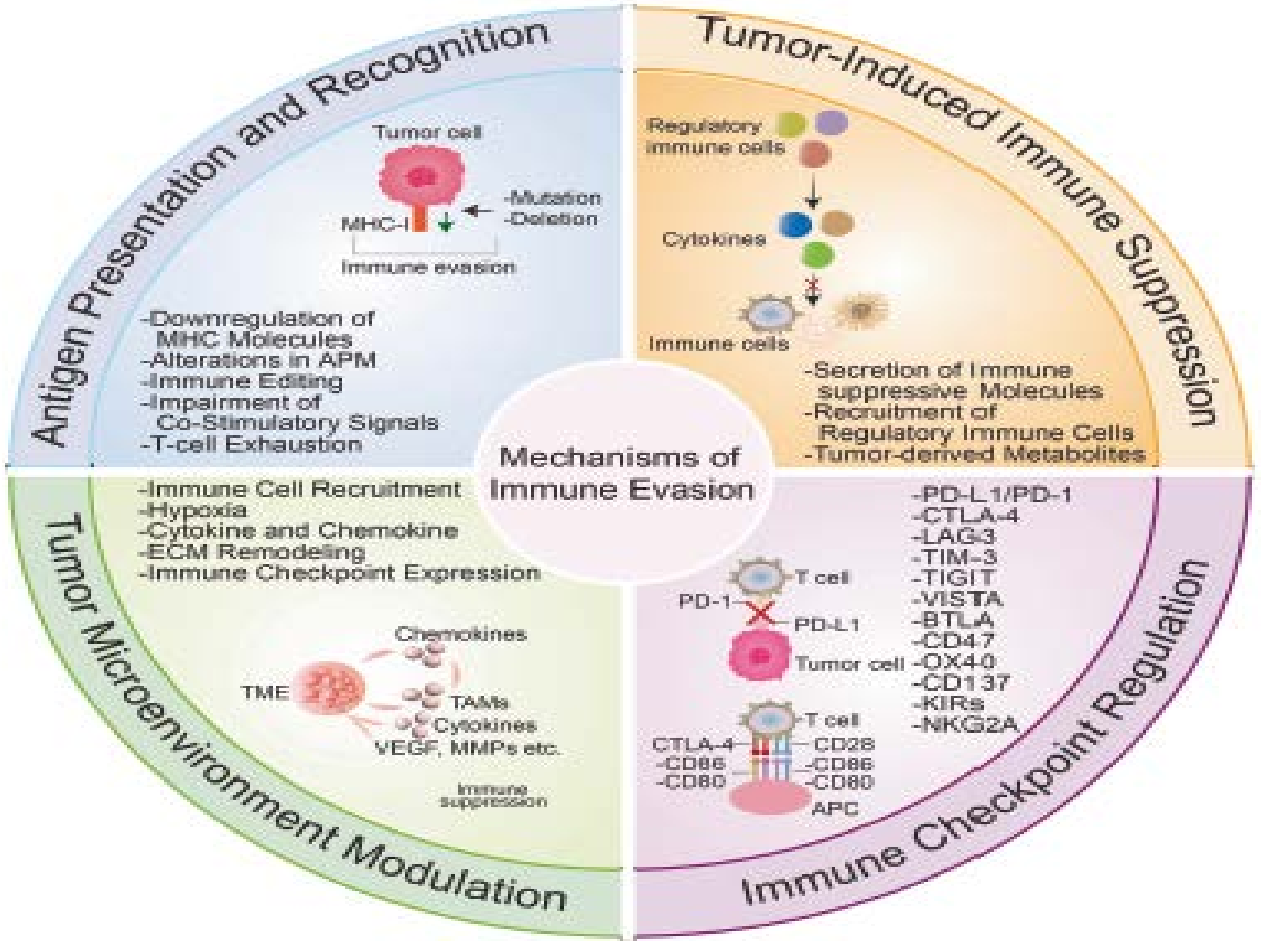
- Mecanismul prin care sistemul imunitar recunoaște și distruge celulele canceroase, bazându-se pe detectarea neoantigenelor tumorale de către limfocitele T citotoxice.

- Implică atât imunitatea înnăscută, cât și cea dobândită, fiind adesea inhibat de micromediul tumoral, care poate frâna activitatea imună

Componente și mecanisme

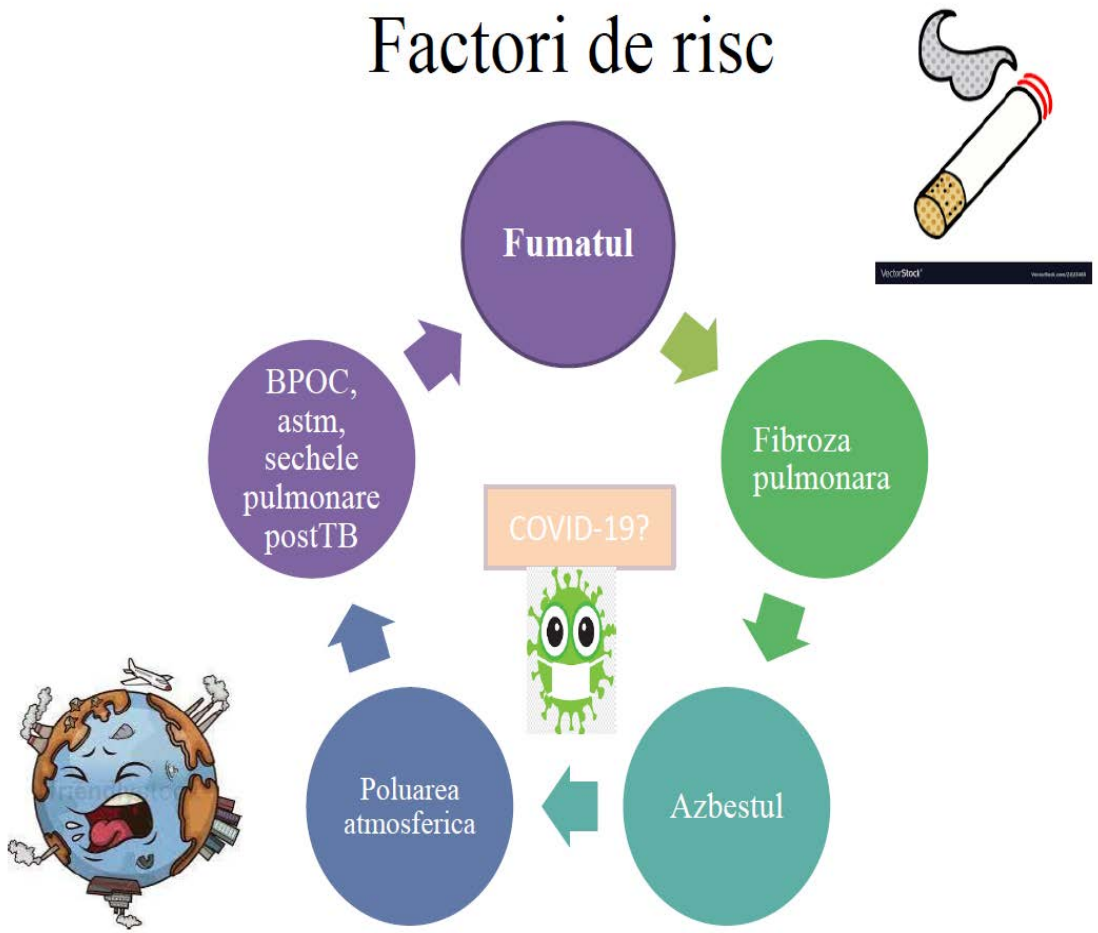
- **Recunoașterea:** Sistemul imunitar identifică proteinele anormale (neoantigene) apărute din mutațiile celulelor canceroase.
- **Activarea:** Limfocitele T citotoxice (celule T CD8+) sunt activate pentru a ataca celulele maligne.
- **Rolul interferonului γ:** Este crucial pentru a face celulele precanceroase vizibile sistemului imunitar.
- **Supravegherea imună** în stadiile precanceroase

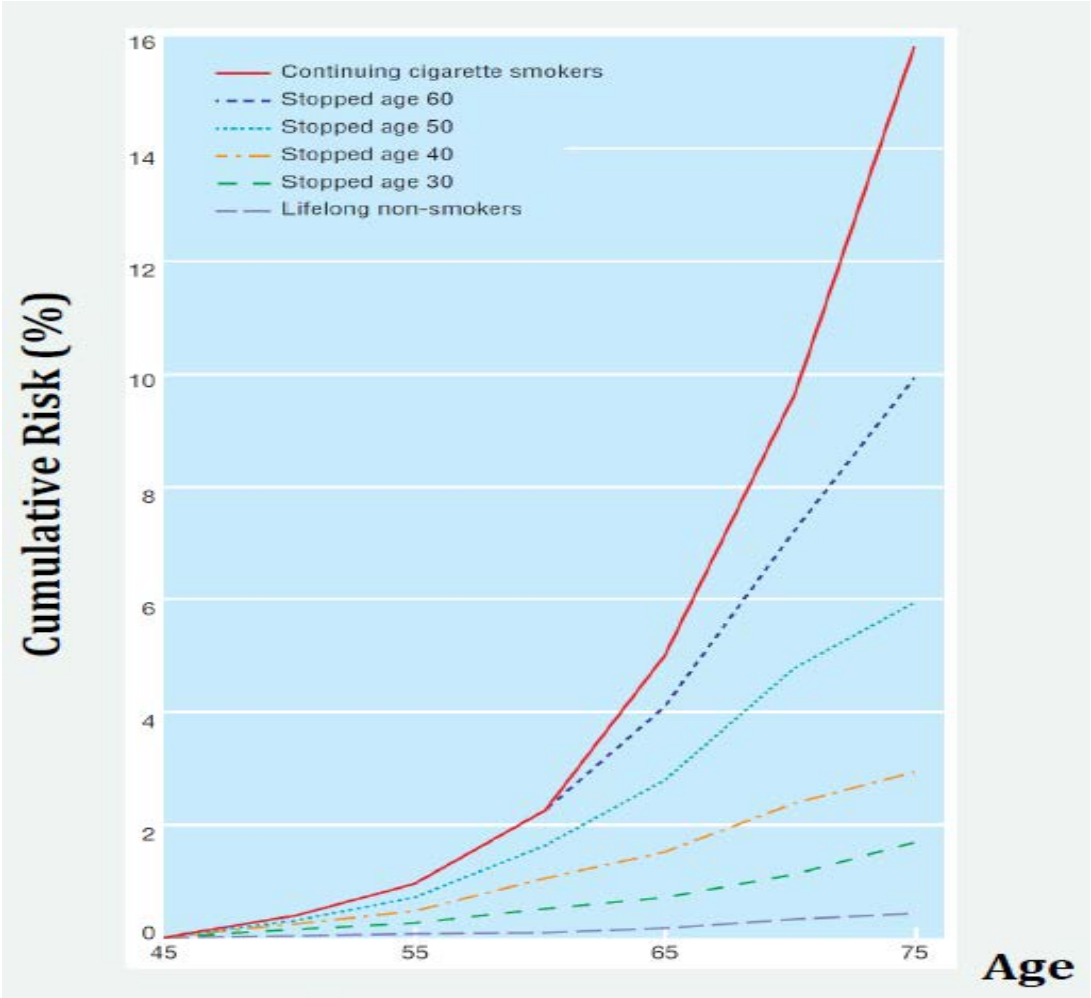
Mecanisme imune de invazie în cancer



Tufail, M., Jiang, CH. & Li, N. Immune evasion in cancer: mechanisms and cutting-edge therapeutic approaches. *Sig Transduct Target Ther* **10**, 227 (2025).

Cancerul bronhopulmonar între predispoziția genetică și riscul expunerii





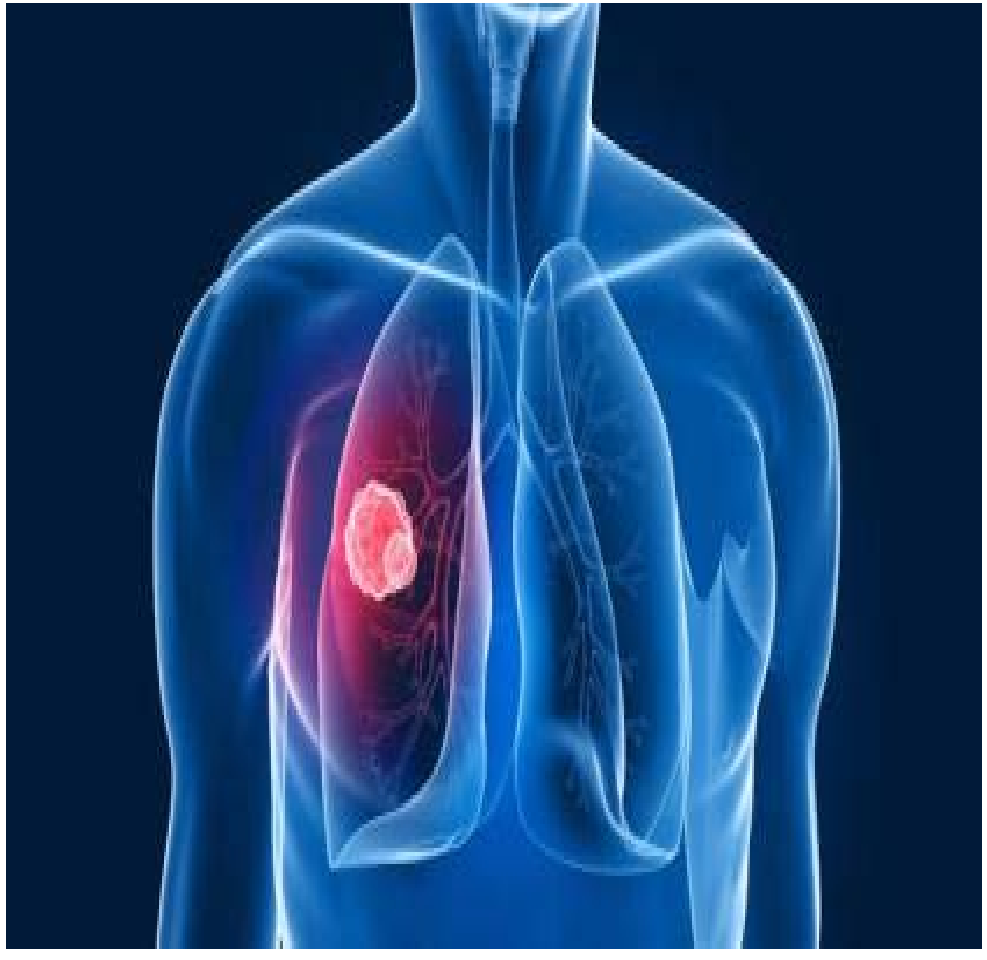
Peto R, et al. BMJ. 2000;321:323-329.

Polimorfisme genetice

- Fumatul factor de risc principal al CBP (80-90%); [1]
- Susceptibilitatea fumătorilor la cancer diferă: 11-24% dintre fumători fac CBP; [2]
- Citocromul P450 2A6 (CYP2A6) catalizează metabolismul nicotinei și activitatea metabolică a carcinogenului pulmonar tobacco-specific 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK); [3]
  - NNK generează metaboliți reactivi care modifică ADN-ul și inițiază carcinogeneza la nivel pulmonar; [3]
  - Variația genetică a CYP2A6 crește riscul de cancer pulmonar în asociere cu doza expunerii.[3]
- Variațiile CYP1A1 explică de ce femeile sunt mai susceptibile să dezvolte CBP dacă inhalează carcinogene. [4]

1- International Agency for Research on Cancer (2004) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. IARC Scientific Publications, Lyon, France; 2-Brennan, P. et al. (2011) Lancet. Oncol., 12, 399–408; 3- Jian-Min Yuan et al. Carcinogenesis, 2017, Vol. 38, No. 4, 411–418. 4- Penaloza CG et al. *FASEB J*. 2014;28(2):966-77.

Investigații paraclinice





Citologia sputei, aspirat bronsic 60%

Radiografia pulmonară

Examen CT / PET

Tehnici de prelevare biopsie
Bronhoscopie / Mediastinoscopie /Toracenteza/
Videotoracoscopie- biopsie pleurala/biopsie pulmonara

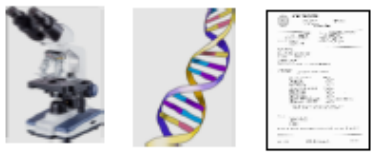
ECHIPA MULTIDISCIPLINARA

Molecular testing in lung cancer - tissue journey



Biopsy: Pulmonologist, IR, TS
Medical Oncology, PCP

PATHOLOGY



Anatomic Pathology



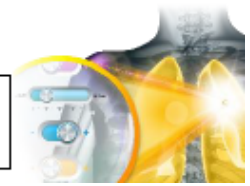
Molecular Pathology



COMMERCIAL LAB

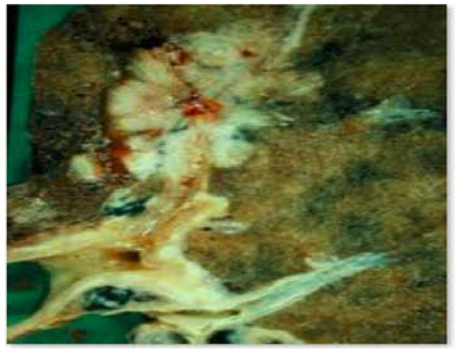
ONCOLOGY

TREATMENT DECISION- MULTIDISCIPLINARY TEAM

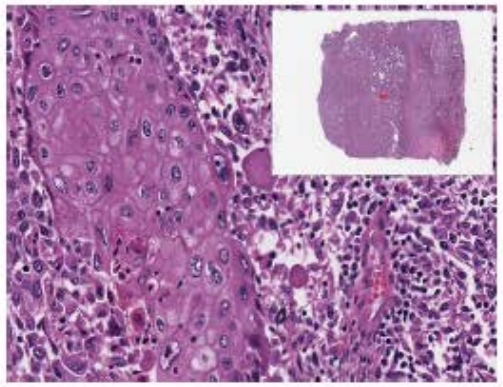


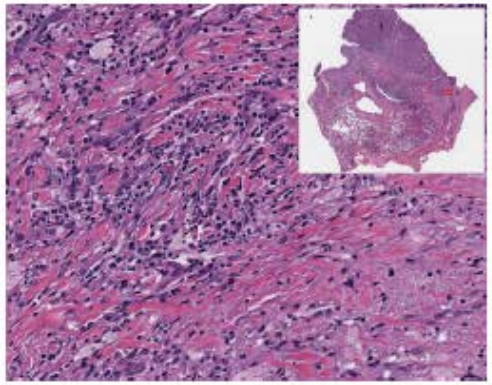
Provocări diagnostice- biopsia tisulară de calitate

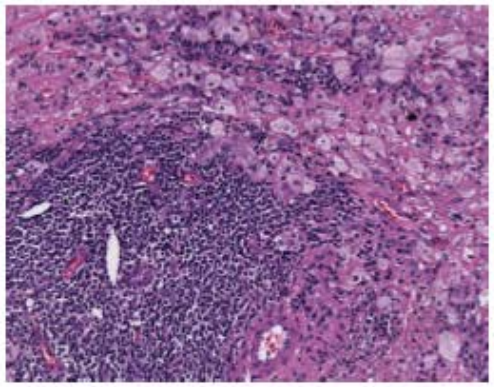
Tissue is the issue

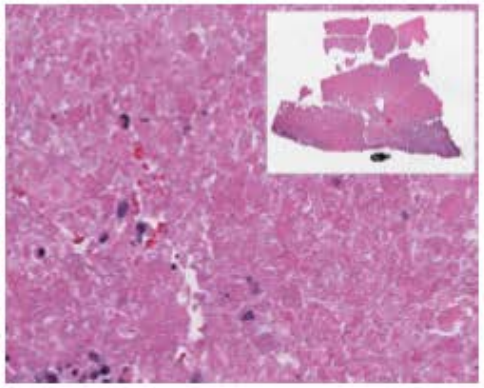












Tumoră **Fibroză** **Inflamație** **Necroză**

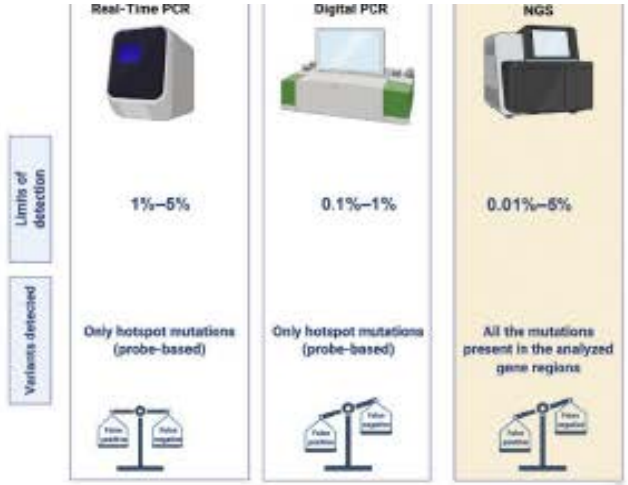
STATE OF THE ART: CONCISE REVIEW

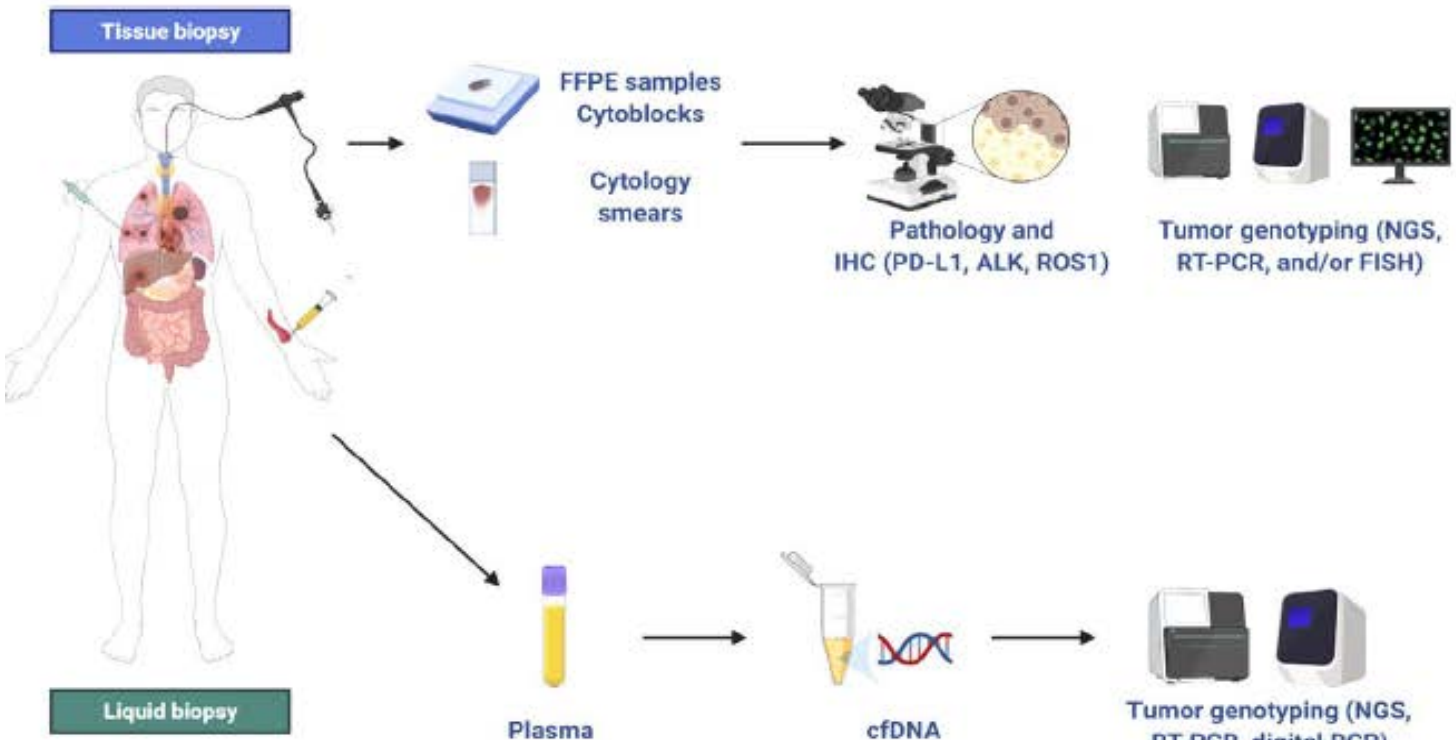
IASLC

JTO 2021

Liquid Biopsy for Advanced NSCLC: A Consensus Statement From the International Association for the Study of Lung Cancer

Christian Rolfo, MD, PhD, MBA, Dr.hc.,[a] Philip Mack, PhD,[a] Giorgio V. Scagliotti, MD, PhD,[b] Charu Aggarwal, MD, MPH,[c] Maria E. Arcila, MD,[d] Fabrice Barlesi, MD, PhD,[e,f] Trever Bivona, MD, PhD,[g,h,i] Maximilian Diehn, MD, PhD,[j,k] Caroline Dive, PhD,[l,m] Rafal Dziadziuszko, MD, PhD,[n] Natasha Leighl, BSc, MMSc, MD,[o] Umberto Malapelle, PhD,[p] Tony Mok, MD,[q] Nir Peled, MD, PhD,[r] Luis E. Raez, MD,[s] Lecia Sequist, MD, MPH,[t,u,v] Lynette Sholl, MD,[w] Charles Swanton, BSc, PhD, FRCP,[x,y] Chris Abbosh, MD, PhD,[y] Daniel Tan, MBBS, PhD,[z,aa] Heather Wakelee, MD,[bb] Ignacio Wistuba, MD,[cc] Rebecca Bunn, MSc,[dd] Janet Freeman-Daily, MS, ENG,[ee] Murry Wynes, PhD,[cc] Chandra Belani, MD,[ff] Tetsuya Mitsudomi, MD, PhD,[gg] David Gandara, MD[hh,*]



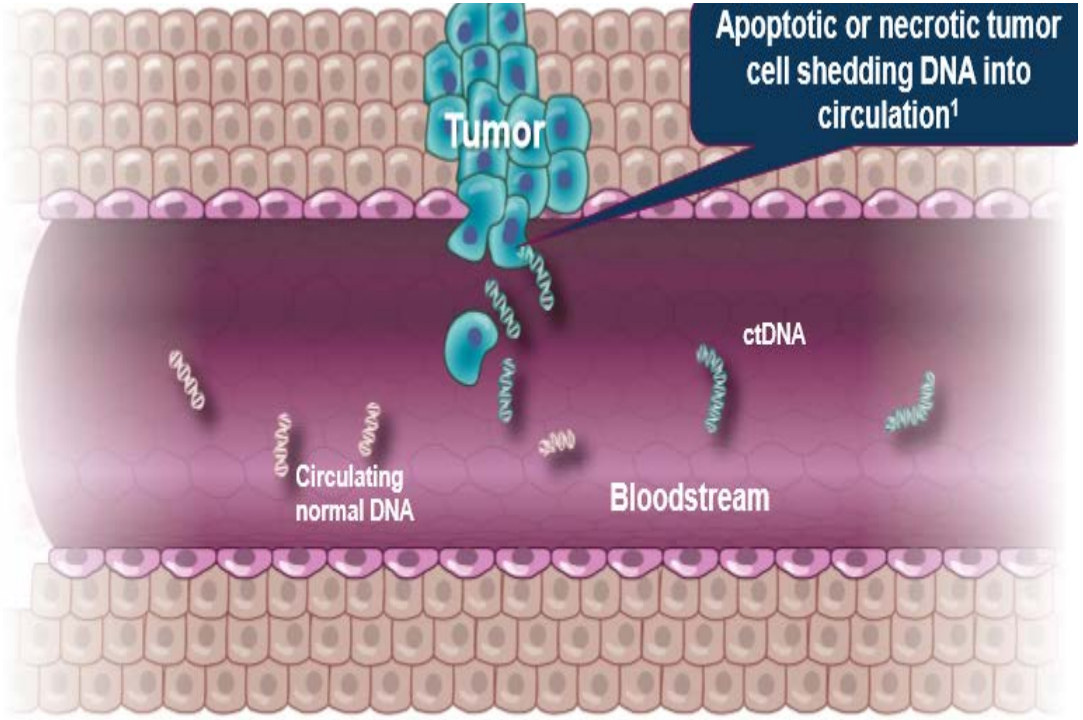


Tissue vs. liquid

	Advantages	Disadvantages
Tissue biopsy	✓Pathology information ✓Assessment of DNA and non-DNA biomarkers ✓PD-L1 assessment	✓Longer TAT ✓Limited tissue quantities ✓Invasive ✓At PD, re-biopsy not always feasible ✓Tumor heterogeneity
Liquid biopsy (cfDNA)	✓High concordance rate ✓ Rapid TAT ✓Minimally invasive ✓Repeatable over time ✓Better capture tumor hetereogenity and clonal evolution	✓Non-DNA biomarkers not evaluable ✓Increased costs if used concurrently with tissue testing ✓False negatives

Biopsia lichidă- metodă alternativă

- Tesut bioptic[1]
- Dificultate în obținerea biopsiei tisulare, fragment insuficient – biopsie lichidă din plasmă- cfDNA[1–5]
- cfDNA eliberat de celulele tumorale e prezent în sânge, dar nu la toți bolnavii cu NSCLC avansat[1]



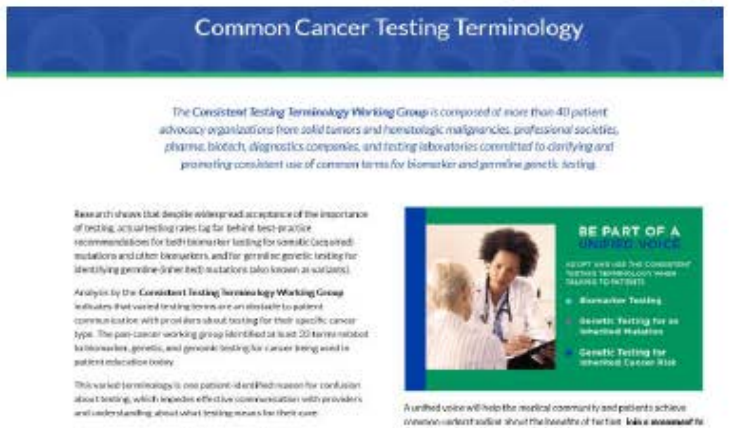
cfDNA, circulating-free DNA

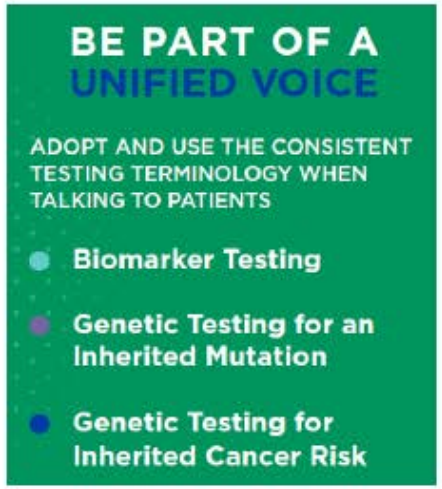
1. Leary, et al. Eur J Cancer 2012;48:61–67; 2. Ellison, et al. J Clin Pathol 2013;66:79–89; 3. Malapelle, et al. Cancer Cytopathol 2013;121:552–560; 4. Yang, et al. Lung Cancer 2014;83:174–181; 5. Liu, et al. J Clin Pathol 2013;66:1065–1069;

Using Consistent Terms About Testing With Patients

Website

www.commoncancertestingterms.org





Working Group Participants



JCO® Precision Oncology

An American Society of Clinical Oncology Journal

Adopting Consensus Terms for Testing in Precision Medicine

Nikki A. Martin, MA[1]; Joel E. Tepper, MD[2]; Veda N. Giri, MD[3]; Thomas E. Stinchcombe, MD[4]; Heather H. Cheng, MD, PhD[5,6,7]; Milind M. Javle, MD[8]; and Eric Q. Konnick, MD, MS[7,9]

DOI: 10.1200/PO.21.00027 *JCO Precision Oncology* no. 5 (2021) 1563-1567.
Published online October 6, 2021.

Please visit
www.CommonCancerTestingTerms.org
for more information

Definition: Precision medicine is biomarker-driven care from pre-diagnosis to diagnosis, treatment and potential progression





- Lung biopsy order, pre-procedure
- Biopsy Procedure
- Biomarker testing procedure
- The Feedback Loop

Biopsia: Diagnostic, HP tip și subtip, testare biomarkeri

- Histologic: scuamos sau nonscuamos?[1,2]

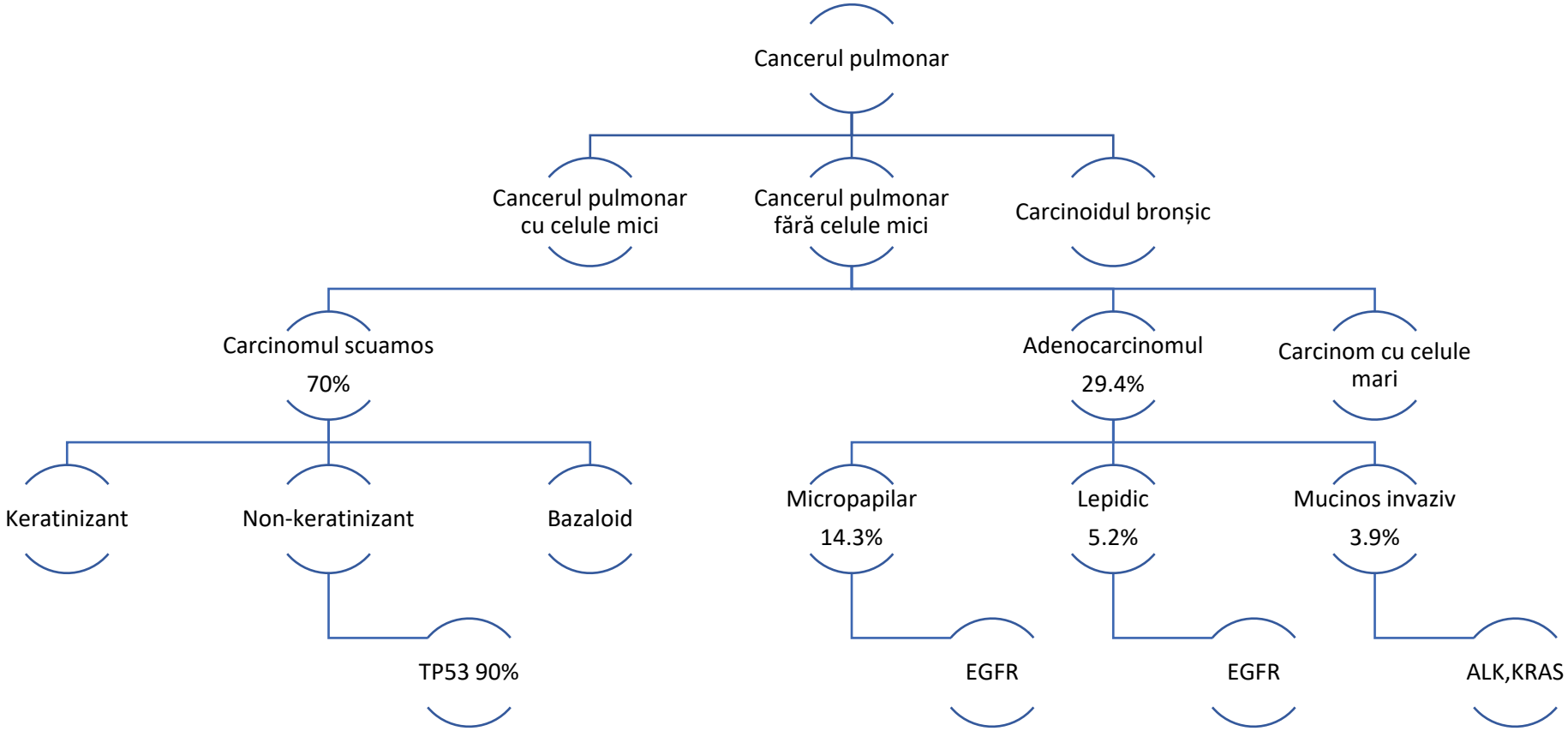
- **Testare pentru *EGFR, ALK, ROS1, BRAF* V600E, *NTRK*, *RET* și *MET*ex14 la nonscuamos** [3]
  - Next generation sequencing (NGS) pentru identificarea mutațiilor
  - Pentru scuamos NSCLC, testarea la tineri, nefumatori/fumători light sau dacă biopsia e cu pattern HP mixt

- **Testare pentru expresia PD-L1 în toate NSCLC**[3]
- Completarea testării în interval de 10 zile de la biopsie[4]
  - Turn around time (TAT) pentru PD-L1 mai rapid decât NGS

- **Așteptarea rezultatelor NGS înainte de a acționa conform rezultatelor PD-L1**

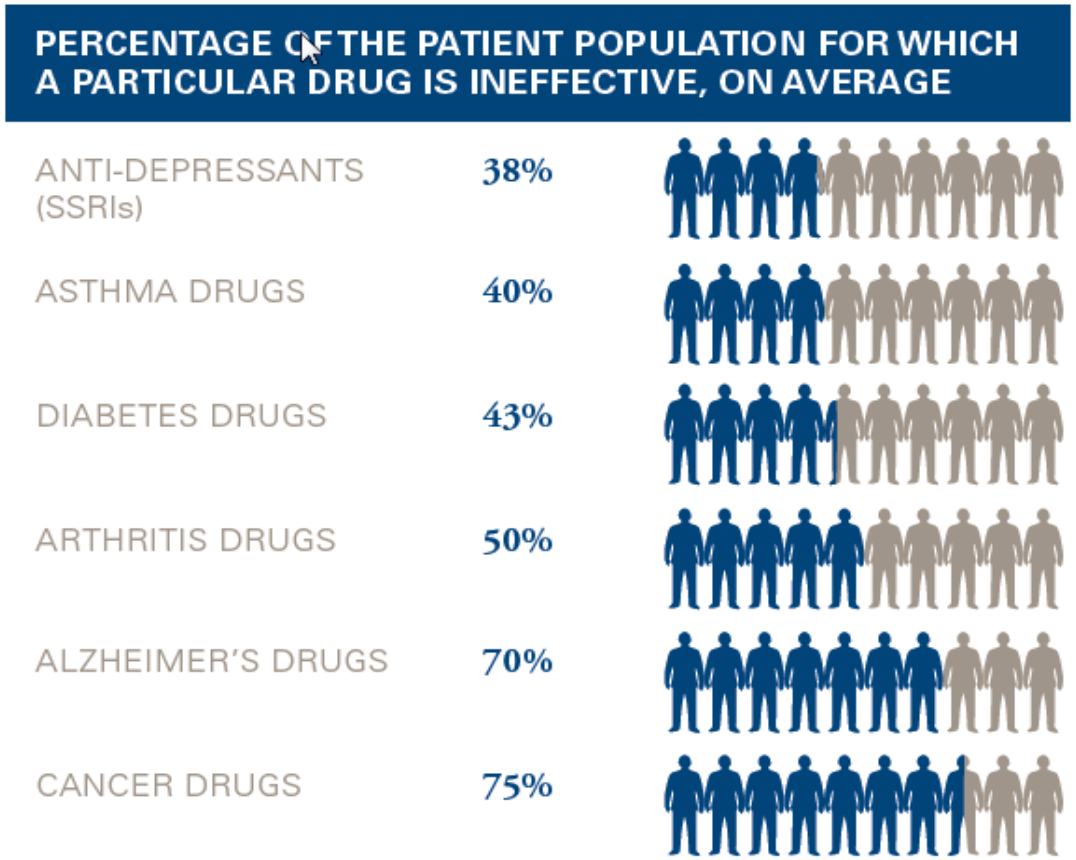
1. Masters. JCO. 2015;33:3488. 2. Mukhopadhyay. Am J Surg Pathol. 2011;35:15.
3. Pennell. ASCO Educ Book. 2019;39:351. 4. Lindeman. J Thorac Oncol. 2018;13:323.

Interrelații între profilul morfologic și cel molecular

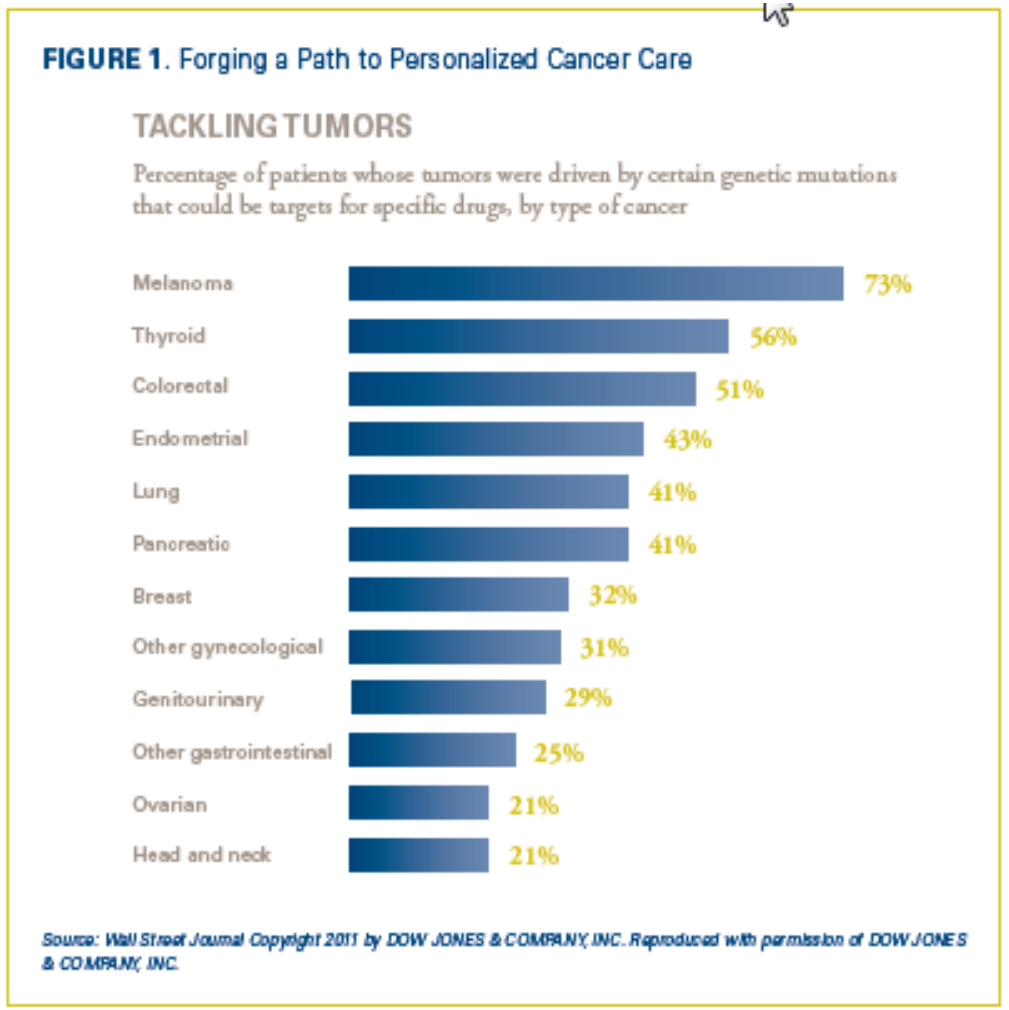


Kashima J., et al., Cancers 2019, 11, 599

Semnătura genetică și terapia țintită moleculară



Source of data: Brian B. Spear, Margo Heath-Chiozzi, Jeffery Huff, "Clinical Trends in Molecular Medicine," Volume 7, Issue 5, 1 May 2001, Pages 201-204.



Evoluția terapiei în cancerul bronho-pulmonar

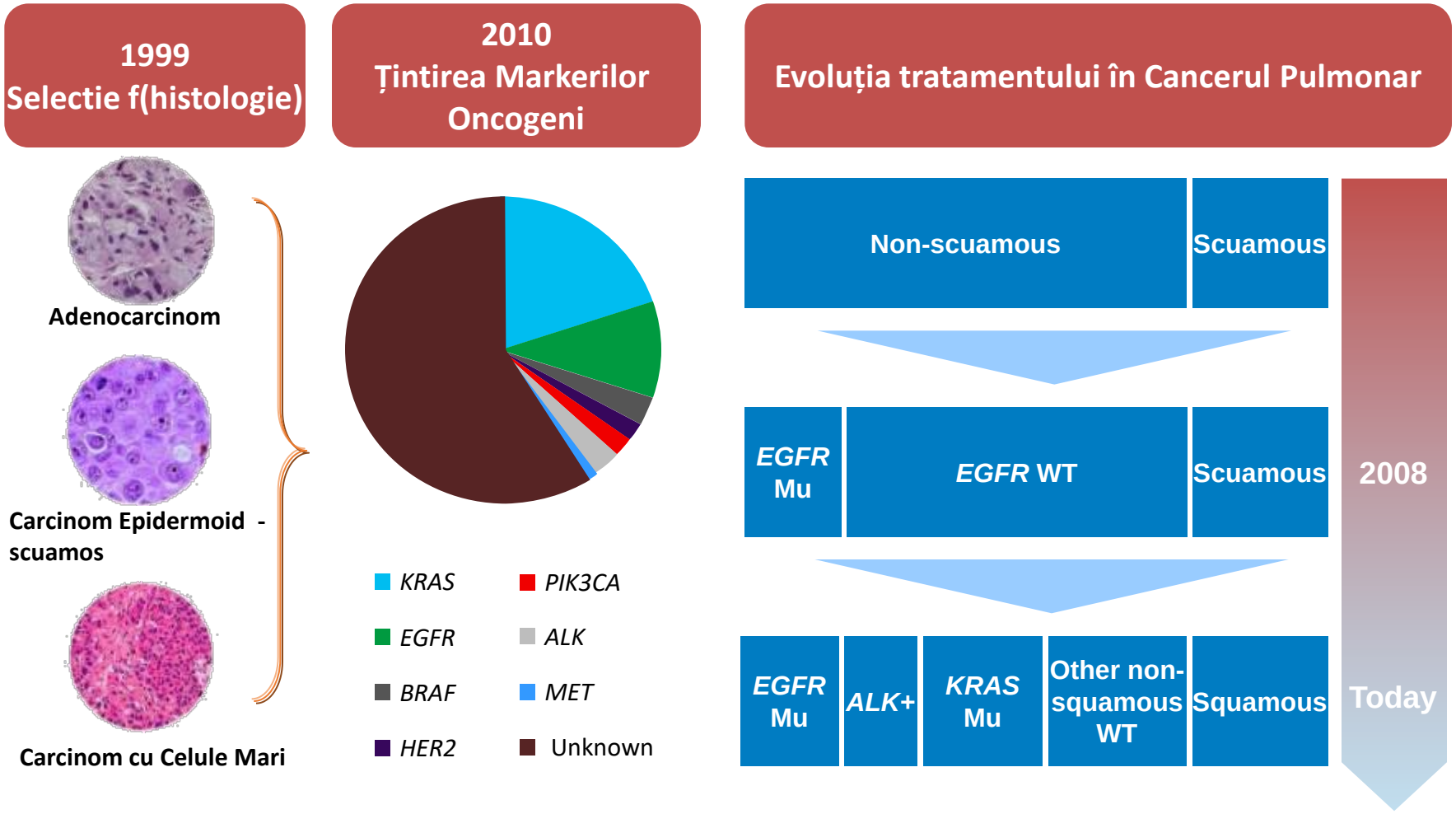
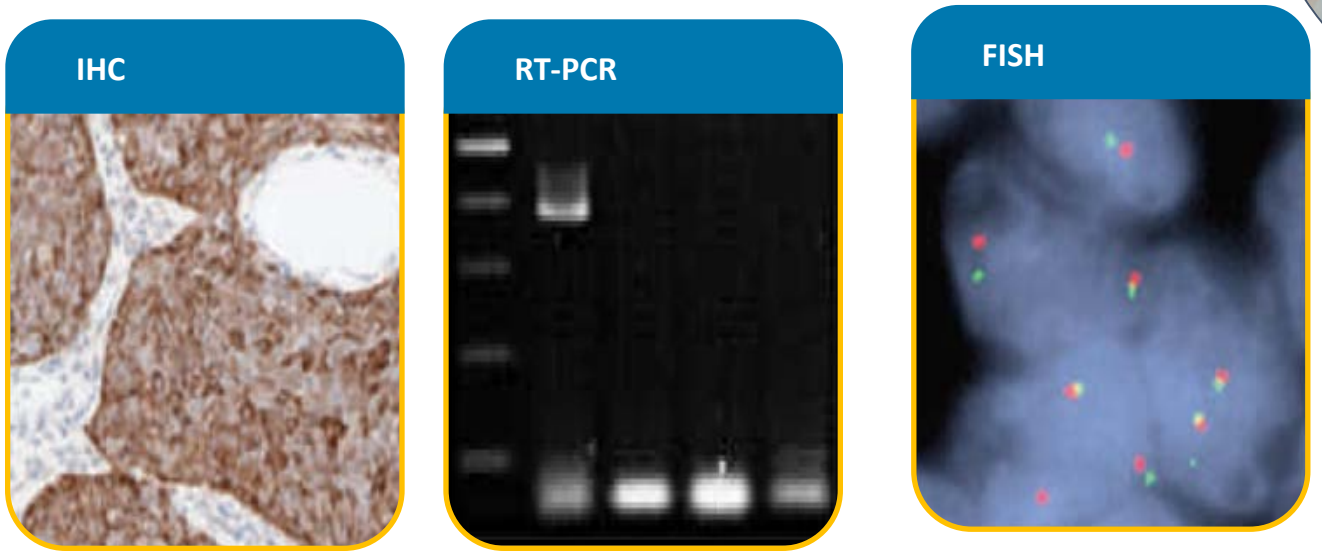


Figure: Massachusetts General Hospital Horn L, Pao W. *J Clin Oncol*. 2009;26:4232–4235.

Testarea precoce şi concomitentă a biomarkerilor optimă pentru deciziile terapeutice



- **HP & IHC** (imunohistochimie)
- **RT-PCR** (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*)
- **FISH** (fluorescence *in situ hybridization*): consacrat pentru depistarea statusului ALK)[1-4]



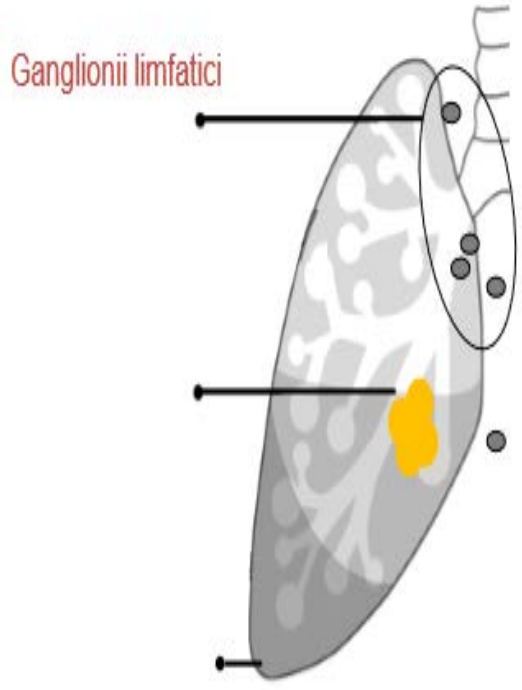
1. Hirsch FR, et al. Clin Cancer Res. 2010;16(20):4909-11. 2. Kwak EL, et al. N Engl J Med. 2010;363(18):1693-703. 3. Yi ES, et al. J Thorac Oncol. 2011;6(3):459-65. **4.** Thunnissen E, et al. Lung Cancer. 2012;76(1):1-18.

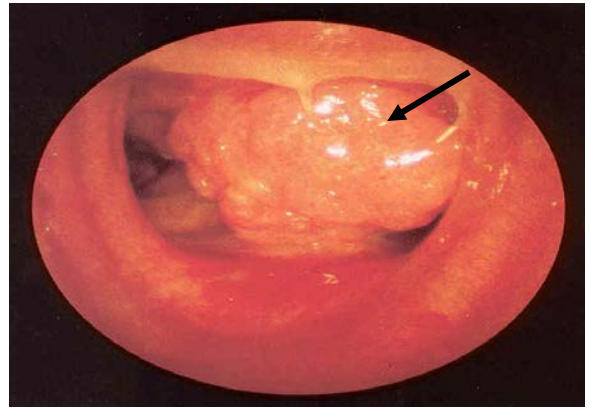
Tehnici prelevare biopsie

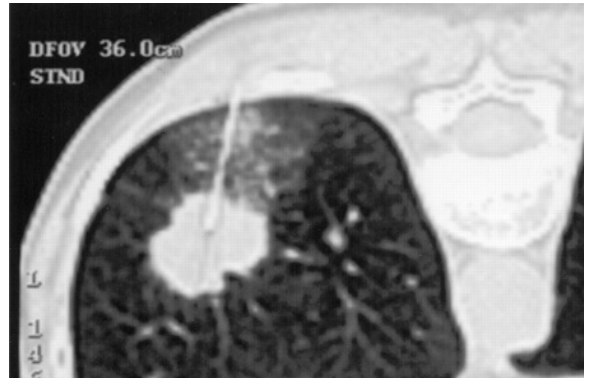
Bronhoscopia poate ajuta la depistarea unei tumori în căile respiratorii mari.[1]

Bronhoscopie care evidențiază o tumoră NSCLC la nivelul bronhiei superioare drepte (săgeata)

- Testul adecvat este determinat:
- dimensiunea tumorii
- localizarea tumorii
- stadiul prezumtiv al cancerului.







American Cancer Society. Lung cancer. Disponibil la: http://www.cancer.org/cancer/lungcancer-non-smallcell/detailedguide/non-small-cell-lung-cancer-diagnosis.

Mutațiile genei EGFR (epidermal growth factor receptor)

- Alterează producerea proteinei epidermal growth factor receptor.
- 2004 identificată la un bolnav cu ADK și răspuns favorabil la terapia cu un inhibitor de tirozinkinază- era modernă a terapiei țintite
- 10 mutații EGFR (exoni 19-21 din domeniul kinazei)
- 47% dintre asiaticii cu NSCLC au o mutație EGFR.
- 21% dintre descendenții africani și 12% europeni; [2]
- Comune la femei, nefumători,
- Asociate CBP (tumori primare și metastaze) [1]
  - Frecvent în ADK,
  - Mai agresive în carcinomul scuamos, [3]
- Rezistență la terapia convențională [4]

1-Harrison PT, et al. *Semin Cancer Biol*. 2020;61:167-79; 2-Benbrahim Z, et al. *BMC Cancer*. 2018;18(1):891;
3- Joshi A et al. *Onco Targets Ther*. 2017;10:1859-63; 4- Ma C et al. *J Thorac Dis*. 2011;3(1):10-8.

Rearanjamentele ALK (anaplastic lymphoma kinase)

- Gena ALK e responsabilă de producția proteinei tyrosine kinase responsabilă de diviziunea și creșterea celulară.

- Rearanjamentele ALK apar în 3-5% din NSCLC (ADK)

- mai ales la asiatici; [17]
- nefumători, fumători nr redus de PA;
- la persoane sub 70 ani [18]

1.El-Telbany A, Ma PC. *Genes Cancer.* 2012;3(7-8):467-80. 2.Du X et al. *Thorac Cancer*. 2018;9(4):423-30.

Rearanjamentele ROS1

- Rearanjamente cromozomale care implică receptorul ROS1 al genei tirozinkinazei
- ROS1 din familia insulin receptorilor
- Glioblastom, colangiocarcinom
- Rearanjamentele ROS1 definesc un subset molecular de NSCLC
- 2% NSCLC [1]
- Nou subset genomic de ADK [2]
- Caracteristici clinice distincte similare ALK-rearranged NSCLC:
  - Vârsta tânără
  - Nefumători
  - Răspuns favorabil la crizotinib [1]

1-Bergethon K, et al. J Clin Oncol. 2012 Mar 10;30(8):863-70; 2- Jänne PA, Meyerson M. J Clin Oncol. 2012 Mar 10;30(8):878-9.

Mutațiile genei KRAS

- Gena KRAS e responsabilă de producerea unei proteine de semnalizare K-Ras ce influențează diviziunea, maturarea și funcția celulară.
- Mutațiile pot conduce la cancer.
- 15% - 20% dintre ADK au test (+) pentru mutațiile KRAS.
- Se asociază frecvent cu mutațiile EGFR.
- Mutațiile KRAS sunt mai puțin comune tumorilor metastatice.[1]

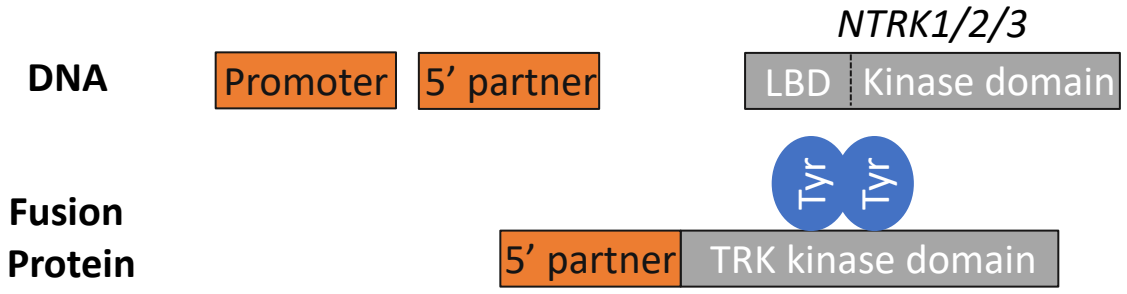
El-Telbany A, Ma PC. *Genes Cancer.* 2012;3(7-8):467-80.

Mutațiile genei BRCA2

- Asociate cancerului mamar, sunt incriminate și în producerea CBP.
- 2% dintre europeni au moștenit pattern-ul de transmitere autosomal dominant (doar un părinte poate contribui la apariția mutației).[19]
- Fumătorii cu mutație BRCA2 sunt de 2x mai predispuși să dezvolte CBP decât populația generală.
- Nefumătorii cu mutație BRCA au un risc oncologic modest.[20]
- Carcinomul scuamos

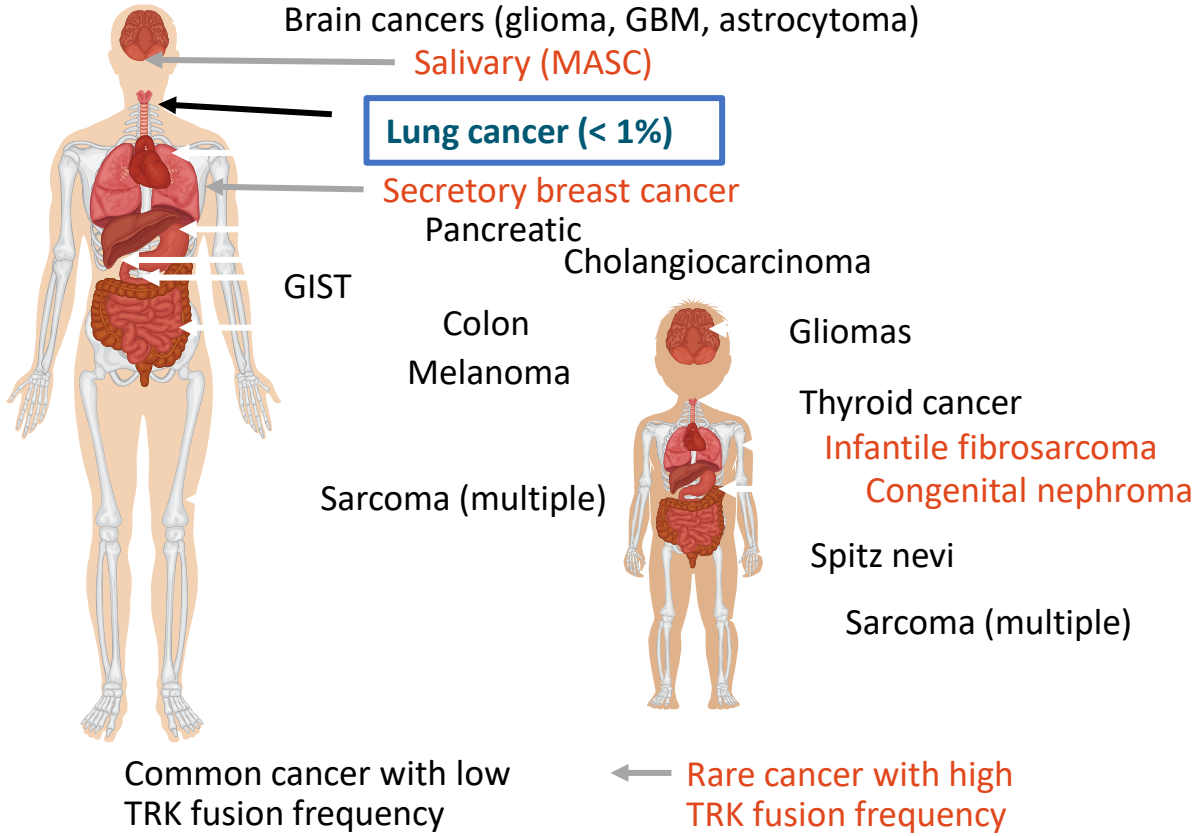
Rearanjamentele NTRK și TRK Fusions

- Rol în dezvoltare și diferențiere neuronală
- În cancer, rearanjamentele genei *NTRK* cuplează domeniul TK domain cu un partner de fuziune 5’ și generează proteina himerică TRK protein lipsită de ligand binding domain (LBD)



Conduce la over expresia sau activarea domeniului kinazei

NTRK Fusions Are Rare Events:
0.21% Across 11,116 Patients With Tumors of All Types



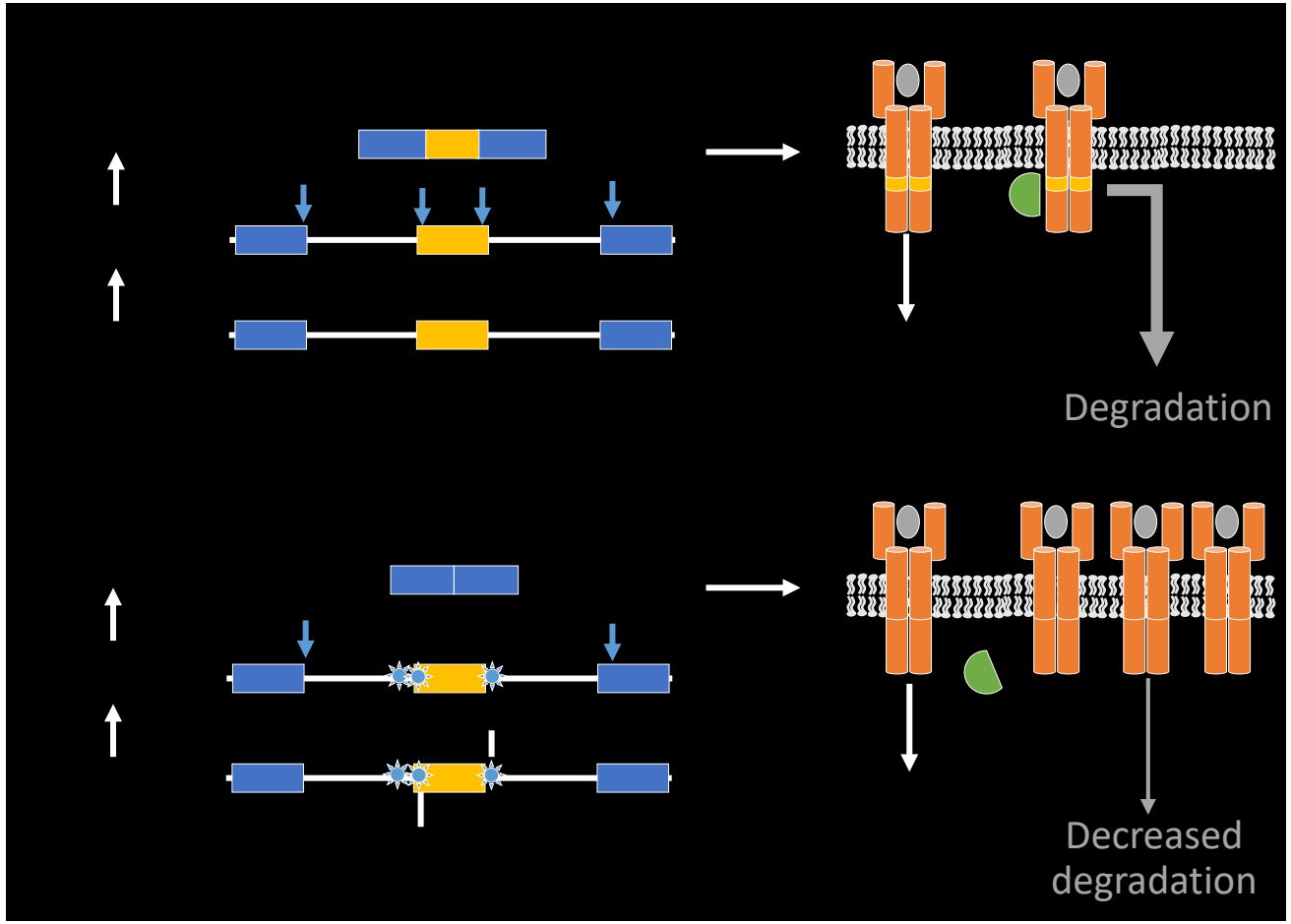
Cocco. Nat Rev Clin Oncol. 2018;15:731. Hyman. ASCO 2017. Abstr LBA2501. Gatalica. AACR-NCI-EORTC 2017. Abstr A047.

Slide credit: clinicaloptions.com

cMET Receptor Tyrosine Kinase și mutațiile omise METex14 în NSCLC

- Rol în embriogeneză și vindecarea rănilor wound healing
- Mutațiile omise *MET*ex14 produc ștergerea domeniului juxtamembranar, rezultând o stabilitate crescută și activarea kinazei
  - 3%-4% nonscuamos NSCLC
  - 20%-30% cancere sarcomatoide

***MET:* Normal Splicing vs Aberrant Splicing and Exon 14 Skipping**

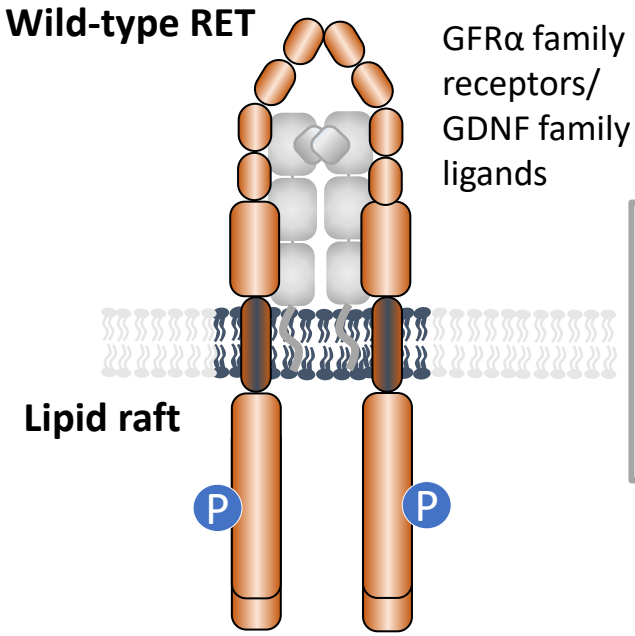


Drilon. Clin Cancer Res. 2016;22:2832. Awad. JCO. 2016;34:721. Tong. Clin Cancer Res. 2016;22:3048.

Slide credit: clinicaloptions.com

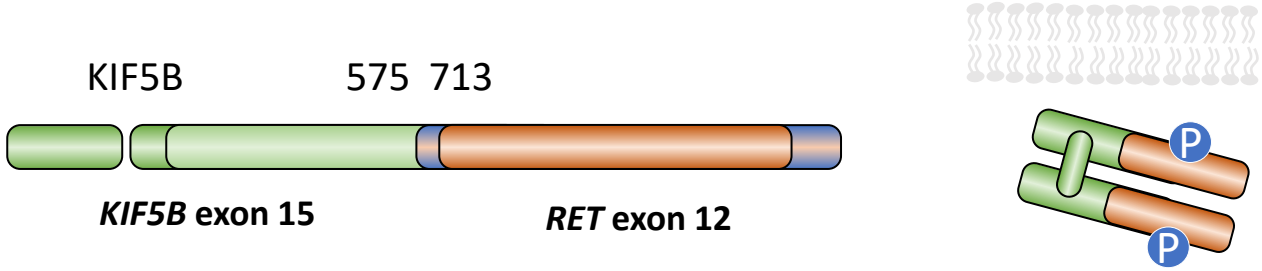
RET Receptor Tyrosine Kinase și *RET* Fusions în NSCLC

- Rol în dezvoltarea neurală și genitourinară
- În cancer, rearanjamentele *RET* activează domeniul RET kinase
  - 1%-2% nonscuamos NSCLC
  - 10%-20% carcinom papilar tiroidian



Heterodimerization of ligand–coreceptor complex and RET leads to autophosphorylation and downstream activation

Most Common *RET* Translocation in Lung Adenocarcinoma: KIF5B-RET



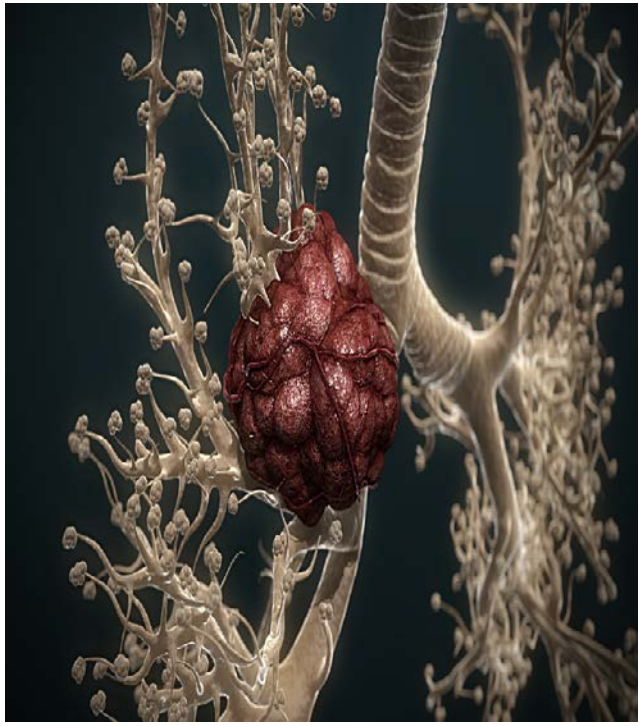
Gautschi. JCO. 2017;13:1403. Ferrara. J Thorac Oncol. 2018;13:27. Kato. Clin Cancer Res. 2017;23:1988.
Wang. JCO. 2012;30:4352. Airaksinen. Nat Rev Neurosci. 2002;3:383.

Slide credit: clinicaloptions.com

Deciziile terapeutice depind de profilul molecular al CBP

- Anti EGFR

- Gilotrif (afatinib)
- Iressa (gefitinib)
- Tagrisso (osimertinib)
- Tarceva (erlotinib)
- Vizimpro (dacomitinib)



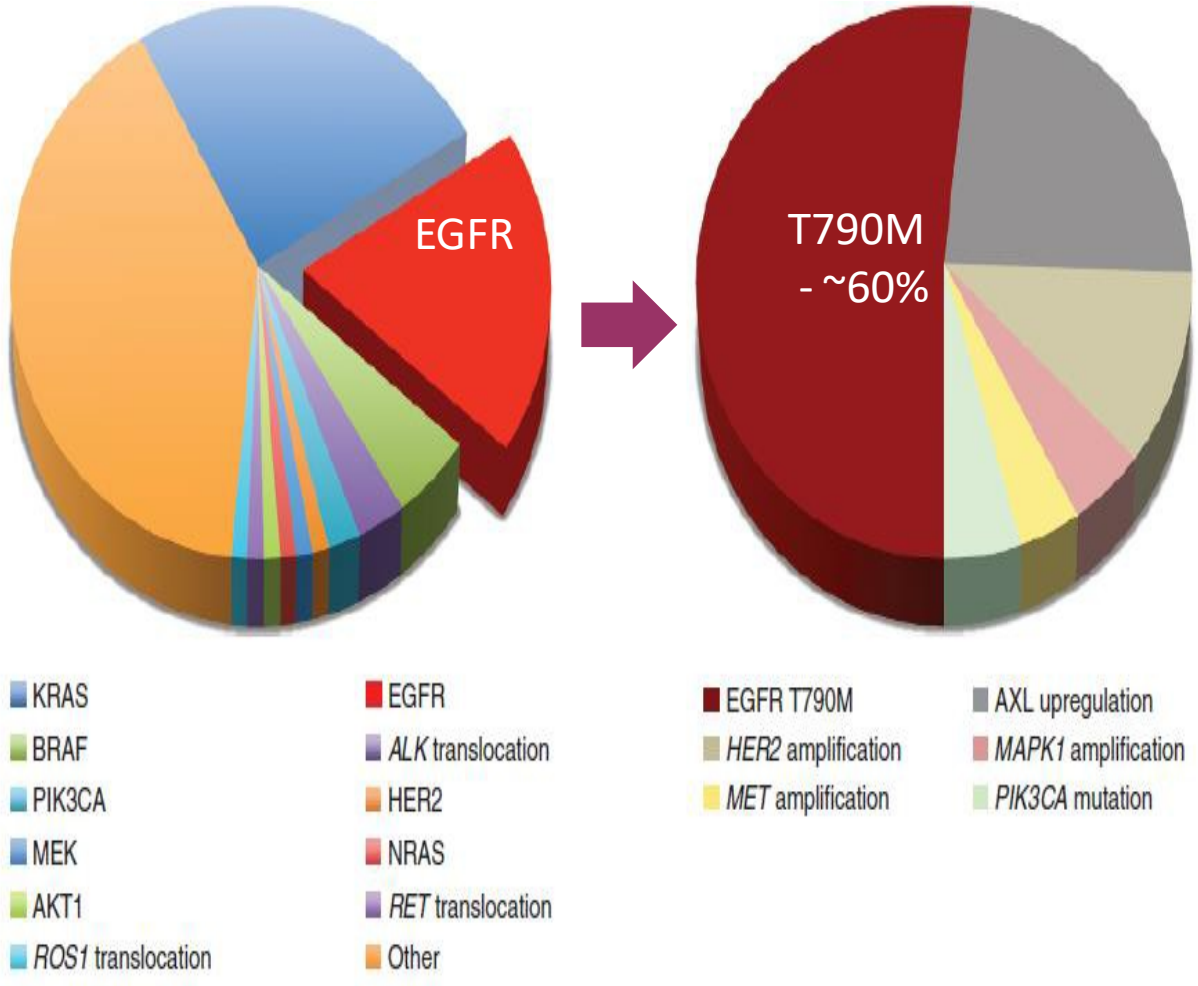
- Anti ALK

- Alecensa (alectinib)
- Alunbrig (brigatinib)
- Lorbrena (lorlatinib)
- Xalkori (crizotinib)
- Zykadia (ceritinib)

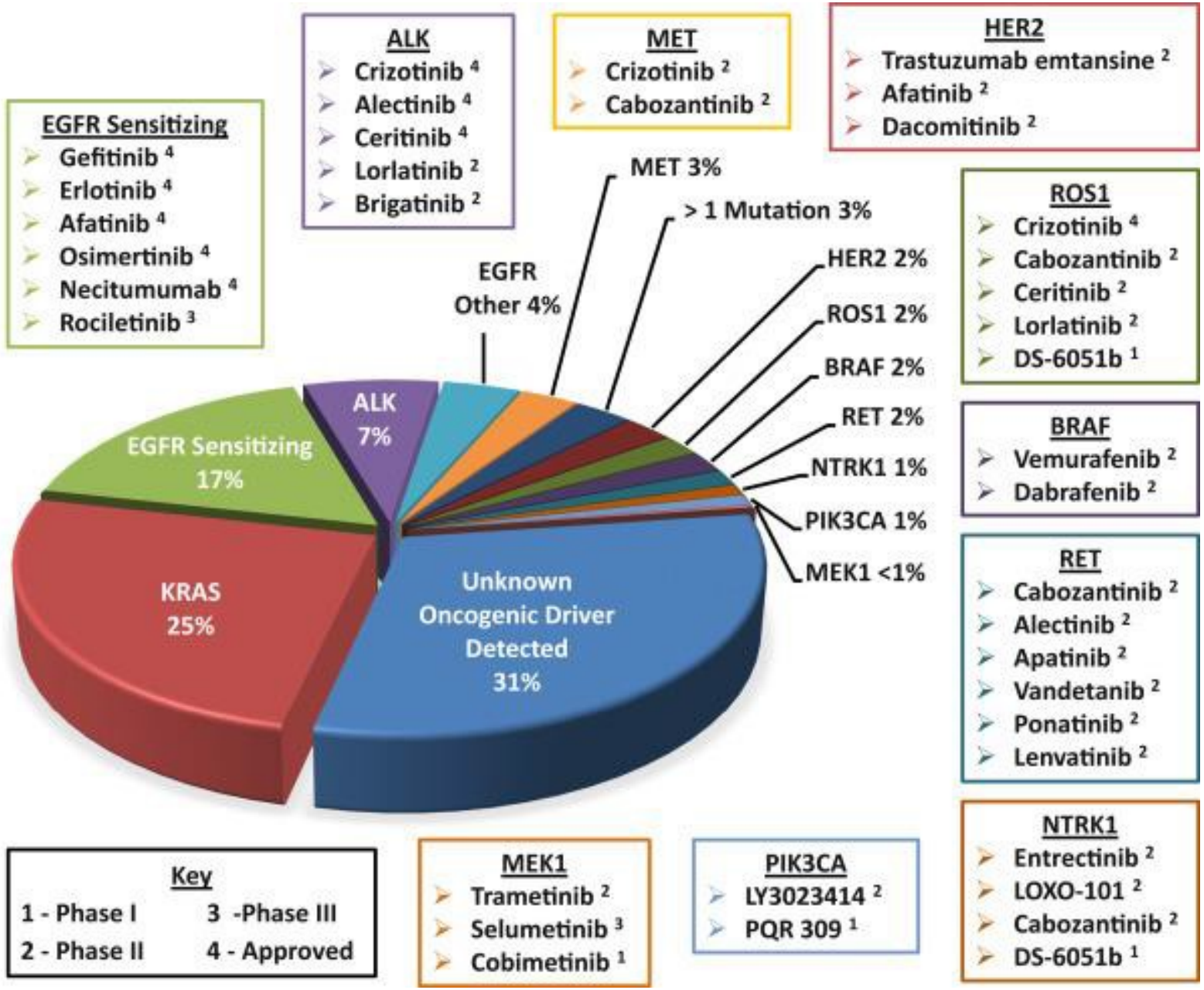
~60% of EGFRm+ dezvoltă mutația T790M

Drivere oncogene ADK

Rezistență dobândită



Blakely CM and Bivona TG. Cancer Discov. 2012;2(10):872-5.



Journal of Thoracic Oncology 2016 11, 613-638. DOI: (10.1016/j.jtho.2016.03.012)

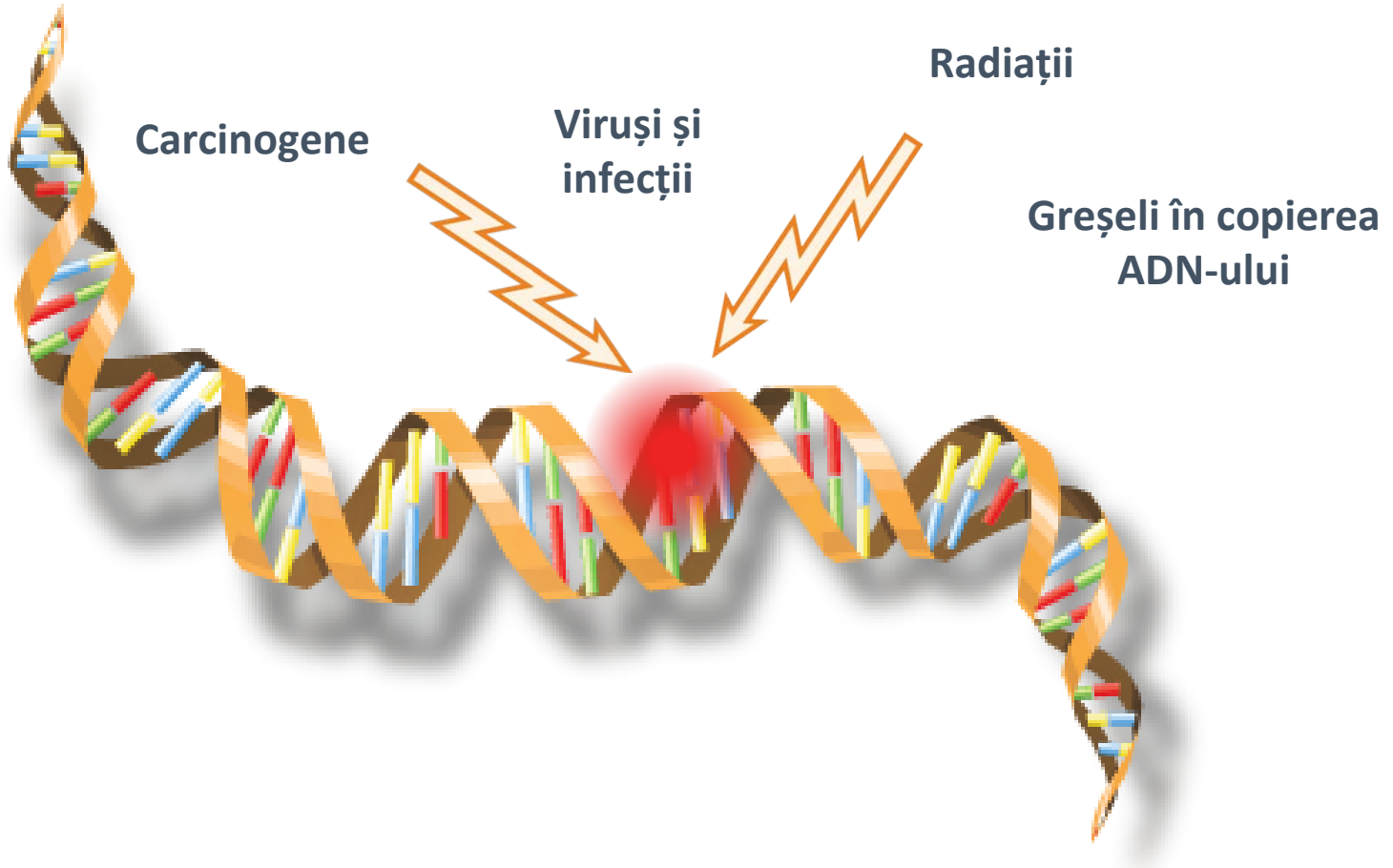
Provocări terapeutice

- **Evaziunea imună:** Tumorile pot crea un micro-mediu imunosupresor (tumori "reci"), blocând răspunsul imun prin intermediul punctelor de control.

- **Imunoterapia (Inhibitorii punctelor de control):** Aceasta "ridică frânele" sistemului imunitar, permițând limfocitelor T să reia atacul asupra tumorii.

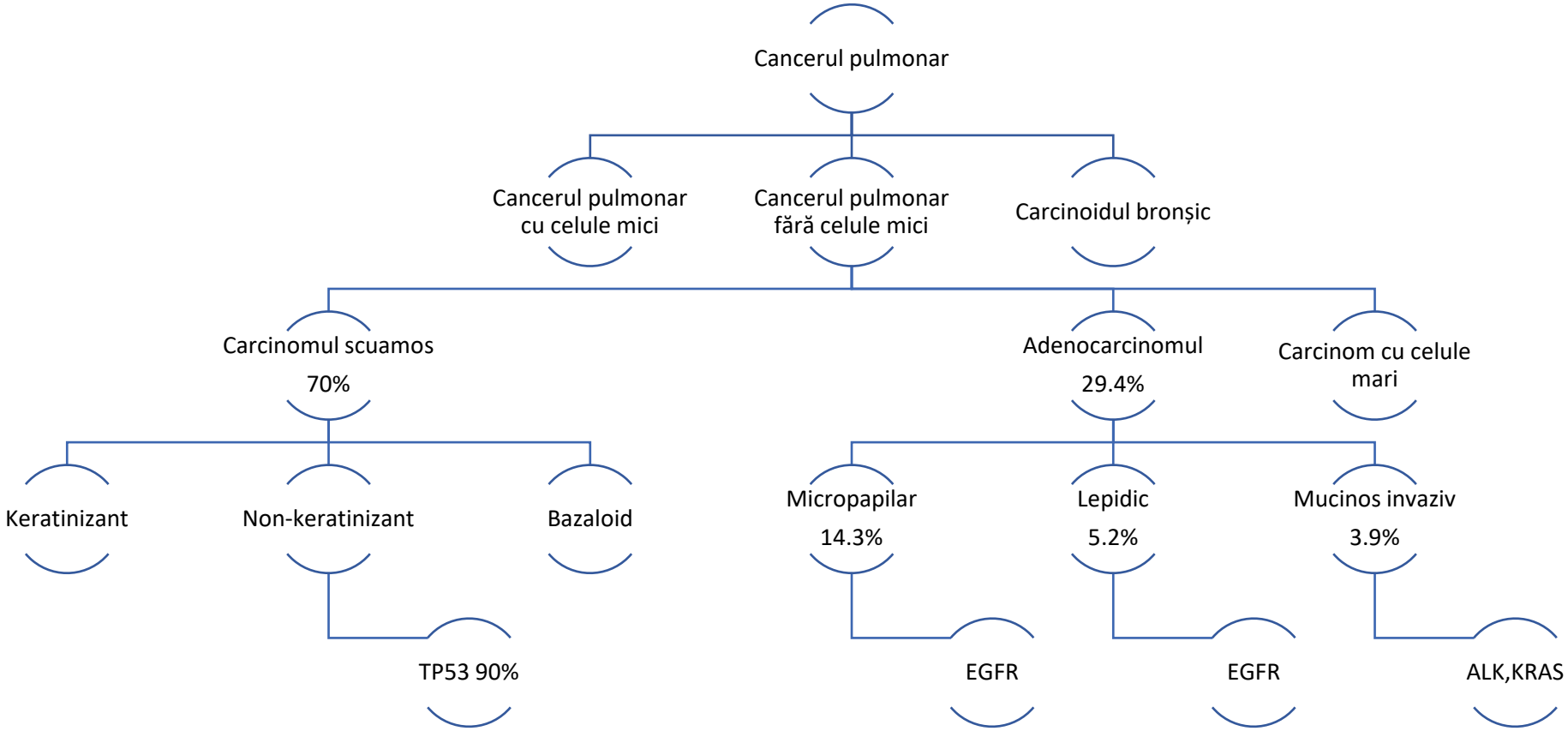
- **Vaccinuri ARNm:** O metodă modernă care transformă tumorile reci în tumori vizibile, stimulând un răspuns rapid

Cancerul e o boală a genomului



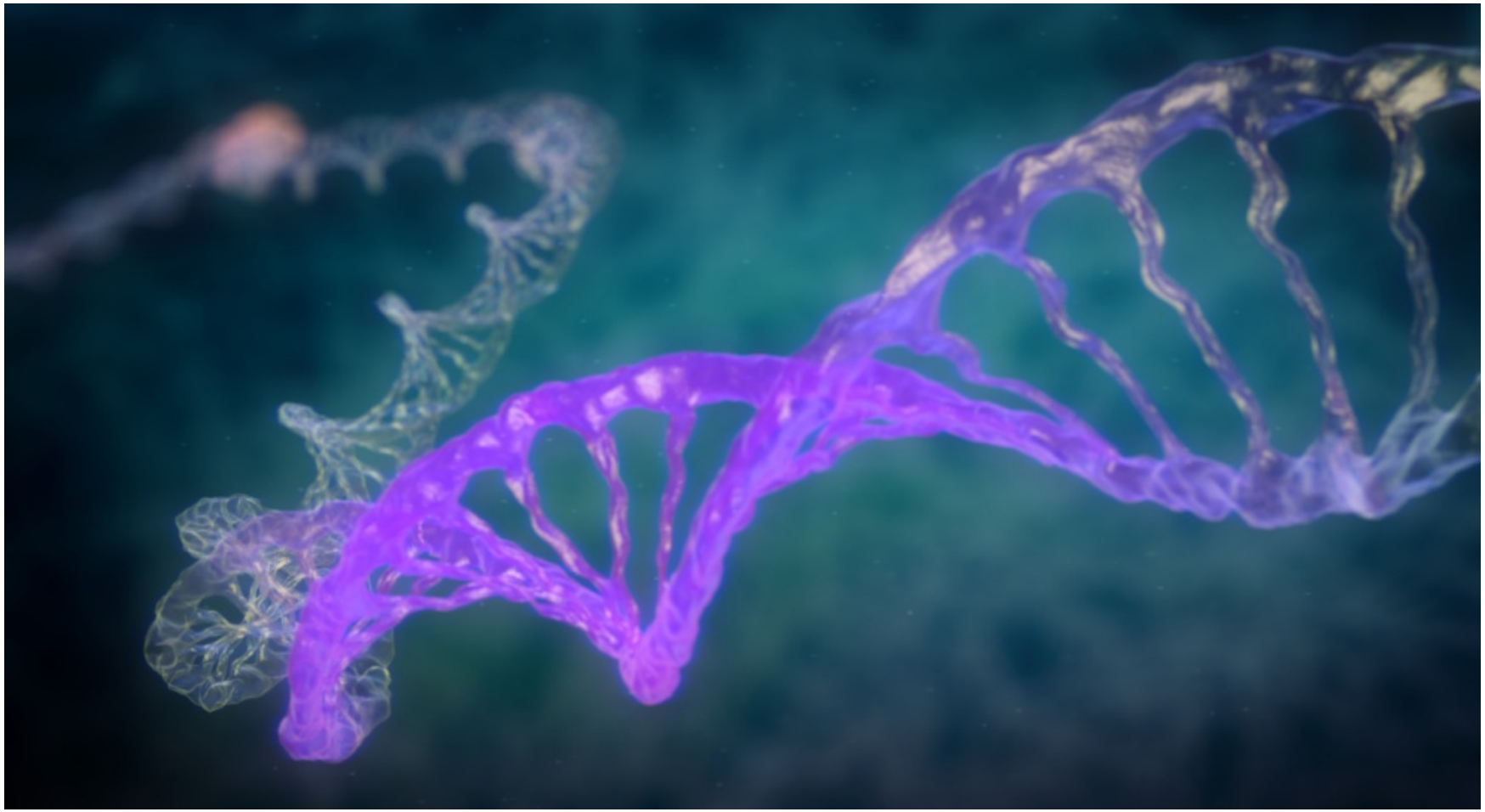
- **ADN-ul e expus în fiecare zi la evenimente și agenți carcinogeni ce pot induce alterări genetice;**
- **Expunerea la factorii de risc carcinogeni crează șansa alterării genetice**

Interrelații între profilul morfologic și cel molecular

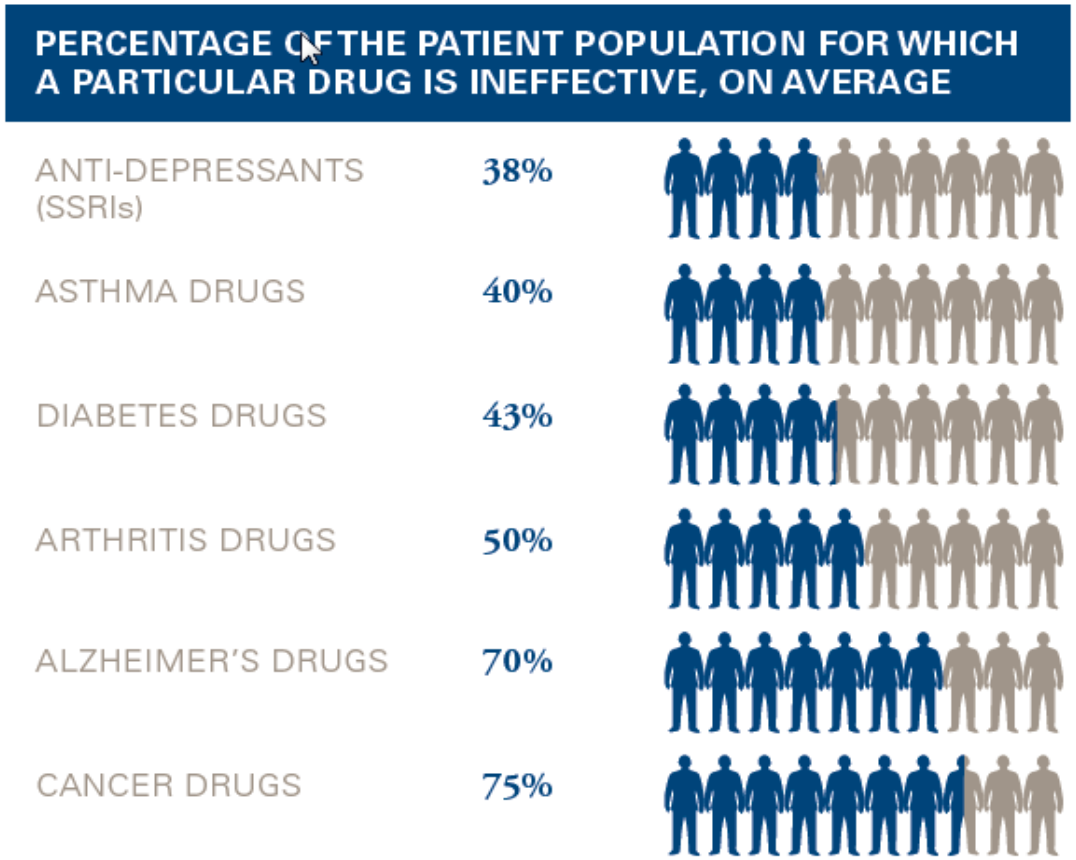


Kashima J., et al., Cancers 2019, 11, 599

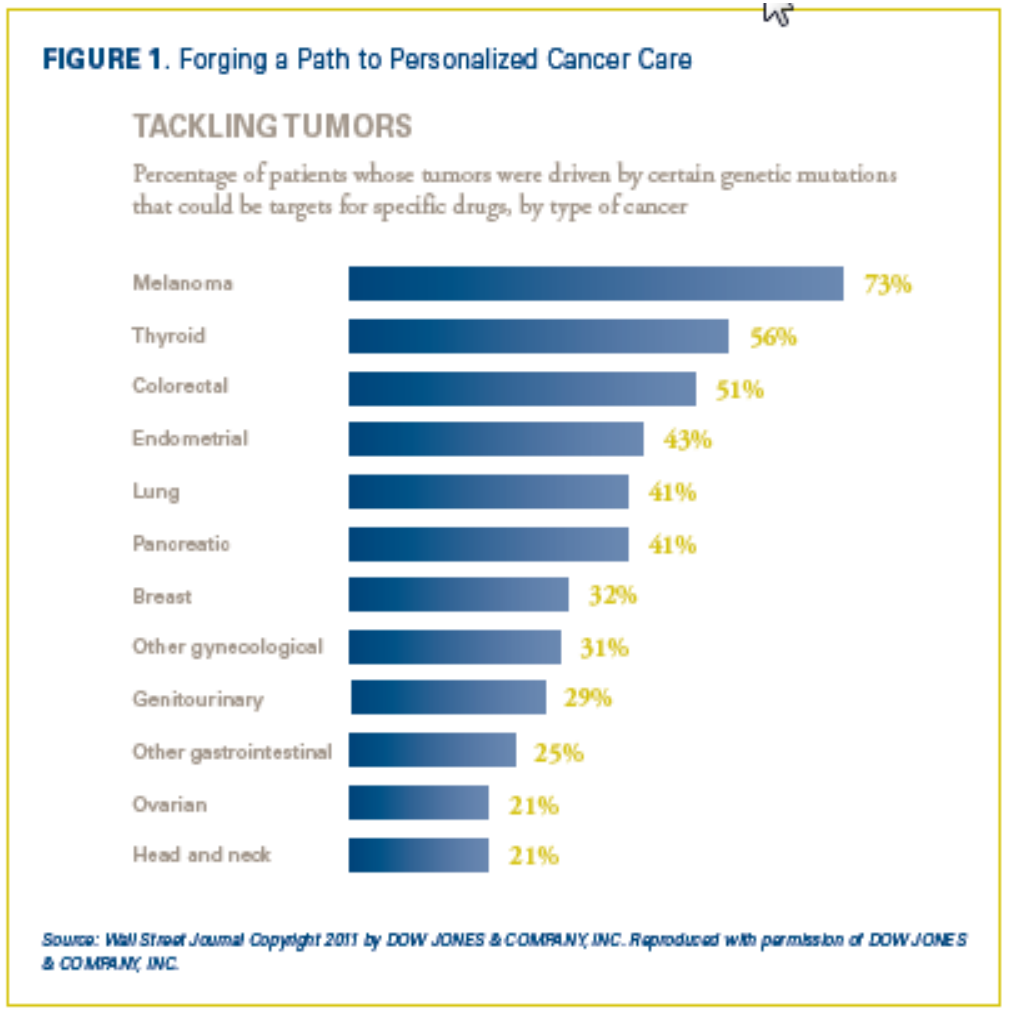
Semnătura genetică și terapia țintită moleculară



Semnătura genetică și terapia țintită moleculară



Source of data: Brian B. Spear, Margo Heath-Chiozzi, Jeffery Huff, "Clinical Trends in Molecular Medicine," Volume 7, Issue 5, 1 May 2001, Pages 201-204.



Imunodiagnosticul și testele moleculare permit personalizarea terapiei

- În era medicinei de precizie, disponibilitatea secvențierii genomului a făcut posibil screening-ul alterărilor genetice oncogene și a anomaliilor epigenetice.

- Inhibitorii EGFR (epidermal growth factor) & ALK (anaplastic lymphoma kinase) sunt agenți disponibili în terapia NSCLC.

- Terapia moleculară țintită ↔ chimioterapia citotoxică convențională

Curs VIII

Imunitatea în transplantul de țesuturi și organe

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Definiții operaționale

- Transplantul = înlocuirea totală sau parțială a unui organ/țesut bolnav cu un alt organ/țesut funcțional (sănătos) provenit de la un donator.

- Organul sau țesutul transplantat poartă numele de grefă, beneficiarul unui transplant este numit primitor (sau recipient).

- Organele sau țesuturile pot proveni de la donator viu sau donator decedat (în moarte cerebrală).

Imunitatea de transplant

- Transplantul este o procedură clinică importantă
- Transplantul a fost utilizat pentru înlocuirea organelor care au pierdut funcția
- Transplantul este singura formă de tratament pentru cele mai multe dintre bolile aflate în fază terminală
- Transplantul s-a dovedit a fi un instrument de studiu/înțelegere a mecanismelor imune – MHC a fost pentru prima dată descris în contextul transplantării

Organul transplantat	Exemple de boală
Corneea	Keratoconus, distrofii, keratite
Rinichi	Insuficiență renală terminală
Inimă	Insuficiență cardiacă
Plămâni/Inimă-plămâni	Hipertensiune pulmonară, fibroză chistică
Ficat	Cancer, ciroză, atrezie biliară
Celule stem (MOH/sânge periferic)	Leucemie, imunodeficiențe
Piele (autograft)	Arsuri
Pancreas	Diabet zaharat
Insule pancreatice	Diabet zaharat
Intestin subțire	Cancer, insuficiență intestinală
Celule neuronale	Boală Parkinson
Celule stem hematopoietice	Multe afecțiuni

În 1905 - primul transplant reușit - transplant de cornee.
În 1954 - primul transplantul de rinichi de succes între doi gemeni.
În 1967 - primul transplant de cord la om.

Imunitatea în transplantul de țesuturi și organe

- reprezintă răspunsul defensiv al organismului primitor, care identifică grefa (non-self) drept corp străin și încearcă să o elimine.

- Principalul mecanism implică limfocitele T și anticorpii preformați, conducând la rejet.

- Terapia imunosupresoare este esențială pentru a preveni acest proces, utilizând combinații de medicamente precum corticosteroizi și agenți care inhibă limfocitele T, menținând funcția grefei pe termen lung

Recunoașterea și respingerea

Sistemul imunitar detectează diferențele genetice dintre donator și primitor, declanșând un răspuns imun, de obicei mediat de limfocitele T, care duce la rejetul alografei.

- transplanturile sunt acceptate între membrii aceleiași specii, înrudiți genetic: cosanguini, identici genetic (gemeni identici);
- transplanturile sunt refuzate între membrii aceleiași specii care nu sunt identici genetic (haplotip diferit);
- transplanturile de la un părinte (cu haplotip A sau B) sunt acceptate pentru descendenții lor cu același haplotip (A sau B).

Imunitatea de transplant

- Cel mai mare obstacol pentru transplant rămâne sistemul imun

- În mod normal sistemul imun va urmări să distrugă orice structură străină (non-*self*)

- Celulele non-*self* vor fi recunoscute imediat, prin recunoașterea antigenelor membranare MHC, codificate de genele complexului major de histocompatibilitate

- Multiple mecanisme și căi de combatere a non-self

- Aceste mecanisme sunt implicate în respingerea/rejetul organelor transplantate, ele fiind recunoscute ca non-self de către sistemul imun al recipientului

- Varietatea de răspunsuri imune in funcție de interacțiunile dintre sistemul imun al recipientului și antigenele donatorului:

Tipul de Grefă	Originea Grefei	Numele Grefei	Tipul de Antigen	Tipul de răspuns imun stimulat
Autologă	Același individ	Autografă	Autoantigen	În mod normal niciunul; stimulat anormal în boli autoimune
Singeneică	Individ identic genetic, de exemplu fratele geamăn	Izografă	Izo-antigen	Izo-imunizare
Alogenică	Individ identic genetic din aceeași specie	Alografă	Alo-antigen	Alo-imunizare
Xenogeneică	Individ identic genetic din specie diferită	Xenografă	Xeno-antigen	Xeno-imunizare

Antigene de transplant

- Antigenele responsabile pentru declanșarea răspunsului imun împotriva unui transplant se numesc *antigene de transplant* (sau *aloantigene*).

Deosebim 3 tipuri de antigene:

- antigene de grup sanguin
- antigene de histocompatibilitate majore
- antigene de histocompatibilitate minore

I. Compatibilitate după grupele de sânge (AB0) (*incompatibilitatea minoră și majoră*)

II. Compatibilitatea HLA (tipizarea HLA-A, HLA-B, HLA-DR) - genotiparea HLA

Condiții pentru compatibilitate

Se testează cel puțin 3 locusuri: HLA-A; HLA-B; HLA-DR, 6 Ag HLA, dintre care cel puțin 4 Ag trebuie să fie similare, condiție obligatorie în transplantologie

III. Absența în serul pacientului a unor Ac anti-donator (testul *cross-match*) (testarea sanguină încrucișată) constă în detectarea Ac preformați în serul recipientului împotriva Ag HLA de pe suprafața limfocitelor. Este o tehnică de citotoxicitate dependentă de complement, care apreciază compatibilitatea sau incompatibilitatea serologică între donator şi recipient

Complexul MHC

În mod normal sistemul imun va urmări să distrugă orice structură străină (non-*self*). Celulele non-*self* vor fi recunoscute imediat, prin recunoașterea antigenelor membranare MHC, codificate de genele complexului major de histocompatibilitate.

Polimorfismul genelor ce codifică complexul MHC este extrem de mare și face practic imposibilă existența a două persoane identice din punct de vedere al antigenelor MHC (excepție gemenii univitelini)

Respingerea

- **Tipuri de rejet:**
  - hiperacut: Apare rapid (minute/ore) din cauza anticorpilor preformați (IgG) prezenți la primitor (în urma transfuziilor, sarcinilor sau transplanturilor anterioare).
  - acut: Declanșat de activarea limfocitelor T în zile sau săptămâni după transplant.
  - cronic: Se poate instala după luni-ani

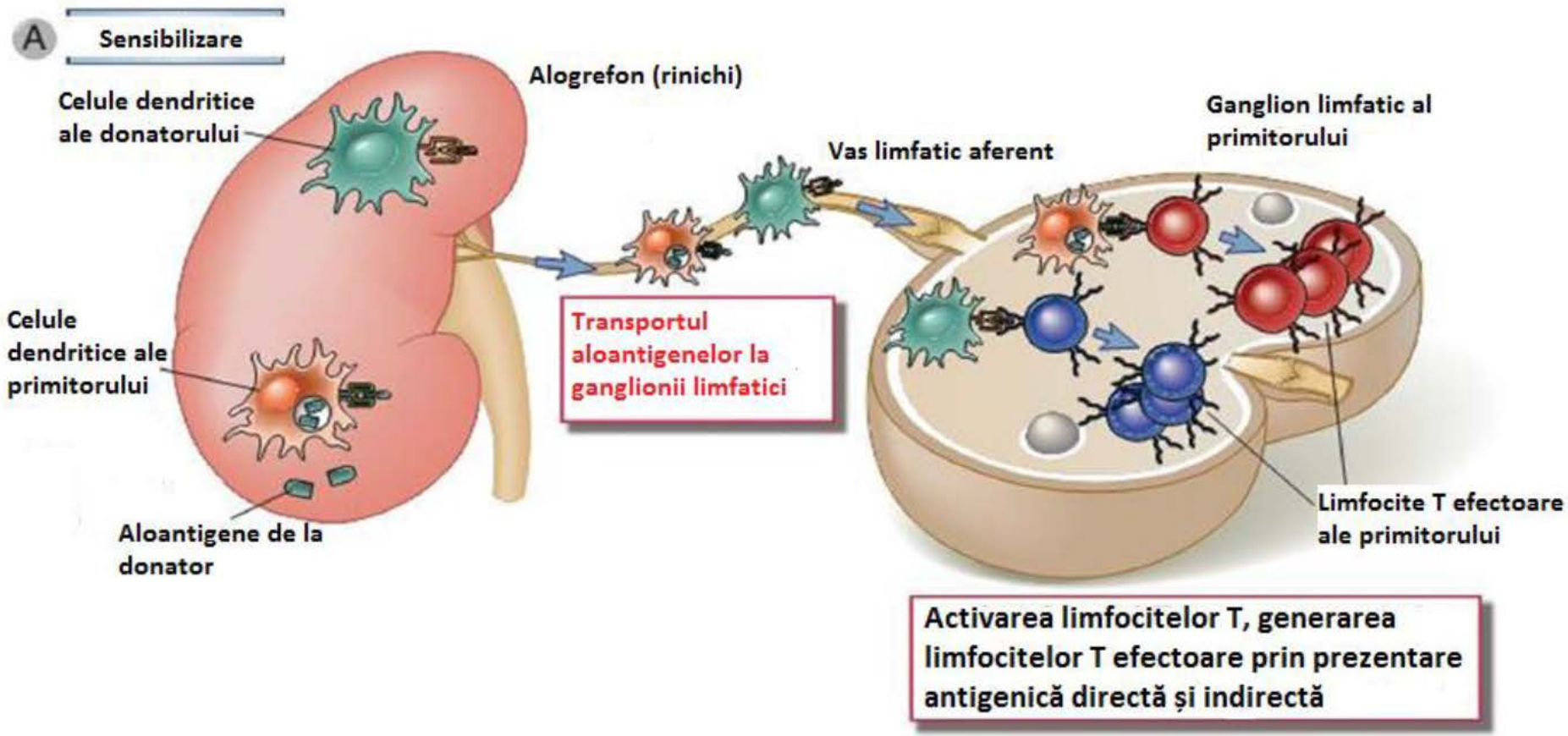
Tipuri de rejet al grefei – Mecanisme efectoare

- O gazdă imunocompetentă recunoaște antigenele străine din țesuturile grefate și generează un răspuns imun, ceea ce va duce cu timpul la respingerea grefei (*reacția gazdei împotriva grefei*).
- Pe de altă parte, dacă gazda este imunocompromisă, atunci LT grefate, imunocompetente, recunosc antigenele străine din țesutul gazdă și provoacă *reacția grefei-contra-gazdei*.

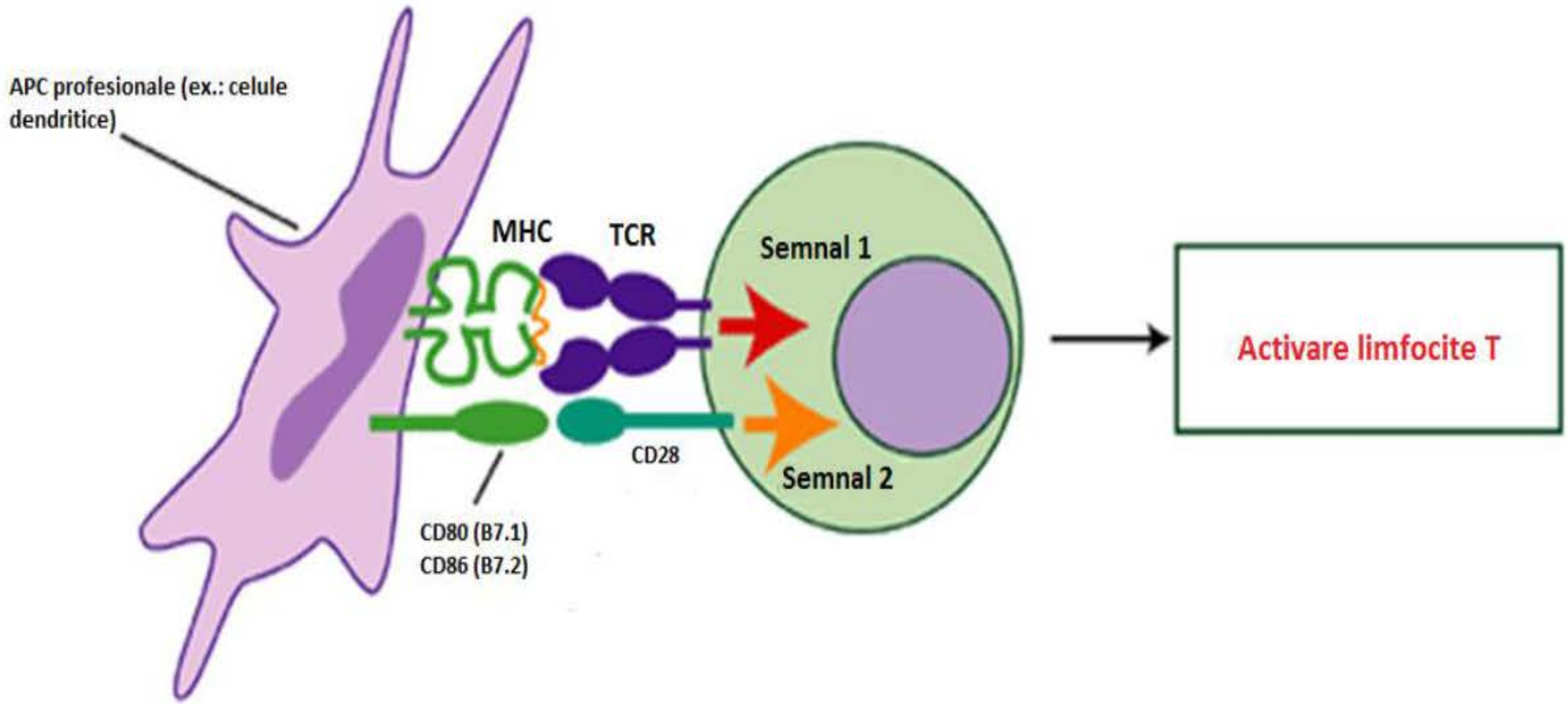
- Durata supraviețuirii grefei descrește în ordinea: autografă - izografă - alografă - xenografă.

- Rejetul grefei este un proces alcătuit din mai multe etape:
  - recunoaşterea aloantigenului,
  - activarea limfocitelor,
  - expansiunea clonală a limfocitelor T
  - inflamaţia cu respingerea grefei.

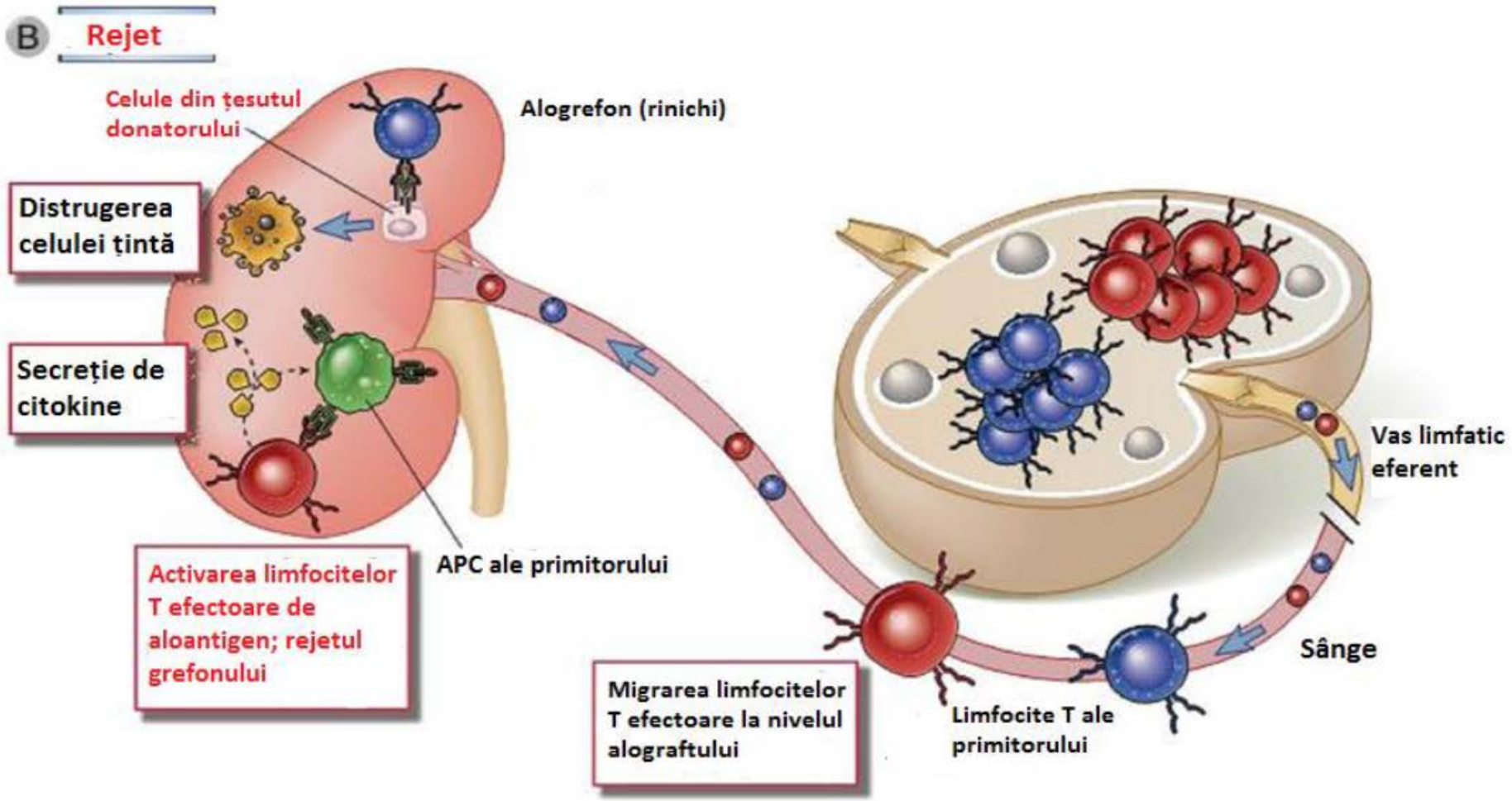
Activarea limfocitelor T aloreactive



Activarea limfocitelor T aloreactive



Distrugerea alograftului (rejetul de grefă)



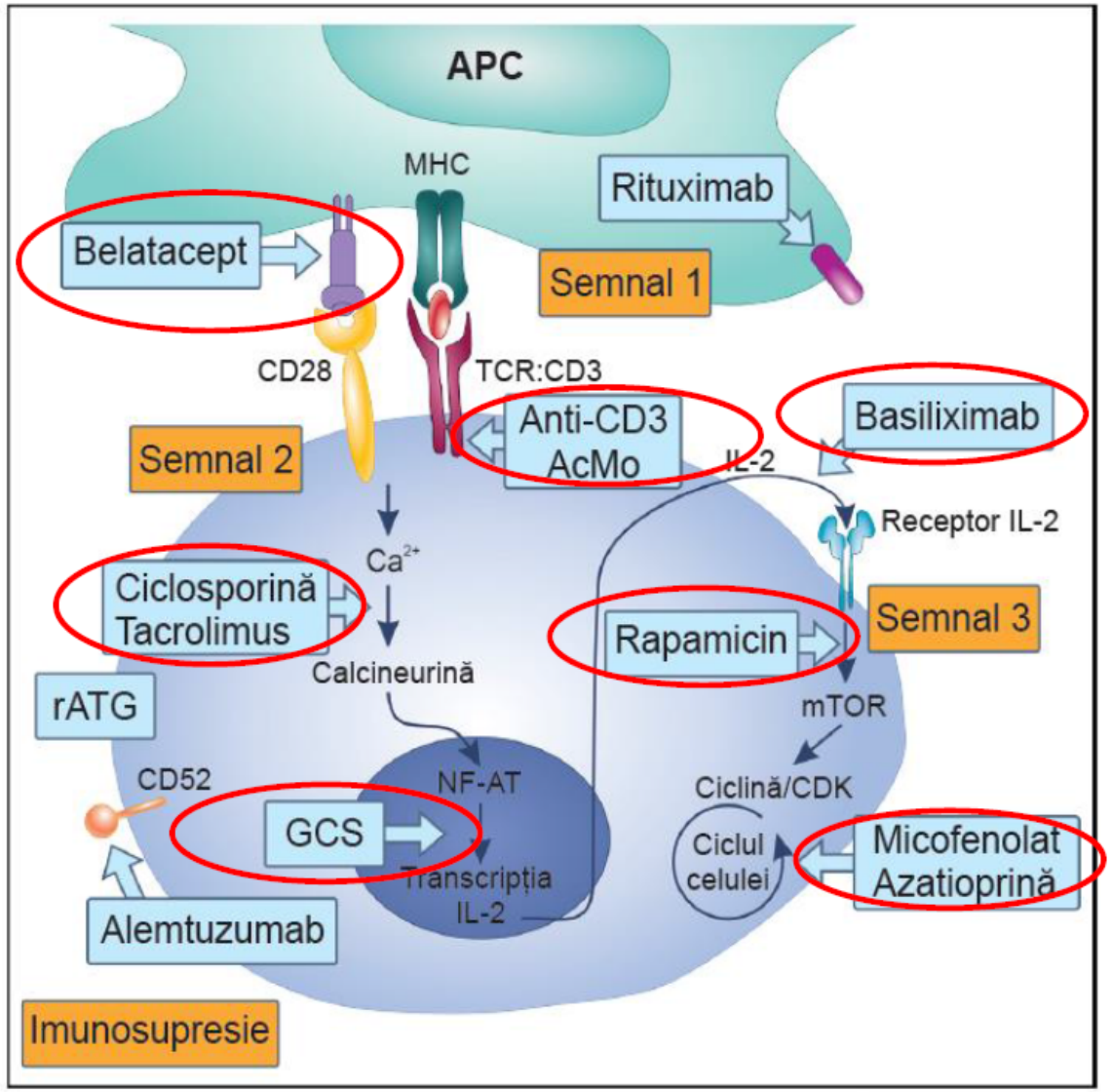
Imunosupresia în transplant

- Scopul principal al imunosupresiei este evitarea declanșării răspunsului aloimun, prin prevenirea activării LT și eliberarea ulterioară de citokine și proliferare celulară
- Imunosupresia este indicată la toți pacienții transplantați

Excepție:

- gemenii monozigoți
- transplantului de cornee (organ imuno-privilegiat)

- În absența supresiei sistemului imun alografele sunt distruse



Botnaru V., Brocovschii V. Elemente de imunologie, 2020

Curs IX

Vaccinuri și imunitatea dobândită postvaccinal

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Imunoprofilaxia

Introducere

Reducerea mortalităţii infantile a devenit o realitate în dezvoltarea omenirii în ultimul secol al mileniului trecut.

Această scădere a mortalităţii reprezintă rezultatul progreselor realizate în domeniul medical ce pot fi sumarizate astfel:

- îmbunătăţirea mijloacelor de asistenţă prenatală;
- descoperirea vaccinării ca mijloc de prevenţie primară;
- descoperirea antibioticelor;
- diversificarea instrumentelor şi tehnicilor de diagnostic şi tratament;
- realizarea unor mijloace eficiente de sănătate publică (filtrarea şi clorinarea apei, igiena manipulării alimentelor – în special a laptelui);
- controlul asupra vectorilor de transmitere ai unor boli;
- izolarea indivizilor cu boli transmisibile.

Valoarea prevenţiei în practica MF

- Activitatea preventivă reprezintă o componentă importantă în

practica MF, aceasta reprezentând o latură de bază a preocupărilor

MF în cadrul asistenţei medicale primare.

Cele 4 componente care definesc asistenţa medicală primară, în care este antrenat în mod specific MF sunt:

- activitatea preventivă
- activitatea curativă
- activitatea de recuperare
- activitatea paliativă

Intervenţiile preventive recomandate în practica clinică sunt:

- imunizarea,
- consilierea,
- testele screening,
- chimioprofilaxia, metode ce pot preveni peste 80 de boli.

Pacienţii care reprezintă obiectul acestei activităţi sunt:

- pacienţi sănătoşi,
- pacienţi aparţinând unor grupe cu risc de a dezvolta o anumită boală,
- pacienţi asimptomatici sau aflaţi într-o anumită perioadă de evoluţie a bolii când nu au apărut complicaţiile acesteia.

Specialităţile mai frecvent antrenate în activitatea de prevenţie sunt reprezentate de:

- medicina de familie
- pediatria
- medicina internă
- obstetrica – ginecologia.

Medicul de familie, prin activitatea medicală continuă pe care o desfăşoară începând din perioada prenatală şi până la perioada de senescenţă, este cel care asigură o asistenţă medicală atât omului bolnav, cât şi celui sănătos. Prin urmare, MF este acela care trebuie să acorde laturei preventive o importanţă cel puţin la fel de mare ca şi laturei curative.

Valoarea imunizării în practica MF

Un număr foarte mare de boli pot fi prevenite prin vaccinarea de rutină a copilului. Introducerea în ultimele decade, pe scară largă a imunizărilor împotriva **tuberculozei, difteriei, tusei convulsive, tetanosului, poliomieritei, rujeolei, rubeolei, oreionului**, ca şi a altor vaccinări, a dus la scăderea dramatică a cazurilor de îmbolnăvire.

Comparând numărul total de cazuri raportate în SUA faţă de perioada anterioară vaccinării se poate remarca o scădere impresionantă a cazurilor de boală:

- difteria a scăzut de la 9493 cazuri (1948) la 2 cazuri;
- tetanosul: de la 601 cazuri (1948) la 51 cazuri;
- paralizia poliomielitică: de la 18308 cazuri în 1954 la 0 cazuri;
- rujeola: de la 152.209 cazuri (1968) la 1537.

Eficacitatea vaccinării

- Eficacitatea diferitelor vaccinuri reprezintă o preocupare foarte

importantă a medicinei actuale, ea reprezentând o adevărată provocare a celor mai performante tehnici de preparare a vaccinurilor care au ca principal scop eficacitate cât mai mare şi efecte secundare minime sau absente.

Eficacitatea vaccinurilor se realizează prin studii clinice în ceea ce

priveşte aprecierea riscului de apariţie a noi cazuri de îmbolnăvire şi

studii serologice ale seroconversiei postvaccinale şi a remanenţei în

timp a unui titru minim de anticorpi protectori postvaccinali.

Vaccinarea anti-TB

Tuberculoza

- cea mai frecventă cauză infecţioasă de deces la nivel mondial, după infecţia HIV

- infecţia este răspândită la 1/3 din populaţia de pe glob

Vaccinarea anti-TB

- Vaccinul BCG are un efect protector documentat faţă de meningita tuberculoasă şi boala diseminată la nou-născuţi şi copiii mici.
- Conferă o protecţie relativă, care nu împiedică infectarea cu M. tuberculosis şi nici nu întrerupe lanţul epidemiologic al bolii.
- NU previne infecţia primară sau reactivarea infecţiei tuberculoase latente.

Vaccinarea anti-TB

Asigura protecţie de

- 64% împotriva meningitei tuberculoase
- 78% împotriva bolii tuberculoase diseminate
- 71% împotriva deceselor prin tuberculoză

Revaccinarea a fost abandonată progresiv în multe ţări, nefiind confirmată utilitatea acesteia.

Vaccinarea anti-TB – indicații

- În România vaccinarea se practică la toţi nou-născuţii, la vârsta de 2-7 zile (în lipsa contraindicaţiilor), fără testare tuberculinică prealabilă.
- În cazul în care vaccinarea nu a putut fi efectuată în maternitate, se admite recuperarea până la vârsta de 3-6 luni, în lipsa testării tuberculinice.
- Revaccinarea nu se mai efectuează din anul 1995.
- Cu toate limitele legate de eficacitate, BCG actual trebuie utilizat, până la producerea unor noi vaccinuri eficiente, pentru profilaxia formelor grave de TB la nou-născuţi.

Vaccinul diftero-tetanos-pertussis

Conține anatoxină difterică, tetanică și vaccin corpusculat pertussis inactivat.

Administrare – intramusculară 0.5 ml

- 2 luni/4 luni/6 luni/12 luni/4 sau 6 ani

Eficacitate:

Vaccinul DTP conţine fracţiuni antigenice ale peretelui bacterian. Eficacitatea lui devine maximă după minim 3 doze vaccinale, iar riscul îmbolnăvirii scade cu 96-97% între 1 şi 4 ani.

Efecte secundare:

- Vaccinul DTP, folosind componente ale peretelui celular,

poate determina reacţii locale (edem, noduli, durere) şi reacţii sistemice (febră, convulsii, agitaţie psihomotorie greu controlabilă).

Vaccinul antipoliomielitic oral (VPO)

Conține toate cele 3 tulpini inactivate (VPI) sau vaccin viu atenuat (VPOT)

Eficacitate

- Trei doze vaccinale cu poliovirusuri vii atenuate pe cale orală

(VPO) oferă o protecţie de 95-100% împotriva celor 3 tipuri de poliovirus.

Efecte secundare

- VPI este unul dintre cele mai sigure vaccinuri utilizate pentru vaccinarea de rutină, singur sau în combinaţii.
- poate fi asociat cu efecte locale minore (durere, roşeaţă, induraţie)

Vaccinul ROR

Eficacitate

- O singură doză de vaccin este foarte eficientă împotriva rujeolei, oreionului şi rubeolei, folosirea sa ducând la scăderea semnificativă a incidenței celor 3 boli.

Efecte secundare

- La indivizii sănătoşi poate avea efecte secundare uşoare. Rareori poate cauza trombocitopenie, urticarie sau anafilaxie (0.1-5 per 100.000 din cazuri).
- La copiii cu sistem imunitar compromis s-au înregistrat decese cauzate de infecţia virală asociată vaccinului.

Vaccinul HIB (anti-Haemophilus Influenzae tip B)

- Vaccinul Hib conţine fracţiuni polizaharidice capsulare (fosfat de poliribosil-ribitol, adică FPR), a căror eficacitate în prevenirea infecţiei a fost demonstrată pentru prima oară în Finlanda, în 1984, la copiii mai mari de 2 ani.

- Indicație: copii cu vârsta > 6 luni

- Eficacitate: 93-100%

- Efecte secundare uşoare (sensibilitate locală, eritem, iritabilitate, febră, stare de disconfort, etc).

Vaccinarea anti-hepatita B

- Vaccinul anti-HVB - dezvoltat pe baza AgHBs purificat, produs prin inginerie genetică
- NU poate determina boala, deoarece nu conţine ADN viral cu potenţial infecţios
- sunt disponibile 2 formulări: pentru copii şi adulţi.
- după trei doze intramusculare de vaccin împotriva HVB, mai mult de 90% dintre adulţii sănătoşi şi mai mult de 95% dintre sugari, copii şi adolescenţi dezvoltă răspunsuri adecvate demonstrabile prin titrurile protectoare de anticorpi
- vaccinul este 80-100% eficace în prevenirea infecţiei şi a hepatitei clinice după o schemă completă de vaccinare

Vaccinarea anti-hepatita B

- După vaccinare memoria imună rămâne intactă pentru mai mult de 20 de ani atât la adulţi, cât şi copii, chiar dacă nivelurile de anticorpi sunt în scădere, protejând persoanele împotriva infecţiei cu VHB
- Schema de vaccinare pentru sugari şi copii sub 15 ani - 3 doze de vaccin pediatric (10 mcg) la vârsta de 0, 2 şi 6 luni.
- Sugarii născuţi din mame AgHBs pozitive vor primi o schemă accelerată la 0,1,2 luni, cu rapel la 6-12 luni

Reacţii secundare:

- Au fost raportate reacţii locale, febră uşoară, iritabilitate la 4-7%

din indivizii vaccinaţi. Au fost raportate şi câteva cazuri de anafilaxie nonfatală de la vaccinul recombinant.

Vaccinarea anti-hepatitică A

Eficacitate

- Un studiu aleatoriu controlat efectuat pe 30 000 de copii thailandezi cu vârstă cuprinsă între 1-16 ani a evidenţiat faptul că vaccinul antihepatită A, administrat în 2 doze la diferenţă de 1 lună, oferă protecţie împotriva bolii cel puţin 1 an.

- Eficacitatea imunizării a fost de 94% la 12 luni şi de 100% la cei care au primit a doua doză la 17.5 luni.

- S-a constatat o scădere a ratei îmbolnăvirii la 6 cazuri la 100 000, comparativ cu 101 cazuri înainte de începerea vaccinării în masă.

- În alte populaţii cu risc ridicat, rata de seroconversie era de 82-95% după prima doză şi de 100% după a 2-3 doze.

- Deşi durata imunităţii clinice nu este cunoscută, estimările spun că nivelurile satisfăcătoare de anticorpi ar persista cel puţin 20 de ani.
- Eficacitatea vaccinării este scăzută în prima săptămână după vaccinare, crescând la 77-90% la 2 săptămâni şi la 90-100% la 3-4 săptămâni. Pentru a oferi imunitate imediată celor cu grad mare de expunere, este necesară administrarea de imunoglobulină (IG) concomitent cu vaccinul. Deşi unele studii au raportat o activitate medie a anticorpilor mai scăzută atunci când este administrat concomitent cu IG, ratele de seroconversie sunt comparabile.

Efecte secundare

- Vaccinul determină reacţii locale uşoare (durere, sensibilitate crescută, tumefacţie şi roşeaţă) şi simptome sistemice minore (febră, migrenă, stare de disconfort – întâlnită la 10-13% din indivizii vaccinaţi).
- Aceste efecte sunt mai frecvente după a doua sau a treia doză.

Vaccinarea împotriva varicelei

Eficacitate

- Folosirea vaccinului varicelo-zosterian cu tulpină vie atenuată are o eficacitate de 98% în prevenirea varicelei. Deşi riscul de

infecţie la cei vaccinaţi este de 1-2% pe an, boala este atenuată, cu mai puţine leziuni şi incidenţa febrei mai redusă.

- Durata protecţiei postvaccinale este de 7-10 ani. Un studiu de

urmărire după 17-20 de ani a arătat că numai 2 din 96 de adulţi vaccinaţi în copilărie au prezentat infecţie clinică – însă cu forme mult atenuate.

- Vaccinarea în copilărie în primii ani (10 luni-13 ani) este mai

eficientă; adolescenţii de peste 13 ani şi adulţii au o reacţie imunitară mai scăzută, de aceea sunt necesare 2 doze pentru a obţine o rată optimă de seroconversie.

Efecte secundare

- Reacţiile postvaccinale, atât reacţii locale, cât şi (mult mai rar) erupţie şi febră asemănătoare varicelei.

- Cazurile de herpes zoster apărute la copiii vaccinaţi anterior sunt mult mai rare decât la cei cu vaccinare naturală.

- Cea mai importantă posibilă consecinţă negativă a vaccinării antivariceloase la vârsta preşcolară este deplasarea îmbolnăvirilor către vârsta adultă, când boala este mai severă.

- Imunizarea de rutină a copiilor preşcolari reduce considerabil numărul cazurilor de varicelă primară şi prin urmare reduce şi morbiditatea, în ciuda deplasării bolii spre vârsta adultă.

Vaccinarea antipneumococica

Grupe de risc la care este indicată vaccinarea:

- Vârstnici peste 65 ani
- Bolnavii cu boli cardiovasculare cronice, boli pulmonare cronice sau diabet zaharat;
- Alcoolism, boli hepatice cronice, pierderi de LCR;
- Persoane care trăiesc în medii sociale defavorizate sau în condiții de mediu speciale;
- Persoane cu asplenie anatomică sau funcțională.
- Persoane imunocompromise – HIV, leucemie, limfoame, insuficiență renală cronică, chimioterapie imunosupresivă, transplant de maduvă sau organe.

- La sugarul sub 6 luni vaccinarea se face în 3 doze de vaccin, la interval de o luna între doze. Se recomandă un rapel în al 2-lea an de viață.
- La sugarii între 6-11 luni se administrează 2 doze de vaccin la interval de o luna, de asemenea se recomanda rapel în al 2-lea an de viață.
- Din anul 2009 s-a aprobat folosirea vaccinului decavalent – Synflorix – oferind protecție pentru înca 3 tulpini și fiind indicat la copii sub 2 ani.

Vaccinarea anti-HPV

- Infecția cu HPV poate fi asimptomatică sau poate determina apariția verucilor veneriene sau neoplaziilor.
- Se cunosc peste 100 de serotipuri de HPV:
  - HPV1 determină veruci plantare
  - HPV6 și 11 – veruci veneriene
  - HPV16 și 18 – displazii cervicale

În Romania vaccinul a fost introdus în anul 2008.

Eficacitate

Studiile clinice au demonstrat că vaccinul previne apariția leziunilor precanceroase cauzate de infecția cu tulpinile HPV 16 și 18, dar nu asigură vindecarea în cazul în care există deja infecția cu aceste tulpuni.

Efecte adverse- durere la locul injecției, febră, cefalee, greață, Șoc anafilactic, bronhospasm

Contraindicaţii şi precauţii în folosirea vaccinurilor

- Necesitatea cunoaşterii excipienţilor fiecărui vaccin pentru evitarea unor reacţii adverse;
- Epinefrina (adrenalina) este necesar a fi disponibilă datorită unor reacţii alergice ce pot merge până la şoc anafilactic;
- Apariţia unor efecte secundare grave la prima administrare (colaps, şoc, encefalită, convulsii, etc.) – contraindică repetarea dozei următoare;
- Dacă apar reacţii adverse la componenta pertusis a DTP, aceasta va fi omisă la vaccinarea următoare folosindu-se DT;
- Evitarea administrării vaccinului în boli acute care ar putea compromite răspunsul imun, cu excepţia unor infecţii minore, fără febră sau alte manifestări sistemice;

- Folosirea alcoolului sau a altor agenţi dezinfectanţi la locul infecţiei poate inactiva un vaccin cu virus viu, dacă nu se aşteaptă evaporarea agentului dezinfectant
- Evitarea administrării intramusculare a vaccinurilor la persoane cu boli hematologice cum ar fi hemofilia sau trombocitopenia
- Vaccinurile ce conţin particule de antibiotic, cum ar fi polimicina B şi neomicina, sunt contraindicate la persoanele ce au sensibilitate la aceste particule
- Vaccinurile preparate pe embrion de găină constituie o contraindicaţie pentru persoanele alergice la ouă
- Dacă este necesară administrarea a două vaccinuri cu virus viu, care nu sunt compatibile în preparare combinată, ele pot fi administrate simultan doar în locuri diferite şi cu seringi diferite (preferabil la un interval de minim 3 săptămâni)

Vaccinurile cu virus viu sunt contraindicate în următoarele situaţii:

- femei însărcinate – malformaţii la făt (numai dacă gradul expunerii este foarte mare)
- persoanele cu malignităţi (leucemie, limfoame, tumori)
- imunodeprimaţi (HIV pozitiv, imunosupresoare, corticosteroizi, radioterapie)
- indivizii cu infecţie HIV simptomatică au contraindicat vaccinul BCG sau febrei galbene
- sugarii pot dezvolta o infecţie rujeolică uşoară sau severă după vaccinarea AR la 9 luni – în acest sens se recomandă o doză minimă la 6 luni sau administrarea după vârsta de 1 an (1 an şi 1 lună)
- copiii şi femeile la vârsta procreerii cu HIV +, simptomatici, ar trebui să primească vaccinul DTP, VHB şi AP
- administrarea de imunoglubuline contraindică folosirea vaccinurilor cu virus viu la interval mai mic de 3 săptămâni înainte sau după administrare

Reacţiile adverse post-vaccinale ce pot apărea în primele 1-2 zile sunt:

- locale – inflamaţie, limfongită, abcese sterile;
- generale – febră, cefalee, convulsii, anafilaxie.

Schema de imunizare în România

În România, **vaccinările obligatorii** includ:

- vaccinul BCG
- vaccinul DTP
- vaccinul DT
- vaccinul polio oral trivalent (VPOT)
- vaccinul antihepatitic B
- vaccinul antirujeolic
- vaccinul antirubeolic

Pe lângă acestea **se recomandă opţional următoarele**:

- vaccin anti-rujeolă, rubeolă, oreion (ROR)
- vaccin anti H. influenzae tip b (Hib)
- vaccin antivaricelos
- vaccin antihepatitic A
- vaccin antigripal
- vaccin antimeningococic
- vaccin anti HPV

Curs X

Imunodeficiențe. Imunosenescența

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

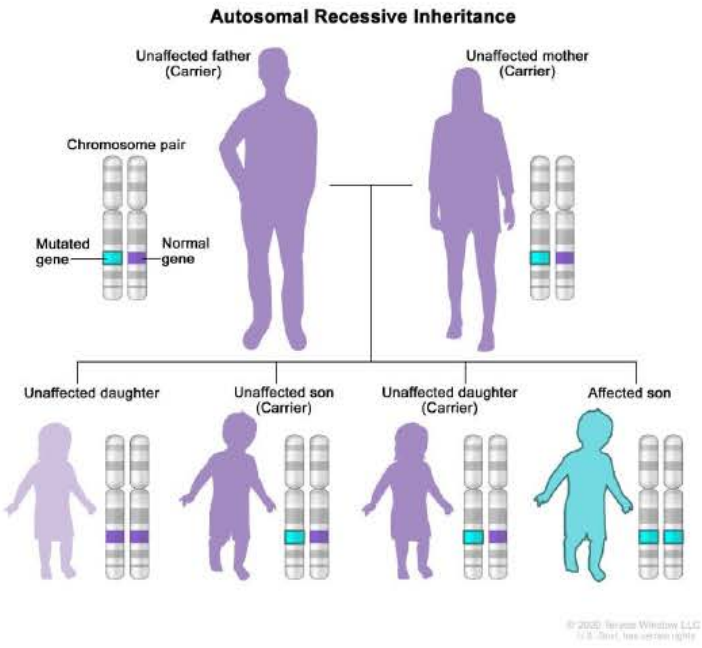
Imunodeficiențe

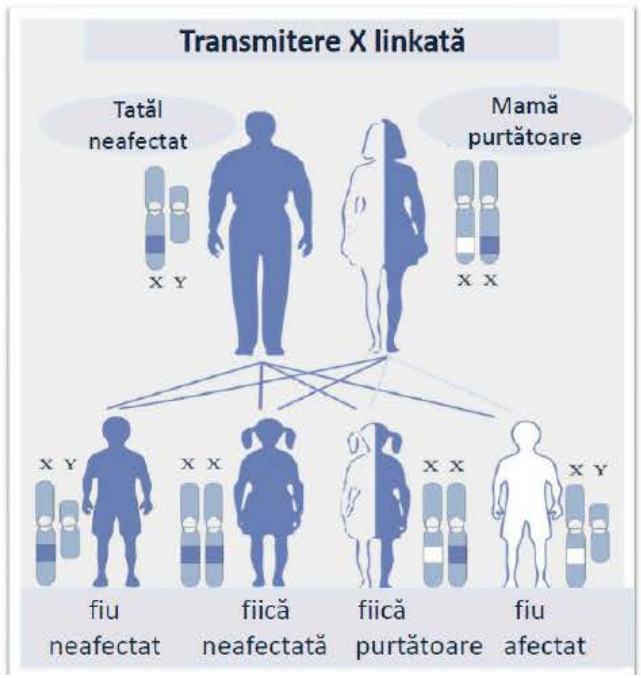
- Dereglare funcțională sau structurală a componentelor sistemului imun
  - Umoral ex hipogamaglobulinemie
  - Celular ex limfopenie

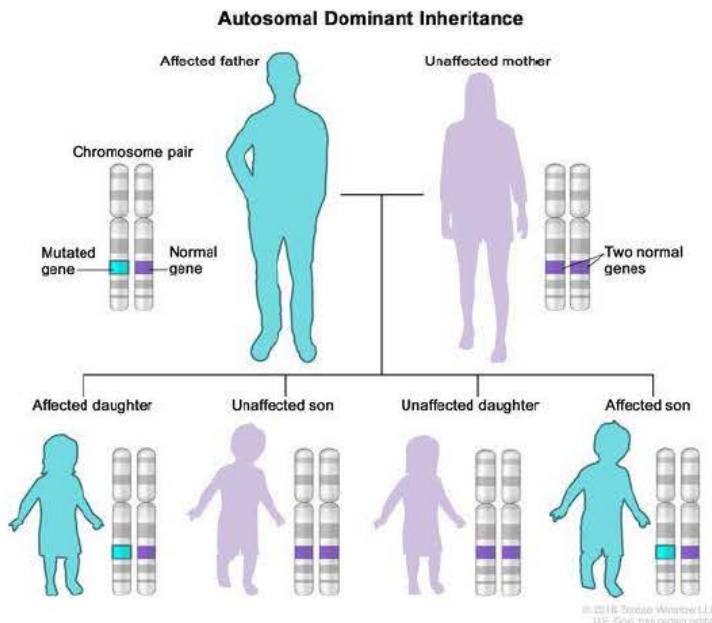
- Clasificare:
  - Primare defecte genetice la naștere
  - Secundare – dobândite în timpul vieții
    - cea mai cunoscută infecția HIV-SIDA

Transmiterea ereditară a IDP

- Autozomal recesiv (AR)
- X-linkat recesiv (XR)
- Autozomal dominant (AD)
- există și mutații spontane (deleții, rearanjări genice)







Imunodeficiențe primare - caracteristici -

– debut manifestari:
  - 0 – 100 ani
  - cele mai grave, mai repede

– vulnerabilitate crescuta fata de infectii
  - severe (otita complicata, pneumonie, meningita, septicemie/sepsis)
  - profunde (abcese, osteomielita, artrita septica)
  - cronice (prelungite)
  - recurente (in locuri diferite dar cu germeni asemanatori)
  - "ciudate" (cu fungi, paraziti, virusuri)

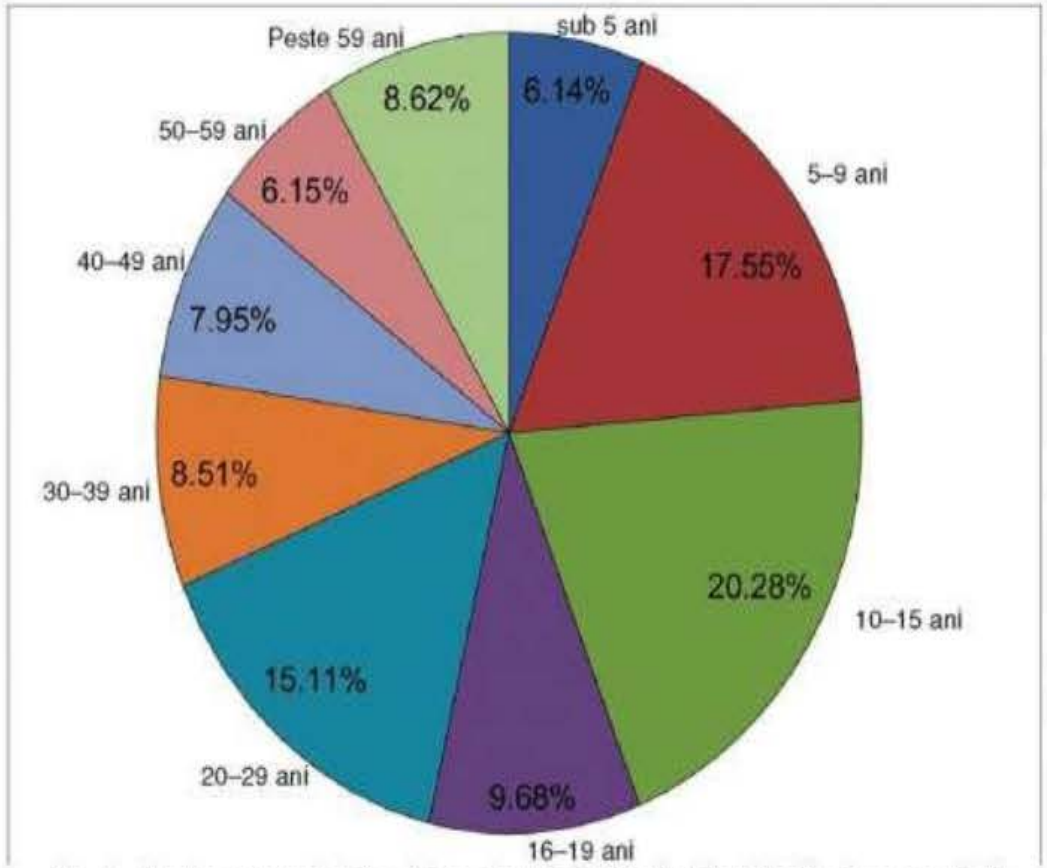
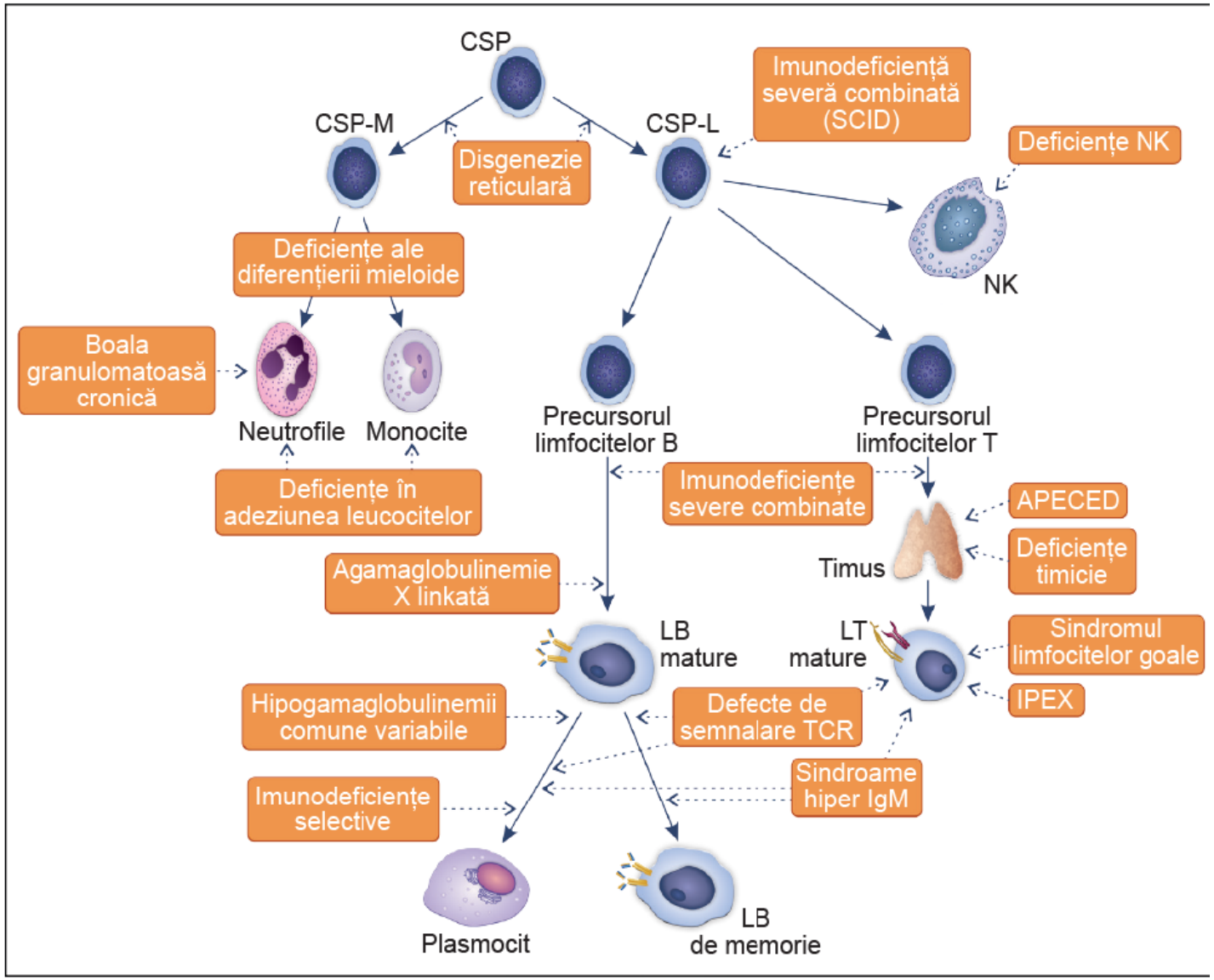


Fig. 1 – Pentru un număr tot mai important de pacienți, debutul bolii este semnalat la vârsta adultă (după ESID)

Confirmarea genetică este esențială pentru un diagnostic de certitudine.
Circa 70-90% dintre pacienții cu IDP rămân nediagnosticați.

Clasificarea imunodeficiențelor primare

- A. Defecte ale celulelor stem
- B. Defectele ale limfocitelor T
- C. Defecte ale limfocitelor B
- D. Defecte ale fagocitelor și celulelor NK
- E. Defecte în sistemul complement



A. Defecte ale celulelor stem

Afecțiune	Genetică	Consecințe
Deficit de adenozin dezaminază (ADA)	Autozomal recesivă; cr. 20; gena ADA	Susceptibilitate ↑ la infecții; metabolism purinic blocat; ↓ funcției și nr. limfocitelor T și B datorită metaboliților toxici; scăderea nivelului de imunoglobuline
Imunodeficiențe cu ataxie-teleangiectazie	Autozomal recesivă; cr. 11; gena ATM	Susceptibilitate ↑ la infecții; infecții sino-pulmonare frecvente; afectarea reparării ADN; ↓ nr. și funcției limfocitelor T; ↓ nivelului de Ig (IgG, IgA și IgE); nr. normal de limfocite B; prezența autoanticorpilor și anomalii cromozomiale frecvente
Deficit de fosforilază a nucleozidelor purinice	Autozomal recesivă; cr. 14; gena NP	Susceptibilitate ↑ la infecții; metabolism purinic blocat; ↓ nr. de limfocite T; ↓ nivelului de Ig datorită ↓ Th
Imunodeficiență severă combinată (SCID)	Autozomal recesivă, X-lincată; cr. 11, X, 14; gene: RAG, IL2RG, JAK3	În funcție de gena implicată
Sindrom Wiskott-Aldrich	Recesiv X-lincată; cr. X; gena WAS	Susceptibilitate ↑ la infecții, mai ales la S. aureus în copilărie; ↓ funcției și nr. limfocitelor T și B; ↓ nivelului de Ig; PLT anormale și nr. ↓

B. Defecte ale limfocitelor T

- Imunodeficiențele primare ale LT →

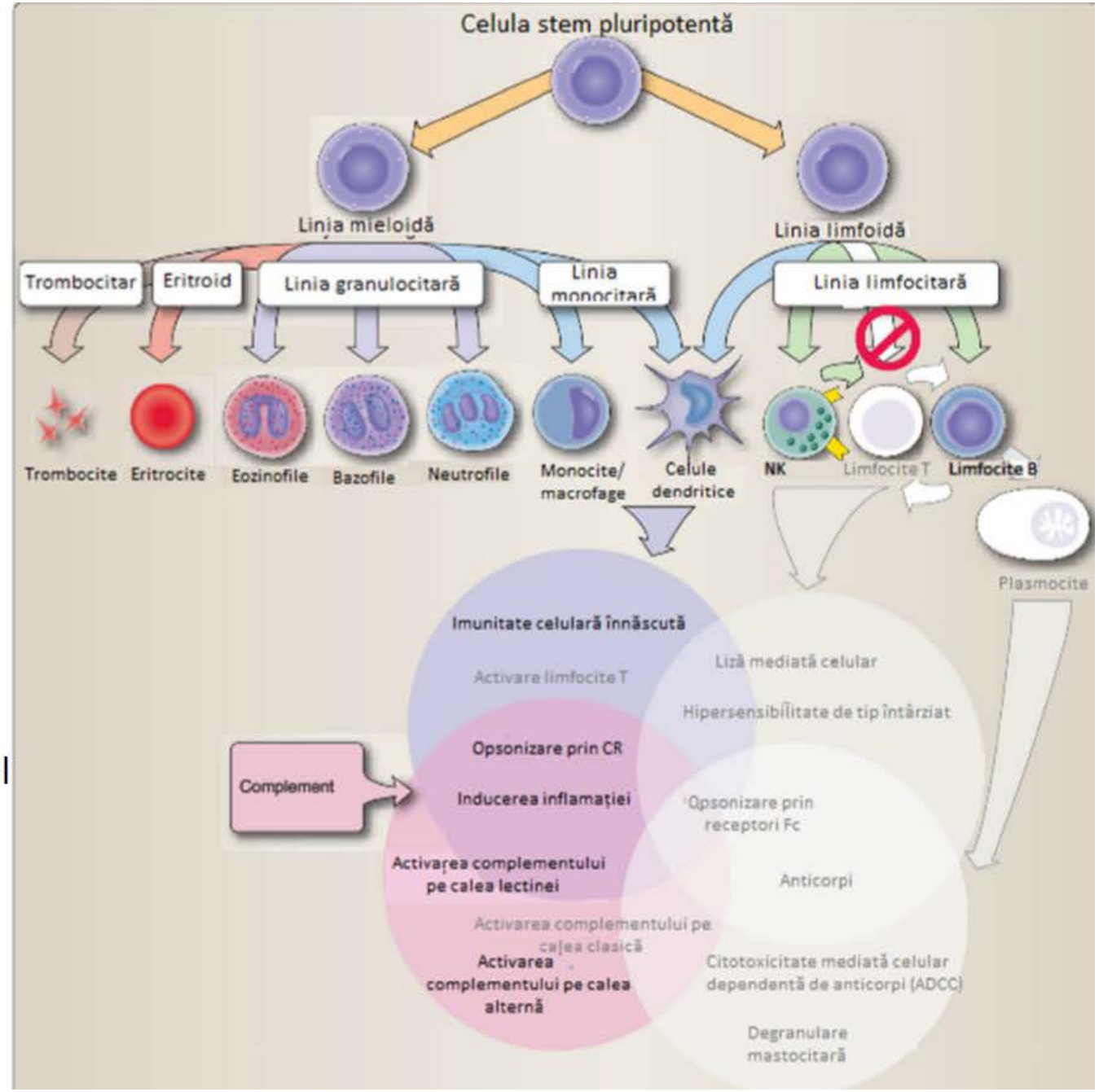
↓ nr. LT și ↓funcției

- LT sunt esențiale pentru activarea LB → →

anomalii ale nr. de LB și ale producției de Ig

- Răspunsul DTH este responsabil de eliminarea fungilor → infecții fungice recurente

- Alte tipuri de imunodeficiențe care afectează limfocitele T sunt cele induse de mutații la nivelul celulelor care sunt implicate în dezvoltarea / activarea LT



B. Defecte ale limfocitelor T

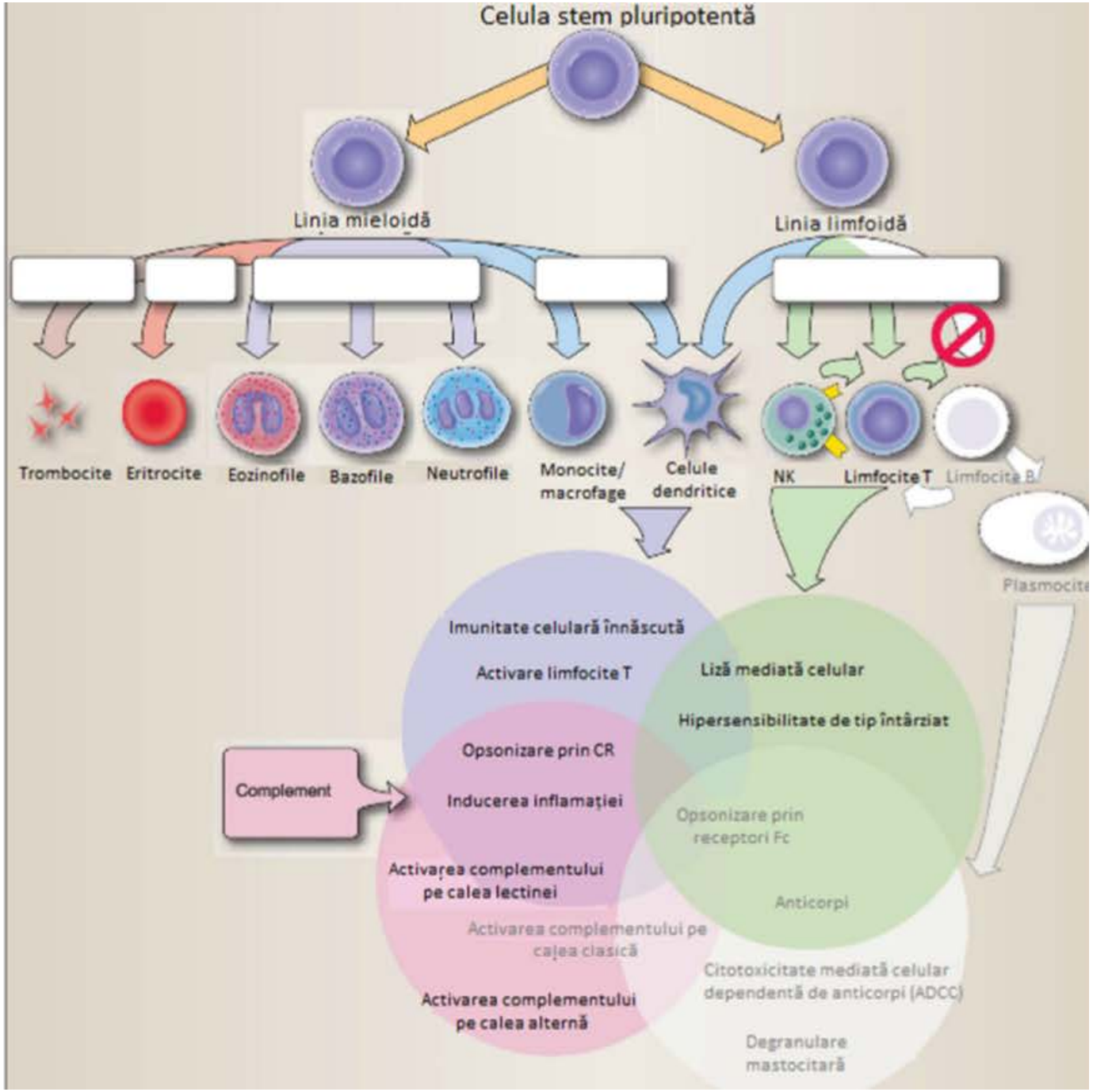
Afecțiune	Genetică	Consecințe
Deficit de CD3	Autozomal recesivă; cr. 11; gene: CD3G sau CD3E	Susceptibilitate ↑ la infecții; defecte ale proteinelor CD3γ sau CD3ε; efecte variabile asupra funcției limfocitelor T
Sindromul DiGeorge	Autozomal dominant sau spontan; cr. 22; gena ATM	Susceptibilitate ↑ la infecții; infecții sino-pulmonare frecvente; afectarea reparării ADN; ↓ nr. și funcției limfocitelor T; ↓ nivelului de Ig (IgG, IgA și IgE); nr. normal de limfocite B; prezența autoanticorpilor și anomalii cromozomiale frecvente
Deficit de fosforilază a nucleozidelor purinice	Autozomal recesivă; cr. 14; gena NP	Susceptibilitate ↑ la infecții; metabolism purinic blocat; ↓ nr. de limfocite T; ↓ nivelului de Ig datorită ↓ Th
Deficit de MHC clasa II	Autozomal recesivă; cr. 16 sau 1; gene: CIITA, RFX5	↑ susceptibilității la infecții; semnalizarea intracelulară ↓; nr. ↓ de LTh; nivel de Ig ↓
Deficit de TAP1 sau TAP2	Autozomal recesivă; cr. 6; gene: TAP1 sau TAP2	Susceptibilitate ↑ la infecții virale și la unele bacterii intracelulare; prezentare antigenică și expresie MHC clasa I ↓; ↓ nr. și funcției CTL

C. Defecte ale limfocitelor B

Imunodeficiențele primare ale LB datorate defectelor genetice → → responsabile de 80% dintre imunodeficiențele primare

Este afectat nr. de Imunoglobuline, dar nu întotdeauna și nr. de LB

LT sunt normale ca nr. și funcție



C. Defecte ale limfocitelor B

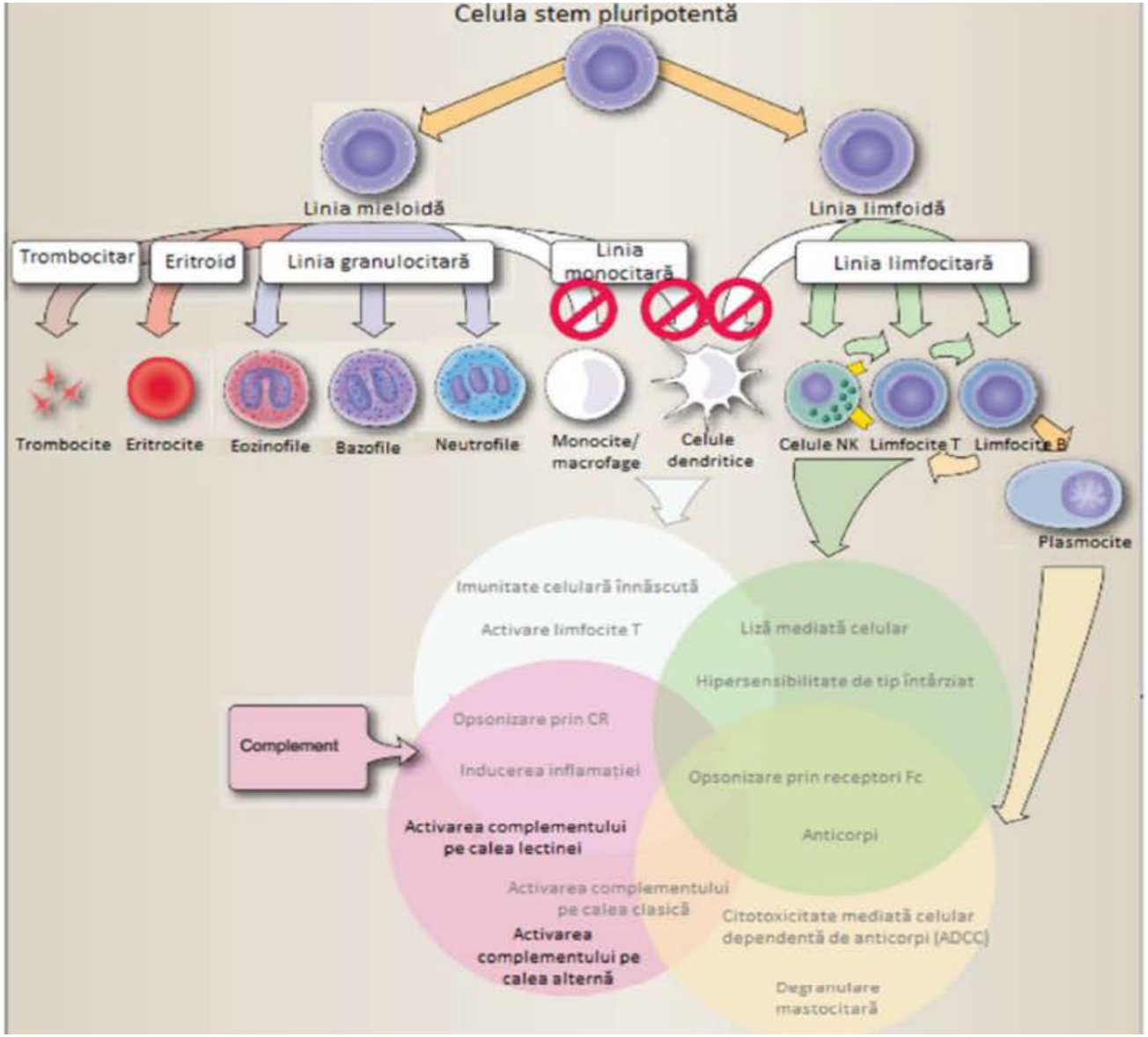
Afecțiune	Genetică	Consecințe
Agamaglobulinemia autozomal recesivă	Autozomal recesivă; diferiți cr.; diferite gene	Susceptibilitate ↑ la infecții; incapacitate de diferențiere a LB
Agamaglobulinemia X-linkată (Bruton)	Recesiv X-linkată; cr. X; gena: BTX	Susceptibilitate ↑ la infecții; susceptibilitate ↑ la bacterii încapsulate (H. influenzae, stafilococi și streptococi); ↓ severă a nr. de LB și a concentrație de Ig
Imunodeficiența comună variabilă (CVI/CVID)	Forme multiple, cauză necunoscută	Susceptibilitate ↑ la infecții piogenice; simptome variabile; diferite izotipuri de Ig reduse/absente
Imunodeficiența cu hiper-IgM	Recesiv X-linkată; Autozomal recesivă; cr. X; gene: CD40 ligand/CD154	↑ susceptibilității la infecții piogenice; incapacitatea LB de a face schimbarea de clasă sau hipermutații somatice; IgM ↑; IgG, IgA și IgE ↓/absente
Deficit selectiv de IgA	Forme multiple; cr. variabili; gene multiple	Susceptibilitate ↑ la infecții cu bacterii piogenice la pacienții cu deficit suplimentar al IgG2; LB care exprimă IgA ↓/absente; afecțiuni alergice sau autoimune frecvente

D. Defecte ale fagocitelor și celulelor NK

Fagocitele și celulele NK au rol cheie în sistemul imun înnăscut și dobândit

Defectele lor afectează 2 dintre funcțiile majore ale acestor celule:

- ↓capacitatea de a omorî microbii
- ↓ interacțiunea cu alte tipuri celulare



D. Defecte ale fagocitelor și celulelor NK

Afecțiune	Genetică	Consecințe
Sindrom Chediak-Higashi	Autozomal recesivă; cr. 1; gena LYST	Susceptibilitate ↑ la infecții datorate bacteriilor piogenice; incapacitate de fuzionare a lizozomilor și fagolizozomilor datorită defectelor organitelor membranare; capacitate ↓ de a ucide microbii internalizați; funcți↓ celulelor NK și LT; albinism ocular și tegumentar și alte defecte ale organitelor membranare; granule gigantice la nivelul neutrofilelor și altor celule
Boala cronică granulomatoasă (CGD)	Recesiv X-linkată; cr. X; gena: CYBB-gp91phox Autozomal recesivă; cr. 7,1,16; gene: NCF1, NCF2, CYBA	Susceptibilitate ↑ la infecții, în special la S. aureus, Salmonella enteric, S. typhimurium, Serratia marcescens; sunt afectate macrofagele și neutrofilele; incapacitatea de a produce metaboliți de superoxid
Deficit de IFN-γ receptor	Autozomal recesivă; cr. 6; gena: IFNGR1	Susceptibilitate ↑ la infecții cu micobacterii; sunt afectate macrofagele, neutrofilele, celulele NK și LTh1
Defect de adeziune leucocitară 1și 2 (LAD-1 și LAD-2	Autozomal recesive; cr. 21 și 11; gene: ITGB2 = CD18 și Transporterul de fucoză GDP	↑ susceptibilității la infecții bacteriene recurente; abcese nevindecabile; defecte ale capacității de aderare la endoteliu și ale chemotaxiei pentru macrofage, neutrofile și NK; induce apariția grupului sanguin Bombay. ↓/absente

E. Defecte în sistemul complement

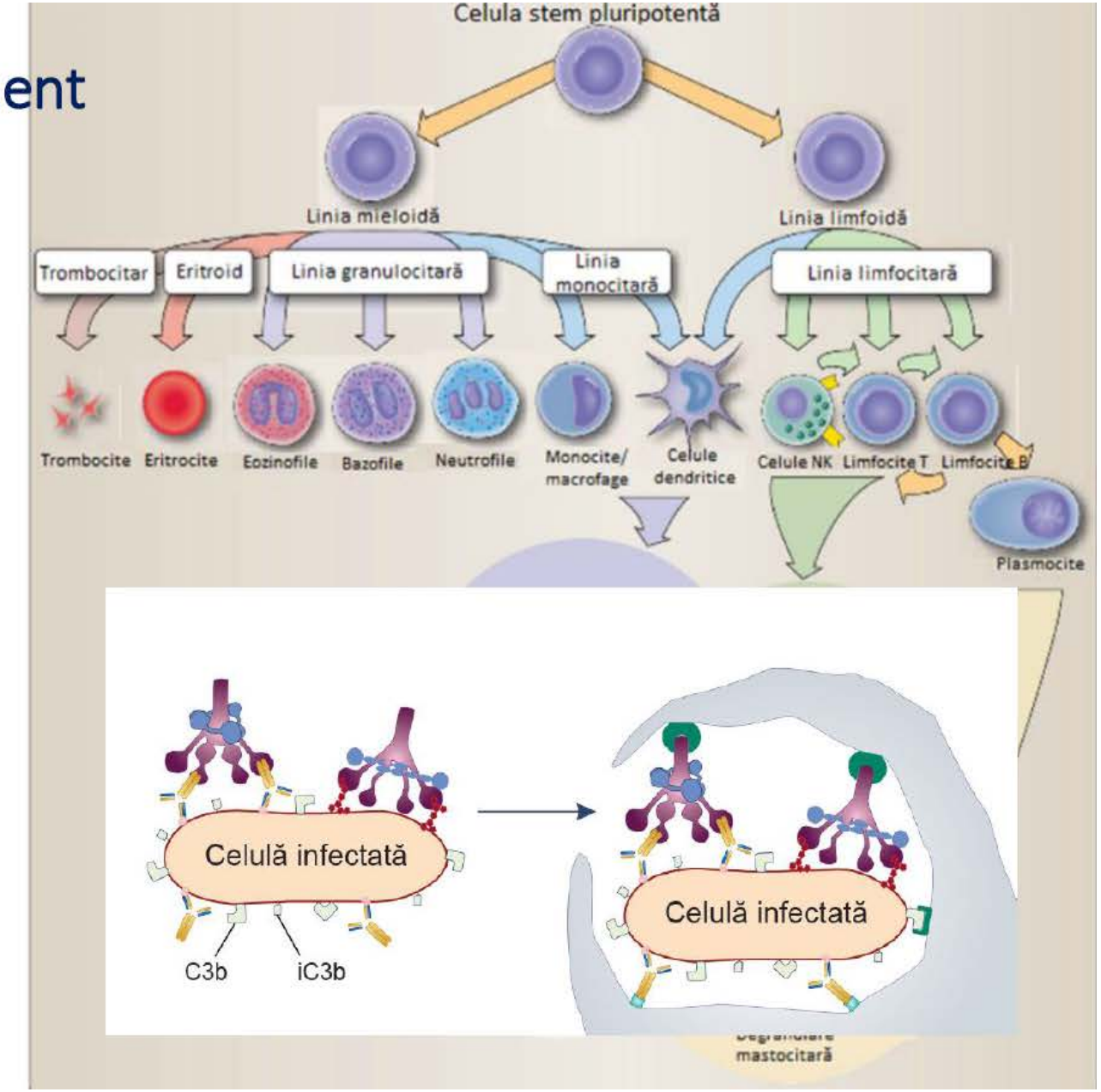
Defectele în sistemul complement pot afecta atât răspunsul imun înnăscut, cât și cel dobândit

Creșterea susceptibilității la infecții

Risc de boli autoimune

Defectele căii clasice (cu excepția C3) nu sunt asociate cu susceptibilitate crescută a infecții (cu excepția bacteriilor încapsulate)

Defectele de C3 → infecții recurente și boli imune mediate de complexe imune



E. Defecte în sistemul complement

Afecțiune	Genetică	Consecințe
Deficit de C1	Autozomal recesivă; cr. 1; gena LYST	Incidență ↑ a infecțiilor; sindroame lupus-like (hipersensibilitate tip III); capacitate ↓ de îndepărtare a complexelor imune
Deficit de C3	Autozomal recesivă; cr. 19; gena: C3	Infecții piogenice recurente; opsonizare redusă
Deficit de C5-C9	Autozomal recesivă; cr. 9, 5,2	Susceptibilitate ↑ la infecții cu Neisseria; incapacitatea de a forma MAC; sindroame SLE-like
Angioedemul ereditar	Autozomal dominantă; cr. 11; gena: SERPING1 (inhibitor C1)	Activare spontană excesivă a căii clasice de activare a complementului, care induce inflamație locală; edem traheal și bronșic care poate fi fatal
Hemoglobinuria paroxistică nocturnă	Recesiv X-lincată; cr. X; gena: PIGA	Deficit de sinteză a fosfatidilinozitolglican (PIG); absența PIG împiedică fixarea DAF și CD59 pe membrana celulelor țintă; incapacitatea de a distruge complexele complementului; liză excesivă a hematiilor
Deficit de properdină (factor P)	Recesiv X-lincată; cr. X; gena: PFC	Susceptibilitate ↑ la infecții cu Neisseria; afectarea căii alterne; stabilitate ↓ a convertazei C3bBb pe suprafața microbilor

Imunodeficiențe secundare

- viroze
  - gripa
  - rujeola
  - varicela

  } vaccinuri disponibile
  - HIV/SIDA
- malnutritie
- leucemii, limfoame
- cancere

- corticosteroizi
  - prednison
  - perdnisolon
  - dexametazona
  - hidrocortizon (HHC)
  - metil prednisolon

- imunosupresoare
  - azatioprina
  - metotrexat
  - ciclosporina
  - micofenolat mofetil
- citostatice

IDS Infecții

Mecanisme de evaziune ale agenților patogeni

→ Secreția de enzime care distrug imunoglobulinele locale și componentele complementului

→ Protecție împotriva fagocitozei prin inhibarea unor activități fagocitare importante: fuzionarea fagozomului cu lizozomul; sinteza si eliberarea de molecule microbicide; prezentarea peptidelor de către moleculele MHC

→ Infectarea unor celule self nedetectabile de către sistemul imun (nu exprima MHC - eritrocite)

→ Inhibarea limfocitelor T naive de a se transforma spre Th1 sau Th2

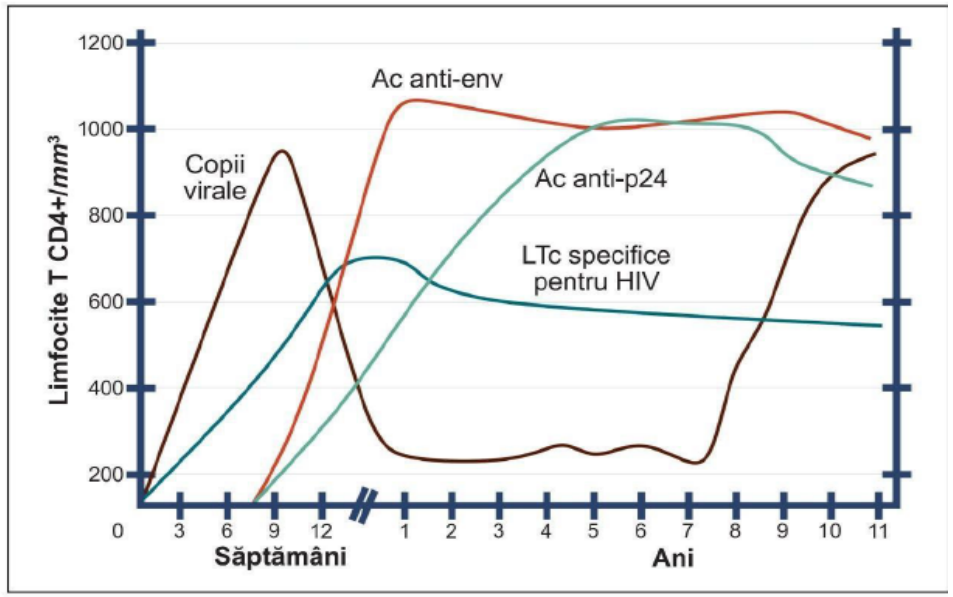
HIV

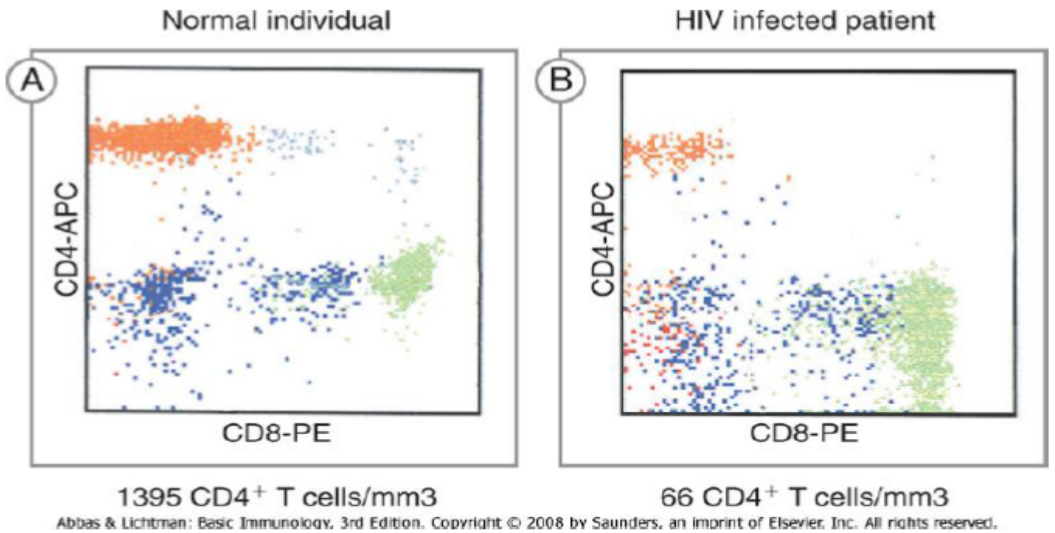
- Distruge limfocitele T CD4+, ducând la apariția SIDA (sindromul de imunodeficiență dobândită)
- Poate infecta și distruge monocitele și limfocitele T CD8+ pe măsură ce boala progresează
- Duce la scăderea răspunsului imun celular și umoral și creșterea susceptibilității la infecții oportuniste

Răspunsul imun anti-HIV

Diagnosticul infecției cu HIV

- ELISA pentru gp41 (suprafață) și p24 (proteina core),
- Westernblot (confirmare) - detectarea anticorpilor anti-HIV (la 2-3 luni de la infecția inițială);
- CDC recomandă ca testele să fie + pentru cel puțin 2 dintre proteine, pentru a ↓ rezultatele fals pozitive – p24 și gp41 sau gp120 / gp160 (precursor al gp41 și gp120)
- Flowcitometrie – nr. ↓ limfocite T CD4+





Abbas & Lichtman: Basic Immunology, 3rd Edition. Copyright © 2008 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

Imunosenescența

- Proces inevitabil important care stă la baza înrăutățirii sănătății când îmbătrânim.
- Crește nivelul circulator al citochinelor proinflamatoare, molecule care răspândesc inflamația în organism ca un incendiu stimulat de rafalele de vânt.
- Accelerează îmbătrânirea celulelor T, astfel încât acestea nu mai sunt în stare să contracareze bolile.
- Aceste celule imunitare îmbătrânite pot lăsă organismul și mai vulnerabil la genul de patogeni care te pot trimite direct pe patul de spital.
- Un număr mare de celule imunosenescente mărește probabilitatea ca vaccinul antigripal să nu-și facă efectul.
- Din cauza celulelor îmbătrânite, beneficiile medicinei preventive sunt drastic scăzute.

Imunosenescența

- Scaderea capacitatii de aparare a organismului se manifesta in majoritatea situatiilor prin susceptibilitate crescuta la infectii cu diversi agenti patogeni, mai ales de tip viral, si aparitia dezechilibrelor florei saprofite care este inlocuita cu bacterii potential patogene.

- Persoanele cu deficit imun se îmbolnăvesc mai frecvent fata de cele imunocompetente si necesita perioade mai lungi de recuperare dupa remiterea episodului acut de boala.

Curs XI

Bolile autoimune și imunodiagnosticul

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Bolile autoimune

- Afecțiuni în care componentele sistemului imun devin hiperactive și atacă, în mod greșit, propriul organism.

- În mod normal, sistemul imunitar (SI) protejează organismul împotriva germenilor, cum sunt bacteriile şi virusurile.

- Când recunoaște nonself, SI trimite împotriva lor celule specializate în apărare, cu scopul de a-i elimina.

- De obicei, SI poate face diferența dintre celulele străine și celulele proprii.

Între toleranță și agresiune imună

- În bolile autoimune, SI percepe în mod eronat anumite structuri ale organismului, cum ar fi articulațiile sau pielea, ca fiind străine.
- În consecință, eliberează proteine numite autoanticorpi care atacă propriile celule sănătoase.
- În anumite boli autoimune este afectat un singur organ, cum este cazul pancreasului în diabetul zaharat de tip I.
- Există și boli autoimune în care este afectat întregul organism, cum se întâmplă în lupusul eritematos sistemic (LES).

Toleranța imunologică

- **Toleranța imunologică** - o reacție imunologică specifică, fiziologică

= lipsa răspunsului imun față de antigene și molecule proprii (toleranță față de self)

= lipsa răspunsului la contact repetat cu același antigen (ex.toleranța la alergene alimentare)

- Toleranța la auto-antigene (antigene *self*) = *auto-toleranță*
- Ag care induc toleranța sunt numite *antigene tolerogene*
- Ag care generează imunitate sunt numite *imunogen*

- Același Ag poate induce un răspuns imun sau toleranță (în funcție de numeroși factori: susceptibilitatea genetică, timpul și calea de expunere, caracteristicile structurale și cantitatea de Ag/alergen, expunere simultană și la alți stimulanți ai răspunsului imun înnăscut, precum agenți infecțioși sau bacterii comensale)

Eșecul toleranței față de *self* = reacții imune împotriva Ag proprii

=

AUTOIMUNITATE (BOLI AUTOIMUNE)

Autoimunitatea

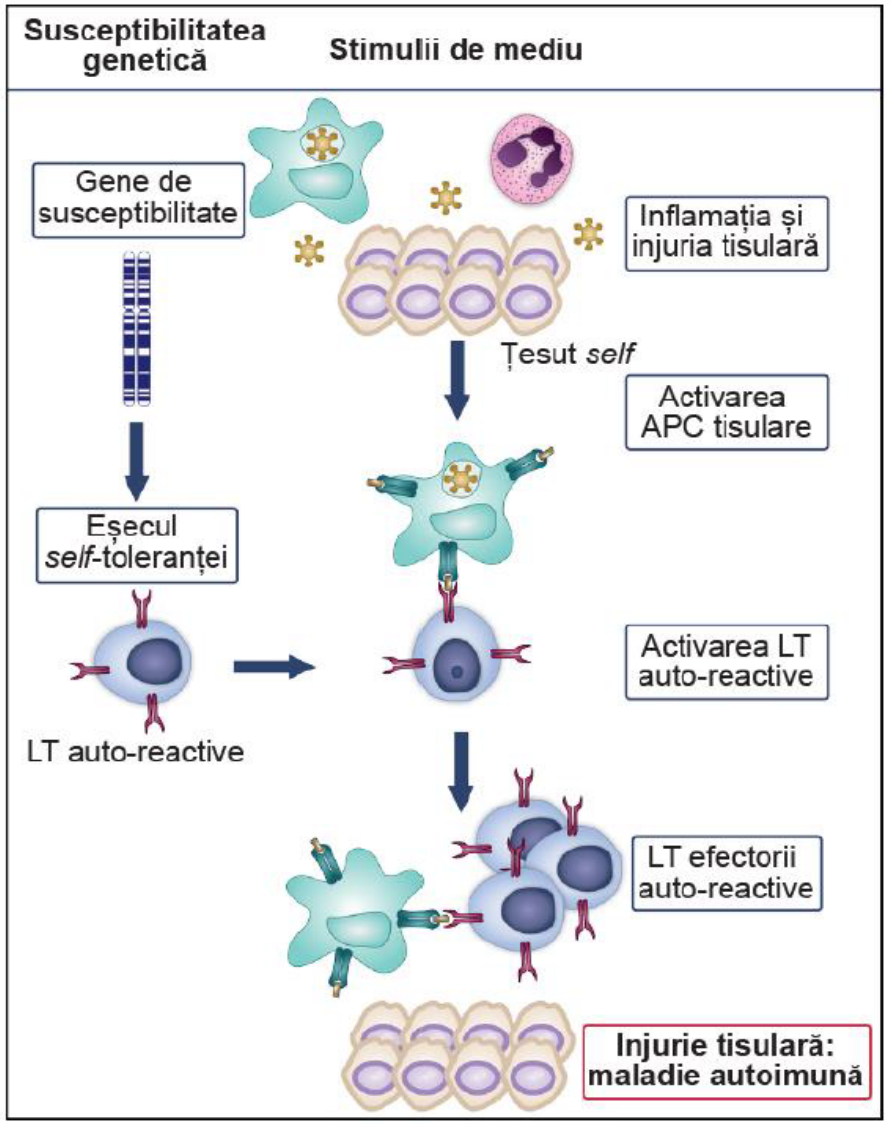
Autoimunitatea = reacție imună dobândită îndreptată împotriva propriilor antigene

Boală autoimună = leziunile tisulare induse de reacția autoimună

Auto-anticorpii (Auto-Ac) = anticorpi directionați împotriva propriilor antigene (IgG și IgM)

Reacția autoimună este considerată normală până la un anumit punct, este necesară pentru:

- eliminarea auto-antigenelor nedorite (bătrâne, alterate);
- reducerea răspunsului imun activat în exces



Botnaru V., Brocovschii V. Elemente de imunologie, 2020

Boli autoimune - factorii etiologici

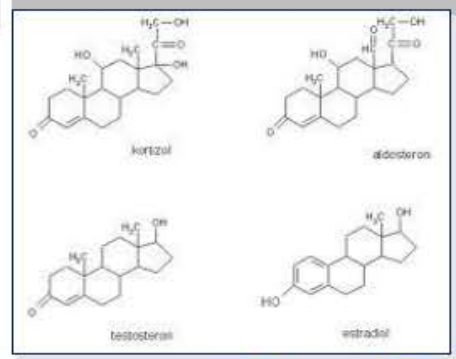
Factorii genetici
gene HLA



Factorii de mediu
Infecții



Factori hormonali



Factorii de mediu
medicamente,
fumat, dieta







?

Răspuns imun anormal

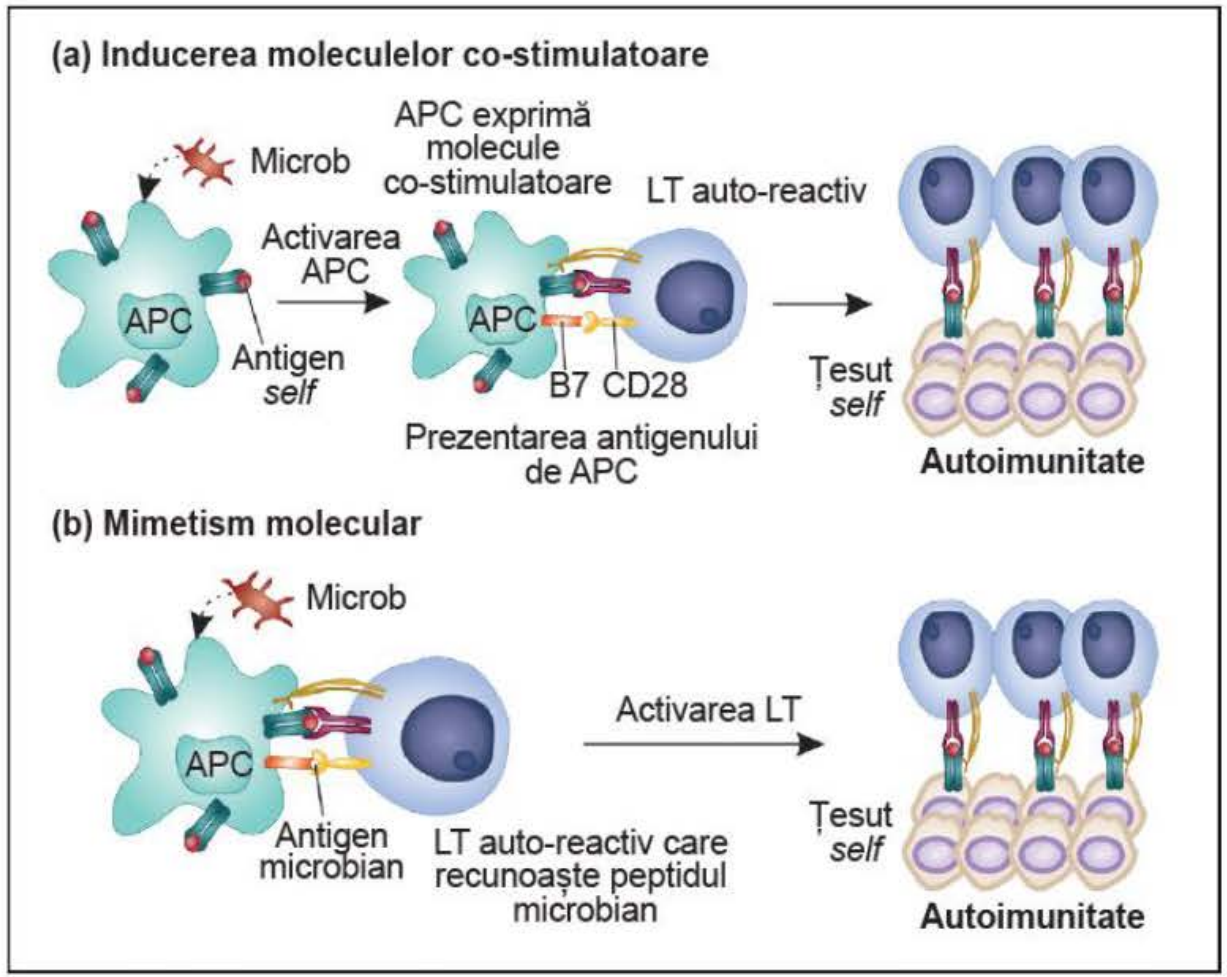
Scăderea expresiei antigenelor proprii în timus

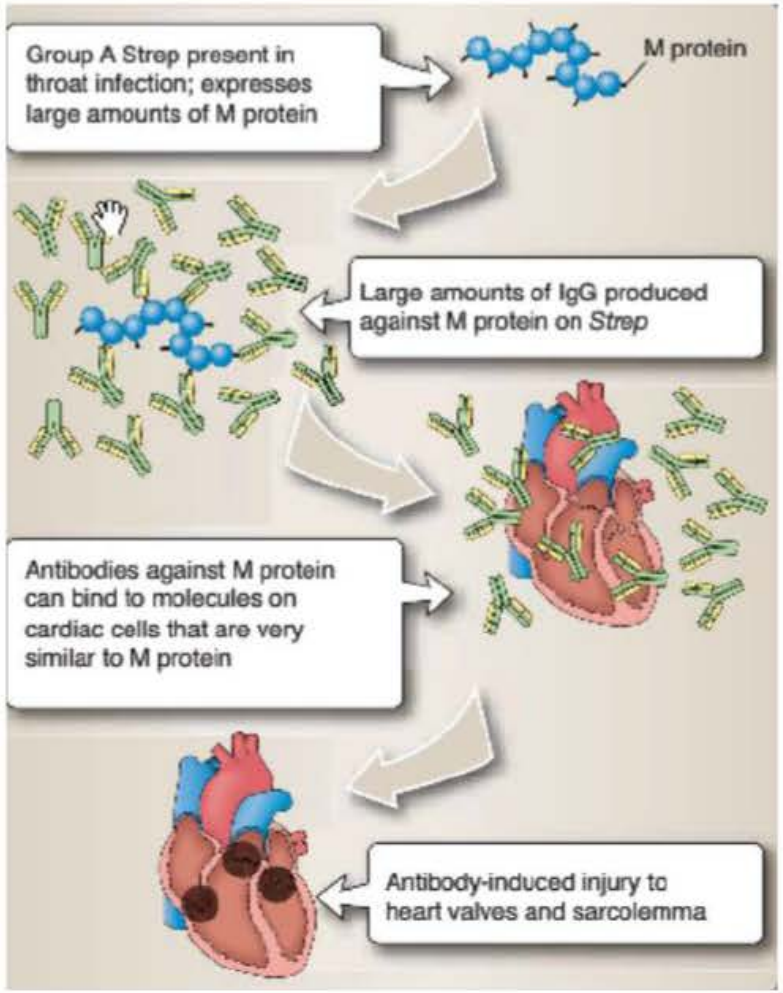
Prag scăzut pentru activarea Ly autoreactive

Defecte în inactivarea sau eliminarea Ly autoreactive

Boală autoimună

Mimetism molecular





Botnaru V., Brocovschii V. Elemente de imunologie, 2020

Factori genetici predispozanți pentru boli autoimune

Boala autoimună	Gena HLA	Risc
Spondilita anchilozantă	B27	87,4%
Sindrom Reiter	B27	37%
Sindrom Goodpasture	DR2	15,9%
Lupus eritematos sistemic	DR3	15%
Diabet zaharat	DR3 și DR4	25%
Sclerodermia	DR2	5%
Boala Graves	DR3	3,7%
Tiroidita Hashimoto	DR3	3,2%
Miastenia gravis	DR3	2,5%
Artrita reumatoidă	DR4	4%
Psoriazis	DR4	14%

Boli autoimune cu morbiditate în creștere

- pemphigus;
- lichen plan;
- boala Basedow;
- sindromul Sjogren;
- iridociclita;
- boala celiacă;
- hepatita autoimună;
- trombocitopenie sau anemie hemolitică autoimună;
- artrite;
- colagenoze;
- spondilartropatii;
- sindrom antifosfolipidic;
- encefalopatii autoimune.

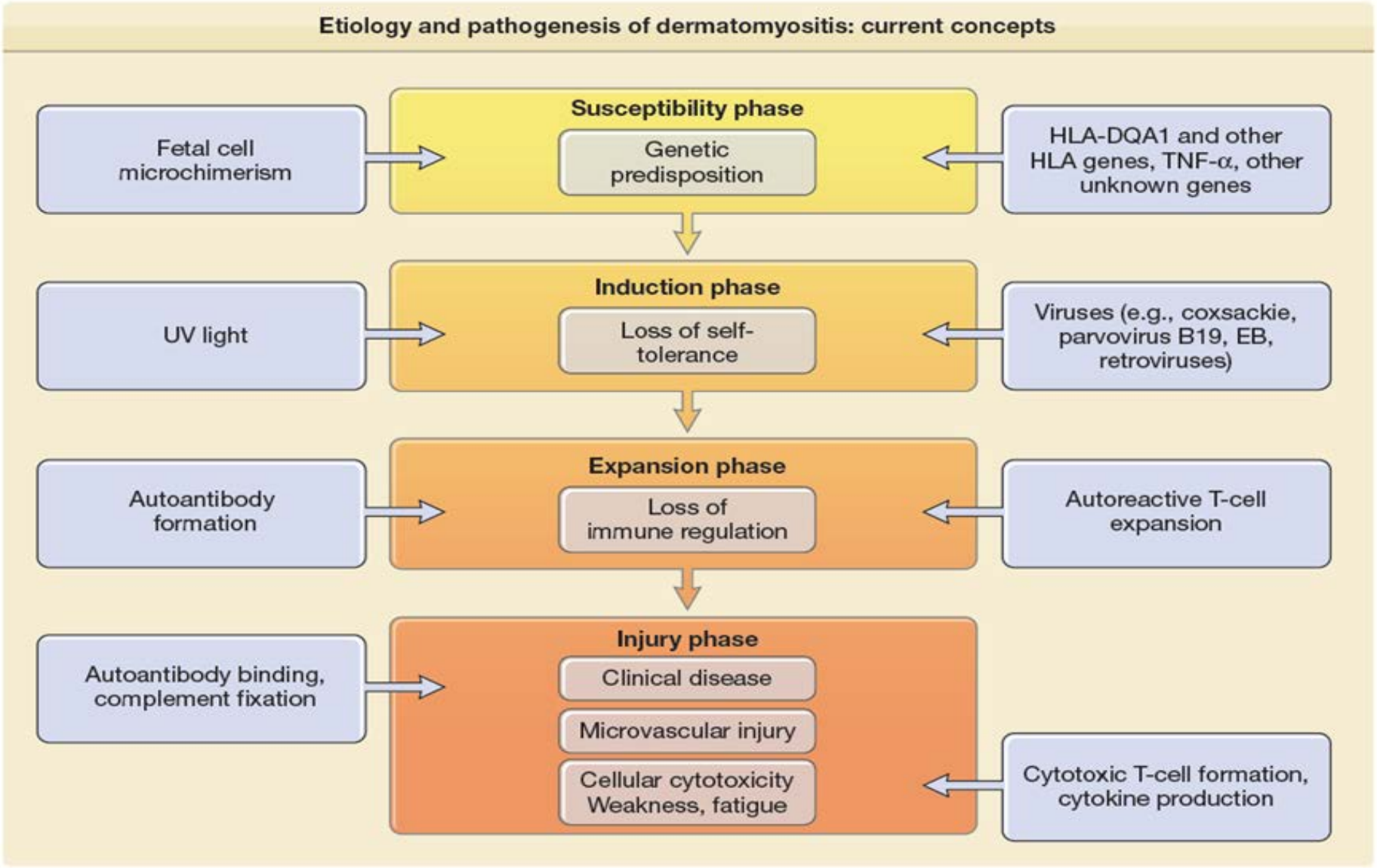
Imunodiagnosticul în bolile autoimune

Ținta imunologică	Exemple de teste diagnostice
Disfuncții ale sistemului imun înnăscut	HLG, proteine de fază acută (CRP), viteza de sedimentare a eritrocitelor (VSH), activitatea complementului (CH50, C3, C4), ceruloplasmina, feritina, fibrinogenul, haptoglobina, albumina; procalcitonina
Disfuncții ale sistemului imun dobândit	Anticorpii anti-nucleari (valori și distribuție la nivel celular) (ANA) Autoanticorpi celulari specifici Factor reumatoid (IgM împotriva porțiunii Fc a IgG) Anticorpi anti-peptide ciclice citrulinate (anti-CCP) Anticorpi anti-fosfolipide Anticorpi anti-citoplasma polinuclearelor neutrofe (ANCA) Crioglobuline Autoanticorpi anti-coagulant/anti-cardiolipina/aPL
Studii moleculare și genetice	Imunofenotipare HLA Defecte monogenice

Imunodiagnosticul în bolile autoimune

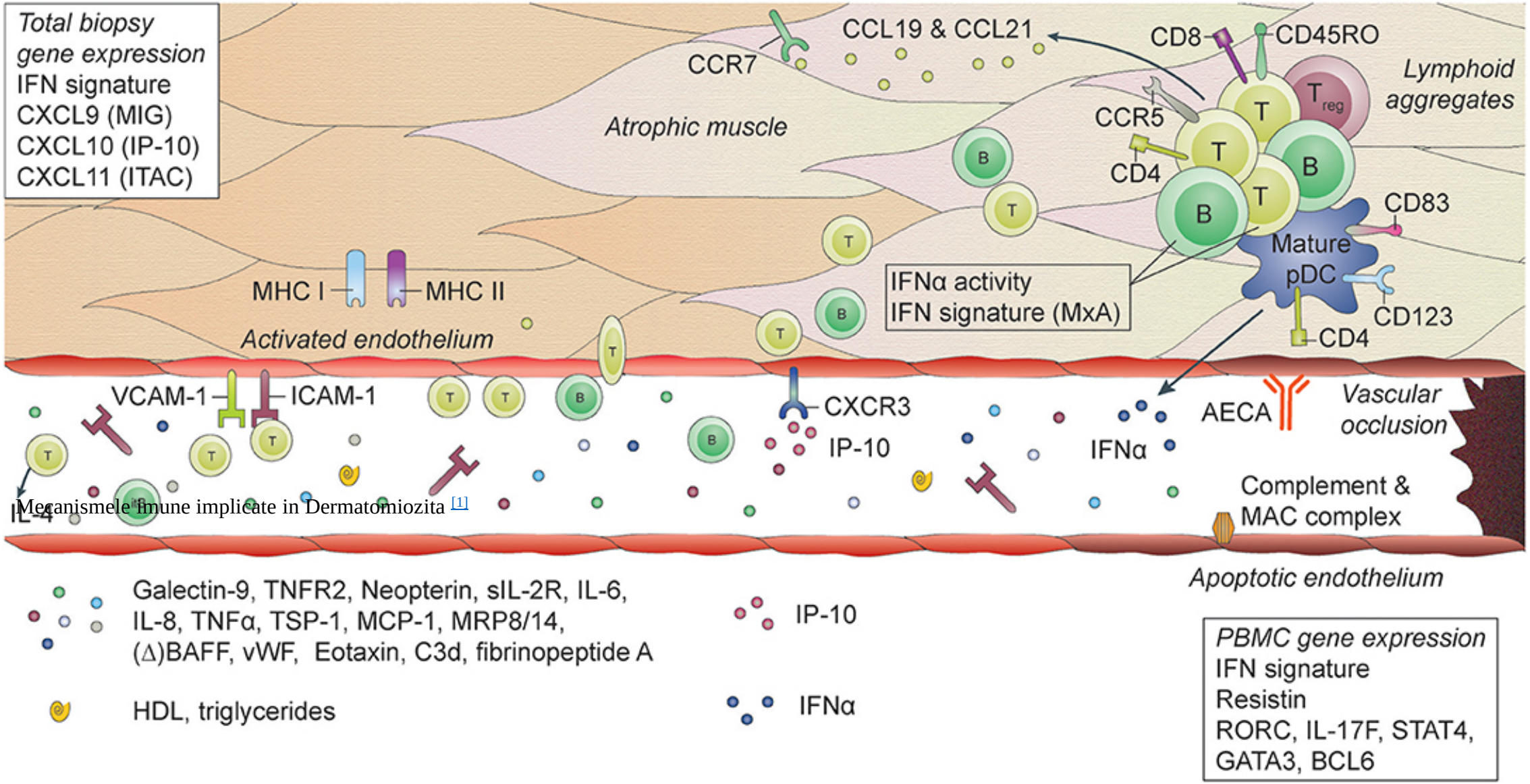
- LES afectează pielea, rinichii, articulațiile, SNC, eritrocitele; (ANA, anti-dsDNA, anti-Smith)
- Artrita reumatoidă (anti CCP – peptida citrulinata ciclica)
- Sclerodermia sistemică afectează pielea, intestinul, rareori plămânii (Scl-70)
- Sindrom Sjogren (anti SSA, anti SSB)
- Granulomatoza cu poliangeita (Wegener) afectează vasele de sânge, sinusurile, plămânii, rinichii (Proteinaza-3 - cANCA)
- Sindrom Goodpasture afectează plămânii, rinichii (Ac anti colagen tip IV din MB – anti GBM)
- Boala Celiacă (Ac anti-gliadină diamidata IgA, Ac anti-transglutaminaza tisulară IgA + IgA cantitativ)
- Pemfigus vulgaris (Ac anti desmogleina 1 și 3)
- Hepatita autoimună (Ac ANA si/sau anti ASMA-anti fibra musculara neteda), (anti - LKM-1-3 - anti microsomali in absenta ANA, ASMA), (Ac anti-actina, anti - SLA/LP -antigen solubil hepatopancreatic)
- Miastenia gravis (Ac anti receptorul pentru acetilcolină)
- Tiroidita autoimună (Ac anti tiroidperoxidaza)

DERMATOMIOZITA



Lowell A. Goldsmith, Stephen I. Katz, Barbara A. Gilchrest, Amy S. Paller, David J. Leffell, Klaus Wolff - "Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine", Eighth Edition, Mc Graw Hill 2012, pg 1929

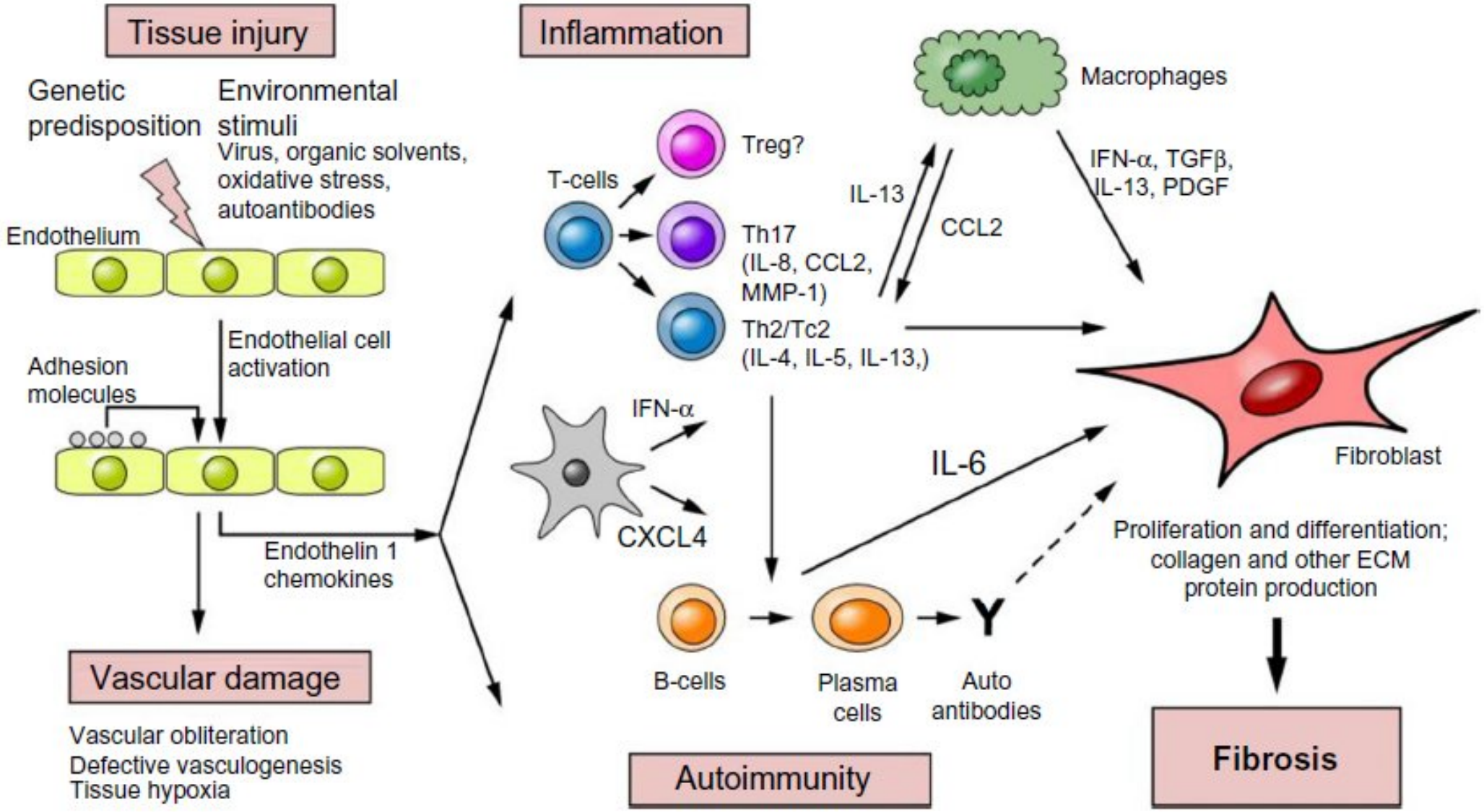
DERMATOMIOZITA



Mecanismele imune implicate in Dermatomiozita [1]

[1] https://canvas-stache.blogspot.com/2021/03/dermatomyositis-flare-up-symptoms.html

SCLEROZA SISTEMICĂ PROGRESIVĂ



https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15769660/

- Bolile inflamatorii intestinale = afecțiuni inflamatorii cronice ale tractului digestiv, cu perioade de activitate și remisiune
- Etiopatogenie incomplet elucidată- factori imunologici, microbiotă, factori de mediu, la persoanele cu predispoziție genetică
- În patogenia BII a fost dovedită implicarea fenomenelor de tip autoimun dar și a celor mediate imun
- Sistemul imunitar atacă mucoasa intestinelor, provocând episoade de diaree, sângerări rectale, dureri abdominale, febră şi scădere în greutate.

Cele mai frecvente gene implicate în relaționarea cu microbiota intestinală în bolile inflamatorii intestinale

Table 1 Representative inflammatory bowel disease (*IBD*) gene risk loci that regulate sensing of and response to the microbiota

From: The microbiota in inflammatory bowel disease

Genes	Comment	References
NOD2	CD-linked intracellular sensor of bacterial peptidoglycans	[16, 17]
ATG16L1, IRGM	CD risk autophagy genes involved in intracellular processing of bacteria	[19, 20]
IL23R, JAK2, IL12B	IL-23–T_h17 pathway linked to IBD and the autoimmune conditions psoriasis and ankylosing spondylitis	[21]
IL10	Recessive mutations linked to very early onset IBD	[22]
MUC19	Involved in mucus production and mucosal barrier function	[23]
SLC22A5, GPR35	Immune response to bacterial-derived ligands and metabolites	[24]
IL27	Maintenance of epithelial barrier against commensal bacteria	[25]
ECM1	Glycoprotein that interacts with the basement membrane, inhibits matrix metalloproteinase 9 and can activate NF-κB. UC risk gene	[26]
PTPN22	CD risk gene with role in autoimmunity. Protective effect in UC	[27]
IKBL	MHC gene associated with severe UC	[28]

CD Crohn's disease, *MHC* major histocompatibility complex, *NF-κB* nuclear factor κB, *T_h17* type 17 helper T cell *UC* ulcerative colitis

Sheehan, D., Moran, C. & Shanahan, F. The microbiota in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* **50,** 495–507 (2015). https://doi.org/10.1007/s00535-015-1064-1

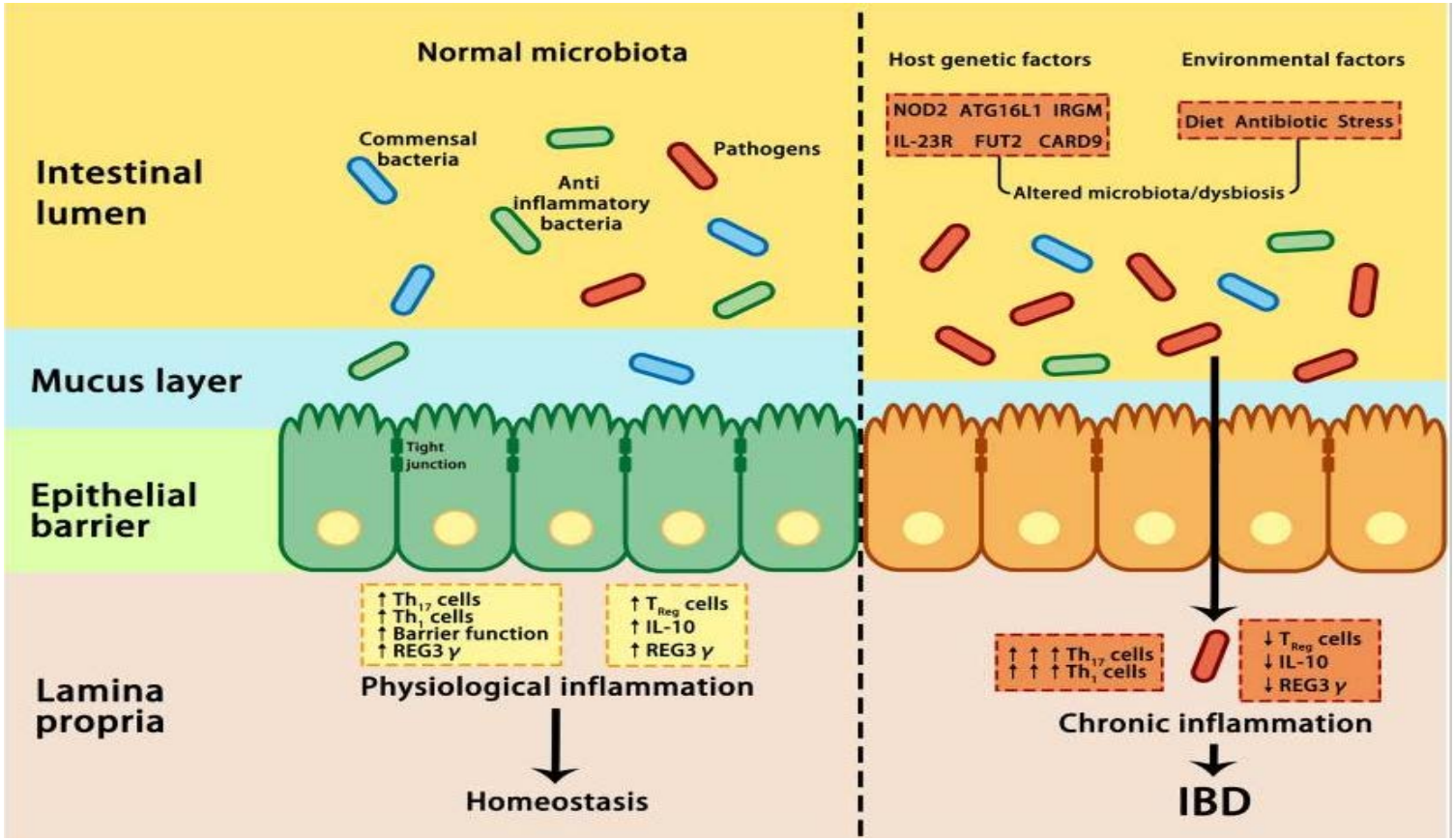
- Intestinul – un imens organ limfatic, cu două funcții importante:

✓toleranță orală

✓controlul inflamației- imunitatea înnăscută (celule dendritice, macrofage, limfocite B, celule epiteliale intestinale) și cea adaptativă (prin activarea limfocitelor T și B)

- Alterarea microbiotei intestinale- alterarea funcției de barieră intestinală → răspuns imun anormal → răspuns inflamator cronic cu distrugere și remaniere tisulară

Dezechilibrul interacțiunii între microbiota intestinală și răspunsul imun al gazdei în BII



Zhang, Ming; Sun, Kaiji; Wu, Yujun; Yang, Ying; Tso, Patrick; Wu, Zhenlong (2017). *Interactions between Intestinal Microbiota and Host Immune Response in Inflammatory Bowel Disease. Frontiers in Immunology, 8(), 942–.* doi:10.3389/fimmu.2017.00942

Imunodiagnosticul în BII

- Anticorpii perinucleari anti-citoplasmă neutrofili(p-ANCA) și anticorpii anti Saccharomyces cerevisiae (ASCA) - biomarkeri imunologici cu implicare dovedită în patogenia BII
- Pot ajuta la diferențerea Boala Chron (BC) de Colita ulcerativă (CU)- sensibilitate diferită în funcție de etnie și rasă
- p-ANCA sunt pozitivi la 50-80% din pacienții cu CU și doar 7% dintre cei cu BC
- Anticorpii anti-Ompc (outer membrane porin c) – la peste 50% dintre pacienții cu BC și rareori la cei cu CU
- Anticorpii anti-flagelină(anti cBir 1) – asociați cu BC cu localizare ileală, cu formele stenozante și pentrante

Imunodiagnosticul BII

- Ac anti-glicoproteină granulară de zimogen(aGP2) – superioritate față de ASCA în diagnosticul diferențial al BC cu tuberculoza intestinală și boala Behcet intestinală
- Micro-ARN-urile(microRNA)- microARN-urile celulelor T CD4+ sunt implicate în patogenia BII- prezic progresia bolii și necesitatea escaladării terapiei
- Matrix-metaloproteinazele(MMP) și inhibitorii acestora – determină răspunsul prompt în context inflamator, cu promovarea regenerării celulare și remodelării tisulare

- BII= problemă de sănătate publică la nivel mondial- incidență în creștere și caracterul invalidant al bolii, afectează tinerii, cu o evoluție severă, grevată de numeroase complicații
- Fiecare biomarker (imunologic, histologic, fecal, serologic) constituie o piesă importantă în ”puzzel-ul” bolilor inflamatorii intestinale
- Cercetările din ultimele 2 decenii despre implicarea sistemului imunitar în patogenia BII au dus la dezvoltarea mai multor terapii direcționate imun cu o sursă biologică- agenți biologici
- Ținta inițială- TNF-α- a dus la schimbărim majore în evoluția bolii, dar o proporție importantă de pacienți cu BII nu răspund la anti-TNF-uri – cautare de alte căi și ținte inflamatorii, inclusiv cele ale sistemului imun înnăscut și adaptativ (agenți anti-integrine, anti-IL, anti-molecule de adeziune)

Curs XII

Anticorpii monoclonali date generale și implicații terapeutice

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Era genomică

- În ultima decadă, progresele din domenii precum genomica, proteomica (domeniu care studiază interacțiunile, funcțiile, structura și activitatea proteinelor la nivel celular) și bioinformatica, alături de aplicarea abordărilor moleculare pentru înțelegerea funcțiilor genelor, au dus la noi descoperiri privind complexitatea și natura multidimensională a unor boli precum
  - cancerul,
  - bolile autoimune și inflamatorii,
  - tulburările metabolice,
  - bolile neurologice
  - transplantul.

Anticorpii monoclonali

- Molecule produse în laborator, concepute pentru a imita funcția sistemului imunitar de a combate patogenii dăunători și celulele umane bolnave.

- Imunoglobuline ce pot îndeplini mai multe roluri în organismul uman, contribuind la facilitarea răspunsurilor imune umorale și celulare împotriva unei game largi de antigene, având o specificitate înaltă și o eficiență de durată.

Istoric

- Anticorpii (Ac) identificați de către Heidelberger și Avery ca proteine capabile să recunoască antigene specific
- în 1947, Strid Fagraeus a demonstrat că Ac sunt produși de celulele B plasmatice ale sistemului imunitar adaptativ.
- sir Gustav Nossal a validat teoria selecției clonale, care susține că o singură clonă de celule B produce un anticorp specific.
- Metodele de producere a anticorpilor monoclonali care implică celule hibride umane-murinice (provenite de la șoareci) au fost identificate prima dată de Schwaber în 1973.
- Köhler și Milstein, în 1975, au fuzionat celulele B producătoare de Ac cu celulele mielomice (deoarece sunt celule care posedă capacitate de multiplicare) pentru a crea o linie celulară hibridă capabilă să producă anticorpi nelimitat.
- Această tehnică, cunoscută sub numele de „hibridom”, a permis producerea anticorpilor monoclonali și a revoluționat imunologia, aducându-le celor doi cercetători premiul Nobel în 1984

Anticorpii murinici

- Dezvoltarea medicamentelor pe bază de anticorpi monoclonali (mAbs) reprezintă una dintre realizările majore ale biotehnologiei moderne, cu o evoluție semnificativă de la primele molecule murinice produse prin tehnologia hibridomului.
- Progresele tehnologice și necesitatea reducerii imunogenicității au condus la trecerea la anticorpi complet umani creați prin platforme transgenice.
- În 1986, Orthoclone OKT3® (Muromonab-CD3) a devenit primul anticorp monoclonal de origine murinică aprobat de FDA în SUA pentru tratamentul pacienților cu transplant de organ rezistent la glucocorticoizi.
  - profil imunogenic semnificativ, datorită originii sale străine.
  - a generat un răspuns imun puternic în organismul uman, ducând la formarea de anticorpi specifici împotriva proteinelor provenite de la șoarece.
  - efecte adverse grave, inclusiv neurotoxicitate.

Ac - variante chimere

- Pentru a rezolva reacțiile adverse această problemă, Ac au fost concepuți ca variante chimere, având structuri asemănătoare anticorpilor umani, doar regiunea variabilă a segmentului de legare cu antigenul (Ag) fiind de origine murinică.

- Primul anticorp chimeric, abciximab, a fost aprobat de FDA în 1994 pentru inhibarea agregării plachetare.

- Primul anticorp monoclonal cu indicație oncologică, rituximab, un anticorp chimeric de tip IgG1 anti-CD20, a fost aprobat în 1997 pentru tratamentul limfomului non-Hodgkin.

Anticorpii monoclonali umanizați

- Ac la care doar regiunile determinante ale complementarității (CDR) ale lanțurilor ușoare și grele sunt de origine murinică, în timp ce restul structurii anticorpului provine din surse umane, și au intrat prima dată în dezvoltare clinică în 1988.
- Tehnica de grefare a CDR este una dintre cele mai populare metode de producere a anticorpilor monoclonali umanizați și a fost dezvoltată inițial de Gregory P. Winter în 1986.
- Prin utilizarea acestei tehnologii, secvențele CDR nonumane sunt transplantate sau „grefate” în structura proteică a anticorpilor umani.
- Aceasta permite păstrarea caracteristicilor funcționale ale anticorpului de recunoaștere și legare cu antigenul-țintă.
- Primul anticorp monoclonal umanizat, daclizumab (blocant al receptorului IL2), a fost aprobat de FDA în 1997, fiind utilizat pentru prevenirea rejetului de transplant.

Progresele în ingineria anticorpilor umanizați și complet umani

- Au facilitat o tranziție rapidă de la anticorpii murinici și chimerici (compuşi din proteine provenite de la șoareci și proteine umane) la anticorpi umanizați (proteine provenite de la șoareci, atașate de proteine umane) și complet umani (proteine în totalitate de proveniență umană) cu o tolerabilitate mult mai bună.

- Această evoluție a fost esențială pentru depășirea problemelor legate de scăderea potențialului imunogenic și a eficacității, permițând astfel utilizarea terapeutică pe termen lung a anticorpilor.

- Adalimumab a fost primul anticorp monoclonal complet uman aprobat de FDA în 2002.
- Ținta terapeutică a acestuia este factorul de necroză tumorală alfa (TNF-α), o proteină cu rol major în procesul inflamator implicată în patogeneza unor boli inflamatorii și autoimune precum artrita reumatoidă, artrita psoriatică, psoriazisul și altele

Umanizarea anticorpilor monoclonali

- Strategie importantă pentru a minimiza riscurile asociate imunogenității.
- Deși acești anticorpi prezintă riscuri mai scăzute în acest sens, totuși imunogenitatea nu poate fi eliminată complet.
- În cazul anticorpilor monoclonali, principala problemă de imunogenitate o reprezintă formarea de anticorpi antimedicamente (ADA).

Imunogenitatea

- Tendința unei proteine terapeutice de a induce un răspuns imunitar nedorit împotriva sa sau a proteinelor endogene.

- ADA se formează atunci când sistemul imunitar al gazdei recunoaște întreaga substanță sau o parte dintr-un tratament biologic ca fiind străină și inițiază un răspuns imun împotriva acestuia.

Anticorpii antimedicamente (ADA)

- Se pot lega de anticorpul monoclonal terapeutic, ceea ce poate modifica farmacocinetica și biodistribuția acestuia.
- Acest lucru poate reduce eficacitatea tratamentului și poate afecta siguranța utilizării, cauzând reacții de hipersensibilitate și efecte adverse, inclusiv anafilaxie.
- ADA împotriva infliximabului sau adalimumabului au redus rata de răspuns la medicament cu 68%, un efect atenuat de imunodepresia cauzată de administrarea concomitentă cu metotrexat.
- Totodată, reacțiile adverse infuzionale reprezintă cel mai frecvent efect advers asociat cu ADA la pacienții tratați cu inhibitorii TNF.

Factorii care contribuie la formarea ADA

- pot fi împărțiți în trei categorii:
  - factori legați de pacient,
  - factori legați de medicament
  - factori legați de regimul de dozare.
- Factorii asociați pacientului
  - vârsta,
  - susceptibilitatea genetică,
  - starea bolii,
  - administrarea concomitentă a altor tratamente.
- Factorii asociați produsului:
  - secvența proteică,
  - modificările posttranslaționale
  - prezența impurităților, agregatelor sau a contaminanților

Terapia cu anticorpi monoclonali

- Marchează o revoluție în medicina contemporană, oferind opțiuni terapeutice precise și eficiente pentru o gamă largă de patologii severe.
- Utilizarea acestor terapii implică riscuri considerabile legate de imunogenitate și reacții adverse, uneori severe, care pot compromite rezultatul terapeutic.
- Imunogenitatea, manifestată prin producerea de anticorpi antimedicamente (ADA), reprezintă o provocare clinică majoră, influențată de factori legați de pacient, medicament și regimul de administrare.
- Înțelegerea și clasificarea reacțiilor adverse permit o abordare mai sigură și mai personalizată a terapiei.
- Pe viitor, progresul în tehnologiile de umanizare a anticorpilor și metodele predictive de evaluare a imunogenității vor permite minimizarea riscurilor și îmbunătățirea raportului beneficiu-risc pentru pacienți.

Anticorpii monoclonali (mAbs)

- Permit tratamente datorită multor proprietăți favorabile, precum specificitatea și afinitatea mare față de țintă = terapii țintite
- În clinică, mAbs au demonstrat eficacitate în neutralizarea patogenilor, inactivarea moleculelor endogene și modularea sistemului imunitar.
- Profil favorabil de siguranță, inclusiv imunogenitate scăzută pentru anticorpii umani sau umanizați, precum și toxicitate mai scăzută.
- Industria pharma pe bază de anticorpi monoclonali a înregistrat o creștere explozivă, aceștia fiind utilizați ca țintă terapeutică în afecțiuni precum cancerul, bolile autoimune, bolile metabolice și bolile infecțioase

Curs XIII

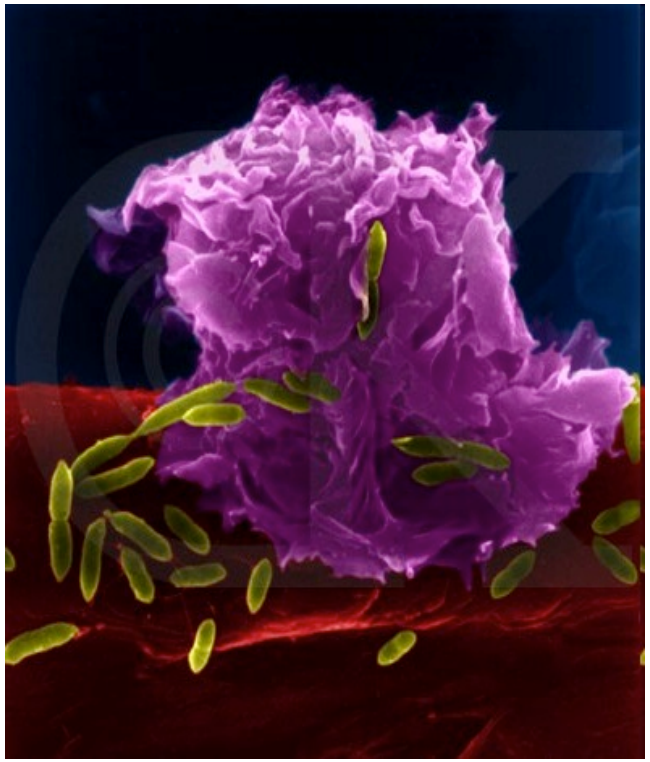
Sindromul imuno-inflamator de hemofagocitoză și patologia asociată

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

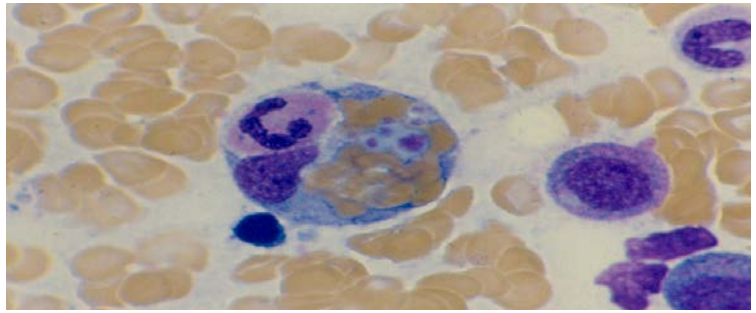
Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com

Fagocitele

- Răspunsul imun înnăscut
- Înglobează și digeră agenți patogeni și particule
- Recunoaşte **modelele specifice agentului patogen:**
  - Modele moleculare asociate agenților patogeni (PAMP)
  - Modele moleculare asociate microbilor (MAMP)
- Reglementează alte celule imune
  - Secretă mediatori
  - Contact direct
- Macrofage, granulocite, celule dendritice



Definiție



- O condiție rară și potențial fatală care e asociată cu o activare și proliferare excesivă a macrofagelor și a celulelor NK și T citotoxice, conducând la o reacție imuno-inflamatorie exagerată.

- Hemofagocitoza= activarea macrofagelor care fagocitează:
  - eritrocitele,
  - leucocitele,
  - trombocitele
  - și precursorii acestora.

Terminologie

- Sindromul de activare macrofagică (MAS)
- Sindromul de hemofagocitoză (HPS)
- Sindrom hemofagocitic limfohistiocitozic (HLHS)

Limfohistiocitoza hemofagocitară (HLH)

- Sindrom hiperinflamator rar, sever și potențial letal, caracterizat prin activarea necontrolată a sistemului imunitar (macrofage/limfocite), care distrug propriile celule sanguine.
- Se manifestă prin febră persistentă, hepatosplenomegalie, citopenii (scăderea celulelor sanguine) și necesită tratament agresiv rapid.
- Urgență medicală
- Se bazează pe criterii clinice și paraclinice (feritină crescută, trigliceride mari, fibrinogen scăzut) și medulogramă (examenul măduvei osoase)
- Diagnosticarea și tratamentul rapid sunt esențiale pentru îmbunătățirea supraviețuirii, incluzând imunosupresoare și, uneori, transplant medular

Istoric

- 1939, Scott și Robb Smith descriu entitatea clinico-patologică - reticuloza histiocitic medulară
- 1952, Farquar și Claireaux descriu limfohistiocitoza familială
- 1966, Rappaport introduce termenul de histiocitoză malignă (MH)
- 1979, Risdall identifică o proliferare benignă a histiocitelor asociată cu infecțiile virale sistemice (EBV)

Etiopatogenie

- 1983- metaanaliză Janka G.E.- 100 cazuri pediatrice descrise, unele cu patofiziologie neclară.
- 1999, mutația genei perforin (PRF1)
- > 2000- cauze genetice și dobândite; HPS poate apare la orice vârstă;
- 40% din formele genetice datorate mutațiilor genei perforin, sintaxin 11
- Se poate asocia cu boli autoimune

TABLE 1. Hemophagocytic Syndrome Classification

Primary or genetic hemophagocytic syndrome
Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis
Immune deficiency syndromes
• Chediak-Higashi syndrome
• Griscelli syndrome
• X-linked lymphoproliferative syndrome
• Wiskott-Aldrich syndrome
• Severe combined immunodeficiency
• Lysinuric protein intolerance
• Hermansky-Pudlak syndrome
Secondary or reactive hemophagocytic syndrome
Infection associated hemophagocytic syndrome
• Virus-associated hemophagocytic syndrome
➢ Herpes virus infection (herpes simplex virus, varicella zoster virus, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, human herpesvirus 6, human herpesvirus 8)
➢ Human immunodeficiency virus (HIV)
➢ Other viruses: adenovirus, hepatitis viruses, parvovirus, influenza
• Other infections associated with hemophagocytic syndrome
➢ Bacteria including mycobacteria and spirochetes
➢ Parasites
➢ Fungi
Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (especially lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis)
Macrophage activation syndrome (associated with autoimmune diseases)

Clasificarea sindrom hemofagocitic

- clasificare în: Tip Primar (Genetic)
  Tip Secundar (Reactiv)

Table 1 Classification of hemophagocytic syndrome

Type of hemophagocytic syndrome	Subtype
Primary or genetic hemophagocytic syndrome	Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis
	Immune deficiency syndromes (i.e., Chediak-Higashi syndrome, Griscelli syndrome, X-linked lymphoproliferative syndrome)
Secondary or reactive hemophagocytic syndrome	Infections (i.e., viral, bacterial, parasitic)
	Malignancies
	Auto-immune and auto-inflammatory diseases

Tipul primar

Transmis genetic:

Autosomal recesiv sau X-linked

0,12/100.000 copii

Debut în primul an de viață în 70-80% din cazuri

Adolescenți și adulți

Tipul secundar

- infecții virale (Epstein - Barr virus, HIV),
- infecții bacteriene
- infecții micobacteriene (Mycobacterium tuberculosis),
- infecții cu atipici (Mycoplasma pneumoniae), fungice și parazitare
- boli auto-immune
- boli maligne (limfomul cu celule T)

Asociere – infecții

Important !!

- cazuri sporadice & familiale HPS pot fi precipitate de infecții (EBV)
- HLH poate mima boli infecțioase, precum sepsis-ul bacterian
- HLH poate ascunde diagnosticul bolilor infecțioase tratabile
- unele forme secundare pot crește mortalitatea

Tuberculoza & HLH

Tuberculoza este o infecție bacteriană ce se poate asocia cu HPS

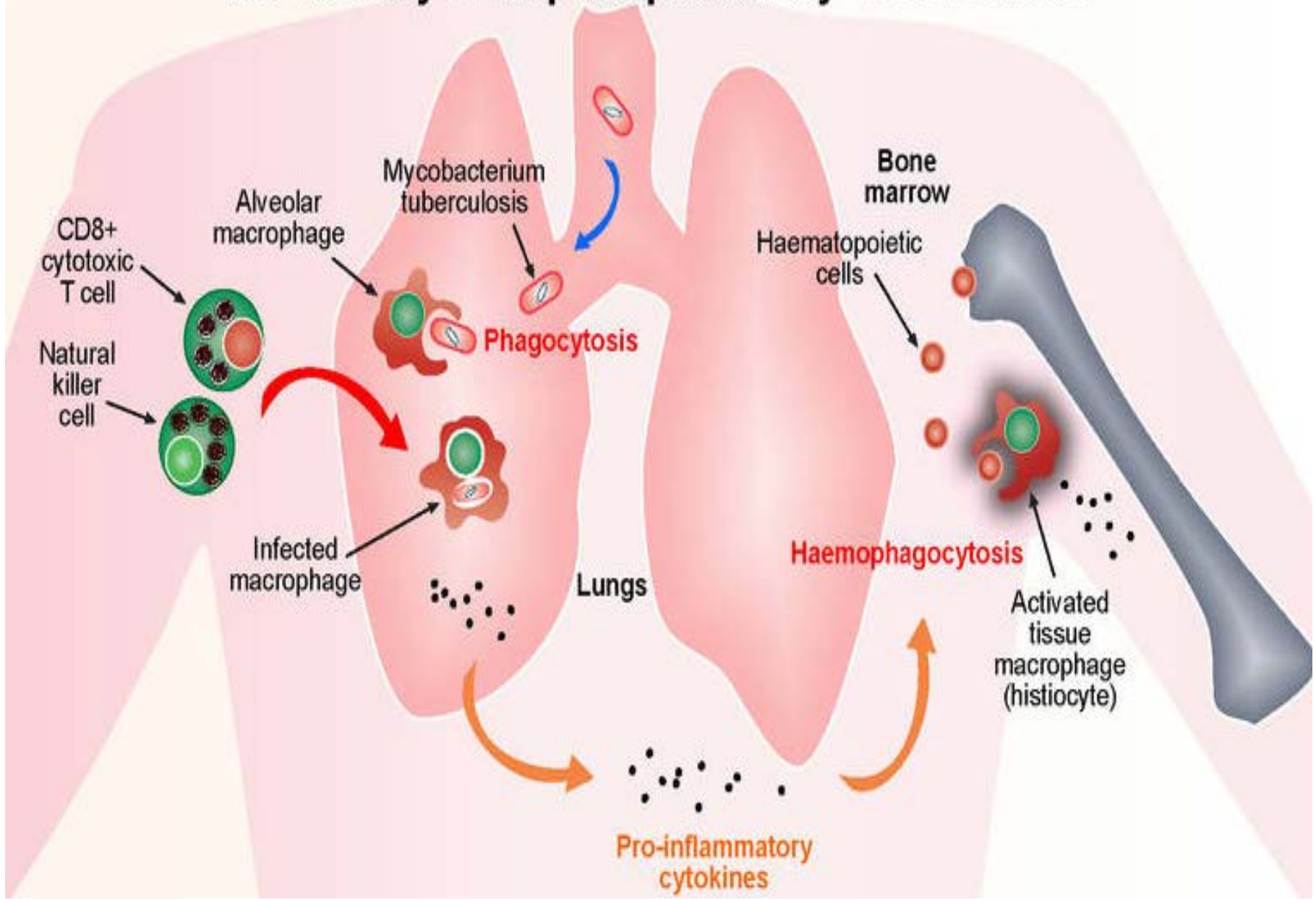
Puține cazuri sunt raportate (36 cazuri)

Pacienții au comorbidități (insuficiență renală, diabet, cancer, HIV, sarcoidoză)

Prognostic rezervat

Reference	Age (years)	Sex	Tuberculosis site	Comorbidities	Fever?	Hepato-splenomegaly?	Platelet count (platelets per µL)	Immune therapy?	Tuberculosis treatment?	Outcome
Shin et al[21]	50	Male	Adrenal glands	NA	Yes	Yes	142 000	Yes	Yes	Death
Eliopoulos et al[22]	70	Male	Disseminated: liver, spleen, kidney, bone marrow, nodes from azygo-oesophageal angle	NA	Yes	Yes	130 000, decreased to 18 000	Yes	Yes	Death
Browett et al[23]	43	Male	Disseminated: hilar, liver, bone marrow	NA	Yes	Splenomegaly	157 000, decreased to 5000	Yes	Yes	Recovery
Chan et al[24]	69	Female	Lungs, cervical lymph nodes	Disseminated nasopharyngeal carcinoma	Yes	None	70 000	No	No	Death
Campo et al[25]	76	Male	Disseminated: liver, spleen, lymphadenopathy, pancreas, lungs, kidneys, adrenal glands, vertebra	Small cell carcinoma	Yes	Hepatomegaly	Low	No	No	Death
Campo et al[25]	68	Female	Disseminated: liver, spleen, lymphadenopathy, pancreas, lungs, kidneys, adrenal glands, endometrium, myometrium, large bowel	NA	Yes	None	64 000	No	No	Death
Campo et al[25]	59	Male	Disseminated: liver, spleen, lymphadenopathy, pancreas, lungs, kidneys, adrenal glands, mediastinal area	Diabetes mellitus	Yes	None	Normal	No	No	Death
Monier et al[26]	14	Female	Disseminated: pulm, bone marrow	NA	Yes	Yes	113 000	Yes	Yes	Recovery
Quiquandon et al[27]	83	Male	Disseminated: lymphadenopathy, sputum, urine	NA	Yes	None	120 000	No	Yes	Recovery
Quiquandon et al[27]	70	Male	Mediastinal lymph nodes, spleen	NA	Yes	None	37 000	Yes	Yes	Recovery
Cassim et al[28]	38	Male	Lungs, bone marrow	NA	Yes	Yes	20 000	Yes	Yes	Recovery
Yang et al[29]	37	Male	Bone marrow	Renal transplant on haemodialysis	Yes	Yes	15 000	No	No	Death
Koduri et al[30]	43	Male	Lungs	AIDS	Yes	None	19 000	No	Yes	Death
Lam et al[31]	42	Male	Lungs, kidneys, liver, spleen, prostate	Sarcoidosis	Yes	Splenomegaly	96 000, decreased to 26 000	Yes	Yes	Death
Basu et al[32]	40	Male	Cervical lymph node	NA	Yes	Yes	55 000	No	Yes	Recovery
Castellano et al[33]	73	Female	Bone marrow	End-stage renal disease on haemodialysis	Yes	Yes	146 000, decreased to 36 000	No	Yes	Recovery
Jain and Dash[34]	22	Male	Tuberculous lymphadenitis	NA	Yes	Yes	10 000	No	Yes*	Recovery
Baraldes et al[35]	53	Female	Disseminated: blood	AIDS (CD4 cell count 76 cells per µL)	Yes	Hepatomegaly	163 000, decreased to 3000	Yes	Yes	Death
Okacharoen et al[36]	14 days	Female	Disseminated: blood, gastric, lungs	Shock, disseminated intravascular coagulation	Yes	Yes	58 000, decreased to 14 000	Yes	Yes	Recovery
Satomi et al[37]	56	Female	Lung	Myelodysplastic syndrome, chronic glomerulonephritis on haemodialysis	Yes	Yes	45 000	Yes	Yes	Recovery
Ruiz-Arguelles et al[38]	31	Female	Disseminated: lung, bone marrow, cervical lymph nodes	Stage IV high-grade non-Hodgkin's lymphoma	Yes	Splenomegaly	Low	Yes	Yes	Death
Goto et al[39]	40	Male	Lungs	Renal dysfunction on haemodialysis	Yes	None	81 000	Yes	Yes	Recovery

Secondary HLH precipitated by TB infection



Mecanismul HLH tip II - TB

- Celulele citotoxice (CD8+ cytotoxic T & NK cel) sunt disfuncționale, incapabile să controleze infecția cu My. tuberculosis care e un patogen intracelular și astfel, apare o producție excesivă de citokine pro-inflamatorii.
- Nivelele crescute de citokine sistemice hiperstimulează macrofagele tisulare (histiocitele) care pot fagocita celulele hematopoietice din măduva osoasă, splină, ganglioni limfatici, cauzând citopenia.

- Citokinele pro-inflamatorii secretate de macrofagele activate mediază febra, rashul (permeabilitate vasculară crescută) și infiltrare cu celule imune a multiple organe.

Tablou clinic

Frecvente:

- Febră prelungită - cresc IL-1, TNF-alpha & IL-16
- Hepatosplenomegalie - prin infiltrare cu celule imune activate
- Citopenie - nivele crescute TNF-a*, γ-interferon & hemofagocitoză
  - anemie, trombocitopenie

- Trigliceride crescute **-lipoproteinlipaza activitate inhibată de TNF-α**
- Efecte neurologice - prin infiltrare cu celule imune activate
  - pareze de nervi cranieni

Rare:

- Limfadenopatie
- Rash
- Icter

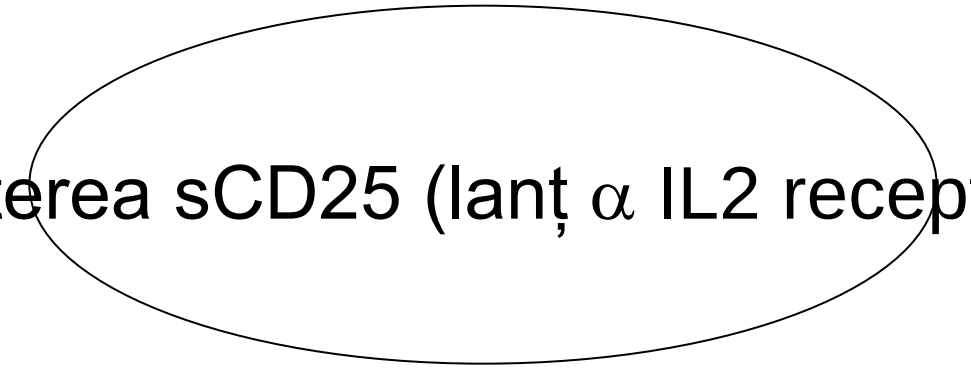
Histiocyte Society Group - Criterii de diagnostic, 1991

The diagnosis of HLH can be established if one of either 1 or 2 below is fulfilled:

1. A molecular diagnosis consistent with HLH is made.
2. Diagnostic criteria for HLH are fulfilled (5 of the 8 criteria below):*
   - Fever
   - Splenomegaly
   - Cytopenias (affecting $\geq$ 2-3 lineages in the peripheral blood):
     - hemoglobin $<$ 90 g/L (in infants $<$ 4 weeks of age, hemoglobin $<$ 100 g/L), platelets $<$ 100 $\times$ 10^9/L, neutrophils $<$ 1.0 $\times$ 10^9/L
   - Hypertriglyceridemia and/or hypofibrinogenemia: fasting
     - triglycerides $\geq$ 3.0 mmol/L (ie, $\geq$ 265 mg/dL), fibrinogen $\leq$ 1.5 g/L
   - Hemophagocytosis in BM, spleen, or lymph nodes
   - Low or absent NK-cell activity (according to local laboratory reference)
   - Ferritin $\geq$ 500 μg/L
   - Soluble CD25 (ie, sIL2r) $\geq$ 2400 U/mL†

Histiocyte Society Group - Criterii de diagnostic, 2004

- Bicitopenia - pancitopenia,
- Coagulopatie, hiperlipidemie, hipofibrinogenemie, hiperferitinemie,
- Transaminaze crescute, hiperbilirubinemia,
- Hipoalbuminemie & hiponatremie
- $\beta 2$ microglobulinemia crescută;



- Creșterea sCD25 (lanț α IL2 receptor)*;
- γ INF> 100pm/ml
- IL10 > 60pm/ml

Teste diagnostice

(1)	Blood, mid-stream urine and sputum cultures for bacteria. Blood cultures may need to be prolonged for fungi and brucella
(2)	Chest radiograph and appropriate cultures and microscopy for mycobacteria. Blood, sputum, bronchoalveolar lavage, pleural fluid, bone-marrow aspirate, cerebrospinal fluid
(3)	Serological tests for acute EBV,CMV and HIV infections
(4)	Peripheral blood nucleic-acid tests for evidence of replicating EBV, CMV, herpes simplex virus (HSV), varicella zoster virus (VZV), HHV-6, HHV-8, HIV, adenovirus and parvovirus B19.
(5)	Serum cryptococcal antigen and serum galactomannans
(6)	Serological tests for evidence of primary or reactivation of toxoplasmosis
(7)	Leishmania antigen test and bone-marrow aspiration smear if epidemiologically appropriate
(8)	Search for a lymphoproliferative disorder. Computed tomography (CT) scan of thorax, abdomen and pelvis to look for lymphadenopathy, lymph node biopsy (if present and accessible lymphadenopathy), serum lactate dehydrogenase (LDH), bone-marrow aspiration and trephine, immunophenotyping.

CMV = cytomegalovirus; EBV = Epstein Barr virus; HHV = human herpes virus; HIV = human immunodeficiency virus

Tratmentul TB-asociată HPS

- Rata mortalității- 36 studii clinice crescută (50%)
- Eșecul terapeutic e atribuit inițierii tardive.

- Boala progresează rapid.

Anti- tuberculoase + imunochimioterapie
+ corticosteroizi, i.v. immunoglobulin, globulină anti timocitară, cyclosporin A & etoposid.

Curs XIV

Sindromul inflamator de reconstrucție imunologică

Prof univ dr habil Oana Cristina Arghir

Date contact: 0722636201, arghir_oana@yahoo.com



Sindromul de reconstrucţie inflamatorie imună (IRIS)

- Reacție inflamatorie paradoxală și exagerată care apare la pacienții cu deficiență imună severă (cel mai frecvent infectați cu HIV), la scurt timp după inițierea terapiei antiretrovirale (ART), constând în agravarea paradoxală a simptomatologiei clinice, în ciuda îmbunătăţirii imunităţii.

- Deși tratamentul întărește sistemul imunitar, acesta reacționează violent la infecții preexistente (ascunse sau deja tratate), provocând agravarea clinică a stării pacientului.

Terminologie

- definit pentru prima dată în 2000.
- **Boală de refacere imună (IRD-immune restoration disease)**
- **Sindrom de reconstrucţie imună (IRS-immune reconstitution syndrome)**
- **Reacţie paradoxală.**

Patologie de asociere

- infecţii micobacteriene (MTB, MNT- Mycobacterium avium intracellulare)
- infecţii oportuniste incluzând:
  - citomegalovirusul (CMV),
  - virusul varicelo-zosterian,
  - pneumocistoza,
  - toxoplasmoza,
  - hepatita B şi C,
  - infecţii criptococice,
  - histoplasmoza.

Mecanism și cauze

- **Context:**
- Apare de obicei la pacienți cu un număr foarte scăzut de celule CD4 la începerea tratamentului.

- **Paradox:**
- Sistemul imunitar își revine (scade încărcătura virală, cresc CD4), dar devine hiperactiv, reacționând la antigenele rămase de la infecții oportuniste.

Impactul ART

Expected mortality should steer decision on optimal timing of combined TB and HIV therapy



Risk of death while awaiting HAART

Risk of death as a consequence of HAART (IRIS)

IRIS şi *Mycobacterium tuberculosis*

- *Mycobacterium tuberculosis* este cel mai frecvent patogen raportat asociat cu IRIS.

- În general IRIS apare la pacienţii cărora li s-a iniţiat HAART în primele 2-3 luni de la iniţierea terapiei TB, cu un vârf între 12-15 zile, demonstrând că reacţia este relativ rapidă, ceea ce necesită măsuri de precauţie pe parcursul acestei perioade.



EPIDEMIOLOGIE

- Majoritatea studiilor (retrospective) au raportat că 17-32% dintre pacienţii cărora li s-a iniţiat ART au dezvoltat IRIS dar incidenţa globală a sindromului rămâne necunoscută.

- Studiu prospectiv efectuat în Africa de Sud pe 423 pacienţi infectaţi HIV ART-naivi, a arătat că 44 pacienţi (10,4%) au dezvoltat IRIS în primele 6 luni de terapie.

Tipuri IRIS

- **IRIS "unmasking" (demascare):**
- TB mascată cu debut în primele 4 luni de la inițierea ART la infectații HIV
- O infecție latentă/subclinică ce devine boală manifestă clinic.

- **IRIS "paradoxal":**
- O infecție deja tratată și cunoscută reapare, agravându-se.
- Forme de agravare paradoxală a TB la cei cu terapie concomitentă DOTS + ART.

Tablou clinic

Simptomele sunt nespecifice și se manifestă prin inflamație locală sau sistemică:

- Febra prelungită.
- Creșterea ganglionilor limfatici (limfadenopatie),
- Serozite.
- Agravarea simptomelor de tuberculoză (tuse, dificultăți de respirație).
- Complicații neurologice, cum ar fi tuberculom intracranian.
- Abcese reci și foliculită

Suspiciune clinică

Sunt diverse şi imprecis definite, caracterizate în principal de:

- febră,
- scădere ponderală,
- limfocitoză

Mai pot include limfadenita indusă de micobacterii, reacţii tuberculoase paradoxale, extinderea leziunilor în cadrul sarcomului Kaposi etc.

Manifestări TB-IRIS

- Febra
- Limfadenopatia
- Agravarea simptomatologiei respiratorii
- Extensie leziuni
  - Apariţia de noi infiltrate pulmonare
  - Limfadenopatie mediastinală şi revărsat pleural
- Manifestari extrapulmonare: TB diseminată cu insuficienţă renală asociată, tuberculom intracranian.
- Simptome nespecifice: sindrom febril prelungit, scădere ponderală, dureri abdominale şi icter obstructiv.

Definiția IRIS (consens)

(A) Antecedente

- Diagnosticul TB înainte de inițiere ART
- Ameliorare sau stabilizare sub tratament antiTB

(B) Date clinice

- Debutul manifestărilor cu 3 luni înainte de ART

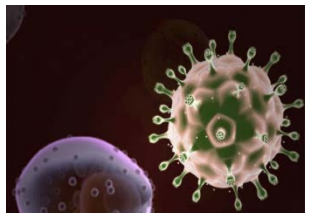
+ cel puțin 1 criteriu major sau 2 minore

CRITERII MAJORE IRIS

1) Limfadenopatii noi sau în extensie sau abcese reci,
2) Noi determinări radiologice sau extinderea/agravarea leziunilor TB preexistente;
3) Meningită sau agravarea unei TB SNC;
4) Serozite noi sau agravarea celor preexistente

Criterii minore IRIS

1) Simptome generale noi sau agravare clinică;
2) Simptome respiratorii noi sau agravare clinică;
3) Durere abdominală nouă sau agravată



Factorii de risc TB-HIV-IRIS:

- CD4 < 50,
- Formele TBEP/ diseminate
- Sexul masculin
- Vârsta tânără
- Raport scăzut CD4/CD8,
- Intervalul scurt între iniţierea tratamentului pentru infecţii oportuniste (ex antiTB) şi începerea terapiei ART.



Tratamentul IRIS

- Tratamentul preventiv de temporizare instituire ART 2 luni după terapia antiTB
- Tratamentul curativ rămâne necunoscut

- Majoritatea pacienţilor cu IRIS paradoxal nu prezintă simptome ameninţătoare de viaţă, deseori revenindu-şi spontan, fără necesitatea terapiei.

- Deoarece patogeneza sindromului este una inflamatorie, cazurile severe necesită corticosteroizi sistemici sau antiinflamatoare nesteroidiene, până la cuparea infecţiei.

- S-a menţionat în literatura de specialitate administrarea de Metilprednisolon i.v. 40 mg la fiecare 12 ore sau Prednison 20-70 mg/zi pentru 5-12 săptămâni.

Universitatea „Ovidius” Constanța

Școala Doctorală de Medicină

METODOLOGIA CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE ȘI MANAGEMENTUL PROIECTELOR ȘI GRANTURILOR DE CERCETARE

CSI dr. Habil. Georgeta-Camelia Cozaru

2025 - 2026

FIŞA DISCIPLINEI

2. Date despre disciplină

2.1 Denumirea disciplinei	**METODOLOGIA CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE ȘI MANAGEMENTUL PROIECTELOR ȘI GRANTURILOR DE CERCETARE**						
2.2 Cod disciplină	**SDM.1.1.02**						
2.3 Titularul activităților de curs	**CSI Dr. Habil. Cozaru Georgeta-Camelia**						
2.4 Titularul activităților aplicative	**CSI Dr. Habil. Cozaru Georgeta-Camelia**						
2.5 Anul de studii	**I**	2.6 Semestrul	**I**	2.7 Tipul de evaluare	**Ex.**	2.8 Regimul disciplinei */**	**DOB**

** DF – disciplină fundamentală, DS – disciplină de specializare, DC – disciplină complementară*
*** DOB – disciplină obligatorie; DOP – disciplină opțională; DFA – Disciplină facultativă*

3. Timpul total (ore pe semestru)

3.1 Număr de ore activități didactice pe săptămână	**4**	din care: 3.2 curs	**2**	3.3 aplicații***	**2**
3.4 Total ore activități didactice pe semestru	**56**	din care: 3.5 curs	**28**	3.6 aplicații	**28**
3.7 Total ore de studiu individual					**194**
Distribuția fondului de timp					*[ore]*
Studiul cărților, manualelor, suportului de curs, notițelor, bibliografie minimală recomandată					80
Documentare suplimentară în bibliotecă, pe platformele electronice de specialitate şi pe teren					50
Pregătire seminar / laborator / proiect, teme, referate, portofolii şi eseuri					30
Pregătire pentru prezentări sau verificări					30
Pregătire pentru examinarea finală					4
Alte activități: consultații					-
3.8 Total ore pe semestru	***250***				
3.9 Numărul de credite	**10**				

**** S - seminar; L - laborator; P - proiect*

8.1 Curs	Metode de predare	Număr ore alocate
1. **Introducere în metodologia cercetării științifice** – concepte fundamentale, rolul cercetării, tipuri de cercetare.		2
2. **Cercetarea medicală**: obiectiv, calitățile și justificarea unui studiu		2
3. **Medicina bazată pe dovezi** – definirea conceptului, aplicabilitate în practica medicală		2
4. **Etapele cercetării științifice (I)** – pregătirea studiului: definirea fenomenului, stabilirea temei, scop, obiective, ipoteze		2
5. **Etapele** tipuri d		
6. **Etapele datelor**		
7. **Metod** experin		
8. **Metod** analiza		
9. **Manag** calenda		
10. **Manag** buget, raportare financiară.		
11. **Structura și redactarea unei teze de doctorat** – capitole, stil academic, referințe bibliografice.		2
12. **Structura și redactarea unui proiect de cercetare** – logica internă, obiective, metodologie, buget.		2
13. **Etica și integritatea academică în cercetare** – reguli, bune practici, plagiat.		2
14. **Prezentarea și valorificarea rezultatelor cercetării** – articole, conferințe, proiecte.		2

Bibliografie

[1] Raevschi, E., Penina, O., Obreja, G., (2025). Bazele biostatisticii și metodologia cercetării, Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina,* Chișinău

[2] Opran, C., (coord.), Managementul proiectelor, Editura Comunicare.ro, Bucuresti, 2002

[3] Cadariu, Andrei-Achimas (1998). "Metodologia Cercetării Ştiinţifice Medicale" - Editura Universitară "Iuliu Haţieganu", Cluj-Napoca,

[4] Popa, A. (2020). *Managementul proiectelor. Teorie și aplicatii*. Editura Economică, Bucuresti

[5] Comisia Națională de Etică a Cercetării Științifice. Codul de etică și deontologie a cercetării științifice. Disponibil la: https://cnecsi.ro

[6] Creswell, J. W. & Creswell, J. D. (2018). Research Design: Qualitative, Quantitative, and Mixed Methods Approaches (5th ed.). Sage.

[7] Hargreaves, D. (2021). Research Project Management: Key Concepts and Skills. Routledge.

[8] Băban, A. (2009, reeditare 2018). *Metode de cercetare calitativă*. Editura ASCR, Cluj-Napoca

8.2 Aplicații (seminar/laborator/proiect)* *Se alege tipul de aplicație aferent disciplinei	Metode de predare	Număr ore alocate
1. **Introducere si orientare** – prezentarea disciplinei, discutarea temelor de doctorat ale studentilor; identificarea domeniilor de interes.		2
2. **Analiza unui articol de cercetare medicală** – evaluarea obiectivului, justificării si relevantei studiului.		2
3. **Formularea unei probleme de cercetare** – exercitiu de definire a fenomenului, formularea scopului si obiectivelor		2
4. **Elaborarea** studiu și just		
5. **Construirea** operationali		
6. **Proiectarea** itemi, validit		
7. **Simularea** practice si fe		
8. **Utilizarea s** datelor în SI		
9. **Studiu de c** cercetare re		
10. **Exercitiu pr** grant de cer		
11. **Analiza crit** puncte forte si puncte slabe.		2
12. **Redactarea unui rezumat de proiect de cercetare** – titlu, scop, obiective, metodologie.		2
13. **Dezbatere** – dileme etice si cazuri de integritate academică.		2
14. **Prezentări finale** – sustinerea mini-proiectelor de cercetare/grant realizate de studenti si feedback.		2

Bibliografie

[1]. Vlădescu, C. (coord.). (2014). Sănătatea publică și management sanitar. Editura Publi H Press, București.

[2]. Mureșan, M. (2015). *Metodologia cercetării științifice medicale*. Editura Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca.

[3]. UEFISCDI. *Ghidurile aplicantului pentru competitiile nationale de cercetare* https://uefiscdi.gov.ro/

[4]. European Commission. *Horizon Europe Programme Guide* research-and innovation.ec.europa.eu

[5]. Organizatia Mondială a Sănătății (OMS). *Standards and Operational Guidance fo Research.* Disponibil la: https://www.who.int/health-topics/research

[6]. PubMed/NCBI. Baza de date biomedicală (acces permanent) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov

[7]. NIH (National Institutes of Health). *Grants & Funding Portal* (2024) https://grants.nih.gov

9. Evaluare

Tip activitate	9.1 Criterii de evaluare	9.2 Metode de evaluare	9.3 Pondere din nota finală
9.4 Curs	Verificarea cunoștințelor teoretice, Verificarea capacității de sinteză. Evaluarea comunicării și argumentării.	Examen scris (elaborarea unui proiect de cercetare medicală)	70 %
9.5 Aplicații* Laborator	Capacitatea de lucra în echipă. Aplicarea cunoștințelor în activitatea de proiectare	Participare activă la laborator/ Efectuarea activității de proiectare;	10 %
	Interes și capacitate de lucru pentru studiu individual și în echipă	Prezentarea unui referat (aplicarea unei metode analitice / studiu de caz)	20 %
9.6 Standard minim de performanță / Condiții de promovare			
Promovarea examenului cu nota minimă 8. Elaborarea și prezentarea unui mini-proiect de cercetare. Accesarea și utilizarea bibliografiei recomandate.			

1. Introducere în metodologia cercetării științifice

1. 1. Definiții ale cercetării științifice:

- **Dicționarul de sociologie (Oxford):** Cercetarea științifică este „procesul sistematic de colectare și analiză a datelor pentru a dezvolta sau a verifica teorii și explicații despre fenomene.” ➡️ ***pune accentul pe proces***
- **Fred Kerlinger (1973)**: „Cercetarea este o investigație sistematică, controlată, empirică și critică a fenomenelor naturale ghidată de teorii și ipoteze.” ➡️ ***subliniază partea de metode***
- **John Creswell (2018):** „Cercetarea reprezintă o abordare planificată, organizată și obiectivă de a răspunde la întrebări și de a rezolva probleme.” ➡️ ***subliniază partea de organizare, obiectivitate și orientare spre rezolvarea problemelor***
- **În medicină:** „Cercetarea medicală este ansamblul studiilor clinice și de laborator care au ca scop crearea de noi cunoștințe despre sănătate și boală, pentru îmbunătățirea îngrijirii pacienților.”➡️ s***ublinează finalitatea practică***: ***îmbunătățirea îngrijirii pacienților, descoperirea de tratamente, prevenția bolilor.***

👉 Nu există o singură definiție a cercetării științifice. În funcție de domeniu și de autor, accentul se pune pe aspecte diferite: **teorie**, **metodă**, **rigoare**, **aplicabilitate**.

👉 Nu cercetăm doar ca să știm mai mult, ci ca să putem face mai bine.

Cercetarea medicală

Termenul „**cercetare în domeniul sănătății**”, numit uneori și „**cercetare medicală**” sau „**cercetare clinică**” se referă la cercetările efectuate pentru a afla mai multe despre ***sănătatea umană.***

➡️ își propune să găsească ***modalități mai bune de prevenire și tratare a bolilor.***

➡️ poate oferi ***informații importante, clare și bazate pe dovezi*** despre diferite afecțiuni, factori de risc, rezultate ale unor tratamente sau modele de îngrijire și costuri pentru asistență medicală.

SCOPUL cercetării medicale este să genereze cunoștințe și soluții care să protejeze sănătatea și să îmbunătățească viața oamenilor.

❑ Principalele obiective ale unei cercetări medicale:

1. Îmbunătățirea cunoștințelor despre boli

- Studierea cauzelor, mecanismelor și evoluției bolilor.
- Identificarea factorilor de risc și a interacțiunilor genetice sau de mediu.

2. Dezvoltarea și evaluarea tratamentelor

- Testarea eficienței medicamentelor, terapiilor sau procedurilor medicale.
- Compararea diferitelor opțiuni de tratament pentru a găsi cele mai bune rezultate.

3. Prevenția bolilor

- Crearea de strategii și programe de prevenție (vaccinuri, recomandări de stil de viață, screening-uri).
- Reducerea incidenței și impactului bolilor în populație.

4. Îmbunătățirea calității vieții pacienților

- Dezvoltarea de metode de monitorizare și management al simptomelor.
- Optimizarea îngrijirii și suportului medical.

5. Informarea politicilor de sănătate

- Furnizarea de date științifice pentru luarea deciziilor în sănătatea publică și alocarea resurselor.

1.2. Concepte fundamentale

- **Metodologia cercetării -** reprezintă **ansamblul de principii, practici, proceduri și metode** sistematic utilizate pentru a investiga o problemă, a colecta date și a răspunde la obiectivele cercetării, având **scopul** de a obține **informații** într-un mod **riguros și coerent**.
  - Aceasta oferă un ***cadru*** care ***ghidează*** cercetătorul prin etapele necesare, asigurând că cercetarea este realizată într-un mod eficient, fezabil și aliniat cu scopurile stabilite.

- **Componentele metodologiei cercetării:**

Principii și Teorii:

- Bazele teoretice și principiile generale care stau la baza cercetării și care influențează alegerile metodologice.

Metode:

- Instrumente și tehnici specifice utilizate pentru colectarea datelor, cum ar fi chestionare, interviuri sau observații.

Proceduri:

- Pașii concreți și ordinea logică în care sunt aplicate metodele alese, pentru a asigura o desfășurare organizată a cercetării.

Metodologia cercetării include:

- **Instrumentele de măsurare** (teste, chestionare, analize de laborator).
- **Modalitățile de colectare a datelor** (observații, interviuri, probe biologice).
- **Tehnici de analiză statistică sau calitativă.**
- **Proceduri etice și de validare a rezultatelor.**

👉 „Dacă **cercetarea** e o ***călătorie***, **metodologia** este ***harta și traseul*** care îți arată cum ajungi de la întrebare la răspuns.”

Rolul metodologiei cercetării:

•Structurare:

Oferă un **cadru coerent și logic** pentru întreaga activitate de cercetare, definind ***etapele, metodele și tehnicile utilizate***, astfel încât procesul științific să fie organizat, eficient și reproductibil.

•Validare:

Contribuie la ***validarea rezultatelor***, asigurând că acestea sunt obținute printr-o abordare riguroasă, controlată și bazată pe criterii științifice clare, reducând riscul de erori și interpretări subiective.

•Replicabilitate:

Permite altor cercetători să reproducă studiul în condiții similare și să obțină rezultate comparabile, ceea ce confirmă ***consistența și credibilitatea cercetării***.

•Obiectivitate:

Asigură ***independența rezultatelor*** față de opiniile, convingerile sau preferințele cercetătorului, contribuind la obținerea unor date valide, fiabile și generalizabile.

•Transparență:

Facilitează comunicarea clară a modului în care a fost realizată cercetarea, permițând evaluarea critică, peer-review-ul și integrarea rezultatelor în cunoașterea științifică globală.

Design-ul cercetării

- **Design-ul cercetării** reprezintă **planul general sau structura studiului** – practic, cum este organizată cercetarea pentru a răspunde întrebărilor științifice.

Include:

- ***Tipul studiului*** (ex.: experimental, observațional, transversal, longitudinal, studiu de cohortă, studiu de caz-control).
- ***Modul*** în care sunt ***selectați participanții*** (populație țintă, eșantionare).
- ***Variabilele studiate și relațiile dintre ele.***
- ***Cronologia și durata studiului*** (ex.: studiu prospectiv sau retrospectiv).

Exemplu simplu: un studiu despre efectul unui nou medicament:

- Design-ul poate fi un **studiu clinic randomizat, dublu-orb, controlat cu placebo** ➡️ arată cum vor structura studiul și cum vor compara grupurile.

👉**Design-ul cercetării** este ***fundația***: dacă îl alegi greșit, tot studiul se clatină!

Dacă îl alegi corect, ai șanse mari ca rezultatele să fie relevante și aplicabile!

- **Metoda** – procedeu concret de obținere si analiza a datelor (ex.: interviu, chestionar etc.) pentru a răspunde la întrebările sau ipotezele cercetării.

- **Exemplu:**
  - **Chestionar** → instrument standardizat, cu întrebări fixe, identice pentru toți respondenții; administrare scrisă (pe hârtie sau online); permite aplicarea pe eșantioane mari → date cantitative, ușor de analizat statistic.
    - *Exemple:„Pe o scală de la 1 la 5, cât de des simțiți stres în perioada sesiunii?”„Ați avut tulburări de somn în ultimele 2 săptămâni? (da/nu)”*
  - **Interviu semi-structurat** → metodă calitativă bazată pe o discuție ghidată de câteva întrebări-cheie, dar cu libertate de explorare; produce date calitative, profunde, despre percepții, emoții, experiențe.
    - *Exemple:„Cum v-a afectat chimioterapia activitățile de zi cu zi?”„Ce strategii folosiți pentru a face față efectelor secundare?”*

Metode de obținere a datelor clinice/medicale

🔹 **1. Metode cantitative (măsurabile, standardizate) -** se bazează pe date numerice, măsurabile, și permit analize statistice. ➡️ **Scop**: pentru a descoperi **relații, corelații, diferențe** între variabile.

- **Fișe și registre medicale** – date extrase din dosarele pacienților, registre de boală.
- **Măsurători clinice directe** – tensiune arterială, puls, temperatură, IMC, circumferință abdominală.
- **Teste de laborator** – analize biochimice, hematologice, imunologice.
- **Investigații imagistice** – ecografie, RMN, CT, radiografii.
- **Scale și instrumente standardizate** – ex. Beck Depression Inventory, SF-36 pentru calitatea vieții.
- **Monitorizare electronică** – holter EKG, glucometru, smartwatch-uri medicale.

🔹 **2. Metode calitative (exploratorii, descriptive)** ➡️ **Scop**: pentru a înțelege **semnificații, percepții, experiențe**.

- **Interviuri în profunzime** – discuții individuale pentru a explora experiențele pacienților.
- **Focus-grupuri** – discuții de grup (6–10 persoane) pentru a înțelege opiniile colective.
- **Observație clinică** – cercetătorul observă comportamente, interacțiuni, atitudini în context clinic.
- **Jurnale / auto-raportări** – pacienții notează zilnic simptome, starea emoțională, efectele secundare.

👉 **Alegerea metodelor de cercetare depinde de factori precum:**

→ perspectiva teoretică şi tipul fenomenelor studiate

→ scopurile şi obiectivele studiului

→ posibilităţile cercetătorului de a utiliza o metodă, o tehnică sau anumite instrumente

→ resursele financiare şi umane

→ durata în care se poate încadra cercetarea

Tehnica de cercetare

- **Definiție:** este **modalitatea practică, standardizată și reproductibilă** prin care se realizează efectiv colectarea, măsurarea sau analiza datelor în cadrul unui studiu.
  - Reprezintă **nivelul practic, aplicat** al cercetării.
  - Sunt „***instrumentele***” care fac posibilă ***aplicarea unei metode***.

👉 **Caracteristici esențiale ale unei tehnici riguroase**

- este **standardizată** (descrisă pas cu pas);
- este **reproductibilă** (altcineva o poate executa identic);
- are **validitate** și **fiabilitate** demonstrabile;
- include **măsuri de control al calității** (calibrare, controale, dubluri);
- respectă **cerințele etice** și de securitate biologică.

Diferența esențială

- **Metoda** = cadrul științific general → *„ce tip de drum aleg”*.
- **Tehnica** = instrumentul concret → *„cu ce mijloc de transport merg pe acel drum”*.

Ce trebuie să conțină descrierea tehnicii în secțiunea „Metode” a tezei?

1. **Denumirea tehnicii** + referință bibliografică sau ghid/protocol standard.

2. **Relația cu scopul studiului** (de ce această tehnică).

3. **Protocol pas cu pas** (recoltare, pregătire probe, parametri tehnici: viteze, volume, timpi).

4. **Echipament / kit** (model, fabricant, nr. lot dacă este relevant).

5. **Condiții de lucru** (temperatură, momentul recoltării, post alimentar etc.).

6. **Măsuri de control al calității** (calibrare, controale pozitive/negative, dubluri, coeficient de variație).

7. **Locul unde se efectuează procedura** (laborator, sectie, spital, centru de cercetare).

8. **Stocare / transport probe** (temperatură, timpi, conservanți).

9. **Unități de măsură, limite de detecție** și modul de prelucrare a datelor.

10. **Limitări cunoscute** ale tehnicii.

1. Cercetare cantitativă (clinic-statistică)

Scop: măsurarea relațiilor cauzale, diferențelor sau eficienței tratamentelor.

- **Exemple de metode:**
  - Studiu clinic randomizat (RCT)
  - Studiu observațional (cohortă, caz-control, transversal)
  - Studiu epidemiologic descriptiv
  - Analiza statistică a datelor medicale
  - Experiment de laborator

- **Exemple de tehnici aferente:**
  - Măsurarea parametrilor fiziologici (tensiune, glicemie, puls etc.)
  - Prelevare de probe biologice (sânge, salivă, țesut)
  - Teste biochimice și imunologice (ELISA, PCR, Western blot etc.)
  - Examinări imagistice (CT, RMN, ecografie)
  - Aplicarea de chestionare standardizate (de exemplu, SF-36 pentru calitatea vieții)
  - Analiza statistică a datelor (SPSS, R, GraphPad)

2. Cercetare experimentală de laborator

Scop: testarea efectelor unui tratament, substanțe sau mecanism biologic.

- **Metode:**
  - Experiment *in vitro* (pe culturi celulare)
  - Experiment *in vivo* (pe modele animale)
  - Studiu farmacologic preclinic
  - Teste de toxicitate

- **Tehnici:**
  - Microscopia (optică, electronică, fluorescență)
  - Culturi celulare și transfectare genetică
  - Determinări enzimatic-biochimice
  - Spectrofotometrie
  - Western blot, PCR, ELISA, secvențiere
  - Analiza histologică și imunohistochimică

3. Cercetare clinică a pacienților

Scop: evaluarea impactului unei intervenții, tratament sau proceduri medicale.

- **Metode:**
  - Studiu longitudinal (urmărirea evoluției în timp)
  - Studiu transversal (evaluare la un moment dat)
  - Studiu comparativ (pacienți vs. martori)
  - Studiu retrospectiv (pe baza fișelor medicale, registre, baze de date)
  - Studiu prospectiv (participanții sunt urmăriți în timp, către viitor)

- **Tehnici:**
  - Examinare clinică standardizată
  - Analiză de laborator a probelor biologice
  - Măsurători antropometrice (IMC, perimetru abdominal)
  - Interviuri clinice structurate
  - Analiza dosarelor medicale electronice

- **Exemple medicale de studii retrospective -** analizează **evenimente trecute**, folosind date deja existente (fișe medicale, registre, baze de date), pentru a identifica ***asocieri între factori de risc și apariția unor boli.***

1.Studii caz–control:

1. Alegem 500 pacienți cu cancer pulmonar și 500 fără cancer.
2. Analizăm retrospectiv dacă au fumat în ultimii 20 de ani.
3. → Pornim de la rezultat (boala) și căutăm expunerea în trecut.

2.Analiză de fișe medicale:

1. Verificăm dosarele pacienților spitalizați între 2015–2025 pentru infarct miocardic.
2. Vedem ce medicamente luau înainte și ce factori de risc aveau.

- **Avantaje**
  - Rapid și mai puțin costisitor (folosește date deja existente).
  - Util pentru boli rare sau cu latență lungă.
  - ***Permite generarea de ipoteze care apoi pot fi testate prospectiv***.

- **Dezavantaje**
  - Date incomplete sau de calitate variabilă în fișe.
  - Nu putem controla confounderii la fel de bine ca într-un studiu prospectiv.

- **Exemple medicale de studii prospective -** participanții sunt ***urmăriți în timp***, **către viitor**, pentru a observa ***apariția unor evenimente sau evoluția unor boli***, în funcție de factori de risc sau de expuneri definite la începutul studiului.

1.Cohortă prospectivă:

1. Luăm un grup de 5000 de fumători și 5000 de nefumători, îi urmărim timp de 10 ani și vedem câți dezvoltă cancer pulmonar.
2. → Pornim de la expunere și urmărim rezultatul.

2.Studii clinice randomizate (RCT):

1. Pacienții cu hipertensiune sunt împărțiți randomizat: unii primesc un medicament nou, alții placebo.
2. Sunt urmăriți prospectiv 2 ani pentru a observa cine își normalizează tensiunea arterială.

- **Avantaje**
  - Claritate temporală (știm că expunerea a precedat boala).
  - Permite estimarea **incidenței** și a **riscului relativ**.
  - Reduce riscul de bias de memorie (nu trebuie să ne bazăm pe amintirile pacienților).

- **Dezavantaje**
  - Costisitor și consumă mult timp.
  - Necesită urmărirea participanților → există risc de pierdere la follow-up (abandon).
  - Nu e practic pentru boli rare sau cu perioadă lungă de latență.

Ce este eșantionul în cercetare?

Eșantionul reprezintă **grupul de persoane, cazuri sau probe biologice** selectate pentru studiu, dintr-o **populație mai mare**.

👉 Este „**materialul uman**” al cercetării, adică cei asupra cărora se aplică metodele și tehnicile de studiu.

👉 În cercetările medicale, expresia „***materialul cercetării***” este folosită adesea ca o formulare mai generală, care include:

- eșantionul (pacienți, animale de laborator, culturi celulare);
- instrumentele și aparatura utilizate (analizatoare, microscoape, reactivi);
- datele și documentele analizate (fișe clinice, rezultate de laborator, imagini CT/RMN).

Deci, **materialul cercetării = eșantion + instrumente + date.**

Ce este procedura de cercetare?

- Reprezintă **ansamblul etapelor operaționale** prin care se realizează efectiv studiul științific, conform unui **plan metodologic prestabilit**, în scopul obținerii datelor necesare verificării ipotezelor sau atingerii obiectivelor propuse.
  - descrie **modul concret de aplicare a metodelor și tehnicilor** asupra eșantionului sau materialului de cercetare, **indicând *ordinea, condițiile, instrumentele, durata și criteriile de control*** ale procesului investigativ.

- **Rolul procedurii în cercetarea medicală**

În științele medicale, procedura are o dublă funcție:

1. Funcția operațională – asigură aplicarea coerentă a metodelor de investigație clinică, de laborator sau statistică, permițând reproducerea și comparabilitatea rezultatelor între cercetători și centre de studiu.

2. Funcția etică și de control al calității – garantează respectarea protocoalelor standardizate, a principiilor etice (consimțământ informat, confidențialitate, minimizarea riscurilor) și a rigurozității științifice.

- **În cercetarea medicală, procedura include:**

1.Etapele pregătitoare

1. obținerea acordurilor etice (Comisia de Etică, consimțământul informat);
2. selecția eșantionului conform criteriilor stabilite;
3. pregătirea instrumentelor și a aparaturii.

2.Colectarea datelor

1. cum s-au aplicat tehnicile (ex: recoltarea probelor, efectuarea testelor, aplicarea chestionarelor);
2. în ce condiții s-a făcut recoltarea (post, dimineața, poziție standard etc.);
3. câte repetări s-au făcut pentru validarea rezultatelor.

3.Prelucrarea și analiza datelor

1. cum s-au stocat și analizat datele;
2. ce programe statistice sau metode de analiză s-au folosit (SPSS, GraphPad, analiza ANOVA, test t etc.);
3. cum s-au gestionat datele lipsă sau erorile.

- **Ipoteza cercetării** – presupunere formulată pe baza cunoștințelor existente, care poate fi testată prin cercetare și care descrie relația dintre două sau mai multe variabile.
  - Este „***punctul de pornire***” al studiului, direcționează alegerea metodei și analizei statistice.

❑ **Tipuri de ipoteze:**

1. Ipoteză nulă (H0): presupune că ***nu există diferență / relație între variabile***; este **folosită în cercetările cantitative**, mai ales când se fac **teste statistice** (de exemplu: test t, ANOVA, chi-pătrat etc.).

- *Exemplu:* „Nu există nicio diferență în valorile tensiunii arteriale între pacienții care fac exerciții fizice și cei sedentari.”

2. Ipoteză alternativă/ specifică (H_1 sau H_a): este opusul ipotezei nule: afirmă că există o relație sau o diferență semnificativă între variabilele analizate.

- *Exemplu:* „Exercițiul fizic regulat reduce tensiunea arterială la pacienții hipertensivi.”

➢ ***Direcțională***: specifică sensul relației → „Exercițiul fizic *scade* tensiunea arterială.”

➢ ***Nedirecțională***: afirmă doar că există o diferență → „Exercițiul fizic *modifică* tensiunea arterială.”

➢ ***Cauzală***: „Fumatul *crește riscul* de cancer pulmonar.”

➢ ***Asociațională***: „Există o asociere între fumat și cancer pulmonar.”

3. Ipoteze specifice (de cercetare)

•În unele lucrări (mai ales licență/disertație), se formulează **ipoteze de cercetare** (sau *specifice*), care **nu sunt neapărat testate statistic**, dar orientează cercetarea.

•Ele pot fi formulate chiar și în studii calitative, unde nu se folosește H_0.

- Ex.: „Se presupune că nivelul de stres este influențat de mediul de muncă.”

Tip cercetare	Se folosește **ipoteza nulă**?	Se folosesc **ipoteze specifice**?
Cantitativă (cu analiză statistică)	✔ Da (H_0 și H_1)	✔ Da
Calitativă	❌ Nu (de obicei)	✔ Da, dar formulate mai liber

- **Variabilă** – caracteristică măsurabilă a unui fenomen sau individ (ex.: vârsta, tensiunea arterială).

- **Tipuri de variabile cu exemple:**
  - **Independentă (cauzală):** factor manipulat sau observat.
    - Ex.: nivelul de activitate fizică.
  - **Dependentă (efect):** rezultatul care se modifică în funcție de variabila independentă.
    - Ex.: tensiunea arterială.
  - **De control:** factori care pot influența rezultatele și trebuie ținuți sub observație.
    - Ex.: vârsta, sexul, dieta.

Exemplu - ***Studiu privind efectul dietei sărace în sare asupra tensiunii arteriale:***

- **Variabila independentă:** consumul de sare.
- **Variabila dependentă:** nivelul tensiunii arteriale.
- **Variabila de control:** indicele de masă corporală, vârsta, nivelul de activitate fizică.

- **Validitate** – măsura în care un studiu reflectă realitatea (validitate internă și externă).
  - **Tipuri:**
    - **Validitate internă:** dacă rezultatele studiului sunt cu adevărat datorate variabilelor studiate (nu altor factori).
    - **Validitate externă:** dacă rezultatele pot fi generalizate la populația largă.

- **Fiabilitate** – gradul de consistență și repetabilitate a rezultatelor.

Exemplu:

- Dacă același pacient își măsoară tensiunea arterială de trei ori cu același aparat și valorile sunt similare → instrumentul are fiabilitate bună.
- Dacă chestionarul de anxietate aplicat de mai mulți cercetători dă rezultate asemănătoare → fiabilitate inter-evaluator.

Etică în cercetare

se referă la un ***set de standarde de conduită morală și principii de buna practică*** care ghidează cercetătorii în toate etapele procesului de cercetare, asigurând ***respectarea legilor, protecția demnității umane, distribuția echitabilă a beneficiilor și riscurilor***, precum și ***asumarea responsabilității profesionale***.

Ea vizează comportamentul adecvat al cercetătorilor, cu respectarea legislației, libertatea în știință și adoptarea unor **principii etice** solide:

- Consimțământ informat (pacientul înțelege și acceptă participarea).
- Confidențialitate și protecția datelor personale.
- Evitarea plagiatului și a falsificării datelor.
- Raportarea onestă a rezultatelor.

Exemplu - *Într-un studiu privind un nou tratament pentru cancer:*

- pacienții trebuie să fie informați complet despre riscuri și beneficii,
- să aibă dreptul de a se retrage oricând,
- să li se protejeze identitatea în rapoarte și articole.

1.3. Rolul cercetării științifice

Cercetarea științifică are multiple roluri în progresul cunoașterii și în aplicabilitatea practică:

1. Generarea de cunoaștere nouă

- Descoperirea de fenomene necunoscute sau confirmarea unor teorii existente.
- **Exemplu:** descoperirea structurii ADN (Watson & Crick) → bază pentru genetica modernă.

2. Explicația fenomenelor

- Identificarea cauzelor și mecanismelor.
- **Exemplu:** legătura dintre Helicobacter pylori și ulcerul gastric → schimbare de paradigmă în tratament (antibiotice, nu doar antiacide).

3. Previziunea

- Anticiparea evoluțiilor și tendințelor.
- **Exemplu:** modelele epidemiologice care prezic răspândirea COVID-19.

4. Controlul și intervenția

- Crearea de strategii pentru a influența realitatea.
- **Exemplu:** dezvoltarea vaccinurilor ARNm (Pfizer, Moderna) → controlul pandemiei.

5. Dezvoltarea politicilor publice și ghidurilor clinice

- Deciziile de sănătate publică trebuie să fie fundamentate pe date științifice.
- **Exemplu:** ghidurile de tratament pentru hipertensiune (ESC/ESH Guidelines) elaborate pe baza studiilor clinice internaționale.

6. Progres tehnologic și inovare

- Transfer de cunoștințe către domenii aplicate: IT medical, robotică, telemedicină.
- **Exemplu:** chirurgia robotică ghidată de imagistică de înaltă rezoluție.

7. Educație și formare academică

- Cercetarea oferă studenților și doctoranzilor modele de gândire critică și rigurozitate.

👉 **Important:** un doctorand trebuie să contribuie la cunoaștere cu o **noutate / originalitate** (**teoretică, metodologică sau aplicată**).

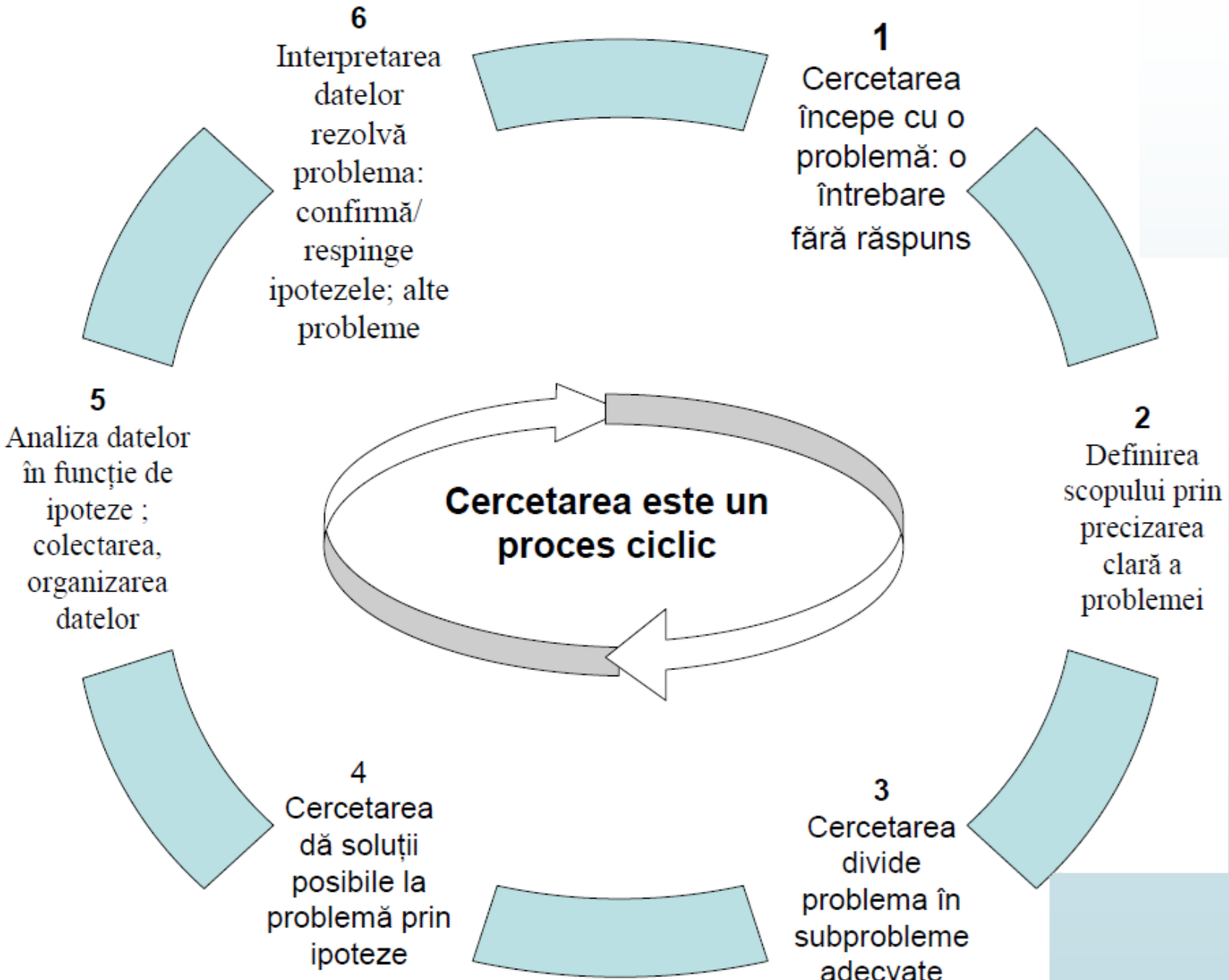
1.4. Tipuri de cercetare

- **După scop:**
  - **Fundamentală (teoretică):** explică mecanismele de bază ale fenomenelor biologice și medicale, fără a urmări neapărat o aplicare imediată.
    - Ex.: studierea modului în care o genă influențează dezvoltarea unei boli; cercetarea funcționării sistemului imunitar la nivel molecular.
  - **Aplicativă (practică):** răspunde unei nevoi practice; are ca scop folosirea rezultatelor cercetării fundamentale pentru a găsi soluții concrete la probleme medicale.
    - ***Obiectiv***: dezv. de tratamente, medicamente, tehnologii sau metode de diagnostic.
    - Ex.: testarea unui nou antibiotic împotriva bacteriilor rezistente.
  - **Cercetare translațională:** are ca scop să facă legătura între cercetarea fundamentală și cea aplicativă — adică să transforme descoperirile de laborator în aplicații clinice.
    - Ex: Descoperirea unei proteine implicate într-o boală (cercetare fundamentală) → dezvoltarea unui medicament care o țintește (aplicativă).
- **După abordare:**
  - **Cantitativă:** măsurare numerică, statistica.
    - Ex.: trial randomizat pentru un medicament.
  - **Calitativă:** descrie percepții, experiențe.
    - Ex.: interviuri cu pacienți oncologici despre calitatea vieții.
  - **Mixte:** combină ambele tipuri de cercetare.
    - Ex.: chestionare + focus-grupuri în studiile de sănătate publică.

- **După timp:**
  - **Transversală:** surprinde fenomenele şi procesele sociale la un moment dat.
    - Ex.: prevalența diabetului la populația adultă din România în 2025.
  - **Longitudinală:** studiază evoluția subiecților pe termen lung.
    - Ex.: studiul Framingham (cohortă urmărită >70 ani pentru boli cardiovasculare).
- **După nivelul de control**
  - **Observațională:** cercetătorul doar observă.
    - Ex.: studii caz-control pentru cancerul de col uterin.
  - **Experimentală:** cercetătorul intervine.
    - Ex.: administrarea unui nou tratament și compararea rezultatelor cu placebo.
- **După gradul de generalizare**
  - **Studii de caz:** detalierea unei situații unice.
  - **Studii multicentrice:** includ mai multe spitale/țări → rezultate generalizabile.
  - **Meta-analize:** sinteza tuturor studiilor publicate → cel mai înalt nivel de dovezi.

2. Cercetarea medicală: obiective, calități și justificarea unui studiu

Context general: ce este cercetarea medicală?



Context general: ce este cercetarea medicală?

- **Cercetarea medicală (sau biomedicală / de sănătate)** se referă la aplicarea metodelor științifice pentru a genera cunoștințe despre sănătate, boală, prevenție, diagnostic, tratament și reabilitare.
  - **Cercetare medicală de bază (fundamentală)** - investighează mecanisme moleculare, celulare, fiziologice.
  - **Cercetare medicală translațională** - procesul prin care rezultatele obținute în cercetarea fundamentală (de laborator, moleculară, genetică etc.) sunt transformate în aplicații practice pentru îmbunătățirea sănătății umane — cum ar fi noi metode de diagnostic, tratamente, medicamente sau tehnologii medicale.
  - **Cercetare clinică / aplicativă** - implică studii pe oameni (sau cu materiale biologice umane), testarea unor medicamente, intervenții, studii epidemiologice etc.

- ***Scopurile principale ale cercetării medicale***: îmbunătățirea stării de sănătate colective, reducerea morbidității și mortalității, optimizarea resurselor medicale și fundamentarea deciziilor în sistemele de sănătate.

👌 SCOPUL - definiție:

Scopul cercetării medicale reprezintă **intenția generală, direcția strategică și finalitatea majoră a studiului**, exprimată la un nivel **larg** și **abstract**, prin care cercetătorul precizează de ce realizează investigația și ce impact global urmărește (*de exemplu, îmbunătățirea diagnosticului, optimizarea tratamentului sau creșterea calității vieții pacienților*), fără a detalia încă pașii concreți sau metodele de măsurare.

Exemple:

- „Scopul acestei cercetări este de a contribui la înțelegerea impactului obezității materne asupra sănătății nou-născutului.”
- „Studiul are ca scop îmbunătățirea strategiilor de prevenire a bolilor cardiovasculare.”

👌 OBIECTIVUL – definiție

Obiectivul cercetării medicale reprezintă **enunțul concret, precis și măsurabil** care derivă din scopul general și descrie pașii operaționali prin care acesta va fi atins;

- obiectivele **indică exact ce se va analiza, compara sau demonstra** în cadrul studiului, fiind formulate specific și delimitat (*de exemplu, determinarea prevalenței unei boli, evaluarea eficacității unui tratament sau analiza asocierii dintre un factor de risc și o complicație clinică*).

Exemple:

- „A determina asocierea dintre IMC-ul matern și riscul de macrosomie.”
- „A evalua incidența hipoglicemiei neonatale la nou-născuți din mame obeze.”

Diferența esențială între scop și obiectiv

- **Scopul** = „destinația finală”, **viziunea de ansamblu** (unde vrem să ajungem)
- **Obiectivele** = „pașii concreți”, **drumul până acolo** (cum ajungem acolo)

2.1. Obiectivele cercetării medicale

- **1. Clasificare după nivelul de detaliere - s**e folosește frecvent în ***teze, articole, granturi***:

- **Obiective generale** – reprezintă direcția amplă a cercetării (viziunea de ansamblu a cercetării), care arată intenția principală a studiului și domeniul de interes investigat.
  - Sunt **formulate mai abstract**, de tipul „a evalua”, „a analiza”, „a studia”.
  - *Exemplu:* „A evalua impactul obezității materne asupra sănătății nou-născutului”.

- **Obiective specifice** – derivă din obiectivul general și îl concretizează.
  - **Sunt clare, măsurabile și delimitate**.
  - *Exemplu:*
    1. „A determina asocierea dintre IMC-ul matern și riscul de macrosomie la nou-născut.”
    2. „A evalua incidența complicațiilor neonatale (hipoglicemie, prematuritate).”
    3. „A analiza nivelurile de insulină și leptină la nou-născuți în funcție de statusul ponderal al mamei.”

👉 Când propui un studiu medical, trebuie să ai una sau mai multe obiective clare, formulate înainte de colectarea datelor. Obiectivele exprimă ce vrei să realizezi.

- **2. Clasificare după rolul în studiul propriu-zis *(folosită în trialuri clinice și metodologie internațională):***

- **Obiective primare:** reprezintă ***principalele aspecte*** pe care studiul își propune ***să le măsoare sau să le evalueze***, adică ***rezultatele esențiale*** care vor demonstra validitatea ipotezei formulate.

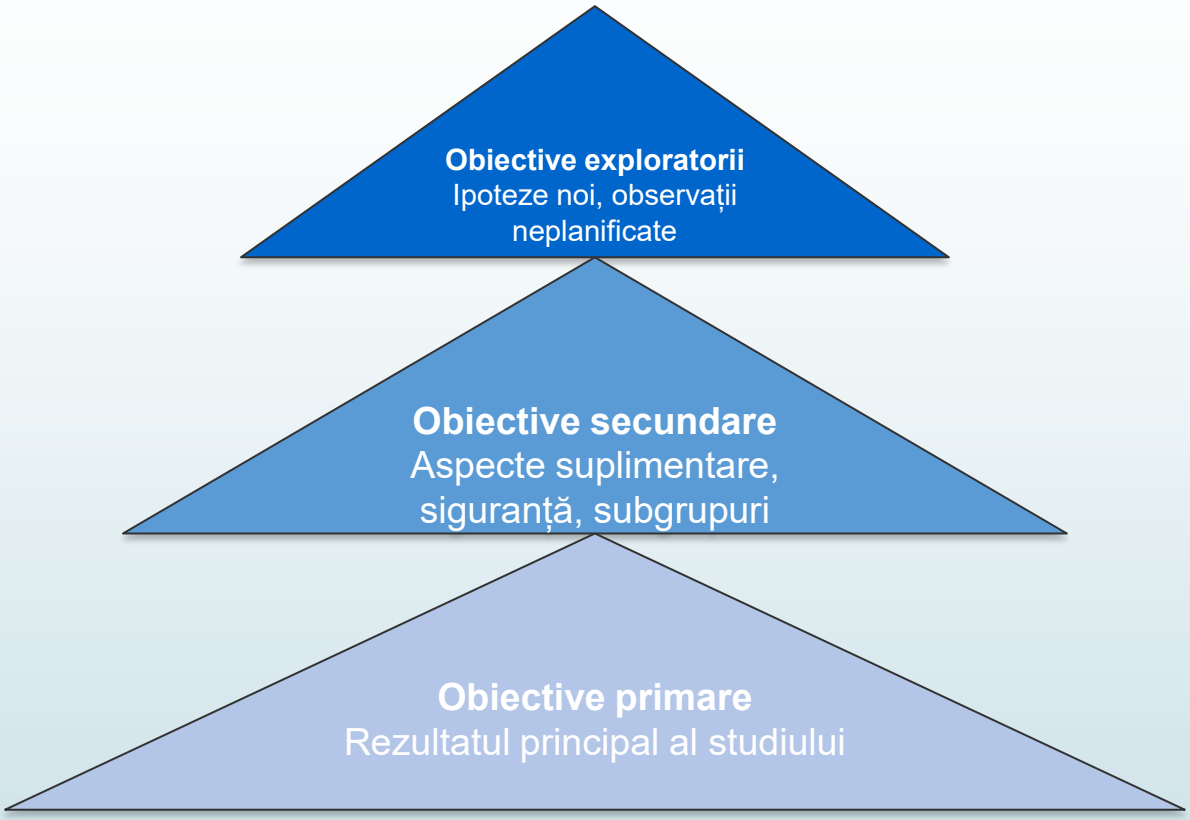
  Exemplu:
  - Determinarea eficienței unui nou tratament antihipertensiv asupra valorilor medii ale tensiunii arteriale după 6 luni.

- **Obiective secundare:** vizează ***alte aspecte de interes științific*** care completează înțelegerea fenomenului, dar nu sunt rezultatul principal al cercetării. Ele explorează efecte suplimentare, siguranța tratamentului, relații între subgrupuri sau factori asociați.

  Exemple:
  - Analiza efectelor adverse asociate tratamentului antihipertensiv.
  - Investigarea modificărilor profilului lipidic la aceiași pacienți.
  - Identificarea diferențelor de răspuns în funcție de sex sau vârstă.

- **Obiective exploratorii / adiționale: s**unt formulate pentru ***a genera ipoteze noi*** sau pentru a observa tendințe neprevăzute. Acestea nu sunt esențiale pentru demonstrarea ipotezei principale, dar ***pot deschide direcții viitoare de cercetare***.

  Exemple:
  - Explorarea relației dintre nivelul de stres și complianța la tratament.
  - Evaluarea influenței activității fizice asupra calității somnului în același eșantion.



👉 **Piramida obiectivelor**: baza solidă o reprezintă obiectivele primare – cele mai importante și măsurabile. Deasupra se află obiectivele secundare, care aduc informații suplimentare, iar în vârf cele exploratorii, care generează direcții noi de cercetare.

Exemple de obiective medicale în funcție de domeniul de aplicare

Domeniu	Exemple de obiective
Prevenire	Evaluarea eficacității unui program de vaccinare, reducerea factorilor de risc (fumat, dietă)
Screening / diagnostic precoce	Identificarea biomarkerilor de cancer la stadii incipiente
Tratament / terapie	Compararea unei molecule noi cu tratamentul standard; doze optime; regimuri combinate
Siguranță / tolerabilitate	Monitorizarea reacțiilor adverse în studiile clinice
Reabilitare / recuperare	Evaluarea programelor de fizioterapie după accident vascular cerebral
Calitatea vieții / outcome-uri pacient	Impactul unei terapii asupra simptomelor, bunăstării fizice și psihice
Economie în sănătate / cost-eficiență	Compararea costurilor și beneficiilor între tratamente
Servicii medicale	Evaluarea rezultatelor reale și variabilității practicei medicale în comunitate
Translaționale	Validarea unui biomarker descoperit în laborator în populații clinice

👉 Obiectivele trebuie să fie **SMART**:

- **S**pecific – ce vrei să demonstrezi
- **M**ăsurabil – să existe indicatori cuantificabili
- **A**tins / accesibil – viabil metodologic
- **R**elevant – legat de problema medicală
- **T**emporizat – cu un orizont de timp definit

***Exemplu*:**

„**Evaluarea efectului exercițiului fizic asupra tensiunii arteriale la pacienții hipertensivi**.”

- **Specific:** Evaluează modificarea tensiunii arteriale sistolice și diastolice.
- **Măsurabil:** Valorile TA se măsoară în mmHg.
- **Atins:** Se pot obține date prin monitorizare zilnică timp de 3 luni.
- **Relevant:** Rezultatul are impact direct asupra prevenției cardiovasculare.
- **Temporizat:** Studiul se finalizează în 3 luni.

2.2. Calitățile unui studiu medical bun

Un studiu medical de calitate - criterii esențiale:

1. Relevanța clinică / importanța problemei

- Tema trebuie să aibă **impact potențial real** asupra managementului pacientului sau asupra politicilor de sănătate. Nu este suficient să fie interesant teoretic — trebuie să aducă valoare practică.
  - *De exemplu*: un studiu asupra unei boli rare poate fi justificat atunci când investighează noi opțiuni terapeutice, mecanisme patogenice sau factori prognostici care pot schimba abordarea clinică, chiar dacă nu există încă tratament standard.

💡 **în bolile rare, relevanța nu vine din dimensiunea eșantionului, ci din potențialul de a aduce informații unice, care nu pot fi obținute altfel și care deschid calea spre soluții clinice.**

2. Originalitate / noutate

- Să aducă **element distinct** față de studiile anterioare (populație nouă, biomarker nou, metodologie inovatoare).
- Cercetarea repetitivă poate avea, în anumite situații, un rol justificat și relevant științific, cu condiția să fie argumentată corespunzător (de exemplu, prin scopuri de confirmare sau reproducere a rezultatelor).

3. Fezabilitate (realizabilitate)

- Resurse disponibile (financiare, echipamente, personal).
- Acces la populația țintă.
- Timp suficient pentru realizare, colectarea și analiza datelor.
- Aspecte logistice (recrutare, transport, laborator etc.).
- Studiul nu trebuie să fie „ideal”, ci trebuie să fie **realizabil** în condițiile date.

4. Rigoare metodologică

- **Alegerea designului adecvat** (RCT, cohortă, caz-control etc.) trebuie să corespundă întrebării de cercetare:
  - Dacă vrei să demonstrezi cauzalitate → alegi RCT.
  - Dacă vrei să observi factori de risc → alegi cohortă sau caz-control.
- **Calculul mărimii eșantionului și puterea statistică**.
  - Eșantionul trebuie să fie suficient de mare pentru a detecta diferențe reale - dacă eșantionul e prea mic → risc de a trage concluzii greșite
- **Controlul factorilor perturbatori (confounderi)** = variabile externe care pot influența relația dintre expunere și efect. (Ex.: dacă studiezi relația dintre cafea și infarct, fumatul poate fi un confounder.)

- **Randomizare, mascare (blinding), alocare în orb** (dacă e posibil).
  - **Randomizare**: distribuția aleatorie a participanților în grupuri → elimină biasul de selecție.
  - **Blinding** (orbirea/mascarea): pacienții și/sau medicii nu știu ce tratament primesc → reduce biasul de performanță și de evaluare.
    - ***Single blind***: pacientul nu știe.
    - ***Double blind***: nici pacientul, nici medicul nu știu.
    - ***Triple blind***: nici evaluatorul statistic nu știe.

- **Regulile de includere și excludere bine definite**.
  - **Criterii de includere**: cine **poate** participa (ex. vârsta 18–65 ani, diagnostic confirmat).
  - **Criterii de excludere**: cine **NU poate** participa (ex. comorbidități grave, sarcină).
  - Rolul lor este să obții un eșantion comparabil și relevant.

- **Analiză adecvată statistică și plan predefinit de analiză**
  - Înainte de a colecta datele, trebuie stabilit un plan statistic - cum se vor analiza rezultatele.
  - Acest plan se notează în protocolul studiului
  - Scopul este să evite „***bias-ul post-hoc***” (eroare sistematică de interpretare a datelor după ce rezultatele au fost deja observate): tendința de a formula ipoteze sau concluzii *după* ce ai văzut rezultatele, ca și cum ar fi fost planificate de la început. Cu alte cuvinte, cercetătorul ajustează interpretarea pentru ca datele obținute să „pară” că susțin o idee clară, chiar dacă aceasta nu a fost ipoteza inițială.

➢ **Elementele unui plan statistic**

1. Analiza principală: care este *outcome-ul primar* (rezultatul central) și cum va fi comparat între grupuri.

2. Testele statistice alese: trebuie precizate dinainte (chi-square, t-test, ANOVA, regresie logistică etc.), în funcție de tipul datelor.

3. Tratamentul datelor lipsă: cum vor fi gestionate cazurile incomplete sau pacienții care abandonează.

- **Monitorizare și control de calitate a datelor.**
  - Verificarea modului în care sunt colectate datele, pentru a evita erorile și fraudele.
  - Posibil prin **comitete de monitorizare a datelor** (Data Monitoring Committees).
  - *Exemple*: verificarea dublei introduceri a datelor, audituri, standardizare a măsurătorilor.

👉 Rigoarea metodologică este ca fundația unei case. Dacă e slabă, tot studiul se prăbușește!

De aceea, trebuie să alegi design-ul corect, să ai destui participanți, să controlezi factorii care pot denatura rezultatele și să analizezi datele într-un mod corect și transparent.

5. Validitate și fiabilitate

- Validitatea internă și externă trebuie să fie protejate.
- Fiabilitatea măsurătorilor (reproducibilitate între evaluatori, fiabilitate pe parcursul timpului).
- Validarea instrumentelor de măsurare (scale, chestionare) în populația studiată.

6. Etică și protecția participanților

- Consimțământ informat clar, accesibil, continuu.
- Evaluarea raportului beneficiu / risc.
- Confidențialitate, anonimizare, protecția datelor.
- Independența etică, comisia de etică, supraveghere.
- Declarații de conflict de interese, transparență.

7. Transparență și raportare conform standardelor

- Înregistrarea protocolului înainte de start (ex: ClinicalTrials.gov sau registru național).
- Publicarea rezultatelor indiferent de rezultatul (pozitiv sau negativ).
- Utilizarea ghidurilor de raportare: CONSORT pentru RCT, STROBE pentru studii observaționale, PRISMA pentru meta-analize etc.
- Detalierea metodologiei, limitărilor, surselor de bias etc.

Ce este **bias-ul**?

Bias = eroare sistematică care afectează validitatea rezultatelor unui studiu.

Spre deosebire de **eroarea aleatorie** (care se „anulează” dacă avem eșantion mare), bias-ul produce o **abatere constantă** de la adevăr **sau de la obiectivitate**, care influențează / deformează rezultatele unei cercetări, observații sau analize.

Consecința: rezultatele pot fi distorsionate și pot duce la concluzii greșite.

- **Tipuri frecvente de bias în cercetarea medicală**

1. Bias de selecție

Apare atunci când **grupurile comparate nu sunt echivalente** de la început.

Poate apărea dacă pacienții nu sunt aleși aleatoriu sau dacă criteriile de includere sunt incorect aplicate, iar diferențele observate se datorează selecției, nu intervenției.

- ***Exemplu*:** Un spital vrea să testeze eficiența unei noi terapii pentru insuficiența cardiacă.
  - **Grupul de tratament**: sunt incluși doar pacienți internați într-o clinică privată, care au acces la îngrijiri mai bune, dietă supravegheată și controale regulate.
  - **Grupul de control**: sunt incluși pacienți dintr-un spital public, unde accesul la resurse și monitorizare este limitat.
  - La final, pacienții din clinica privată par să evolueze mai bine.
  - **Problema:** diferența nu reflectă neapărat eficiența terapiei, ci faptul că pacienții provin din medii diferite, cu îngrijiri diferite.

2. Bias de performanță

Apare atunci când participanții sau personalul implicat **știu cine primește tratamentul și cine nu**, ceea ce influențează rezultatele.

Se reduce prin **mascare/blinding**.

- ***Exemplu*:** Dacă medicul știe că pacientul primește noul medicament, poate să îi acorde mai multă atenție și îngrijire, ceea ce influențează evoluția, independent de efectul real al medicamentului.

3. Bias de detecție

Apare atunci când modul de evaluare a rezultatelor diferă între grupuri.

- ***Exemplu*:** Pacienții din grupul experimental sunt monitorizați mai atent, deci li se descoperă mai repede complicațiile.

4. Bias de excludere / abandon

Apare când rata de pierdere a participanților diferă între grupuri.

- ***Exemplu*:** Într-un RCT, mai mulți pacienți părăsesc grupul placebo pentru că nu văd efecte, ceea ce influențează analiza finală.

5. Bias de publicare (Publication bias)

•Studiile cu rezultate „pozitive” sunt publicate mai des decât cele cu rezultate negative sau nule.

- ***Consecință***: literatura științifică devine „deformată” în favoarea tratamentelor care par mai eficiente decât sunt.

RCT = *Randomized Controlled Trial* → **trial clinic randomizat controlat**

Un RCT este un **studiu experimental** în care participanții sunt **repartizați aleatoriu (randomizați)** în două sau mai multe grupuri:

- **Grup de intervenție (experimental):** primește noul tratament / procedură testată.
- **Grup de control:** primește tratamentul standard, placebo sau niciun tratament (în funcție de design).

Randomizarea:

- are rolul de a minimiza influența factorilor de confuzie, astfel încât eventualele diferențe dintre grupuri să poată fi atribuite intervenției testate.
- contribuie la reducerea biasului de selecție și la echilibrarea factorilor de confuzie între grupuri, asigurând validitatea internă a studiului.

Scopul principal al unui RCT este de a evalua eficacitatea și siguranța unei intervenții medicale, prin compararea rezultatelor între grupurile randomizate.

Principalele ghiduri de raportare în cercetarea medicală

- **CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials)** este ghidul care oferă reguli pentru cum trebuie raportate corect rezultatele unui RCT: structură clară, transparență, fluxul participanților (diagrama CONSORT), limitări etc. (https://www.consort-spirit.org/)
  - Pentru: **trialuri clinice randomizate (RCT)**.
    - Include: checklist + diagrama de flux a participanților.
    - Scop: raportarea completă și corectă a modului de randomizare, alocare, intervenții, analize, rezultate și limitări.
    - Exemplu: orice studiu de fază III pentru un medicament nou trebuie raportat conform CONSORT.

- **STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology)**
  - Pentru: **studii observaționale** (https://www.strobe-statement.org/)
    - studii de cohortă
    - studii caz-control
    - studii transversale.
  - Conține: 22 de itemi care acoperă introducerea, metodele, rezultatele și discuția.
  - Scop: transparență și reducerea erorilor în studiile observaționale, care sunt mai vulnerabile la factori de confuzie.
  - *Exemplu*: un studiu de cohortă privind efectul poluării asupra incidenței astmului → trebuie raportat conform STROBE.
- **PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses)**
  - Pentru: **review-uri sistematice și meta-analize**. (https://www.prisma-statement.org/)
  - Include: checklist + diagrama fluxului de selecție a articolelor (număr articole găsite, excluse, incluse).
  - Scop: claritate în procesul de căutare, selecție și analiză a literaturii, pentru a preveni biasul de publicare.
  - *Exemplu*: meta-analiză despre eficiența terapiei cu statine → raportată cu diagrama PRISMA.

- **Alte ghiduri utile:**
  - **CARE** → pentru **raportarea studiilor de caz** (case reports).
  - **CHEERS** → pentru **studii de evaluare economică în sănătate** (cost-eficiență).
  - **SPIRIT** → pentru protocoale de trialuri clinice.
  - **SQUIRE** → pentru rapoarte de îmbunătățire a calității în sănătate.

- **Importanța folosirii ghidurilor**

1. Crește **calitatea științifică** și transparența.
2. Ușurează **peer-review-ul** și acceptarea în jurnale de prestigiu.
3. Permite **replicarea și compararea studiilor**.
4. Protejează împotriva suspiciunilor de raportare selectivă sau manipulare de date.

2.3. Justificarea studiului

👉 Este esențial ca atunci când propui un studiu să convingi comisia sau cititorul că este necesar și argumentat pe baze solide!

1. Identificarea golului de cunoaștere

- Realizează un review sistematic al literaturii.
- Identifică contradicții, lacune la populații subanalizate, studii cu metode slabe.
  - *Exemplu*: nu există studii pe populația de vârstă > 65 de ani privind efectele unui medicament.

2. Nevoia practică / clinică

- În practică, **medicii se confruntă zilnic cu decizii clinice**: ce tratament să prescriu, care metodă de diagnostic să aleg, când să intervin chirurgical etc.
- Uneori, aceste decizii nu sunt susținute de **dovezi științifice solide**, ci doar de experiență personală, de tradiție locală sau de recomandări incomplete.
- Aici intervine **nevoia practică de cercetare**: să genereze dovezi clare care să răspundă unei întrebări clinice reale și urgente.

3. Argumente de sănătate publică

- Boala studiată are o prevalență mare, incidență în creștere sau consecințe grave.
- Costurile asociate bolii sau tratamentului sunt mari.
  - *Exemplu*: obezitatea, bolile metabolice, bolile cardiovasculare — studii care pot genera intervenții de politică publică.

4. Argumente economice și cost-eficiență

- Dacă rezultatele studiului conduc la intervenții mai eficiente cu costuri mai mici.
- Raport beneficiu / cost: sunt fondurile investite justificate prin rezultatele anticipate?
  - *Exemplu*: un tratament mai scump dar care reduce internările pe termen lung.

5. Impact potențial și diseminare

- Studiul trebuie să aibă potențial de publicare în jurnale bune, citare, influență.
- Strategii de diseminare (cursuri, conferințe, politici de sănătate).
- Contribuție la formarea altor cercetători.

6. Legătura cu cercetarea existentă și sinergii

- Integrarea în proiecte mai mari sau programe naționale/internaționale.
- Colaborări cu alte centre, acces la baze de date mari.
- Posibilitatea ca rezultatele să fie puse în practică.

👉De reținut → obiective vs outcome vs indicatori

- **Obiective** = enunțuri **intenționale** care spun *ce vrem să demonstrăm/evaluăm*. Sunt formulări operaționale ale întrebării (ex. „a compara”, „a evalua”).
- **Outcome-uri (măsuri de rezultat)** = **rezultatele** clinice sau de parcurs pe care le **măsurăm** pentru a vedea dacă am atins obiectivul (ex. mortalitate la 30 zile, tensiunea medie, scoruri de calitate a vieții).
- **Indicatori** = **modul concret de cuantificare** a outcome-ului (unitate, instrument, moment de măsurare, prag). Sunt specificațiile tehnice ale măsurii.
- **Durata de urmărire** (follow-up), punctele de măsurare (baseline, 6 luni, 12 luni etc.).

👉 **Obiectivul** → este evaluat printr-un **Outcome** → care este cuantificat printr-un **Indicator** (definit exact).

3. Medicina bazată pe dovezi – definirea conceptului, aplicabilitate în practica medicală

Definirea conceptului - Medicina bazată pe dovezi
(MBD / Evidence-Based Medicine – EBM)

Reprezintă utilizarea conștientă, explicită și judicioasă a celor mai bune dovezi științifice disponibile pentru a lua decizii privind îngrijirea individuală a pacienților, integrând în acest proces **experiența clinică a medicului** și **valorile, preferințele și contextul pacientului.**

— *Sackett et al., BMJ, 1996*

- **Scopul EBM:**

Să asigure **decizii medicale corecte, sigure și eficiente**, bazate pe date validate științific, nu doar pe tradiție, autoritate sau intuiție.

„**Conștientă**” – decizia este luată intenționat, nu întâmplător.

„**Explicită**” – bazată pe argumente clare, nu doar pe rutină sau tradiție.

„**Judicioasă**” – aplicată cu discernământ, ținând cont de particularitățile fiecărui pacient.

Triada Medicinei Bazate pe Dovezi

Medicina bazată pe dovezi nu se limitează la aplicarea automată a rezultatelor cercetărilor științifice, ci reprezintă **un echilibru între știință, experiență clinică și individualitatea pacientului**.

Acest echilibru este exprimat prin **triada EBM**, formată din trei componente esențiale care trebuie integrate armonios în procesul decizional medical:

- **Cele mai bune dovezi științifice disponibile**
  (rezultate din studii clinice, metaanalize, ghiduri)
- **Expertiza clinicianului**
  (competență profesională, judecată clinică, experiență)
- **Valorile și preferințele pacientului**
  (ce își dorește, ce poate accepta, context socio-economic și cultural)

1. Cele mai bune dovezi științifice disponibile

Aceasta este **fundamentul teoretic și științific** al EBM.

- **Ce înseamnă:**

Prin „cele mai bune dovezi” se înțelege **informația validă, actualizată și relevantă**, obținută prin cercetări științifice riguroase. Aceste dovezi provin din:

- **Studii clinice randomizate controlate (RCTs)** – considerate „standardul de aur” în evaluarea eficacității tratamentelor;
- **Meta-analize și revizuiri sistematice** – care sintetizează rezultatele mai multor studii, oferind o imagine globală și mai robustă;
- **Studii observaționale, de cohortă și caz-control**, atunci când RCT-urile nu sunt disponibile;
- **Ghiduri și protocoale clinice bazate pe dovezi**, elaborate de instituții medicale și societăți profesionale (OMS, NICE, Cochrane, etc.).

- **Rolul lor:**
  - Ghidează deciziile medicale pentru diagnostice, tratamente și prevenție;
  - Reduc incertitudinea și subiectivismul în actul medical;
  - Asigură că deciziile sunt fundamentate pe cunoștințe științifice actuale, nu doar pe tradiție sau opinie.

- ***Exemplu*:**

În tratamentul hipertensiunii arteriale, dovezile științifice arată că inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei (IECA) reduc riscul de evenimente cardiovasculare – această informație devine baza deciziei clinice.

2. Expertiza clinicianului

Dovezile, oricât de solide, **nu pot fi aplicate mecanic**. Aici intervine **expertiza medicului**, a doua componentă a triadei.

- **Ce înseamnă:**

Expertiza clinicianului include:

  - **Competențele profesionale** acumulate prin formare și experiență practică;
  - **Judecata clinică** – capacitatea de a interpreta semnele și simptomele în contextul fiecărui pacient;
  - **Abilități de comunicare și empatie** – esențiale pentru relația medic-pacient;
  - **Capacitatea de a adapta ghidurile la situații clinice unice** (pacienți cu multiple comorbidități, reacții adverse, preferințe individuale etc.).

- **Rolul său:**

  - Interpretează și aplică dovezile în mod personalizat;
  - Decide când și cum se aplică un tratament standard;
  - Poate recunoaște situațiile în care „cea mai bună dovadă” nu este potrivită pentru un anumit pacient.

3. Valorile și preferințele pacientului

A treia componentă – adesea cea mai umană – este **centrată pe pacient**. Medicina bazată pe dovezi nu este completă fără a ține cont de **ce își dorește pacientul și ce poate accepta**.

- **Ce înseamnă:**

Aceasta include:

  - **Valorile personale** (convingeri, priorități, religie, filozofie de viață);
  - **Preferințele legate de tratament** (tipul intervenției, durata, posibile efecte adverse, confort);
  - **Contextul socio-economic și cultural** (acces la servicii medicale, resurse financiare, sprijin familial, nivel de educație);
  - **Gradul de implicare dorit în luarea deciziilor medicale** (parteneriat medic–pacient).

- **Rolul său:**

  - Asigură **respectarea autonomiei pacientului**;
  - Sporește **aderența la tratament** și satisfacția pacientului;
  - Permite **decizii comune (shared decision-making)**, bazate pe încredere și colaborare.

Interacțiunea dintre cele trei componente

Triada EBM funcționează **sinergic**:

- **Dovezile** furnizează informația;
- **Expertiza clinicianului** o interpretează și o aplică;
- **Valorile pacientului** determină dacă și cum este acceptată intervenția.

Echilibrul corect între aceste elemente transformă actul medical într-un **proces rațional, empatic și personalizat**, garantând cea mai bună îngrijire posibilă.

👉 **Concluzie generală**

Triada Medicinei Bazate pe Dovezi este expresia unei medicine moderne, **centrate pe pacient, ghidate de știință și umanizate de experiența clinicianului**. Aplicarea sa eficientă duce la:

- decizii medicale mai informate,
- rezultate clinice mai bune,
- satisfacția și implicarea activă a pacientului în propria îngrijire.

Aplicabilitatea în practica medicală

Medicina bazată pe dovezi are o aplicabilitate vastă în toate domeniile medicale. Iată principalele modalități prin care este utilizată:

1. Diagnostic

- Alegerea testelor diagnostice pe baza sensibilității, specificității și valorii predictive demonstrate științific.
- Reducerea utilizării investigațiilor inutile sau costisitoare.

2. Tratament și management terapeutic

- Alegerea celor mai eficiente și sigure tratamente (medicamente, proceduri, intervenții chirurgicale) pe baza studiilor clinice și a ghidurilor.
- Optimizarea rezultatelor terapeutice și reducerea riscurilor.

3. Prevenție și sănătate publică

- Aplicarea dovezilor în campanii de vaccinare, screening sau educație pentru sănătate.
- Elaborarea politicilor de sănătate bazate pe date reale, nu pe opinii.

4. Elaborarea ghidurilor clinice

- Ghidurile de practică medicală sunt construite pe baza EBM, sintetizând cele mai bune dovezi disponibile pentru a orienta deciziile clinice.

5. Educația medicală și formarea profesională

- Promovarea gândirii critice și a capacității medicilor de a evalua calitatea dovezilor științifice.
- Încurajarea actualizării continue a cunoștințelor.

Avantaje ale medicinei bazate pe dovezi

- Medicina bazată pe dovezi nu este doar o metodă de analiză științifică, ci un **cadru integrator** care transformă modul în care sunt luate deciziile medicale.
- Implementarea corectă a principiilor EBM generează multiple avantaje, atât pentru pacient, cât și pentru sistemul de sănătate.

- Crește calitatea actului medical.
- Asigură siguranța pacientului.
- Optimizează costurile în sistemul de sănătate.
- Susține deciziile medicale obiective și transparente.
- Încurajează colaborarea interdisciplinară.

- **1. Crește calitatea actului medical**

Medicina bazată pe dovezi promovează folosirea celor mai recente și mai riguroase informații științifice în diagnostic, tratament și prevenție.

- Medicul își fundamentează deciziile pe **date validate științific**, nu pe intuiție sau tradiție.
- Protocoalele și ghidurile bazate pe dovezi standardizează practica medicală, reducând variațiile nejustificate între medici sau unități medicale.
- Rezultatul este un **act medical mai coerent, predictibil și eficient**, în care erorile sunt reduse la minimum.

Exemplu: în cardiologie, aplicarea ghidurilor ESC (European Society of Cardiology) bazate pe dovezi a condus la scăderea semnificativă a mortalității post-infarct.

2. Asigură siguranța pacientului

Prin utilizarea tratamentelor și intervențiilor evaluate științific, medicina bazată pe dovezi **reduce riscurile și efectele adverse**.

- EBM identifică tratamentele dovedite ca fiind eficiente și elimină practicile lipsite de eficacitate sau potențial dăunătoare.
- Se pune accent pe **raportul risc-beneficiu**, evaluat obiectiv prin studii clinice.
- Pacientul primește îngrijiri sigure, personalizate și adaptate nevoilor sale.

Exemplu: utilizarea profilactică judicioasă a antibioticelor, doar în situații susținute de dovezi, reduce rezistența bacteriană și efectele adverse.

3. Optimizează costurile în sistemul de sănătate

Unul dintre efectele majore ale EBM este eficientizarea utilizării resurselor.

- Eliminarea tratamentelor inutile sau ineficiente scade costurile directe și indirecte.
- Alegerea intervențiilor cu cel mai bun raport cost-eficacitate (cost–benefit ratio) permite **alocarea rațională a resurselor**.
- Prin prevenirea complicațiilor și spitalizărilor evitabile, se reduc cheltuielile suplimentare ale sistemului.

Exemplu: programele de screening pentru cancerul de col uterin, bazate pe dovezi epidemiologice, previn cazurile avansate, economisind ulterior resurse terapeutice considerabile.

- **4. Susține deciziile medicale obiective și transparente**

MBE oferă medicului o **bază științifică solidă** pentru fiecare decizie, reducând influența factorilor subiectivi (opinie personală, presiune socială, marketing farmaceutic etc.).

- Deciziile sunt argumentate prin dovezi publice și verificabile.
- Pacientul poate înțelege logica recomandărilor și devine partener activ în procesul decizional.
- Se consolidează **încrederea medic–pacient** și se promovează transparența în practica medicală.

Exemplu: în oncologie, alegerea unui protocol terapeutic este susținută de date din studii clinice internaționale, nu de preferințe individuale ale medicului.

5. Încurajează colaborarea interdisciplinară

Medicina bazată pe dovezi favorizează cooperarea între specialități și domenii conexe (farmacie, psihologie, sănătate publică, bioetică).

- Ghidurile clinice și protocoalele bazate pe dovezi sunt adesea elaborate de **echipe multidisciplinare**.
- Rezultă o abordare integrată a pacientului, în care fiecare specialist contribuie cu expertiza sa.
- Se dezvoltă **cultura colaborării și comunicării profesionale**, esențială pentru medicina modernă.

Exemplu: tratamentul diabetului zaharat implică echipe formate din medic internist, nutriționist, psiholog și farmacist — toți lucrând pe baza acelorași dovezi științifice.

Beneficii la scară largă

Pe lângă impactul direct asupra medicului și pacientului, EBM are efecte pozitive asupra întregului sistem de sănătate:

- Crește **încrederea publicului în instituțiile medicale**.
- Permite **actualizarea continuă a politicilor de sănătate** pe baza datelor reale.
- Contribuie la **educația medicală continuă** și la formarea gândirii critice a medicilor.

⚠ Limitele și provocările Medicinei Bazate pe Dovezi

- Deși Medicina Bazată pe Dovezi este considerată fundamentul practicii medicale moderne, aplicarea sa nu este lipsită de obstacole.
- În ciuda avantajelor evidente – calitate, eficiență, siguranță – există o serie de **limitări teoretice, practice și etice** care trebuie înțelese și depășite.

- ➢ Accesul dificil la informații actualizate în unele contexte.
- ➢ Necesitatea competențelor de interpretare statistică.
- ➢ Posibilitatea ca unele situații clinice rare să nu fie acoperite de dovezi solide.
- ➢ Risc de aplicare rigidă a ghidurilor, fără adaptarea la pacient.

1. Accesul dificil la informații științifice actualizate

Deși trăim în era digitală, **nu toți medicii sau sistemele medicale au acces egal** la bazele de date, reviste științifice și meta-analize recente.

- Multe articole sunt disponibile doar contra cost sau prin abonamente instituționale scumpe.
- Lipsa infrastructurii informatice în unele spitale și clinici limitează accesul la dovezi.
- În plus, volumul uriaș de informații publicate zilnic face dificilă **selectarea celor relevante și de calitate**.

Exemplu: un medic de familie din mediul rural poate avea acces limitat la baze precum PubMed, Cochrane sau UpToDate, ceea ce îngreunează aplicarea celor mai noi ghiduri.

2. Dificultatea interpretării datelor și a statisticii medicale

EBM presupune nu doar accesul la date, ci și **capacitatea de a le înțelege critic**.

- Multe studii conțin termeni statistici avansați (intervale de încredere, hazard ratio, p-value etc.) greu de interpretat fără o pregătire specifică.
- Nu toate studiile sunt de calitate – există riscul de a utiliza dovezi slabe sau părtinitoare.
- Medicii pot ajunge să se bazeze excesiv pe concluziile autorilor, fără a evalua obiectiv metodologia.

Exemplu: un studiu mic, fără randomizare corectă, poate da impresia falsă că un tratament este eficient, când de fapt nu este.

- **3. Lipsa de dovezi pentru anumite situații clinice**

EBM se bazează pe studii existente – dar **nu toate bolile, terapiile sau categoriile de pacienți sunt suficient studiate**.

- Afecțiunile rare, cazurile atipice sau combinațiile multiple de boli sunt adesea **insuficient documentate**.
- În pediatrie, geriatrie sau obstetrică, datele pot fi limitate din motive etice sau practice.
- În aceste cazuri, **experiența clinicianului** și **judecata individuală** devin esențiale.

Exemplu: tratamentul unei boli rare genetice poate necesita decizii bazate mai mult pe experiență și cazuri izolate, decât pe studii randomizate.

- **4. Rigiditatea aplicării ghidurilor și pierderea individualizării pacientului**

Un risc frecvent al EBM este **interpretarea excesiv de strictă** a ghidurilor clinice.

- Pacienții diferă între ei – biologic, psihologic, social – și o abordare „universală” poate fi inadecvată.
- Medicii pot fi tentați să aplice protocoalele „ca la carte”, fără a ține cont de particularitățile fiecărui caz.
- Această rigiditate duce uneori la **medicalizarea excesivă** sau la **pierdera relației empatice** cu pacientul.

Exemplu: un ghid poate recomanda un anumit medicament ca primă linie, dar pentru un pacient cu reacții adverse severe, aplicarea strictă ar fi dăunătoare.

5. Influența factorilor economici și industriali

Uneori, „dovezile” pot fi influențate de **interese financiare**.

- O parte din studiile clinice sunt finanțate de companii farmaceutice, ceea ce poate duce la **părtinire (bias)** în prezentarea rezultatelor.
- Rezultatele negative sunt mai puțin publicate („*publication bias*”), ceea ce distorsionează percepția asupra eficacității unui tratament.
- Prin urmare, ***medicii trebuie să evalueze critic sursa și transparența dovezilor***.

Exemplu: un medicament nou poate fi promovat intens pe baza unor rezultate favorabile, în timp ce studiile nefavorabile rămân nepublicate.

6. Resurse limitate de timp în practica medicală

Implementarea EBM necesită timp pentru:

- căutarea literaturii științifice,
- analiza critică a studiilor,
- compararea opțiunilor terapeutice.

În realitate, medicii sunt adesea presați de **numărul mare de pacienți, birocrație și lipsa personalului**, ceea ce face dificilă aplicarea completă a principiilor EBM în fiecare caz.

Exemplu: într-un cabinet de consultații cu 30 de pacienți pe zi, medicul are foarte puțin timp pentru analiza sistematică a dovezilor în timp real.

7. Rezistența la schimbare și bariere culturale

Adoptarea EBM presupune o **schimbare de mentalitate** – de la medicina bazată pe autoritate la medicina bazată pe dovezi.

- Unii practicieni cu experiență pot considera noile dovezi o contestare a autorității lor profesionale.
- Lipsa de formare în EBM în timpul studiilor medicale poate genera neîncredere sau neînțelegere a conceptului.
- Cultura organizațională a spitalelor poate descuraja inițiativele de actualizare continuă.

Exemplu: medici care continuă să prescrie tratamente tradiționale, deși ghidurile actuale le consideră ineficiente.

8. Dileme etice și umane

În unele situații, aplicarea strictă a dovezilor poate intra în conflict cu **valorile personale ale pacientului** sau cu **principiile etice**.

- De exemplu, un tratament poate fi eficient statistic, dar inacceptabil moral sau religios pentru pacient.
- În aceste cazuri, medicul trebuie să îmbine **știința cu empatia**, respectând autonomia pacientului.

Exemplu: pacienții care refuză transfuziile de sânge din motive religioase, deși dovezile arată că acestea cresc șansele de supraviețuire.

Important:

- EBM reprezintă o **revoluție conceptuală** în practica medicală contemporană.
- Ea transformă medicina într-o disciplină **științifică, rațională și umanistă**, în care deciziile sunt luate ***în beneficiul pacientului***, pe baza celor mai bune dovezi, aplicate cu discernământ profesional și respect pentru valorile umane.
- Ea ***nu înlocuiește experiența medicului***, ci o completează prin integrarea celor mai recente și mai solide dovezi științifice, în beneficiul pacientului.

Pentru a-și atinge potențialul maxim, trebuie:

- susținută prin **educație medicală continuă**,
- aplicată **cu discernământ și empatie**,
- integrată în **contextul real al practicii medicale**.

👉 Adevărata valoare a EBM apare atunci când **dovezile științifice, experiența medicului și valorile pacientului** sunt armonizate pentru a asigura cea mai bună îngrijire posibilă.

4 – 6. Etapele cercetării științifice

Etapele cercetării științifice

În desfășurarea oricărui demers științific, trebuie luate **două decizii esențiale**:

1. **Ce anume se dorește să se descopere**
   - formularea clară a problemei și a obiectivelor cercetării
2. **Cum se va proceda pentru a realiza această descoperire**
   - stabilirea metodei și a planului de cercetare

Pentru a obține răspunsuri la întrebările de cercetare, este necesar să se urmeze o serie de pași practici:

- Se formulează **întrebarea de cercetare** și **ipoteza**.
- Se stabilește **metodologia** – adică *abordarea aleasă pentru a obține răspunsurile*.
- Se selectează **metodele și tehnicile** adecvate fiecărei etape.
- Fiecare etapă este concepută pentru a **atinge optim obiectivele propuse**.

Un proces de cercetare științifică riguros presupune **parcurgerea unor etape esențiale**, fiecare contribuind la clarificarea și structurarea demersului investigativ:

1. **Formularea problemei de cercetare** - se formulează clar problema sau întrebarea care se dorește a fi explorată.
    - Aceasta implică identificarea lacunelor în cercetare și specificarea aspectelor care se intenționează să se investigheze.

2. Efectuarea sintezei literaturii - se examinează cercetările existente și literatura relevantă pentru subiectul în cauză.

- Aceasta ajută la înțelegerea stării actuale a cunoștințelor, rafinarea problemei de cercetare și identificarea lacunelor care ar putea fi abordate de studiul preconizat spre realizare.

3. Formularea scopului și obiectivelor - se definește clar scopul principal al cercetării și se detaliază în obiective specifice și măsurabile.

- Aceste obiective vor ghida dezvoltarea designului și metodologiei cercetării.

4. Dezvoltarea designului cercetării - se elaborează un plan detaliat care include metodologia cercetării, designul studiului, metodele de eșantionare, procedurile de colectare a datelor și tehnicile de analiză.

5. Colectarea datelor - se adună datele necesare utilizând metodele selectate.

- Acest lucru poate include studii, interviuri, experimente sau analiza datelor secundare, în funcție de designul cercetării.

6. Analiza datelor - se procesează și se analizează datele colectate.

- Se folosesc tehnici statistice adecvate, bazate pe obiectivele cercetării și tipul de date.

7. Generalizarea și interpretarea rezultatelor - se formulează concluzii pe baza analizei datelor.

- Se interpretează rezultatele în raport cu obiectivele cercetării și se elaborează recomandări bazate pe aceste rezultate.

8. Prezentarea rezultatelor - se comunică constatările cercetării printr-un raport bine structurat și, dacă este necesar, printr-o prezentare orală.

Formularea problemei de cercetare

= constituie primul și cel mai esențial pas în procesul de cercetare → oferă direcție și concentrare întregului demers.

În selectarea problemei de cercetare, se iau în considerare următoarele aspecte:

- ***Interesul*** - se optează pentru o temă care stârnește un interes autentic. Pasiunea pentru subiect va sprijini menținerea motivației pe parcursul întregului proces de cercetare.
- ***Magnitudinea*** - se va asigura că tema este gestionabilă în contextul timpului și resurselor disponibile.
- ***Relevanța*** - cercetarea ar trebui să aducă o contribuție semnificativă la corpusul de cunoștințe existente.
- ***Disponibilitatea datelor*** - se va verifica accesibilitatea și posibilitatea colectării datelor necesare.
- ***Considerentele etice*** - se va asigura că cercetarea respectă standardele etice relevante.

👉 **O cunoaștere adecvată a domeniului general este crucială pentru a defini clar și eficient problema de cercetare!**

- **Etapele** de urmat pentru a contura o problemă de cercetare solidă:
  1. ***Identificarea domeniului general de interes*** - se începe prin selectarea unei arii generale care corespunde intereselor și expertizei cercetătorului.
  2. ***Descompunerea domeniului general în subdomenii*** - se segmentează domeniul general în subdomenii mai specifice pentru a restrânge aria de investigare.
  3. ***Selectarea subdomeniilor de interes*** se aleg subdomeniile cele mai relevante și atrăgătoare pentru obiectivele cercetării.
  4. ***Dezvoltarea întrebărilor de cercetare*** - se formulează întrebări precise la care urmează să răspundă cercetarea. Aceste întrebări vor ghida direcția studiului.
  5. ***Stabilirea ipotezei*** - pe baza întrebărilor de cercetare, se elaborează ipoteze care propun răspunsuri sau explicații posibile.
  6. ***Verificarea repetată*** - se va asigura că problema cercetării este bine definită, realizabilă și aliniată cu obiectivele de cercetare.

Care este diferența dintre „temă”, „problemă” și „întrebare de cercetare”?

Termen	Ce reprezintă	Exemplu
Tema	Domeniul general de interes	Diabetul zaharat tip 2
Problema de cercetare	Aspectul concret, nerezolvat, care necesită investigare	Creșterea incidenței diabetului la tineri, în ciuda campaniilor de prevenție
Întrebarea de cercetare	Formularea precisă la care studiul va răspunde	Care sunt factorii comportamentali asociați cu incidența crescută a diabetului la adulții tineri din mediul urban?

O problemă de cercetare bine formulată este:

- **Clar formulată** – fără ambiguități conceptuale.
- **Delimitată** – suficient de specifică pentru a putea fi investigată empiric.
- **Susținută de literatură** – derivată dintr-un gol de cunoaștere real.
- **Relevantă** – contribuie la avansul științei sau la îmbunătățirea practicii clinice.
- **Fezabilă** – se poate studia realist în limitele de timp, resurse și acces la date.

Sinteza literaturii

- Sinteza literaturii reprezintă o **etapă esențială în procesul de cercetare științifică**, având rolul de a **clarifica stadiul actual al cunoștințelor** și de a **identifica lacunele existente** în domeniul de interes.
- Aceasta oferă **contextul teoretic și empiric** al studiului, contribuind la **rafinarea problemei de cercetare**, la **alegerea adecvată a metodologiei** și la **formularea unor obiective realiste și relevante**.

Funcțiile sintezei literaturii:

1. Clarifică și focalizează **problema de cercetare**.
2. Fundamentează și îmbunătățește **metodologia studiului**.
3. Extinde **cadrul de cunoștințe** prin integrarea informațiilor existente.
4. Contextualizează **rezultatele obținute**, raportându-le la datele anterioare.

👉 *Prin urmare, sinteza literaturii nu este doar o etapă preliminară, ci o componentă critică ce conferă coerență și relevanță întregului demers științific.*

Proceduri pentru realizarea sintezei literaturii:

- **Identificarea literaturii existente** - se începe prin identificarea și colectarea literaturii relevante pentru domeniul de cercetare. Se utilizează baze de date academice și biblioteci pentru a găsi sursele necesare.
- ***Analiza literaturii selectate*** - se efectuează o analiză critică și o sinteză a literaturii pentru a evalua starea actuală a cercetărilor pe subiectul în cauză.
- **Dezvoltarea unui cadru teoretic** - se elaborează un cadru teoretic care conturează teoriile și conceptele ce vor ghida cercetarea.
- **Elaborarea unui cadru practic** - se proiectează un cadru practic care integrează metodologii, tehnici și abordări relevante pentru studiul în cauză.
- **Organizarea și documentarea surselor** - se va asigura catalogarea sistematică a surselor de literatură analizate.

Instrumente și resurse

Pentru a căuta literatura în mod eficient, este necesară înțelegerea clară a temei de cercetare și stabilirea parametrilor de căutare. Pot fi folosite următoarele baze de date și resurse online:

- MedLine https://www.nlm.nih.gov/medline/medline_overview.html
- Research4Life https://portal.research4life.org/
- HINARI: https://www.emro.who.int/information-resources/hinari/hinari.html
- PubMed https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/
- și multe altele…

- În scrierea academică, este esențial să se recurgă la o varietate de surse, inclusiv cărți, articole științifice și site-uri web de încredere.
- În timpul sintezei literaturii, se iau notițe detaliate despre metodologiile și instrumentele utilizate în cercetările anterioare. Acest lucru va facilita alegerea abordărilor adecvate pentru propriul studiu, inclusiv tehnicile de eșantionare, metodele de colectare a datelor și procedurile analitice.

Bibliografia și citarea surselor

Bibliografia și citarea surselor sunt elemente fundamentale într-o lucrare științifică, mai ales la nivel doctoral.

1. Rolul bibliografiei într-o cercetare științifică

- Bibliografia arată baza de cunoștințe pe care te-ai sprijinit — demonstrează că lucrarea ta nu este izvorâtă „din vid”.
- Permite cititorului să verifice sursele, să le consulte, și să evalueze acuratețea și credibilitatea argumentelor tale.
- Protejează împotriva plagiatului și demonstrează integritatea academică.
- Este parte din procesul de construire a argumentului științific: legi concepte, susține afirmații, contrastează perspective.

2. Principii de citare corectă

- Citează orice idee, definiție, metodă, statistică, tabel sau grafic care nu este originală (nu e creația proprie).
- Evită **plagiatul** — nu copia text integral fără citare sau ghilimele.
- Citarea trebuie să fie **transparentă și completă** — să permită identificarea sursei: autor, titlu, locul publicării, anul, pagini, dacă e articol sau carte, volumul etc.
- Folosește un stil uniform de citare pe întreaga lucrare.
- De preferat citarea surselor primare (articole originale) înaintea citării secundare (review-uri) când este posibil.
- Păstrează note de bibliografie actualizate pe tot parcursul redactării, pentru a nu pierde surse.

3. Stiluri uzuale de citare

Stiluri frecvent utilizate în domeniul medical / biomedical:

- **Vancouver (numeric)** — fiecare sursă primește un număr, iar citările în text apar între paranteze drepte / rotunde sau indecși.
- **Harvard / APA** — citare autor-an, în text: (Popescu, 2020), iar în bibliografie lista alfabetică a autorilor.
- **AMA (American Medical Association)** — similar numeric, dar cu convenții precise pentru reviste medicale.
- **Chicago** — două variante: notă de subsol + bibliografie sau sistem autor-an.

La medicină, stilurile numeric (Vancouver, AMA) sunt preferate, pentru eficiența citării în articole dense.

Exemple concrete de citare:

1.Articol științific

1. Vancouver: Popescu A, Ionescu B, Georgescu C. Efectul tratamentului X asupra tensiunii arteriale la pacienți hipertensivi. *Rev Med Clin*. 2021;15(3):123-129.
2. Harvard: Popescu, A., Ionescu, B., & Georgescu, C. (2021). "Efectul tratamentului X asupra tensiunii arteriale la pacienți hipertensivi." *Rev Med Clin*, 15(3), 123-129.

2.Carte / capitol de carte

1. Vancouver: Smith J, Brown K. Cap. 5: Biostatistică. În: Watson P, ed. *Tehnici moderne în cercetarea biomedicală*. 2-a ediție. București: Editura Medicală; 2019:89-112.
2. Harvard: Smith, J., & Brown, K. (2019). "Biostatistică." În P. Watson (Ed.), *Tehnici moderne în cercetarea biomedicală* (ediția a 2-a, pp. 89-112). București: Editura Medicală.

3.Articol din editură sau conferință

1. Vancouver: Ivanov D, Popa E. Studii privind biomarkerii în diabet. În: Lucrările Conferinței Naționale de Endocrinologie; 2022 sept 10-11; Cluj Napoca. Cluj: Editura Universității; 2023:45-52.
2. Harvard: Ivanov, D., & Popa, E. (2023). "Studii privind biomarkerii în diabet." În *Lucrările Conferinței Naționale de Endocrinologie* (10-11 sept. 2022, Cluj Napoca) (pp. 45-52). Cluj: Editura Universității.

4.Sursa web / pagină internet

1. Vancouver: Ministerul Sănătății. Ghid național de tratament al hipertensiunii arteriale. Disponibil la: https://www.ms.ro/ghid-HTA [accesat 15 iul 2025].
2. Harvard: Ministerul Sănătății. (fără dată). *Ghid național de tratament al hipertensiunii arteriale*. Disponibil la https://www.ms.ro/ghid-HTA (accesat 15 iulie 2025).

Conform **Ghidului metodologic de elaborare și redactare a proiectului de cercetare științifică** al **Școlii Doctorale de Medicină – Universitatea „Ovidius” din Constanța**

Bibliografia este obligatorie și cuprinde lucrările științifice care au stat la baza redactării proiectului.

Se recomandă **standardul Vancouver** pentru citare.

Referințele bibliografice **se numerotează** conform **ordinii apariției în text**. În text, citările se marchează cu cifre între **paranteze drepte** sau **suprascrise**, de exemplu:

„Studiile recente arată o creștere semnificativă a valorilor glicemiei [3].”

„…conform rezultatelor raportate de Popescu și colab.[4]”

În lista bibliografică de la final, fiecare sursă este prezentată complet, în aceeași ordine numerică, conform stilului Vancouver.

Alte precizări de redactare din ghid:

- Proiectul trebuie să conțină între **10–12 pagini**, excluzând **pagina de copertă, sumarul și bibliografia.**
- Font recomandat: **Times New Roman, 12 pt**, spațiere 1,5 linii.
- **Referințele bibliografice** trebuie listate **numeric**, în ordinea **citării în text** (nu alfabetic).
- Se respectă **structura uniformă** pentru toate sursele (nu se amestecă stiluri diferite).

Formularea scopului, ipotezei și obiectivelor studiului

👉 **Scopul** cercetării medicale reprezintă **intenția generală, direcția strategică și finalitatea majoră a studiului**, exprimată la un nivel **larg** și **abstract**, prin care cercetătorul precizează de ce realizează investigația și ce impact global urmărește (*de exemplu, îmbunătățirea diagnosticului, optimizarea tratamentului sau creșterea calității vieții pacienților*), fără a detalia încă pașii concreți sau metodele de măsurare.

👉 **Obiectivul** cercetării medicale reprezintă **enunțul concret, precis și măsurabil** care derivă din scopul general și descrie pașii operaționali prin care acesta va fi atins; obiectivele **indică exact ce se va analiza, compara sau demonstra** în cadrul studiului, fiind formulate specific și delimitat

- În formularea obiectivelor, este recomandat să se folosească verbe orientate spre acțiune.
- Prin urmare, obiectivele ar trebui să înceapă cu termeni precum: *a determina, a descoperi, a stabili, a măsura, a explora* etc.

👉 **Ipoteza cercetării** – presupunere formulată pe baza cunoștințelor existente, care poate fi testată prin cercetare și care descrie relația dintre două sau mai multe variabile.

Pregătirea designului de cercetare și colectarea datelor

1. Definirea designului de cercetare și pașii necesari

Designul de cercetare reprezintă cadrul conceptual în care se desfășoară cercetarea.

Funcția sa este de a asigura colectarea de informații relevante cu un minim de efort, timp și resurse financiare.

Pregătirea unui design de cercetare adecvat pentru o problemă de cercetare specifică implică următorii pași:

- Determinarea *designului eșantionului.*
- *Elaborarea instrumentelor* pentru colectarea datelor.
- Adoptarea unui *design de cercetare.*

2 Determinarea designului eșantionului

Cercetătorii de obicei trag concluzii despre o populație studiind un eșantion.

Proiectarea eșantionului implică trei decizii fundamentale:

1. Cine va fi supus cercetării? (*Eșantionul*)
2. Câte persoane vor fi incluse în cercetare? *(Mărimea eșantionului*)
3. Cum ar trebui selectat eșantionul? (*Tipul de eșantionare*)

- **Eșantionare probabilistică** (randomizată): fiecare individ din populație are șanse egale de a fi selectat (ex.: eșantionare simplu aleatoare, stratificată, sistematică).
- **Eșantionare neprobabilistică**: selecția nu se bazează pe hazard, ci pe criterii subiective (ex.: convenienţă, voluntariat, snowball).

- **Eșantionarea de tip "snowball"** (în română, *metoda bulgărelui de zăpadă*) este o **tehnică de eșantionare neprobabilistică**, utilizată în special atunci când populația țintă este greu de identificat sau de contactat direct. Se pornește de la un număr mic de participanți inițiali (numiți inițiatori sau nuclee), care îndeplinesc criteriile de includere. Aceștia sunt rugați să recomande sau să aducă alți participanți care se încadrează în aceleași criterii. Procesul continuă în lanț — fiecare nou participant poate recomanda alții — la fel ca un bulgăre de zăpadă care crește pe măsură ce se rostogolește.

3. Instrumente de colectare a datelor

Dezvoltarea unui instrument de cercetare pentru colectarea datelor reprezintă un aspect crucial al protocolului de cercetare. Rezultatele și concluziile se bazează pe datele colectate, care sunt influențate de întrebările incluse în chestionar.

Orientări pentru elaborarea unui chestionar:

- ❑ Pasul I - definirea și listarea clară a tuturor obiectivelor specifice sau întrebărilor de cercetare ale studiului.
- ❑ Pasul II - pentru fiecare obiectiv sau întrebare de cercetare, se enumeră toate întrebările asociate la care se dorește să se obțină răspunsuri în cadrul studiului.
- ❑ Pasul III - pentru fiecare întrebare de cercetare listată la pasul I și fiecare obiectiv enunțat la pasul II, se identifică informațiile necesare pentru a răspunde la acestea.
- ❑ Pasul IV - formularea întrebărilor pentru a obține aceste informații.

Tip de instrument	**Exemple**	**Scop principal**
Cantitativ	Chestionar standardizat, scale de evaluare, fișe de observație	Măsurarea obiectivă a unor variabile (ex. tensiune, scor depresie)
Calitativ	Interviu semi-structurat, focus grup, observație clinică	Explorarea percepțiilor, experiențelor, motivațiilor

👉 **Instrumentul trebuie validat și adaptat populației țintă (lingvistic, cultural, clinic).**

Un chestionar constă dintr-un set de întrebări adresate respondenților.

- *Evitați formularea întrebărilor ambigue, duble sau care pot induce răspunsuri sociale dorite.*
- *Înainte de aplicarea finală, testați chestionarul pe un eșantion pilot (pre-testare).*

Tipuri de structură a întrebărilor:

- **Întrebări închise** - includ toate răspunsurile posibile într-o serie de categorii predefinite, dintre care respondenții aleg
- **Întrebări deschise** - permit respondenților să răspundă cu propriile lor cuvinte
- **Combinație** între cele două - această structură începe cu o serie de întrebări închise și se finalizează cu întrebări deschise pentru obținerea unor răspunsuri mai detaliate.

Structura generală a chestionarului:

- Titlu
- Instrucțiuni
- Informații generale despre respondent
- Întrebări
- Mesaj de mulțumire

Exemplu: Chestionar privind stilul de viață la pacienții cu diabet zaharat tip 2

Instrucțiuni pentru completare

Acest chestionar face parte dintr-un studiu despre influența stilului de viață asupra controlului glicemic la pacienții diagnosticați cu diabet zaharat tip 2.

Răspunsurile dumneavoastră sunt confidențiale și vor fi folosite exclusiv în scop științific.

Vă rugăm să răspundeți sincer la fiecare întrebare.

Completarea durează aproximativ 10 minute.

Secțiunea I – Date generale

(bifare sau completare liberă)

1.Sexul: ☐ F ☐ M

2.Vârsta: ____ ani

3.Mediul de proveniență: ☐ Urban ☐ Rural

4.Nivelul de educație: ☐ Primar ☐ Gimnazial ☐ Liceal ☐ Universitar

5.Durata diagnosticului de diabet: ____ ani

6.Tratament actual: ☐ Antidiabetic oral ☐ Insulină ☐ Dietă ☐ Combinație

Secțiunea II – Alimentație și obiceiuri nutriționale

7.Câte mese principale consumați zilnic?

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ >3

8.Consumați alimente bogate în grăsimi (ex. prăjeli, carne grasă) mai des de 3 ori/săptămână?

☐ Da ☐ Nu

9.Cât de des consumați legume și fructe proaspete?

☐ Zilnic ☐ De câteva ori/săptămână ☐ Rar ☐ Niciodată

10.Adăugați zahăr în băuturi (cafea, ceai)?

☐ Da, întotdeauna ☐ Uneori ☐ Niciodată

Secțiunea III – Activitate fizică

11.Practicați exercițiu fizic regulat (cel puțin 30 min/zi)?

☐ Da ☐ Nu

12.Tipul principal de activitate:

☐ Mers pe jos ☐ Sport organizat ☐ Activitate casnică ☐ Altele: _____

13.Cât timp petreceți zilnic în fața televizorului / calculatorului?

☐ <1h ☐ 1–3h ☐ >3h

Secțiunea IV – Factori de risc și obiceiuri

14.Fumați în prezent?

☐ Da ☐ Nu ☐ Am fumat în trecut

15.Consumați băuturi alcoolice?

☐ Niciodată ☐ Ocazional ☐ Săptămânal ☐ Zilnic

16.Ați participat la programe de educație diabetologică?

☐ Da ☐ Nu

Secțiunea V – Percepția asupra bolii

17.În ce măsură considerați că vă controlați bine glicemia?

☐ Foarte bine ☐ Bine ☐ Parțial ☐ Slab

18.Ce dificultăți întâmpinați cel mai des în menținerea unui stil de viață sănătos?

☐ Lipsa de timp ☐ Lipsa motivației ☐ Costuri mari ☐ Alte motive: _____

Mesaj final

Vă mulțumim pentru timpul acordat și pentru contribuția dumneavoastră la acest studiu. Dacă doriți, puteți primi informații despre rezultatele generale ale cercetării, fără a vă dezvălui identitatea.

4. Clasificarea designului de cercetare

Există diverse scheme pentru clasificarea metodelor de proiectare a studiilor.

Una dintre aceste clasificări → trei **categorii principale**:

- studii observaționale (în care participanții sunt monitorizați fără a se interveni asupra lor),
- studii experimentale (în care se implementează o anumită intervenție) și
- studii secundare (în care studiile primare sunt supuse unei pre-evaluări sau filtrări).

DESIGNUL	METODA	TIPURILE
I. Studii primare:		
– Studii observaționale	Descriptive	– Serie de cazuri / raportare de caz – Studii transversale – Studii ecologice (la nivel de populație)
	Analitice	– Studii caz-control – Studii de cohortă
– Studii experimentale	Analitice	– Studii clinice – Studii clinice la nivel de populație
II. Studii secundare:		
– Studii pre-evaluate sau filtrate	Cantitative Calitative	– Sinteză sistematică – Sinteză narativă – Meta-analiză

Prezentare generală a designului de cercetare

Alegerea designului de cercetare este determinată de întrebările de cercetare, de preocupările privind validitatea și de considerentele practice sau etice.

- ***Studii observaționale -*** aceste studii oferă perspective asupra expunerilor în contexte naturale, evitând astfel problemele etice care pot apărea în cadrul studiilor experimentale. Ele includ:
  - **Studii serie de cazuri** - documentează o serie de cazuri cu o condiție similară, fără a include un grup de comparație.
  - **Studii transversale** - evaluează datele la un anumit moment, oferind o imagine de ansamblu a relației dintre factorii de risc și rezultate.
  - **Studii caz-control -** compară persoanele cu o boală (cazuri) cu cei care nu prezintă această boală (controale), pentru a identifica diferențele în ceea ce privește expunerea.
  - **Studii de cohortă -** monitorizează un grup expus unui factor de risc de-a lungul timpului pentru a observa rezultatele asupra sănătății.

👉 **De reținut:**

- **Studiile serie de cazuri** și **studiile transversale** sunt studii ***descriptive***; acestea formulează ipoteze privind relațiile dintre factorii de risc și rezultate, dar nu stabilesc cauzalitatea.
- **Studiile** de tip **caz-control** și **studiile de cohortă** sunt ***analitice***; ele testează ipoteze pentru a stabili cauzalitatea.
- **Studiile de cohortă** sunt ***longitudinale***, colectând date despre factorii de risc și rezultate în mai multe momente temporale, în timp ce studiile ***transversale*** adună date la un anumit moment de timp.
- **Studiile de cohortă** sunt ***prospective***, urmărind tranziția de la factorii de risc la rezultate, în timp ce studiile de **tip caz-control** sunt ***retrospective***, urmărind traseul de la rezultate la factorii de risc.
- **Studiile transversale** nu au o direcție temporală, întrucât datele sunt colectate într-un anumit moment de timp

- ***Studiile experimentale (trialuri clinice)*** - aceste studii **implică intervenții**, cum ar fi medicamentele sau tratamentele, și sunt concepute pentru a evalua efectele acestora.
- ***Sintezele sistematice*** - acest studiu secundar **evaluează critic și sintetizează literatura** clinică pe un subiect specific, utilizând o metodologie structurată.
  - Cercetătorii localizează, adună și evaluează sistematic studiile primare relevante conform unor criterii predefinite.
  - Scopul sintezei este de a răspunde unei întrebări de cercetare bine definite, aplicând atât metode calitative, cât și cantitative.
- ***Sintezele narative*** - aceste sinteze au un domeniu mai larg și **pot să nu urmeze criterii riguroase** pentru selecția sau evaluarea articolelor. Ele adesea nu dispun de criterii explicite pentru includere și pot să nu evalueze validitatea studiilor sintetizate, ceea ce poate introduce erori (bias).
- ***Meta-analiza*** - un tip de studiu secundar care **combină cantitativ rezultatele din mai multe studii primare** pentru a oferi un rezumat cuprinzător și concluzii. Meta-analizele se axează frecvent pe evaluarea eficacității terapeutice sau pe planificarea cercetărilor ulterioare.

Piramida dovezilor în medicina bazată pe dovezi – nivelurile de validitate ale studiilor



- Această piramidă ne arată ierarhia studiilor medicale în funcție de puterea dovezilor.
  - Cu cât urcăm spre vârf, cu atât crește validitatea științifică și scade riscul de erori sau bias.
- Meta-analizele și studiile clinice randomizate oferă dovezile cele mai solide, iar opiniile experților sau seriile de cazuri sunt utile, dar mai slabe ca forță demonstrativă.

👉 **Fiecare tip de design de studiu are avantaje și dezavantaje specifice.**

TIPURI DE STUDII DE CERCETARE

STUDII OBSERVAȚIONALE DESCRIPTIVE

1. Studiul serie de cazuri / raportare de caz

- reprezintă cea mai simplă metodologie de cercetare, în cadrul căreia autorul descrie observații deosebite sau neobișnuite observate la un **număr redus de pacienți** (***studiu serie de cazuri***) sau chiar la **un singur pacient** cu o afecțiune rară (***raportare de caz***). Când anumite caracteristici ale unui grup (sau serie) de pacienți (sau cazuri) sunt prezentate într-un raport publicat, acesta poartă denumirea de studiu serie de cazuri. Acest tip de studiu generează frecvent ipoteze care pot fi ulterior investigate în studii de tip caz-control sau de cohortă.

Utilizări:

- Identificarea unor boli sau rezultate noi.
- Formularea ipotezelor.

Avantaje:

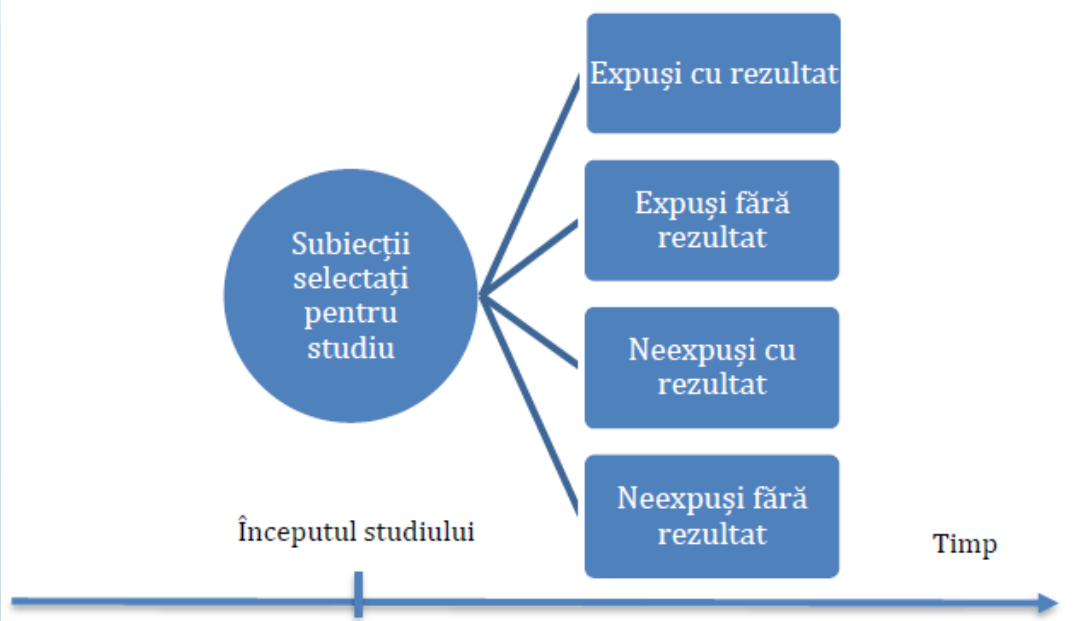
- Redactare facilă.
- Observațiile pot fi de mare valoare pentru alți cercetători.

Dezavantaje:

- Vulnerabil la multiple erori sistematice.
- Nu este adecvat pentru luarea unor decizii definitive.

2. Studiul transversal

- Studiul transversal analizează datele colectate de la **un grup de subiecți *într-un anumit moment,*** fără a-i urmări pe o perioadă extinsă.
- Este proiectat pentru a răspunde la întrebarea ***„Ce se întâmplă în prezent?”.***
- Subiecții sunt selectați, iar informațiile despre expunerea la factorii de risc și rezultat (boală) sunt adunate într-un interval scurt.
- El ne spune cât de frecventă este o afecțiune și ce factori par asociați cu ea, dar nu ne poate spune dacă acei factori sunt cauza bolii. Este o metodă ideală pentru ***studii epidemiologice descriptive***.



- Studiul transversal este utilizat pentru a măsura **prevalența unei boli** și pentru a analiza potențialii factori de risc sau cauze.
    - Deoarece studiile transversale examinează relația dintre expunere și prevalența bolii într-o populație definită la un anumit moment, ele sunt de asemenea denumite *studii de prevalență*.
- *Studiile comunitare* sunt în mod obișnuit studii transversale, deși sondajele pot face parte și din studii de cohortă sau studii caz-control.

👉 Designul studiului transversal este cel mai adecvat pentru scopuri precum ***diagnostic / screening, evaluarea prevalenței*** unei boli sau a unui factor de risc, realizarea studiilor comunitare sau formularea întrebărilor de cercetare.

Proceduri statistice pentru analiza datelor studiului transversal:

- Calcularea proporțiilor, ratelor (inclusiv standardizate) și raporturilor.
- Calculul intervalelor de încredere pentru proporții sau medii.
- Analize de corelație și regresie, inclusiv regresie logistică.
- Aplicarea testelor parametrice, cum ar fi testul *t*, analiza variației, testul chi-pătrat și alte teste neparametrice.

Avantaje:

1. Permite estimarea poverii unei boli într-o populație – rata prevalenței poate fi determinată.
2. Ieftin și rapid de realizat.
3. Valoros pentru evaluarea procedurilor de diagnostic.
4. Util în analiza factorilor de risc comuni.
5. Eficient în studierea bolilor (rezultatelor) frecvente.

Dezavantaje:

1. Participanții pot fi mai puțin dispuși să colaboreze.
2. Nu oferă informații despre fluxul evenimentelor.
3. Arată asocierea dintre factorii de risc și boala studiată, dar nu și relația de cauzalitate.
4. Nu este eficient pentru identificarea cauzelor maladiilor.
5. În general, este util pentru studiul bolilor cronice.
6. Factorii de confuzie pot fi distribuiți inegal.
7. Mărimile grupurilor pot fi inegale.
8. Eroarea de evocare (amintire) este o problemă.

STUDII ANALITICE OBSERVAȚIONALE

Concepte cheie

- Un studiu de tip *caz-control* include un grup de cazuri (persoane care prezintă un anumit rezultat = boală) și un grup de controale (persoane fără acel rezultat).
- În cadrul unui studiu *caz-control*, informațiile referitoare la expunere sunt colectate *retrospectiv*.
- Deși studiul de tip *caz-control* oferă date referitoare la relațiile de cauzalitate***, eroarea de evocare*** reprezintă o problemă frecventă.
- *Formarea de perechi* (potrivirea) într-un studiu de tip caz-control reduce impactul factorilor de confuzie.
- *Raportul șanselor* indică de câte ori este mai probabil ca un caz să fi fost expus unui factor de risc în comparație cu un control.
- *O cohortă* este un grup de persoane care nu prezintă boala de interes la începutul studiului și care sunt selectate pentru a fi observate pe o perioadă îndelungată.
- Într-un *studiu de cohortă*, cercetătorul va colecta date despre noile cazuri de boală (*incidență*) pe parcursul examinărilor regulate viitoare (*prospectiv*).

- Într-un studiu *longitudinal*, sunt colectate două sau mai multe seturi de observații pentru fiecare subiect de-a lungul timpului.
- Un studiu de cohortă este cunoscut și sub denumirile de studiu *prospectiv*, *longitudinal* sau de *incidență*.
- *Riscul relativ* indică de câte ori este mai mare probabilitatea ca o persoană expusă să dezvolte boala în comparație cu o persoană neexpusă.
- *Riscul atribuibil* indică proporția de incidență a bolii care poate fi atribuită (sau explicată prin) unei anumite expuneri (în rândul celor expuși).
- Într-un studiu caz-control, rezultatul este cunoscut, iar cercetarea se concentrează pe identificarea expunerii în trecut (*retrospectiv*).
- Într-un studiu de cohortă, expunerea este cunoscută, iar subiecții sunt monitorizați de-a lungul timpului pentru a identifica rezultatul în cauză (*prospectiv*).

1. Studiul caz-control

Studiul caz-control reprezintă un design de cercetare *retrospectiv*, în care informațiile despre factorii de risc sunt obținute printr-o analiză retrospectivă a istoricului participanților. Deși acest tip de studiu poate oferi perspective valoroase asupra relațiilor cauzale, ***eroarea de evocare*** (amintire) reprezintă o problemă comună.

Eroarea de evocare apare atunci când participanții **nu își amintesc corect** sau **raportează inexact** informațiile despre expunerea lor anterioară.

➡️ Poate fi:

- **selectivă** – pacienții bolnavi tind să-și amintească sau să exagereze anumite expuneri („am fumat mult, deci sigur asta mi-a provocat boala”)
- **involuntară** – controalele pot uita detalii din trecut, pentru că nu le consideră importante.

De ce e o problemă în studiile caz-control?... Pentru că **datele despre expunere** (fumat, dietă, stres, factori de mediu etc.) se bazează adesea pe **auto-raportare**, nu pe măsurători obiective.

Asta poate:

- distorsiona rezultatele,
- supraestima sau subestima asocierea dintre expunere și boală,
- duce la concluzii false despre cauzalitate.

Designul studiului

- **Cazuri** - persoane care prezintă o anumită boală sau un anumit rezultat.
- **Controale** - persoane care nu prezintă boala sau rezultatul în cauză.

- Pentru a minimiza influența variabilelor de confuzie, cercetătorii trebuie să utilizeze potrivirea pentru a asocia grupul de controale cu cel de cazuri, pe baza unor caracteristici precum vârsta și sexul.
- Cazurile și controalele trebuie să fie similare din toate punctele de vedere, cu excepția expunerii la factorul de risc studiat.
- Participanții sunt selectați pe baza stării lor de sănătate (variabilă dependentă), iar ambele grupuri sunt investigate cu privire la expunerea lor la potențiali factori de risc (variabilă independentă).

👉 Studiile caz-control pot sugera relații cauzale, dar **nu pot demonstra cauzalitatea** cu certitudine din cauza riscului de erori sistematice – cea mai frecventă fiind **eroarea de evocare**.

- Pentru confirmare, este nevoie de **studii prospective (de cohortă)**, care măsoară expunerea *înainte* de apariția bolii.

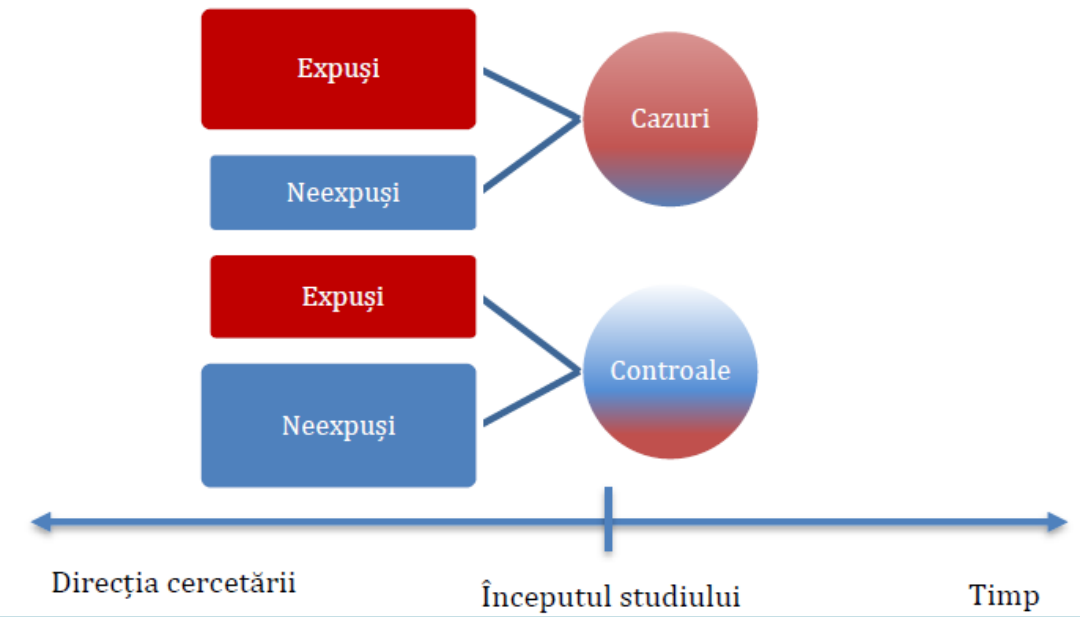
Metode de colectare a datelor

- Înregistrări disponibile din spitale, statistica vitală (datele oficiale despre evenimentele demografice esențiale din viața populației, cum ar fi: nașterile, decesele, căsătoriile, divorțurile, avorturile, cauzele de deces) și alte registre relevante.
- Interviuri.
- Chestionare auto-administrate.
- Măsurători directe.

Ulterior, se compară istoricul expunerii la factorii de risc între cazuri și controale.

Studiile de tip caz-control urmăresc să răspundă la întrebarea „Ce s-a întâmplat?”.

Cunoscând rezultatul final, cercetătorii examinează retrospectiv expunerile anterioare



Diagramă de flux a designului studiului caz-control

Analiza datelor

Analiza unui studiu de tip caz-control implică calcularea unei măsuri de asociere denumite *raportul șanselor* (*Odds Ratio*). Șansele sunt definite ca fiind raportul dintre probabilitatea ca un eveniment să se întâmple și probabilitatea ca același eveniment să nu se întâmple: p / (1-p). Raportul șanselor se calculează astfel:

$$\textit{Raportul șanselor} = \frac{\text{Șansele ca un caz să fi fost expus la factorul de risc}}{\text{Șansele ca un control să fi fost expus la factorul de risc}}$$

Raportul șanselor ***permite evaluarea riscului*** în studiile de tip caz-control, indicând de câte ori este mai mare *probabilitatea ca un caz să fi fost expus la un factor de risc comparativ cu un control*. Calculul este simplu atunci când datele sunt prezentate într-un tabel de contingență 2x2.

Tabel de contingență 2x2 pentru studiul caz-control

Factor de expunere	**Rezultatul (boala)**		**Total**
	Cazuri	Controale	
Expuși	a	b	a + b
Neexpuși	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

$$\text{Raportul șanselor (OR)} = \frac{a/c}{b/d} = \frac{ad}{bc}$$

Interpretarea raportului șanselor

- OR = 1 - nu există asociere (fără diferență în expunerea între cazuri și controale).
- OR > 1 - expunere periculoasă.
- OR < 1 - expunere benefică.

Testarea semnificației

Raportul șanselor poate fi testat pentru semnificație prin calculul unui interval de încredere, care reprezintă un interval de valori ce este probabil să conțină raportul șanselor al populației cu un anumit nivel de încredere.

👉 ***Dacă intervalul de încredere de 95% pentru OR include valoarea 1, rezultatele nu sunt statistic semnificative.***

Exemplu de interpretare a OR

Interpretarea unui raport al șanselor (OR) statistic semnificativ se face astfel:

> Dacă OR = 3,23, persoanele afectate de boală au de 3,23 ori mai multe șanse să fi fost expuse față de persoanele neafectate de boală.

Avantaje

1. Permite analiza simultană a mai multor factori de risc.
2. Oferă posibilitatea studierii efectelor pe termen lung ale expunerii într-o perioadă relativ scurtă de timp.
3. Necesită un număr mai mic de subiecți comparativ cu alte metode.
4. Procesul de studiu este relativ rapid și mai ieftin.
5. Este adecvat pentru studiul bolilor rare.

Dezavantaje:

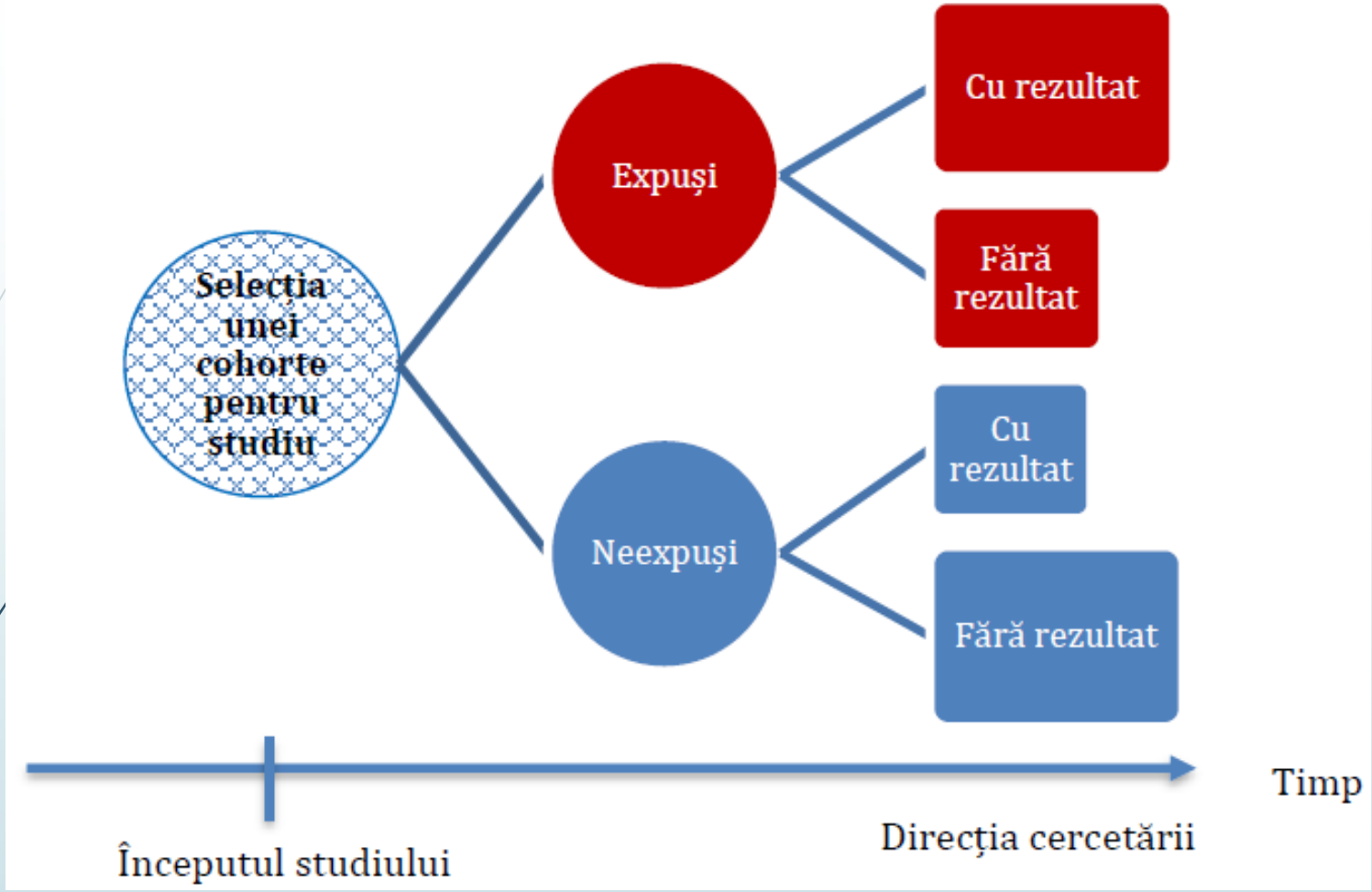
1. Risc crescut de erori (bias) și influență a variabilelor de confuzie din cauza colectării retrospective a datelor.
2. Dificultăți în selecția unui grup de control adecvat.
3. Posibilitatea apariției erorii (bias) de evocare datorită naturii retrospective a studiului.
4. Imposibilitatea de a determina incidența sau prevalența bolii.
5. Dificultăți în stabilirea unei relații temporale între expunere și rezultat.

2. Studiul de cohortă

Studiul de cohortă, cunoscut și sub denumirile de ***studiu de incidență***, ***studiu longitudinal*** sau ***studiu prospectiv***, urmărește o grupă de persoane pe o perioadă extinsă pentru a observa dezvoltarea de noi cazuri de boală.

Designul studiului

- O **cohortă** reprezintă un grup de persoane care împărtășesc o trăsătură comună, dar ***nu prezintă boala de interes la începutul studiului***.
- Aceste persoane sunt monitorizate pe parcursul timpului pentru ***a observa incidența noilor cazuri de boală.***
- Cercetătorii colectează date privind expunerile și urmăresc cohorta în timp pentru a observa noi cazuri de boală (incidență) în cadrul unor examinări regulate viitoare (natura prospectivă).
- Într-un studiu de cohortă, întrebarea formulată este **„Ce se va întâmpla?”.**
- Cercetătorii cunosc statutul expunerii la începutul studiului și urmăresc subiecții de-a lungul timpului pentru a observa rezultatele.
- Este cel mai bun tip de studiu observațional pentru a sugera cauzalitatea.



Diagramă de flux a designului studiului de cohortă

Studiile de cohortă tipice sunt, de obicei, prospective, deoarece rezultatele privind starea de sănătate sunt observate după începutul studiului. Studiile de cohortă utilizează grupuri care sunt similare în toate aspectele, cu excepția expunerii.

Studiile de cohortă sunt utilizate pentru:

- Măsurarea incidenței bolii.
- Investigarea cauzelor bolilor.
- Stabilirea prognosticului.
- Determinarea calendarului și direcționalității evenimentelor.

Metode de colectare a datelor

Obținerea datelor într-un studiu de cohortă se realizează prin:

- interviuri personale,
- examinări medicale și
- studii de mediu.

Analiza datelor

Scopul principal al analizei datelor într-un studiu de cohortă este de a compara apariția rezultatelor în grupurile expuse și neexpuse.

Pentru a estima relația dintre un factor de risc și apariția unui anumit rezultat, se utilizează următoarele măsuri de asociere:

- Riscul relativ (RR);
- Riscul atribuibil (AR).

Riscul relativ (***RR***) reprezintă raportul dintre rata incidenței în grupul expus și rata incidenței în grupul neexpus.

- RR este simplu de calculat pentru un studiu de cohortă atunci când datele sunt prezentate în tabelul 2x2.
- Riscul relativ indică de câte ori o persoană expusă este mai predispusă să dezvolte un rezultat comparativ cu o persoană neexpusă.

Interpretarea riscului relativ

- RR = 1 - fără asociere (fără diferențe în incidența bolii între grupurile expuse și neexpuse).
- RR > 1 - expunere periculoasă.
- RR < 1 - expunere benefică.

Tabel de contingență 2x2 pentru studiul de cohortă

Factorul de expunere	**Rezultatul (boala)**		**Total**
	Yes	No	
Expuși	a	b	a + b
Neexpuși	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

$$Riscul\ relativ\ (RR) = \frac{\text{Incidența la expuși}}{\text{Incidența la neexpuși}} = \frac{a\ /\ (a+b)}{c\ /\ (c+d)}$$

Testarea semnificației

Riscul relativ (RR) poate fi evaluat pentru semnificație prin utilizarea intervalelor de încredere. Dacă intervalul de încredere de 95% pentru RR include valoarea 1, rezultatele nu sunt considerate statistic semnificative.

Exemplu de interpretare a RR

> Dacă RR = 3,23, persoanele expuse au de 3,23 ori mai multe șanse să dezvolte boala comparativ cu cele neexpuse.

Riscul atribuibil (AR) evaluează proporția incidenței bolii în rândul expușilor care poate fi atribuită expunerii. Acesta este raportul dintre diferența incidenței între expuși și neexpuși și incidența printre expuși, exprimat în procente.

$$\textit{Riscul atribuibil } (AR) = \frac{\text{Incidența la expuși} - \text{ incidența la neexpuși}}{\text{Incidența la expuși}} \; x\; 100\%$$

$$= \frac{(a\,/\,(a+b)) - \;(c\,/\,(c+d))}{a\,/\,(a+b)} \times\; 100\%$$

Exemplu de interpretare a AR

> Dacă AR = 80%, înseamnă că 80% din incidența bolii în rândul expușilor poate fi atribuită expunerii.

Avantaje:

1. Permite măsurarea factorilor de risc înainte de apariția bolii, oferind dovezi privind cauzalitatea.
2. Permite studiul unui număr variat de rezultate ale bolii.
3. Oferă rate de incidență și estimări ale riscului relativ.
4. Potrivit pentru studiul expunerilor rare.
5. Reduce eroarea de selecție și eroarea de informație.

Dezavantaje:

1. Costuri ridicate.
2. Ineficiență în studiul rezultatelor (bolilor) rare.
3. Necesită o perioadă extinsă de urmărire și/sau o populație mare.
4. Pierderile în procesul de urmărire pot afecta validitatea rezultatelor.
5. Ineficiență în cazul bolilor rare.
6. Comportă probleme etice.

STUDII EXPERIMENTALE

Concepte cheie

- *Studiile clinice* (*trialuri*) sunt clasificate în două categorii principale: studii controlate și studii necontrolate.
- *Studiile controlate* compară un tratament experimental cu un control (tratament standard, tratament anterior sau placebo). Aceste studii sunt considerate mai valide datorită capacității lor de a minimiza erorile și de a determina clar eficacitatea intervenției.
- *Studiile fără control* nu dispun de un grup de control, ceea ce le face mai puțin robuste din punct de vedere al validității, întrucât nu oferă o bază de comparație.
- *Studiile clinice cu grupuri de control paralele* implică testarea simultană a grupurilor experimental și de control în cadrul aceleiași cercetări, asigurând că diferențele observate se datorează intervenției. Studiile oarbe (simple sau duble) sunt utilizate pentru a minimiza erorile.
- *Studiile clinice randomizate* (RCT) reprezintă standardul de aur pentru cercetările clinice, în care participanții sunt alocați aleatoriu în grupuri, reducând erorile de selecție și sporind fiabilitatea rezultatelor.

- *Studiile clinice nerandomizate* nu utilizează alocarea aleatorie, ceea ce complică asigurarea că diferențele dintre grupuri se datorează exclusiv intervenției, conducând astfel la dovezi mai slabe.
- În studiile *crossover (modelul de tratament încrucișat)*, pacienții primesc ambele tratamente (experimental și control) în momente diferite, servind drept propriile lor controale, ceea ce reduce variabilitatea.
- *Studiile cu grupuri de control externe* compară rezultatele experimentale cu date istorice din alte studii. Deși oferă perspective valoroase, sunt considerate mai puțin fiabile din cauza diferențelor în condițiile studiului și în populații.
- *Măsurile statistice* utilizate în studiile clinice includ rata evenimentelor experimentale (EER), rata evenimentelor de control (CER), riscul relativ (RR), reducerea absolută a riscului (ARR), reducerea relativă a riscului (RRR) și numărul necesar pentru tratament (NNT).

Clasificarea studiilor clinice

Studiile clinice reprezintă cercetări experimentale care implică subiecți umani, având ca **obiectiv** ***evaluarea eficacității procedurilor medicale sau tratamentelor***. Acestea sunt esențiale pentru a răspunde la întrebări legate de terapie și pot fi clasificate în două categorii principale:

I. Studii controlate: sunt acele studii în care **grupul care primește tratamentul investigat** este comparat cu **un grup de control**, care poate primi placebo, tratament standard sau nicio intervenție.

1.1 Studii cu grupuri de control paralele: subiecții sunt împărțiți în două (sau mai multe) grupuri care sunt urmărite în paralel.

a) randomizate – repartizarea subiecților în grupuri se face *aleator*, pentru a elimina biasul

b) nerandomizate - alocarea se face prin *criterii prestabilite* (de exemplu, în funcție de preferință, vârstă etc.); aceste studii au ***validitate inferioară***.

Clasificarea studiilor clinice

1.2 Studii cu grupuri de control succesive: - aceeași persoană poate juca rolul de grup de control la alt moment al studiului.

a) autocontrol – fiecare subiect este propriul său control (ex: se compară valorile fiziologice înainte și după tratament).

b) crossover - subiecții primesc ambele tratamente, dar în ordine diferită (cu o perioadă de pauză între ele). Acest design este foarte eficient în studii clinice mici.

1.3 Studii cu grupuri de control externe - grupul de control nu face parte din același studiu, ci este luat dintr-o altă sursă (ex: dintr-un registru anterior).

II. Studii fără control: ***nu există un grup de comparație***; evaluează efectele tratamentului doar în grupul de pacienți tratați; utile în fazele incipiente (ex: Faza I a studiilor clinice), dar nu permit concluzii cauzale ferme.

Studii controlate vs. studii fără control

Studii controlate

•Compară **tratamentul investigat** sau **procedura experimentală** cu un **alt tratament**, care poate fi:

- tratament standard,
- tratament anterior acceptat,
- sau placebo.

•Sunt concepute pentru a **izola efectul real al intervenției**, reducând erorile și influențele externe.

•Asigură o **evaluare mai clară a eficacității** și o **validitate mai ridicată**.

Exemplu: Un nou medicament antihipertensiv este comparat cu tratamentul standard (enalapril) și cu placebo, în grupuri randomizate.

Studii fără control

- Descriu rezultatele unui tratament **fără comparație** cu altă intervenție sau placebo.
- Nu dispun de grup de control → deci **nu pot diferenția efectul real** al tratamentului de evoluția naturală a bolii sau de alți factori.
- Sunt **mai puțin riguroase** din perspectiva validității interne, dar pot avea **valoare exploratorie** (ex. faza I a studiilor clinice).

Exemplu: Un studiu observă răspunsul clinic al unui grup de pacienți care primesc un nou medicament, fără comparație cu alt grup.

👉 Cu cât designul include mai mult control — randomizare, orbire, comparare paralelă — cu atât studiul are o **putere mai mare de a demonstra eficacitatea** și o **validitate internă superioară**.

Studii clinice cu grupuri de control paralele

În studiile cu grupuri de control paralele, participanții sunt împărțiți în **două sau mai multe grupuri**, urmărite **simultan**:

- **Grupul experimental** → primește tratamentul sau procedura investigată;
- **Grupul de control** → primește tratamentul standard sau placebo.

- *Scop:* Să se compare efectele tratamentului investigat cu cele ale unei intervenții cunoscute sau ale lipsei tratamentului.

- **Asigurarea validității științifice**

Pentru ca rezultatele să fie valide:

- grupurile trebuie să fie **cât mai similare** (vârstă, sex, severitate boală etc.);
- singura diferență dintre ele trebuie să fie **intervenția aplicată**;
- intervențiile se desfășoară **în paralel** (în același interval de timp).

Astfel, orice diferență observată între grupuri se poate atribui intervenției în sine.

Pentru a reduce la minimum riscul de erori, cercetătorii pot implementa studii „în orb”:

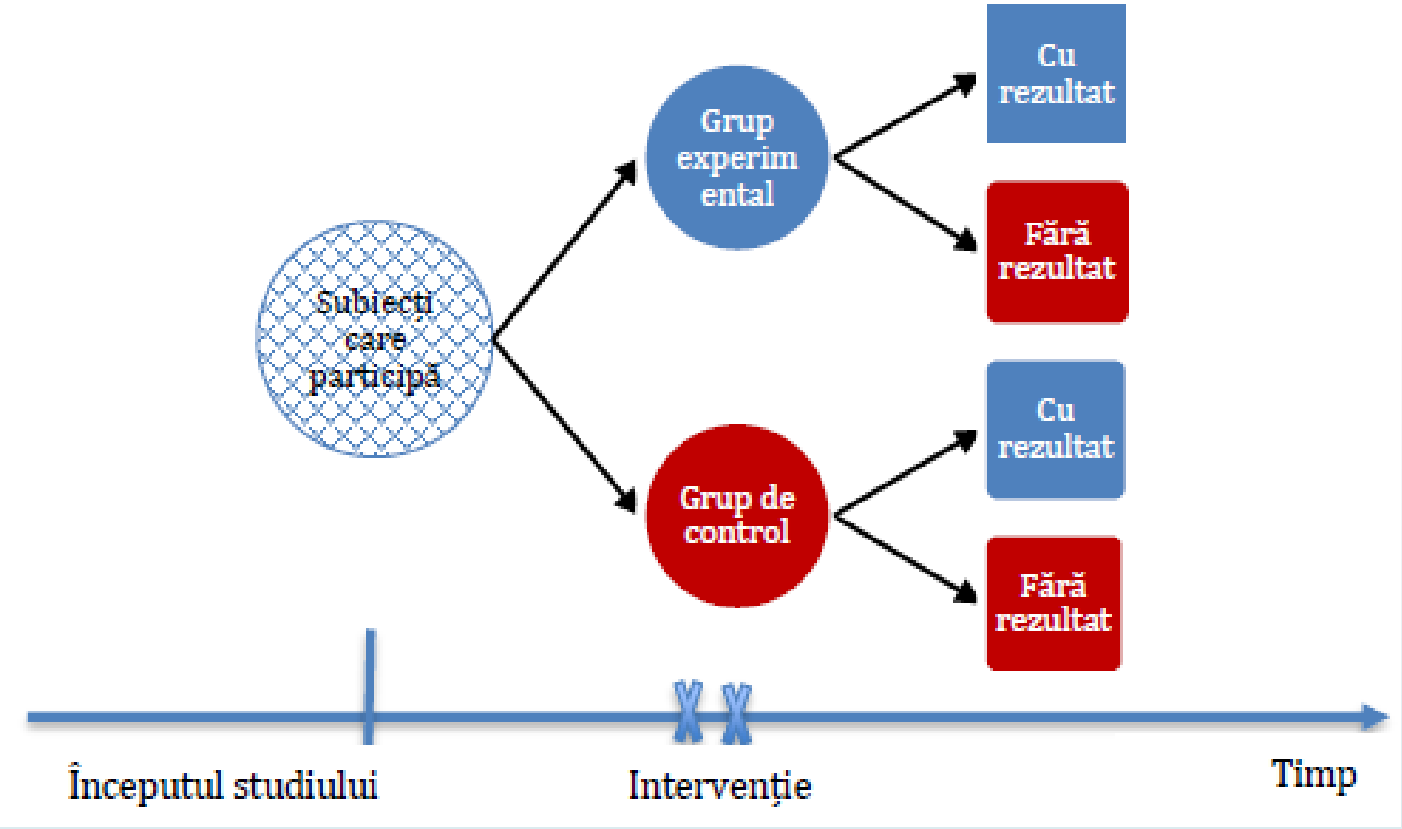
- *Studii simplu-orb* → subiecții **nu știu** ce tratament primesc.
- *Studii dublu-orb* → nici subiecții, **nici cercetătorii** nu știu cine primește tratamentul sau placebo.

Aceasta este metoda de referință pentru reducerea biasului.

- **Considerații etice**

Studiile clinice sunt permise **doar dacă intervenția este anticipată ca fiind benefică** și nu expune participanții la riscuri inutile.

👉 Acest tip de design — **dublu-orb, controlat cu placebo** — reprezintă **standardul de aur** în cercetarea clinică modernă, fiind baza medicinei bazate pe dovezi.



Diagramă de flux a unui studiu clinic cu modelul de tratament în paralel

- *Grupul experimental* → primește tratamentul investigat.
- *Grupul de control* → primește placebo sau tratamentul standard.
- *Comparația dintre rezultate* permite evaluarea **eficacității și siguranței intervenției**.

❑ Designul paralel permite analizarea diferențelor reale dintre tratamente, reducând influența factorilor de confuzie.

Studii clinice randomizate (RCT-uri)

- **Definiție și importanță:**

RCT-urile reprezintă **standardul de aur** (*gold standard*) pentru stabilirea **relațiilor cauzale** între o intervenție și efectul ei.

Ele oferă **cea mai mare certitudine** că diferențele observate între grupuri se datorează **exclusiv intervenției aplicate**, nu altor factori.

- **Caracteristici principale:**

•Participanții sunt **repartizați aleatoriu (randomizați)** în:

- **Grupul experimental** → primește tratamentul testat
- **Grupul de control** → primește placebo sau tratamentul standard

➡️ *Fiecare participant are șanse egale de a fi inclus în oricare grup.*

Studii clinice randomizate (RCT-uri)

- **Rolul randomizării:**
  - Elimină **eroarea de selecție**
  - Creează **echilibru între factori cunoscuți și necunoscuți** (vârstă, comorbidități etc.)
  - Crește **validitatea internă** a studiului

Dacă studiul este **dublu-orb** — nici participanții, nici cercetătorii nu știu alocarea — se **reduc biasurile suplimentare** și se **îmbunătățește fiabilitatea** rezultatelor.

👉 RCT-urile sunt esențiale pentru a demonstra eficacitatea și siguranța intervențiilor medicale înainte de introducerea lor în practica clinică.

Studii clinice nerandomizate

- **Definiție:**

Studiile clinice nerandomizate sunt cercetări în care **alocarea participanților** în grupul experimental sau de control **nu se face aleatoriu** (random). Astfel, cercetătorul decide sau condițiile practice determină **cine primește intervenția** și **cine nu**.

- **Caracteristici:**

- Cunoscute și sub denumirea de **studii clinice comparative fără randomizare**.
- Sunt considerate **mai puțin robuste** metodologic, deoarece:
  - ✓ nu elimină erorile de selecție;
  - ✓ diferențele observate între grupuri pot fi influențate de **factori externi** (vârstă, severitatea bolii, comorbidități etc.),
  - ✓ ceea ce îngreunează stabilirea unei **relații cauzale clare** între intervenție și rezultat.

***Exemplu*:** Un studiu care compară două tratamente, dar pacienții aleg singuri care tratament să îl urmeze — **nu este randomizat**.

👉 Deși pot oferi informații utile despre **eficacitatea tratamentelor în condiții reale**, studiile nerandomizate sunt considerate **nivel inferior de dovadă** comparativ cu RCT-urile.

Studii clinice cu grupuri de control succesive

- **Studii cu autocontrol**

În studiile cu *autocontrol*, **același grup de subiecți** funcționează atât ca grup experimental, cât și ca grup de control. Fiecare participant servește drept propriul său control.

- **Avantaj**: elimină variabilitatea dintre subiecți.
- **Limitare**: pot apărea **efecte de ordine** (influența primei condiții asupra celei de-a doua).

Exemplu: Se testează efectul unui nou medicament — același pacient este evaluat înainte și după administrare.

Studii clinice cu grupuri de control succesive

- **Studii crossover (încrucișate)**

Implică **două grupuri de pacienți**, fiecare primind pe rând atât tratamentul experimental, cât și tratamentul de control / placebo.

Etapele:

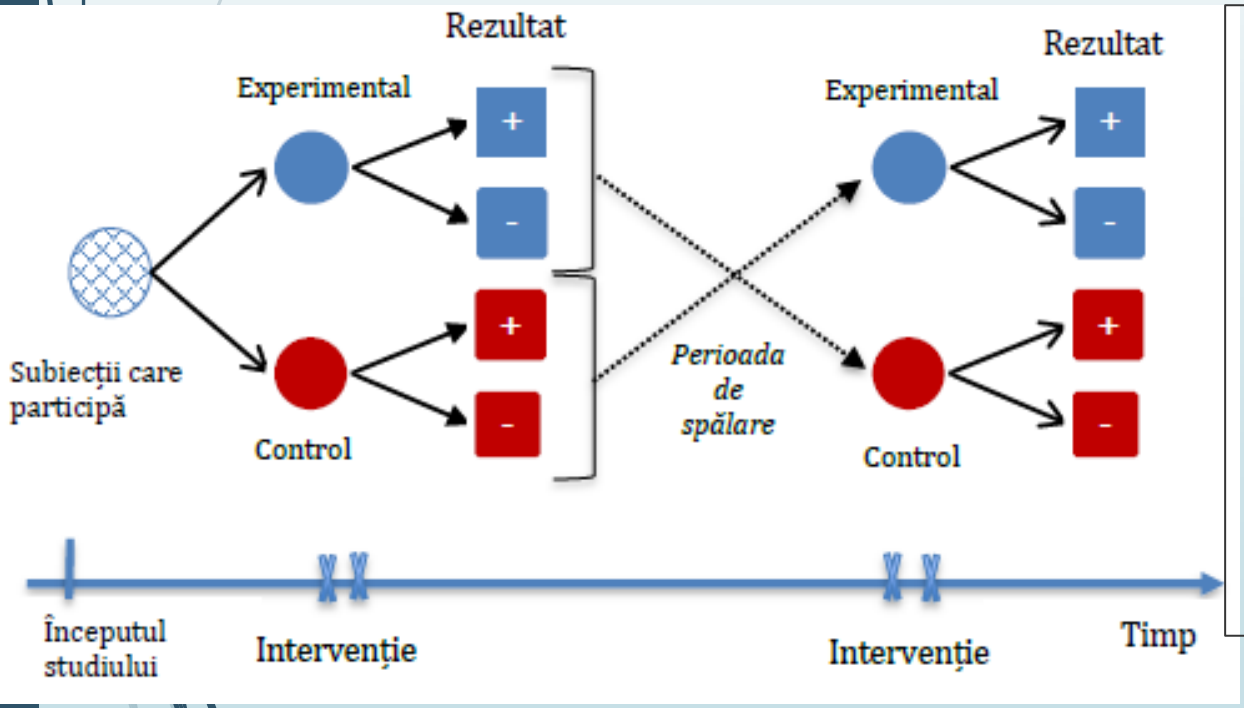
1. Grupul A → tratamentul experimental
   Grupul B → placebo / tratamentul standard
2. Urmează o perioadă de **„spălare" (washout)**, în care nu se administrează nimic.
3. Grupurile își **inversează tratamentele**:
   - Grupul A → placebo
   - Grupul B → tratamentul experimental

- **Avantaj**: crește puterea statistică, necesită un număr mai mic de participanți.
- **Limitare**: necesită stabilitate a bolii și absența efectelor reziduale ale tratamentului.

Studiul *crossover*, cunoscut și ca design **„în interiorul subiecților”** (*within-subjects design*), este un model experimental în care **fiecare participant primește ambele tratamente** — atât cel activ, cât și placebo — **în momente diferite**.

Astfel:

- fiecare pacient acționează ca **propriul său control**;
- variabilitatea individuală este redusă;
- se obțin rezultate **mai fiabile și mai sensibile** la diferențele reale dintre tratamente.



Acest tip de design este **deosebit de eficient** atunci când:

- efectele tratamentului sunt **reversibile**,
- boala este **stabilă în timp**,
- și există o **perioadă de „washout”** adecvată între etapele de tratament.

Diagramă de flux a unui studiu clinic cu controale secvențiale

Studii clinice cu grupuri de control externe

Definiție: **s**tudiile clinice cu controale externe compară **rezultatele unui tratament experimental** cu **date provenite din alte studii** sau cu **date colectate anterior** (așa-numitele *controale istorice*).

- **Scop și utilizare: a**cest tip de design este folosit atunci când:
  - nu este posibilă includerea unui grup de control simultan (de exemplu, în boli rare sau intervenții invazive);
  - există deja date solide dintr-un studiu anterior, care pot servi ca **referință comparativă**.

- **Avantaje**
  - Permite utilizarea datelor existente → **reducerea costurilor și timpului** de cercetare.
  - Poate fi util în **faze exploratorii** sau în **boli rare**.

- **Limitări**

Mai **puțin fiabil** decât studiile cu controale simultane, deoarece pot apărea diferențe:

- în caracteristicile populațiilor comparate;
- în condițiile de studiu;
- în metodele de colectare a datelor.

➡️ Prin urmare, rezultatele pot fi influențate de **factori confuzivi**.

Analiza statistică a studiilor clinice

Analiza statistică în cadrul studiilor clinice implică utilizarea unor măsuri specifice pentru a evalua eficacitatea intervențiilor. Aceste măsuri includ:

- Rata evenimentului experimental (*Experimental Event Rate*, EER);
- Rata evenimentului de control (*Control Event Rate*, CER)
- Riscul relativ (*Relative Risk*, RR);
- Reducerea absolută a riscului (*Absolute Risk Reduction*, ARR);
- Reducerea relativă a riscului (*Relative Risk Reduction*, RRR);
- Numărul pacienților care necesită tratament (*Number Needed to Treat*, NNT).

Tabel 2x2 pentru studiul clinic

Factorul de expunere (intervenție)	Rezultatul (*nefavorabil*)		Total
	Da	Nu	
Expuși: Tratament experimental	a	b	a + b
Neexpuși: Placebo	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

Rata evenimentului experimental (EER) - rata evenimentului (risc de rezultat advers, cum ar fi o boală sau decesul) în grupul care primește tratamentul experimental:

$$EER = \frac{a}{a+b}$$

Rata evenimentului de control (CER) - rata evenimentului în grupul care primește placebo sau tratamentul de control:

$$CER = \frac{c}{c+d}$$

Riscul relativ (RR) - raportul dintre riscul de boală în grupul experimental și riscul de boală în grupul de control. Acest indicator arată cât de probabil este ca grupul expus să experimenteze rezultatul comparativ cu grupul neexpus.

$$RR = \frac{EER}{CER}$$

Interpretarea RR:

RR = 1 - intervenția nu are niciun efect.

RR > 1 - intervenția reprezintă un factor de risc.

RR < 1 - intervenția constituie un factor benefic/protector.

Reducerea absolută a riscului (ARR) - indicator care măsoară scăderea riscului datorită intervenției, comparativ cu riscul inițial, și arată câți subiecți evită evenimentul pentru fiecare 100 de subiecți tratați. ARR se calculează ca diferența dintre rata evenimentului de control (CER) și rata evenimentului experimental (EER):

$$ARR = CER - EER$$

Exemplu: Într-un studiu, dacă EER pentru boala cardiovasculară (BCV) în grupul care ia aspirină este de 0,14 și CER în grupul de control este de 0,30, atunci:

$$ARR = 0{,}30 - 0{,}14 = 0{,}16$$

Interpretarea ARR:

> Riscul de BCV este de 14 subiecți la 100 în grupul care ia aspirină și de 30 la 100 în grupul care ia placebo. Prin urmare, 16 persoane din 100 evită BCV datorită administrării de aspirină.

Reducerea relativă a riscului (RRR) - proporția reducerii riscului în raport cu riscul inițial:

$$RRR = \frac{CER - EER}{CER} = \frac{ARR}{CER}$$

Exemplu: Folosind exemplul anterior cu aspirină, $$RRR = \frac{0,16}{0,30} = 0,53 \text{ or } 53\%$$

Interpretarea RRR:

> Reducerea relativă a riscului este de 53%. Acest lucru indică faptul că, în raport cu riscul inițial de 30 de cazuri de BCV la 100 de persoane, aspirina reduce riscul cu 53%.

⇒ ***Numărul pacienților care necesită tratament (NNT)*** - indicator care arată numărul de pacienți ce trebuie tratați pentru a preveni un eveniment advers.

$$NNT = \frac{1}{ARR}$$

Exemplu: Pentru studiul cu aspirină, NNT se calculează astfel:

$$NNT = \frac{1}{0,16} = 6,25$$

Interpretarea NNT:

> Astfel, aproximativ 6,25 pacienți trebuie tratați cu aspirină pentru a preveni un caz de BCV. Această informație ajută clinicienii să cântărească beneficiile și riscurile unui tratament.

Avantaje:

1. Oferă dovezi puternice privind cauzalitatea.
2. Reduce erorile sistematice.
3. Permite utilizarea controalelor istorice pentru studiile preliminare.

Dezavantaje:

1. Costisitoare.
2. Implică probleme etice.
3. Necesită timp.
4. Depinde de respectarea recomandărilor de către participanții la studiu.

Rolul analizei și interpretării datelor

Analiza datelor este **etapa în care cercetarea „găsește sens”** — transformă cifrele colectate în informații, iar informațiile în **concluzii relevante** pentru scopul studiului.

- Pe scurt:

  Colectarea datelor răspunde la „Ce avem?”,

  Analiza și interpretarea datelor răspund la „Ce înseamnă?”

Etapele analizei datelor în cercetarea medicală:

1. Verificarea calității datelor

- Eliminarea datelor lipsă, eronate sau neconforme;
- Identificarea valorilor extreme (*outliers*);
- Verificarea consistenței (ex. vârsta < 120 ani, parametri fiziologici realiști).

Scop: Asigurarea validității datelor înainte de analiză.

2. Analiza descriptivă

•Calculul indicatorilor de bază: **medie, mediană, abatere standard, frecvențe, procente**;

•Realizarea de **vizualizări**: histograme, tabele, grafice;

•Descrierea caracteristicilor eșantionului (vârstă, sex, factori de risc).

Scop: Înțelegerea distribuției și structurii datelor.

3. Analiza inferențială

- Aplicarea testelor statistice pentru **verificarea ipotezelor**: t-test, chi-pătrat, ANOVA, regresie, corelație etc.;
- Alegerea testului depinde de **tipul variabilelor** (categorice, numerice) și **scopul studiului** (comparație, predicție, asociere);
- Rezultatele se exprimă prin: **valori p**, **intervale de încredere**, **coeficienți de asociere**.

Scop: Extrapolarea concluziilor din eșantion la populația țintă.

4. Interpretarea rezultatelor

- Ce **semnificație clinică** are rezultatul statistic?
- Un rezultat semnificativ statistic ($p < 0,05$) **nu implică automat relevanță clinică**;
- Se evaluează **mărimea efectului** și **aplicabilitatea practică** în contextul real.

Conceptul de validitate

Validitatea exprimă **cât de corecte și credibile sunt rezultatele** unui studiu. Cu alte cuvinte, *în ce măsură concluziile reflectă realitatea și pot fi generalizate.*

Există două dimensiuni principale:

- **a) Validitate internă**

Se referă la măsura în care rezultatele studiului reflectă **relația reală dintre variabile**, fără erori sistematice (biasuri).

Factori care pot afecta validitatea internă:

- selecția inegală a participanților (*bias de selecție*);
- pierderile din studiu (*attrition bias*);
- lipsa randomizării;
- efectul observatorului sau al așteptărilor (*performance bias*).

Exemplu: Dacă într-un studiu despre efectul unui medicament, pacienții tineri predomină într-un grup, diferența observată poate reflecta vârsta, nu tratamentul.

Validitatea internă răspunde la întrebarea: „Rezultatele mele reflectă cu adevărat relația cauzală investigată?”

- **b) Validitate externă (relevanță externă)**

Se referă la **capacitatea de a generaliza rezultatele** către alte populații, contexte sau momente în timp.

Întrebarea-cheie:

„Pot aplica aceste rezultate pacienților mei?”

Factori care influențează validitatea externă:

- dimensiunea eșantionului;
- reprezentativitatea populației studiate;
- condițiile experimentale (reale vs. artificiale).

Exemplu: Un studiu realizat doar pe 100 de voluntari tineri nu se poate aplica automat pacienților vârstnici sau cu comorbidități.

Validitatea externă răspunde la întrebarea: „Pot extinde aceste concluzii dincolo de eșantionul meu?”

Relevanța rezultatelor

Relevanța exprimă **valoarea practică și semnificația clinică** a rezultatelor.

O diferență poate fi *semnificativă statistic*, dar totuși *neimportantă clinic*. (adică, există o diferență reală, dar efectul este prea mic pentru a schimba practica medicală).

De aceea, interpretarea trebuie să țină cont de:

- **Efectul absolut și relativ** – cât de mare este diferența reală între grupuri. (*Un efect mic poate fi statistic semnificativ, dar clinic irelevant.*)
- **Impactul asupra pacientului** – scade mortalitatea? îmbunătățește calitatea vieții? reduce simptomele?
- **Fezabilitatea aplicării** – Poate fi implementat ușor? Care sunt costurile, riscurile, resursele necesare?

Exemplu: Un nou antihipertensiv scade tensiunea arterială cu 2 mmHg mai mult decât cel vechi ($p < 0,01$). → Semnificativ statistic, dar impact clinic minor.

Raportarea rezultatelor (Reporting)

Etapa finală a analizei — prezentarea clară, transparentă și completă a datelor.

Scop: **cititorul să poată evalua validitatea, relevanța și calitatea studiului.**

Principii de raportare corectă:

- Se raportează **rezultatele pentru toate obiectivele definite inițial** (nu doar cele „interesante”).
- Se prezintă **metodele statistice folosite** (testul, nivelul de semnificație, software).
- Se includ **măsuri de variabilitate** (SD, CI 95%, eroare standard).
- Se evită selectarea doar a rezultatelor „pozitive” (*reporting bias*).

Ghiduri internaționale de raportare

Ghid	Tip de studiu	Scop principal
CONSORT	Studii clinice randomizate	Structurarea și raportarea intervențiilor controlate
STROBE	Studii observaționale	Claritatea în raportarea designului și rezultatelor
PRISMA	Meta-analize și revizuiri sistematice	Raportarea metodelor de selecție și analiză a studiilor
CARE	Rapoarte de cazuri clinice	Documentarea completă a cazurilor individuale

Elemente cheie ale raportării:

1) Rezultatele principale (obiectiv primar)
2) Rezultate secundare și exploratorii
3) Analize de subgrup (dacă au fost predefinite)
4) Limitările studiului
5) Interpretarea în contextul literaturii existente

Greșeli frecvente în analiza și raportarea datelor

- Folosirea testelor statistice greșite pentru tipul de date.
- Raportarea doar a valorilor „semnificative”.
- Lipsa detaliilor despre pierderi de subiecți (dropout).
- Exagerarea concluziilor (confundarea corelației cu cauzalitatea).
- Omiterea limitărilor sau a posibilelor surse de eroare.

👉 Transparența și onestitatea în raportare sunt esențiale pentru validitatea științifică.

7 - 8. Metodele de cercetare cantitative și calitative

Metode de cercetare cantitative

- **Definiție generală**

Cercetarea cantitativă urmărește **măsurarea fenomenelor** prin colectarea și ***analiza datelor numerice.***

Scopul este de a **identifica relații, corelații sau diferențe semnificative** între variabile, utilizând instrumente standardizate și proceduri statistice.

- Se bazează pe: obiectivitate, reproductibilitate, măsurare, generalizare.
- Răspunde la întrebări de tipul: ***„Cât?”, „Cât de des?”, „Care este relația dintre...?”***

- **Caracteristici principale**
  - Date numerice, analizate statistic.
  - Eșantioane mari, reprezentative.
  - Instrumente standardizate (chestionare, scale, teste).
  - Rezultatele sunt generalizabile la o populație.

Designul cercetării cantitative

Etapele de bază:

1.Formularea ipotezelor – H_0 (nulă), H_1 (alternativă).

2.Identificarea variabilelor:

1. **independentă** – factorul manipulat (ex. tratamentul),
2. **dependentă** – efectul măsurat (ex. tensiunea arterială),
3. **de control/confundente** – alte influențe ce trebuie limitate.

3.Alegerea eșantionului – randomizare, stratificare, calculul dimensiunii eșantionului.

4.Alegerea designului:

1. descriptiv (ex. prevalența diabetului într-o populație),
2. corelațional (relația între stres și tensiune),
3. experimental (testarea unei intervenții).

Formularea ipotezelor

- O **ipoteză** reprezintă o **afirmație predictivă, testabilă și falsificabilă** despre relația dintre două sau mai multe variabile.
- Ea descrie **ce se așteaptă să se întâmple** în cadrul studiului, pe baza unei teorii, observații sau cercetări anterioare.

👉 Pe scurt: o ipoteză este **o presupunere informată** pe care cercetătorul o testează științific.

Rolul ipotezei în cercetare

- **Ghidează întregul design** al studiului (ce măsori, ce compari, cum analizezi).
- Oferă **direcție** colectării datelor.
- Permite **verificarea statistică** a relațiilor.
- Contribuie la **formarea teoriilor** (ipotezele confirmate susțin o teorie, cele respinse o ajustează).

- **Tipuri de ipoteze**

- **H_0 (ipoteza nulă):** „nu există diferență/efect/asociere”.
- **H_1 (ipoteza alternativă):** „există diferență/efect/asociere” (direcțională sau nedirecțională).

Tip	Descriere	Exemplu
Ipoteză nulă (H_0)	Susține că **nu există diferență** sau **asociere** între variabile.	H_0: Media glicemiei nu diferă între grupul cu dietă și cel fără dietă.
Ipoteză alternativă (H_1)	Susține că **există o diferență** sau **asociere** între variabile.	H_1: Media glicemiei este mai mică la pacienții cu dietă.
Ipoteză direcțională	Indică **sensul efectului.**	H_1: Exercițiile fizice **scad** tensiunea arterială.
Ipoteză nedirecțională	Doar afirmă că există o diferență, fără a preciza direcția.	H_1: Exercițiile fizice **modifică** tensiunea arterială.

Cum formulezi corect o ipoteză?

1️⃣ Pornește de la o întrebare clară de cercetare

O ipoteză se formulează **pentru a răspunde** la o întrebare științifică precisă.

De exemplu:

Întrebarea de lucru: Are noul antihipertensiv un efect mai mare decât placebo asupra TA sistolice?

- ➡️ **H_0:** Nu există diferență între grupuri.
- ➡️ **H_1:** Noul medicament reduce tensiunea arterială comparativ cu placebo.

2 Folosește structura PICO

- Specifică **populația**, **intervenția/expunerea**, **comparatorul**, **rezultatul**.
- Definește **tipul ipotezei**: diferență de medii, proporții, risc relativ, corelație.
- Alege **nivelul α** (uzual 0,05) și **puterea** (uzual 80–90%).

Element	Ce înseamnă	Exemplu
P (Populație)	Cine sunt participanții?	Pacienți adulți cu hipertensiune arterială
I (Intervenție / Expunere)	Ce se testează?	Noul medicament antihipertensiv
C (Comparator)	Cu ce se compară?	Placebo sau tratamentul standard
O (Outcome - Rezultat)	Ce efect se măsoară?	Scăderea tensiunii arteriale sistolice

3 Definește tipul ipotezei statistice

În funcție de scopul studiului, ipoteza poate testa:

Tip de comparație	Ce verifici	Exemplu
Diferență de medii	Compari o valoare numerică între două grupuri	Media TA între grupul cu medicament vs placebo
Diferență de proporții	Compari procente (frecvențe) între grupuri	Proporția fumătorilor cu tuse cronică vs nefumători
Risc relativ / Odds ratio	Evaluezi o asociere între o expunere și o boală	Risc de infarct la fumători vs nefumători
Corelație / Regresie	Analizezi relația dintre două variabile continue	Relația între nivelul de stres și glicemie

4 Stabilește parametrii statistici principali

Pentru a testa ipoteza, trebuie să decizi dinainte **nivelul de semnificație (α)** și **puterea statistică (1–β)**:

Parametru	Ce reprezintă	Valoare uzuală	Înseamnă practic
α (alfa)	Probabilitatea de a respinge greșit ipoteza nulă (*eroare de tip I*)	0,05	Acceptăm un risc de 5% de a concluziona greșit că există o diferență
Puterea (1–β)	Probabilitatea de a detecta corect un efect real	0,80–0,90	Vrem 80–90% șanse de a descoperi efectul dacă el există în realitate

👉 Pe scurt:

- α = cât de „exigent” e testul (semnificația statistică);
- puterea = cât de „sensibil” e testul (capacitatea de a detecta efectul).

***Exemplu*:**

- H_0: Media tensiunii arteriale este aceeași la pacienții tratați cu noul medicament și la cei care primesc placebo.
- H_1: Media tensiunii arteriale este diferită între cele două grupuri.
  (sau: este mai mică în grupul tratat, dacă direcția e cunoscută).

5 Formulează clar H_0 și H_1

```
Întrebare de cercetare
        ↓
Formulare PICO
        ↓
Tipul relației (diferență, asociere, corelație)
        ↓
Alegerea α și puterii (semnificație și sensibilitate)
        ↓
Formularea ipotezelor H₀ și H₁
        ↓
Colectare date
        ↓
Analiză statistică
        ↓
Rezultate → Confirmă / Respinge H₀
        ↓
Concluzie: se susține sau nu relația presupusă
```

O ipoteză științifică trebuie să fie:

- **Clar formulată** – fără ambiguități;
- **Testabilă** – poate fi verificată prin date reale;
- **Falsificabilă** – poate fi respinsă dacă rezultatele o contrazic;
- **Specifică** – include variabilele și relația dintre ele;
- **Bazată pe teorie sau dovezi anterioare**.

Identificarea variabilelor

👉Variabila independentă

Este **factorul cauzal sau predictorul** — adică **variabila manipulată, controlată sau clasificată** de cercetător pentru a observa efectul ei asupra altei variabile.

- Pe scurt: *„Cauza presupusă”* — ceea ce **influențează**.

***Exemple*:**

- Tipul de tratament administrat (nou medicament vs. placebo).
- Nivelul de expunere (fumători vs. nefumători).
- Intervenția aplicată (program de exerciții fizice, consiliere psihologică etc.).

👉 Variabila dependentă

Este **efectul sau rezultatul măsurat**, care se modifică **în funcție de variabila independentă**.

- Pe scurt: *„Efectul observat”* — ceea ce **este influențat**.

***Exemple*:**

- Tensiunea arterială după tratament.
- Nivelul glicemiei după o dietă.
- Scorul depresiei după psihoterapie.

👉 **Variabile de control (sau confundente)**

Sunt **alți factori** care pot influența relația dintre variabila independentă și dependentă, dar **nu fac parte din ipoteza principală**.

Cercetătorul încearcă **să le controleze** (prin design, randomizare sau analiză statistică).

***Exemple*:**

•Vârsta, sexul, dieta, istoricul medical, stresul etc.

Studiu: Evaluarea efectului unui nou medicament antihipertensiv asupra TA

Tip de variabilă	Descriere	Exemplu concret
Independentă	Factorul manipulat / cauzal	Tipul de tratament (nou medicament vs. placebo)
Dependentă	Efectul măsurat	Valoarea tensiunii arteriale după 8 săptămâni
De control / confundente	Alte variabile care pot influența rezultatul	Dieta, vârsta, greutatea, stresul, alte medicamente

- **VI → VD** *(variabila independentă determină variabila dependentă)*

sau, în termeni practici:

- **tratamentul → afectează → rezultatul clinic**

- **Alegerea eșantionului – randomizare, stratificare, calculul dimensiunii eșantionului.**

1 Ce este eșantionul?

- Un **eșantion** este **grupul de subiecți selectați din populația țintă**, asupra cărora se realizează studiul.
- Scopul este ca **rezultatele obținute în eșantion** să fie **reprezentative pentru întreaga populație**.

Exemplu: Dacă populația țintă este formată din „pacienți adulți cu diabet tip 2”, eșantionul poate fi „100 de pacienți selectați din trei clinici de diabetologie”.

2 Etapele selecției eșantionului

Etapă	Descriere	Exemplu medical
1. Definirea populației țintă	Cine sunt persoanele despre care vrem să tragem concluzii?	Toți pacienții cu diabet tip 2 din România
2. Stabilirea criteriilor de includere/excludere	Condiții care determină eligibilitatea participanților	Includere: diagnostic confirmat, vârstă 40–70 ani; Excludere: sarcină, comorbidități severe
3. Alegerea metodei de selecție	Modul în care se aleg participanții	randomizare, stratificare, selecție convenabilă etc.

3 Tipuri de selecție a eșantionului

- **A. Randomizare (selecție aleatorie)**

Fiecare individ din populația țintă are **șanse egale de a fi inclus** în studiu.

- Scop: eliminarea **biasului de selecție**
- Avantaj: crește validitatea internă a studiului
- Tipuri de randomizare:
  - **Simplă:** selecție complet aleatorie (ex. tragere la sorți, random.org)
  - **Blocuri:** asigură un număr egal de participanți în fiecare grup
  - **Stratificată:** randomizare separată în funcție de factori importanți (ex. sex, vârstă)
  - **Cluster:** unitatea aleatorie este un grup (ex. spitale, clase, comunități)

Exemplu: Pacienții sunt împărțiți aleatoriu în două grupuri — tratament și placebo.

- **B. Stratificare**

Se folosește pentru a **asigura reprezentarea proporțională** a subgrupurilor importante din populație.

- Populația este împărțită în *straturi* (ex. bărbați/femei, grupe de vârstă), apoi se face selecția aleatorie **din fiecare strat**.
- Avantaj: reduce variabilitatea și crește precizia estimărilor.

Exemplu: Într-un studiu despre hipertensiune, includem proporții egale de femei și bărbați pentru fiecare grupă de vârstă.

- **C. Selecția nealeatorie (non-probabilistică)**

Folosită frecvent în studii observaționale, exploratorii sau calitative.

Tip	Descriere	Exemplu
Conveniență	Participanți ușor accesibili	pacienți dintr-un singur spital
Criterii de intenție (purposive)	Alegerea deliberată a unor cazuri relevante	experți sau pacienți cu forme rare
Bola de zăpadă (snowball)	Participanți recrutați de alți participanți	studii în populații greu accesibile

4 Calculul dimensiunii eșantionului

Dimensiunea eșantionului este esențială pentru a avea rezultate **statistic semnificative** și **relevante clinic**. Depinde de:

Factor	Explicație	Efect asupra dimensiunii
α (nivelul de semnificație)	Pragul pentru respingerea H_0 (ex. 0,05)	α mai mic → eșantion mai mare
Puterea (1–β)	Probabilitatea de a detecta un efect real	Putere mai mare → eșantion mai mare
Mărimea efectului (effect size)	Diferența minimă considerată relevantă	Efect mai mare → eșantion mai mic
Variabilitatea (SD)	Dispersia valorilor	Variabilitate mare → eșantion mai mare

Erori frecvente în selecția eșantionului

- Eșantion prea mic → putere statistică scăzută.
- Selecție convenabilă → bias de selecție.
- Lipsa stratificării → subreprezentarea unor grupuri.
- Pierderi mari de participanți → scăderea validității interne.

Alegerea designului de cercetare cantitativă

Designul cercetării reprezintă **structura logică** a studiului – planul după care se colectează și se analizează datele pentru a răspunde la întrebarea de cercetare. În cercetarea cantitativă, designul determină **ce măsori**, **când** și **cum interpretezi rezultatele**.

Tipuri de design:

1. **Descriptiv**
2. **Corelațional / Analitic observațional**
3. **Experimental (intervențional)**

1️⃣ Design descriptiv

✅ **Scop:**

Să **descrie** caracteristicile unei populații, fără a analiza relații cauzale.

***Exemple*:**

- Prevalența diabetului într-o populație urbană.
- Distribuția valorilor de tensiune arterială în funcție de sex și vârstă.
- Proporția fumătorilor într-un grup de studenți la medicină.

Metode de cercetare:

- sondaje, chestionare, baze de date existente;
- măsurători directe (tensiune, greutate etc.).

Indicatori tipici: medii, proporții, rate, frecvențe.

Avantaj: simplu, rapid, oferă o imagine de ansamblu a fenomenului.

Limitare: nu stabilește relații cauzale (nu poți spune „X cauzează Y”).

2️⃣ Design corelațional (analitic observațional)

✅ **Scop:**

Să evalueze **relația dintre două sau mai multe variabile**, fără intervenția cercetătorului.

***Exemplu medical*:**

- Relația dintre nivelul de stres și tensiunea arterială.
- Corelația dintre indicele de masă corporală (IMC) și nivelul colesterolului.
- Asocierea între fumat și incidența bronhopneumopatiei cronice obstructive (BPOC).

Tipuri:

Tip de corelație	Exemplu	Test statistic uzual
Pozitivă	↑ stres → ↑ tensiune	coeficient Pearson (r)
Negativă	↑ activitate fizică → ↓ glicemie	coeficient Pearson (r)
Non-liniară	efect invers după o anumită valoare	regresie neliniară

Avantaj: ajută la identificarea posibilelor relații sau factori de risc.

Limitare: corelația ≠ cauzalitate – o relație observată poate fi influențată de factori confundenți (ex. vârsta, dieta, sexul).

3️⃣ Design experimental (intervențional)

✅ **Scop:**
Să evalueze **efectul cauzal al unei intervenții** (tratament, program, expunere controlată). Cercetătorul **manipulează variabila independentă** (ex. tratamentul) și **măsoară efectul** asupra variabilei dependente (ex. tensiunea arterială).
***Exemple*:**

- Efectul unui nou antihipertensiv comparativ cu placebo.
- Impactul unui program de educație nutrițională asupra greutății corporale.
- Compararea eficienței a două tehnici chirurgicale.

Tipuri de designuri experimentale:

Tip	Descriere	Exemplu
Randomizat (RCT)	participanții sunt alocați aleatoriu în grupuri (tratament vs. control)	medicament nou vs. placebo
Crossover	fiecare participant primește pe rând tratamentul și controlul, cu o perioadă de „spălare" între ele	compararea a două medicamente antihipertensive
Quasi-experimental (nerandomizat)	grupurile sunt deja formate (nu se face randomizare)	compararea pacienților din două spitale diferite

Avantaj: cel mai solid design pentru **demonstrarea relațiilor cauzale**.

Limitări: costuri mari, probleme etice, dificultăți de implementare în populații vulnerabile.

4 Alegerea designului potrivit

Depinde de:

Scopul studiului	Design recomandat
Descrierea fenomenului	Descriptiv
Identificarea relațiilor	Corelațional / Observațional
Testarea unei ipoteze cauzale	Experimental

Exemple:

Întrebarea de cercetare	Design recomandat	Variabile
Care este prevalența obezității la adolescenți?	Descriptiv	IMC, vârstă, sex
Există o relație între fumat și tensiune arterială?	Corelațional	status de fumător, TA
Scade un nou medicament tensiunea arterială comparativ cu placebo?	Experimental (RCT)	tip tratament, tensiune arterială

Tehnici principale de colectare a datelor

a) Chestionarul

- Instrument de colectare standardizată a datelor, alcătuit din itemi clari și obiectivi.
- Poate include:
  - întrebări **închise** (cu răspunsuri prestabilite – ex. da/nu, scale Likert: acord/dezacord),
  - întrebări **deschise** (pentru detalii suplimentare).

Avantaj: ușor de administrat, date rapide, permite comparabilitatea răspunsurilor.

Limitare: nu oferă profunzime în motivațiile respondentului, răspunsurile pot fi influențate de dorința de conformitate

b) Sondajul

- Metodă utilizată pentru a obține date despre opinii, atitudini sau comportamente ale unui eșantion.
- Se bazează pe **chestionare structurate**, aplicate prin interviuri, online sau față în față.
- Poate fi transversal (un moment) sau longitudinal (în timp).

Avantaje: rapid, cost redus, ușor de analizat statistic.

Limitări: răspunsuri influențate de formularea întrebărilor sau de lipsa sincerității.

c) Experimentul

- Metodă care **testează relații cauzale** între variabile.
- Cercetătorul **manipulează o variabilă independentă** și măsoară efectele asupra variabilei dependente.
- Include **grup experimental** și **grup de control**.
- Tipuri:
  - **Experiment de laborator** – control riguros al condițiilor.
  - **Experiment de teren** – aplicat în contexte reale.

Avantaj: oferă **cea mai puternică evidență pentru cauzalitate**.

Limitare: uneori artificial, cu validitate externă redusă.

- **Exemple aplicate**
  - Sondaj privind **nivelul de aderență la tratament** la pacienți diabetici.
  - Experiment care compară **eficacitatea a două tipuri de consiliere** în reducerea anxietății.

Analiza și interpretarea datelor

Etapele:

1.Curățarea și verificarea datelor.

2.Alegerea testului statistic în funcție de tipul de variabile:

1. t-test → comparația între două grupuri,
2. chi-pătrat → relații între variabile categoriale,
3. ANOVA → comparație între mai multe grupuri,
4. regresie → predicția unei variabile.

3.Interpretarea valorilor p (< 0,05 semnificativ).

4.Interval de încredere (95%).

5.Mărimea efectului (effect size).

Important:

- Semnificația statistică ≠ relevanță clinică.
- Un rezultat semnificativ statistic poate avea un impact practic minor.

Metode de cercetare calitative

Metodele calitative urmăresc **înțelegerea în profunzime a fenomenelor**, a experiențelor subiective și a sensurilor atribuite de participanți.

- **Obiectivele cercetării calitative**

Cercetarea calitativă urmărește:

- înțelegerea **semnificațiilor subiective** atribuite experiențelor;
- descrierea **percepțiilor, atitudinilor și motivațiilor**;
- explorarea contextului în care apar fenomenele (social, cultural, organizațional);
- formularea de **ipoteze noi** ce pot fi ulterior testate cantitativ.

👉 **Răspunde la întrebări de tip:**

„Cum percep pacienții boala lor?”
„Ce factori influențează decizia de a respecta tratamentul?”
„Cum se simt cadrele medicale într-o situație de criză?”

- **Caracteristici generale**

- Se bazează pe **date narative și descriptive** (texte, imagini, comportamente).
- Eșantioanele sunt **mici și intenționate**, nu reprezentative statistic.
- Analiza este **interpretativă, inductivă**.
- Accentul este pe **context, semnificație și proces**, nu pe numere.

Principalele metode calitative

Interviul

- Metoda cea mai frecvent utilizată.
- Poate fi **structurat**, **semistructurat** sau **nestructurat**.
- Permite explorarea opiniilor, percepțiilor și trăirilor participanților.

***Avantaje*:** profunzime, flexibilitate, relevanță context.

***Limite*:** timp îndelungat, analiză complexă, posibil bias de interpretare.

Tip de interviu	Descriere	Exemplu
Structurat	întrebări fixe, ordine prestabilită	anchete rapide (ex. experiența spitalizării)
Semi-structurat	ghid cu teme, dar flexibilitate în discuție	explorarea percepției pacienților despre un tratament nou
Nestructurat (în profunzime)	conversație liberă, centrată pe participant	studii psihosociale, interviuri narative

📌 **Avantaje:** obții răspunsuri bogate, emoționale, detaliate.

📌 **Dezavantaje:** analiză complexă, influențată de interpretarea cercetătorului.

❑ **Focus grup (interviu de grup)**

- Discuție ghidată între **6–10 participanți** cu experiențe similare, moderată de un facilitator.
- Se explorează opinii, valori, reacții, norme.
- Permite observarea **dinamicii de grup** și a **consensului/disensiunilor**.

Exemplu: Explorarea percepției pacienților despre telemedicină sau vaccinare.

❑ **Observația**

- Înseamnă **studierea directă a comportamentelor** în mediul natural.
- Se notează **detalii despre context, limbaj nonverbal, interacțiuni**.

Poate fi:

Tip	Descriere	Exemplu
Participativă	cercetătorul se integrează în grup	observarea personalului medical într-o secție ATI
Non-participativă	observator extern	analiza comportamentului pacienților în sala de așteptare

❑ Analiza de conținut / documentară

Analiza de conținut este o metodă sistematică de **examinare și interpretare a materialului textual sau vizual**, cu scopul de a identifica **modele, teme și semnificații** prezente în comunicare.

◆ Etapele analizei de conținut

Definirea scopului și a întrebării de cercetare

→ Ce vrei să afli din documente? (ex. percepția publică despre vaccinare).

Selectarea materialului

→ articole, postări, interviuri, protocoale, rapoarte.

Unitatea de analiză

→ cuvânt, frază, paragraf, temă.

Codificarea datelor

→ etichetarea textelor în funcție de teme recurente (ex. „teamă”, „încredere”, „dezinformare”).

Interpretarea și raportarea rezultatelor

→ prezentarea modelelor și sensurilor dominante.

❑ Studiul de caz în cercetarea calitativă

- **Studiul de caz** este o metodă calitativă care urmărește **analiza aprofundată, contextuală și detaliată** a unui fenomen, eveniment, individ, grup sau instituție.
- **Scopul** său nu este **generalizarea rezultatelor**, ci **înțelegerea complexă a situației** și a factorilor care o influențează.
- Pe scurt: **„cazul" este un exemplu viu, analizat pentru a înțelege mecanismele unui fenomen real.**

Obiectivele studiului de caz

- ✓ Să **descrie** contextul și dinamica unui fenomen.
- ✓ Să **explice** procesele și deciziile implicate.
- ✓ Să **exploreze** experiențele participanților și interacțiunile dintre factori.
- ✓ Să **genereze ipoteze** pentru cercetări viitoare.

- **Elemente esențiale ale unui studiu de caz**

1. **Definirea cazului**

   → alegerea clară a unității de analiză: individ, familie, secție medicală, program etc.

2. **Stabilirea limitelor cazului**

   → delimitarea temporală, geografică și tematică („ce este inclus și ce nu”).

3. **Colectarea datelor din multiple surse:**

   - interviuri (pacienți, medici, rude);
   - observații directe (comportamente, interacțiuni);
   - documente (foi de observație, protocoale, rapoarte);
   - materiale vizuale (fotografii, diagrame, înregistrări).

4. **Analiza și interpretarea**

   - identificarea temelor principale;
   - compararea perspectivelor;
   - construirea unei narațiuni coerente despre caz.

5. **Prezentarea rezultatelor**

   - poveste detaliată, contextualizată;
   - descrierea factorilor favorizanți / inhibitori;
   - reflecții teoretice și implicații practice.

Avantaje ale studiului de caz

- Permite **înțelegerea holistică** a unui fenomen complex.
- Oferă **profundime și context**.
- Poate genera **ipoteze** pentru studii viitoare.
- Este **flexibil** – permite adaptarea metodelor pe parcurs.
- Este **util în formarea profesională** (ex. învățare bazată pe cazuri).

Limitări

- Nu permite generalizarea rezultatelor.
- Poate fi influențat de **subiectivitatea cercetătorului**.
- Analiza este **timp-consumatoare** și necesită reflecție continuă.
- Depinde de **calitatea și diversitatea datelor colectate**.

Studiul de caz reprezintă un instrument valoros în cercetarea medicală calitativă, deoarece permite **explorarea în profunzime a experiențelor și proceselor** care nu pot fi captate prin metode cantitative. El transformă o situație concretă într-o **lecție complexă de învățare** și contribuie la dezvoltarea cunoașterii clinice, organizaționale și umane.

- **Etapele procesului calitativ**

1. **Formularea întrebării de cercetare**

   → clară, deschisă („Cum…?”, „De ce…?”).

2. **Selectarea participanților și obținerea consimțământului informat.**

3. **Colectarea datelor**

   → interviuri, focus grupuri, observații, documente.

4. **Transcrierea și codificarea datelor**

   → transformarea în text, etichetarea fragmentelor relevante.

5. **Analiza tematică**

   → identificarea temelor recurente și a relațiilor dintre ele.

6. **Interpretarea și validarea rezultatelor**

   → compararea cu literatura, verificarea credibilității (triangulare, feedback).

- **Analiza datelor calitative**

Metode principale:

Tip de analiză	Descriere	Exemplu
Analiza tematică	identificarea și gruparea temelor din date	teme: „frica de boală", „încrederea în medic"
Analiza de conținut	cuantificarea categoriilor de sens (frecvențe, context)	analiza mesajelor media
Analiza narativă	interpretarea poveștilor individuale	istoria personală a unui pacient cu cancer
Analiza fenomenologică	înțelegerea experienței trăite	trăirea pacientului în izolare post-COVID
Analiza teoriilor fundamentate (Grounded theory)	dezvoltarea unei teorii emergente din date	model conceptual al complianței la tratament

Comparativ: Cercetare cantitativă vs.cercetare calitativă

Caracteristică	Cercetare cantitativă	Cercetare calitativă
Scop	Măsurare, testare ipoteze	Înțelegere, explorare
Tip de date	Numerice, codificate	Descriptive, narative
Analiză	Statistică	Interpretativă
Eșantion	Mare, reprezentativ	Mic, intenționat
Rezultat	Generalizare	Contextualizare
Exemplu	Sondaj, experiment	Interviu, observație

9 - 10. Managementul proiectelor / granturilor de cercetare

1 Managementul proiectelor de cercetare

Definiție:

Managementul proiectului de cercetare înseamnă **planificarea, organizarea, monitorizarea și controlul activităților** pentru a atinge obiectivele științifice într-un timp dat, cu resurse limitate - **indiferent de sursa de finanțare.**

Cu alte cuvinte: este managementul *științific, tehnic și logistic* al proiectului – cum se desfășoară cercetarea propriu-zisă.

- **Scop:**
  - atingerea obiectivelor de cercetare la termen;
  - utilizarea eficientă a resurselor umane, materiale și financiare;
  - respectarea standardelor etice și științifice.

- **Obiectiv principal:** asigurarea realizării scopurilor științifice și a livrabilelor (rapoarte, articole, rezultate experimentale) conform planului.

- **Responsabilitate:** Coordonatorul de proiect / echipa științifică.

2 Managementul granturilor de cercetare

Definiție:

Se referă la administrarea *finanțării externe* a proiectelor de cercetare, conform regulilor impuse de finanțator (UEFISCDI, CNCS, Horizon Europe, Minister, etc.).

Cu alte cuvinte: este managementul *administrativ și financiar* al proiectului – cum se gestionează banii, documentele, raportările.

- **Obiectiv principal:** asigurarea utilizării corecte, legale și eficiente a fondurilor primite printr-un **grant de cercetare**.

- **Responsabilitate:** Managerul de proiect / responsabilul financiar / instituția beneficiar.

Proiect vs. Grant

Aspect	Managementul proiectului de cercetare	Managementul grantului de cercetare
Scop	Realizarea obiectivelor științifice	Administrarea corectă a fondurilor
Focus	Conținutul și metodologia cercetării	Proceduri financiare și legale
Responsabil	Coordonatorul științific	Managerul de grant / instituția
Rezultat final	Raport științific, publicații, rezultate	Raport financiar și justificativ
Instrumente	Gantt, RACI, registru de risc	Buget, contract, audit, rapoarte financiare
Indicatori	Număr articole, rezultate experimentale	Grad execuție bugetară, conformitate
Reguli	Definite de echipa științifică	Impuse de finanțator (UEFISCDI, Horizon etc.)

Cum se completează cele două? Cele două tipuri de management se **suprapun**, dar din perspective diferite:

- **Managementul proiectului** = *ce și cum facem cercetarea.*
- **Managementul grantului** = *cu ce resurse și cum le justificăm legal.*

Etapele ciclului de viață al unui proiect de cercetare

Etapă	Descriere	Livrabile principale
1. Inițierea proiectului	Definirea scopului, justificarea, analiza de fezabilitate	Propunerea de proiect, obiective, parteneriate
2. Planificarea	Stabilirea calendarului, bugetului, echipei, riscurilor	Planul de lucru (Gantt), bugetul, proceduri
3. Implementarea	Derularea activităților de cercetare, colectarea datelor	Rapoarte intermediare, rezultate preliminare
4. Monitorizarea și controlul	Urmărirea progresului, ajustarea resurselor	Indicatori de performanță, control bugetar
5. Finalizarea și diseminarea	Analiza rezultatelor, raport final, publicare	Raport științific, articole, prezentări

Aceste etape sunt ciclice — rezultatele pot genera noi proiecte sau direcții de cercetare.

Livrabilele sunt **rezultatele concrete, verificabile și măsurabile** care trebuie obținute și predate la finalul unei activități, unei etape sau la sfârșitul proiectului.

Cu alte cuvinte, sunt *produsele tangibile sau intangibile* care demonstrează progresul cercetării.

Ele pot fi:

- ✓ documente,
- ✓ rapoarte,
- ✓ articole științifice,
- ✓ baze de date,
- ✓ protocoale experimentale,
- ✓ ghiduri,
- ✓ instrumente software etc.

Livrabilele sunt baza pentru:

- monitorizarea progresului (ce s-a realizat concret);
- justificarea finanțării;
- auditul și raportarea către finanțator;
- evaluarea succesului proiectului.

Caracteristici ale unui livrabil bun:

1) Este **clar definit** în planul de proiect (ce anume se livrează).
2) Are **un termen precis** de finalizare.
3) Este **măsurabil / evaluabil** — se poate verifica obiectiv dacă a fost realizat.
4) Este **asociat unei activități** sau unui pachet de lucru (*work package*).
5) Are **un responsabil desemnat** (cine îl produce).

Exemple de livrabile în cercetare medicală:

Etapa proiectului	Livrabil	Descriere
Elaborarea protocolului	Protocol de studiu aprobat	Document final validat de comitetul etic și echipa de proiect.
Recrutarea participanților	Raport de progres privind includerea	Situația actualizată a pacienților incluși vs. ținta planificată.
Colectarea datelor	Bază de date completă și validată	Fișier securizat (Excel/SPSS/REDCap) cu toate variabilele colectate.
Analiza statistică	Raport statistic intermediar	Document cu rezultatele descriptive și inferențiale.
Diseminare	Articol științific / prezentare conferință	Manuscris trimis la o revistă de specialitate sau prezentare la congres.
Finalul proiectului	Raport final de cercetare	Sinteza obiectivelor, rezultatelor, concluziilor și impactului.

Formularea clară a obiectivelor și rezultatelor

Un proiect de cercetare solid pornește de la obiective **SMART,** la care poate fi asociată și extensia **SMARTERS**:

Litera	Criteriul	Descriere în contextul cercetării medicale	Exemplu aplicativ
S	**Specific**	Obiectivul trebuie formulat clar, focalizat pe o populație, o intervenție și un rezultat concret.	Evaluarea efectului medicamentului X asupra tensiunii arteriale la pacienți hipertensivi peste 60 de ani.
M	**Măsurabil**	Rezultatele trebuie exprimate prin indicatori cuantificabili (clinici, fiziologici sau statistici).	Scăderea medie a tensiunii arteriale sistolice ≥10 mmHg după 12 săptămâni de tratament.
A	**Acceptabil**	Ținta să fie realistă și acceptată de echipa de cercetare, pacienți și comitetul etic.	Studiul se bazează pe dovezi anterioare care arată siguranța medicamentului X.
R	**Relevant**	Obiectivul trebuie să contribuie la o problemă reală de sănătate publică și la progresul cunoașterii.	Hipertensiunea este o cauză majoră de morbiditate; rezultatele pot influența ghidurile clinice.
T	**Tangibil / Temporal**	Rezultatele trebuie atinse într-o perioadă clară și rezonabilă, conform planului de cercetare.	Durata totală a studiului: 12 luni, cu etape de raportare la 6 luni.
E	**Etic**	Activitățile trebuie să respecte principiile etice (autonomie, consimțământ, confidențialitate).	Protocolul a fost aprobat de comisia etică, iar datele pacienților sunt anonimizate.
R	**Revizuibil**	Proiectul trebuie să permită ajustări și corecții bazate pe monitorizarea continuă.	Se efectuează analize intermediare de siguranță la fiecare 3 luni.
S	**Satisfăcător**	Rezultatele trebuie să îndeplinească scopul inițial și să aducă valoare clinică și științifică.	Demonstrarea eficienței tratamentului X duce la îmbunătățirea practicii medicale pentru pacienți vârstnici.

Planificarea activităților (calendarul proiectului)

Planificarea activităților este **nucleul managementului unui proiect de cercetare** — etapa în care ideile sunt transformate într-o **succesiune logică de acțiuni concrete**, cu durate, resurse și responsabilități clar definite.

Un plan bine făcut este **harta proiectului**, asigurând că echipa știe:

- *ce trebuie făcut*,
- *când trebuie făcut*,
- *de către cine*,
- *cu ce resurse*,
- și *ce rezultate (livrabile)* trebuie obținute.

1. Principii generale ale planificării unui proiect de cercetare

1) **Secvențialitate logică:**

Activitățile trebuie ordonate astfel încât fiecare etapă să depindă logic de cea precedentă.

Ex: nu poți începe colectarea datelor înainte de aprobarea protocolului.

2) **Definirea clară a obiectivelor și livrabilelor:**

Fiecare activitate trebuie să aibă un scop măsurabil și un rezultat concret (document, raport, bază de date etc.).

3) **Estimarea realistă a duratelor:**

Se ține cont de timpul necesar pentru aprobare etică, recrutare, analiza datelor etc.

→ În cercetarea medicală, aceste etape sunt adesea subestimate!

4) **Identificarea dependențelor între activități:**

Unele sarcini pot începe doar după finalizarea altora, altele pot rula în paralel.

5) **Gestionarea riscurilor:**

Se prevăd activități alternative sau rezerve de timp („buffer”) pentru întârzieri posibile (ex. dificultăți de recrutare, lipsă de resurse, concedii, pandemii etc.).

6) **Monitorizare continuă:**

Planul trebuie să fie **un instrument dinamic**, actualizat pe parcursul derulării proiectului, nu doar un document formal.

2. Etapele procesului de planificare

1) **Definirea activităților principale** → Derivate direct din obiectivele proiectului.
    a) Elaborarea protocolului
    b) Obținerea aprobărilor etice
    c) Recrutarea participanților
    d) Colectarea datelor
    e) Analiza statistică
    f) Diseminarea rezultatelor

2) **Împărțirea activităților în subactivități** (*Work Breakdown Structure – WBS*)

    → Ajută la detalierea sarcinilor și la alocarea precisă a responsabilităților.

3) **Stabilirea duratei fiecărei activități**

    → Se estimează în săptămâni sau luni, în funcție de complexitate.

4) **Identificarea resurselor necesare**

    → Resurse umane (cine lucrează), materiale (echipamente, software), financiare (buget estimat).

5) **Stabilirea responsabilităților**

    → Fiecare activitate trebuie să aibă un **responsabil unic**, chiar dacă participă mai multe persoane.

6) **Secvențierea și calendarizarea**

    → Se stabilește ordinea logică și se reprezintă grafic (Diagrama Gantt).

3. Instrumente utile pentru planificare

- **a) Diagrama Gantt**
  - Reprezintă grafic activitățile pe o axă a timpului.
  - Evidențiază durata, ordinea, suprapunerile și dependențele dintre activități.
  - Poate fi realizată în Excel, ProjectLibre, Smartsheet sau MS Project.

Avantaj: oferă o imagine clară a întregului proiect „dintr-o privire”.

- **b) Matricea responsabilităților (RACI)**

Ajută la clarificarea rolurilor în echipă:

Rol	Descriere
R – Responsible	Persoana care execută efectiv sarcina.
A – Accountable	Persoana care aprobă și răspunde final pentru rezultat.
C – Consulted	Persoane implicate pentru expertiză sau sfaturi.
I – Informed	Persoane care trebuie informate despre progres.

4. Exemplu de calendar simplificat al unui proiect de cercetare medicală

Activitate	Durată estimată	Responsabil	Livrabil
Elaborarea protocolului	Luna 1–2	Coordonator proiect	Protocol aprobat de comitetul etic
Recrutarea pacienților	Luna 3–8	Echipa clinică	100 pacienți incluși
Colectarea datelor	Luna 4–10	Asistenți de cercetare	Bază de date completă și verificată
Analiza statistică	Luna 10–11	Biostatistician	Raport statistic intermediar
Raport final & diseminare	Luna 12	Coordonator	Raport final și articol publicat

5. Bune practici în planificarea cercetării

- Include **rezerva de timp** pentru întârzieri administrative și revizii.
- Planifică activități **în paralel** (ex. redactarea articolelor în timp ce se finalizează analiza).
- Stabilește **milestone-uri** (repere) clare: aprobare protocol, finalizare recrutare, predare raport intermediar.
- Creează **mecanisme de feedback** (ședințe lunare, rapoarte de progres).
- Monitorizează permanent **indicatorii de performanță** (număr participanți, rata completării datelor, număr articole publicate).

Managementul resurselor în proiectele de cercetare medicală

- Planificarea stabilește *ce* trebuie făcut și *când*, dar managementul resurselor se ocupă de *cu ce* și *de către cine*.
- Un proiect de cercetare nu poate avansa fără o **gestionare atentă a resurselor umane, materiale, financiare și informaționale.**

1. Tipuri de resurse într-un proiect de cercetare

Tip de resursă	Descriere	Exemple concrete în cercetarea medicală
Resurse umane	Persoanele implicate, cu roluri și competențe specifice.	Coordonator, cercetători, biostatistician, asistenți de cercetare, personal medical, voluntari.
Resurse materiale	Echipamente, consumabile, instrumente necesare activităților de cercetare.	Reagenți, aparatură de laborator, software de analiză, formulare, fișe clinice.
Resurse financiare	Fondurile disponibile pentru implementare.	Bugetul proiectului, granturi, sponsorizări, contribuții instituționale.
Resurse informaționale	Date, baze de cunoștințe, protocoale, publicații.	Baze de date clinice, articole științifice, standarde etice și statistice.
Resurse de timp	Durata totală și alocarea temporală a activităților.	Termene intermediare, perioade de raportare, calendar Gantt.

2. Managementul resurselor umane

a) Definirea rolurilor și responsabilităților

Fiecare membru al echipei trebuie să aibă un **rol clar definit** în planul de implementare.

Ambiguitatea duce la suprapuneri, întârzieri și conflicte.

b) Motivarea și comunicarea echipei

•Stabilirea obiectivelor individuale și a modului de evaluare.

•Reuniuni periodice pentru feedback și coordonare.

•Asigurarea unui climat colaborativ și a unui canal clar de comunicare.

Exemplu de structură:

Rol	Responsabilități principale
Coordonator de proiect	Supraveghează toate etapele, aprobă livrabilele, gestionează comunicarea cu finanțatorul.
Cercetător principal	Asigură calitatea științifică, redactează protocolul și articolele.
Biostatistician	Planifică analiza datelor, selectează testele statistice, validează rezultatele.
Asistent de cercetare	Colectează date, completează formulare, menține contactul cu pacienții.
Secretar administrativ	Gestionează documentația, achizițiile și arhivarea datelor.

3. Managementul resurselor financiare

Bugetul unui proiect de cercetare trebuie să fie:

- realist,
- justificat,
- echilibrat între activități și obiective.

- **Structura tipică a bugetului:**

Categorie	Exemple
Cheltuieli de personal	Salarii, onorarii colaboratori, contribuții sociale.
Cheltuieli materiale	Consumabile, reactivi, aparatură de laborator.
Cheltuieli de deplasare	Vizite la pacienți, conferințe, workshopuri.
Cheltuieli administrative	Costuri de logistică, licențe software, tipăriri, arhivare.
Diseminare	Taxe de publicare, participare la conferințe, materiale promoționale.
Rezervă / neprevăzute	Până la 10% din buget pentru situații neașteptate.

- **Principii:**
  - **Trasabilitate** – fiecare cheltuială trebuie justificată prin documente.
  - **Conformitate** – respectarea regulilor finanțatorului (granturi, UE, minister).
  - **Transparență** – raportarea periodică și publică a cheltuielilor.

4. Managementul resurselor materiale și informaționale

a) Materiale

- Stabilirea necesarului de echipamente și consumabile pentru fiecare etapă.
- Planificarea achizițiilor în funcție de durata de livrare.
- Verificarea compatibilității echipamentelor (software/hardware).
- Asigurarea mentenanței și a condițiilor de stocare (pentru probe biologice, seruri etc.).

b) Informaționale

- Organizarea și securizarea bazelor de date (GDPR!).
- Implementarea unui plan de **management al datelor**: colectare, stocare, acces, arhivare.
- Utilizarea sistemelor de codare a participanților pentru confidențialitate.
- Stabilirea drepturilor de autor și a regulilor de acces la date (open data / partajare).

5. Evaluarea utilizării resurselor

Pentru o bună guvernanță a proiectului, este esențială **monitorizarea performanței** utilizării resurselor.

Indicator	Ce măsoară	Exemplu
Eficiența financiară	Raportul între cost și rezultat	Cost per pacient recrutat
Productivitatea echipei	Gradul de realizare a sarcinilor	Număr rapoarte/livrabile finalizate
Eficiența temporală	Respectarea termenelor	Activități încheiate la timp (%)
Gradul de utilizare a resurselor	Folosirea echipamentelor/consumabilelor	Procent de utilizare a aparaturii achiziționate

Managementul resurselor nu înseamnă doar controlul cheltuielilor, ci **optimizarea întregului ecosistem al proiectului** — oameni, timp, bani și date — pentru a transforma planul științific într-un rezultat concret, publicabil și util.

Monitorizarea și evaluarea proiectului de cercetare medicală

1 Ce înseamnă monitorizarea și evaluarea?

Într-un proiect de cercetare, **monitorizarea** și **evaluarea** (M&E – *Monitoring and Evaluation*) sunt două procese complementare, dar diferite:

Concept	Scop	Moment
Monitorizarea	Urmărirea continuă a activităților și rezultatelor intermediare pentru a identifica din timp problemele.	Permanent, pe tot parcursul proiectului
Evaluarea	Analiza finală (sau periodică) a performanței proiectului în raport cu obiectivele stabilite.	La mijlocul și la finalul proiectului

Scop general: asigurarea faptului că proiectul:

- este implementat conform planului,
- respectă standardele etice și științifice,
- folosește eficient resursele,
- obține rezultate relevante și credibile.

2 Importanța monitorizării în cercetarea medicală

Într-un proiect medical, monitorizarea are un rol **dublu**:

1. Administrativ: urmărește bugetul, termenele, livrabilele și resursele.

2. Științific și etic: verifică respectarea protocolului, calitatea datelor și siguranța participanților.

Exemplu concret:

Într-un studiu clinic, monitorizarea asigură că:

- toți pacienții semnează consimțământul informat,
- datele sunt introduse corect în baza electronică,
- tratamentul este administrat conform randomizării,
- nu apar reacții adverse neraportate.

3 Etapele procesului de monitorizare

Etapă	Descriere	Rezultat
1. Definirea indicatorilor de monitorizare	Ce măsurăm? – activități, rezultate, impact.	Set de indicatori cantitativi și calitativi.
2. Stabilirea frecvenței monitorizării	Cât de des raportăm progresul?	Rapoarte lunare, trimestriale, intermediare.
3. Colectarea datelor de progres	Cum măsurăm? – prin fișe, formulare, baze de date, rapoarte interne.	Bază de monitorizare actualizată.
4. Analiza abaterilor	Comparația între planul inițial și stadiul real.	Identificarea întârzierilor sau neconformităților.
5. Acțiuni corective	Ajustarea planului, redistribuirea resurselor.	Recalibrarea calendarului și a activităților.

4 Tipuri de indicatori utilizați în monitorizare și evaluare

Indicatorii trebuie să fie **SMART** (Specifici, Măsurabili, Adecvați, Relevanți, Temporali).

Categorie	Descriere	Exemple medicale
De intrare (input)	resurse utilizate	Buget alocat, număr cercetători implicați
De proces (activitate)	progresul activităților	Număr pacienți recrutați, vizite realizate
De rezultat (output)	rezultate intermediare tangibile	Raport statistic, protocol aprobat
De impact (outcome)	efectele pe termen mediu/lung	Publicații, modificări în practica medicală, ghiduri
De eficiență	raport cost–beneficiu	Cost per pacient inclus, timp per activitate finalizată
De calitate	gradul de conformitate și acuratețe	Rata erorilor de introducere a datelor, deviații de protocol

5 Instrumente pentru monitorizarea proiectului

Instrument	Utilitate practică
Diagrama Gantt actualizată	Urmărește progresul activităților în timp real.
Fișe de progres / Rapoarte de etapă	Documentează realizările și problemele apărute.
Ședințe periodice ale echipei	Permit identificarea timpurie a blocajelor.
Checklist de conformitate	Verifică respectarea procedurilor etice și metodologice.
Jurnalul de monitorizare (logbook)	Notează observațiile din teren / activitățile zilnice.
Audit intern / extern	Control formal al calității datelor și al execuției financiare.

6 Evaluarea proiectului de cercetare

Evaluarea are scopul de a analiza **rezultatele și impactul** proiectului — ce s-a obținut în raport cu ce s-a planificat.

Tipuri de evaluare:

Tip	Moment	Scop
Inițială (ex-ante)	înainte de implementare	Verifică fezabilitatea și coerența planului.
Intermediară (mid-term)	în timpul derulării	Ajustează activitățile în funcție de progres.
Finală (ex-post)	la încheierea proiectului	Măsoară eficiența, impactul și durabilitatea.

***Exemplu*:**

La finalul unui proiect privind prevenția diabetului, evaluarea verifică:

- dacă obiectivele SMART au fost atinse;
- dacă rezultatele pot fi implementate clinic;
- ce impact a avut programul asupra cunoștințelor și comportamentului pacienților.

7 Criterii de evaluare a unui proiect de cercetare

Criteriu	Întrebări de evaluare
Relevanța	Răspunde proiectul unei nevoi medicale reale?
Eficiența	A fost folosit optim bugetul și timpul?
Eficacitatea	Au fost atinse obiectivele stabilite?
Impactul	Ce schimbări a produs proiectul (în cunoaștere, practică, politici)?
Sustenabilitatea	Pot fi menținute rezultatele și după terminarea finanțării?

8 Raportarea progresului și comunicarea rezultatelor

- Se realizează prin **rapoarte intermediare** (la 6 luni) și **raport final** către finanțator / instituție.
- Include:
  - stadiul activităților;
  - abateri față de plan;
  - buget executat vs. planificat;
  - probleme și soluții;
  - indicatori atingi vs. estimați;
  - concluzii și recomandări.

Exemplu: în granturile UEFISCDI, raportarea intermediară e obligatorie la fiecare 12 luni și condiționează tranșa următoare de finanțare.

9️⃣ Controlul calității datelor și al implementării

În cercetarea medicală, calitatea datelor este crucială.

Un plan de monitorizare eficient include:

- verificări periodice ale fișelor sursă (Source Data Verification – SDV);
- audituri interne (efectuate de sponsor / coordonator);
- validarea bazelor de date;
- controale GCP (*Good Clinical Practice*).

Rezultatul: date valide, reproductibile și etic obținute.

🔟 Concluzii

Monitorizarea și evaluarea nu sunt doar o cerință birocratică, ci **mecanisme esențiale de învățare și control al calității**.

Ele asigură că proiectul de cercetare medicală:

- rămâne pe direcția corectă,
- se adaptează schimbărilor,
- și produce rezultate cu valoare reală pentru știință și sănătate publică.

Managementul riscurilor în proiectele de cercetare medicală

1️⃣ Ce este riscul în cercetare?

În contextul cercetării medicale, **riscul** reprezintă: orice eveniment sau situație potențială care poate împiedica atingerea obiectivelor științifice, etice sau financiare ale proiectului.

Cu alte cuvinte, este **ceva ce poate merge prost**, dar care poate fi **anticipat, prevenit și controlat**.

2️⃣ De ce este important managementul riscurilor?

Pentru că cercetarea medicală:

- implică oameni, timp și resurse costisitoare;
- are constrângeri etice și legale stricte;
- este imprevizibilă (biologic, logistic, financiar).

Exemplu: Într-un studiu clinic, dacă recrutarea pacienților merge mai lent decât se estima, întregul calendar se decalează → analiza datelor se întârzie → se pierd fonduri → articolul nu mai e publicabil la termen.

➡️ De aceea, **identificarea riscurilor din timp** și elaborarea unui **plan de reacție** este esențială.

3 Etapele managementului riscurilor

Etapă	Descriere	Instrumente utile
1. Identificarea riscurilor	Se colectează toate posibilele riscuri asociate proiectului (brainstorming, experiențe anterioare).	Listă de verificare, interviuri, analiză SWOT
2. Evaluarea riscurilor	Se estimează *probabilitatea* și *impactul* fiecărui risc.	Matrice de risc (scăzut, mediu, mare)
3. Prioritizarea riscurilor	Se stabilesc cele mai importante riscuri care trebuie controlate.	Scor de risc = probabilitate × impact
4. Planificarea răspunsului	Se definesc măsuri preventive și corective.	Plan de acțiune, plan de contingență
5. Monitorizarea și revizuirea	Se urmărește permanent apariția riscurilor și eficiența măsurilor.	Jurnalul de risc, rapoarte de progres

4 Tipuri de riscuri în cercetarea medicală

Tip de risc	Exemple frecvente	Soluții preventive / corective
Științific / metodologic	Ipoteză invalidă, design incorect, erori statistice, lipsă date.	Studiu pilot, revizuire metodologică, consultare cu biostatisticianul.
Etic	Lipsa consimțământului informat, expunerea pacienților la riscuri inutile.	Supravegherea comitetului etic, training GCP (*Good Clinical Practice*).
Operațional / logistic	Întârzieri în recrutare, pierderea datelor, lipsa materialelor.	Plan alternativ de recrutare, back-up electronic, colaborare cu mai multe centre.
Financiar	Depășirea bugetului, întârzierea tranșelor de finanțare.	Fond de rezervă (10%), audit intern, buget etapizat.
Resurse umane	Schimbări de personal, lipsa competențelor.	Redistribuire sarcini, training suplimentar, menținerea unei echipe „shadow".
Legislativ / administrativ	Modificări ale reglementărilor, întârzieri în aprobări.	Consultarea periodică cu autoritățile, adaptarea protocolului.
Tehnologic / informatic	Defecțiuni echipamente, pierdere date digitale.	Back-up zilnic, licențe actualizate, mentenanță regulată.
De imagine / reputațional	Publicitate negativă, conflicte de autorat.	Comunicare transparentă, respectarea eticii publicării.

5 Exemple practice de gestionare a riscurilor

Studiu clinic – risc de întârziere a recrutării

- **Cauză:** număr mic de pacienți eligibili.
- **Măsură preventivă:** extinderea numărului de centre participante.
- **Măsură corectivă:** prelungirea perioadei de includere cu 3 luni.

Risc tehnologic – pierderea datelor electronice

- **Cauză:** defecțiune server.
- **Măsură preventivă:** back-up zilnic automat în cloud securizat.
- **Măsură corectivă:** restaurare din copie de siguranță, validare integritate date.

Risc financiar – creșterea prețurilor la consumabile

- **Cauză:** inflație sau lipsă furnizori.
- **Măsură preventivă:** contracte pe termen lung, rezervă bugetară de 10%.
- **Măsură corectivă:** redistribuire fonduri de la alte linii bugetare.

6 Instrumente pentru managementul riscurilor

Instrument	Descriere
Registrul de risc (Risk Register)	Tabel centralizat cu toate riscurile identificate, probabilitate, impact și acțiuni planificate.
Planul de contingență	Set de măsuri care se aplică dacă riscul se materializează.
Analiza SWOT	Identifică puncte tari/slabe, oportunități și amenințări.
Checklist de verificare	Listă standard pentru verificarea riscurilor administrative, etice, logistice.
Audit de risc	Evaluare periodică formală a vulnerabilităților proiectului.

7 Răspunsurile posibile la un risc

Tip de răspuns	Ce presupune	Exemplu
Evitarea	Eliminarea cauzei riscului.	Se renunță la includerea unui subgrup cu risc etic ridicat.
Reducerea	Minimizarea probabilității sau impactului.	Se introduc controale de calitate suplimentare.
Transferul	Mutarea riscului către altă entitate.	Se subcontractează analizele de laborator unui centru specializat.
Acceptarea	Se recunoaște riscul, dar se decide asumarea lui.	Se acceptă posibilitatea unei întârzieri de 2 luni în analiza finală.

8 Rolul echipei în managementul riscurilor

- **Coordonatorul de proiect:** stabilește planul general de gestionare a riscurilor.
- **Responsabilul de calitate:** monitorizează apariția riscurilor și raportează abaterile.
- **Echipa științifică:** identifică riscuri specifice (ex. lipsa datelor, probleme metodologice).
- **Finanțatorul / sponsorul:** poate impune măsuri de remediere sau ajustări bugetare.

Concluzii:

Managementul riscurilor nu înseamnă să eviți greșelile, ci să fii **pregătit pentru ele**.

Un proiect medical bine gestionat este acela în care:

- riscurile au fost anticipate,
- soluțiile sunt definite,
- iar echipa reacționează rapid și coerent.

Tipuri de granturi de cercetare (naționale și internaționale)

Ce este un grant de cercetare?

- Un **grant de cercetare** reprezintă o **finanțare competitivă nerambursabilă** oferită cercetătorilor sau instituțiilor pentru a derula un proiect științific cu obiective clar definite.

Granturile pot proveni din:

- **surse naționale** – ministere, agenții guvernamentale, universități;
- **surse internaționale** – Uniunea Europeană, fundații, organizații științifice globale.

Scopul lor este **susținerea cercetării originale**, inovatoare și de impact social sau economic.

UEFISCDI
– Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior, Cercetării, Dezvoltării și Inovării -

📘 Programele naționale majore (PNCDI IV și PNRR):

Program / Tip de grant	Scop	Beneficiari tipici	Exemplu medical
PCE – Proiecte de cercetare exploratorie	Sprijină cercetarea fundamentală, originală.	Cercetători consacrați.	Studii privind mecanisme genetice ale bolilor cardiovasculare.
PD – Proiecte postdoctorale	Finanțează cercetători aflați la început de carieră.	Doctori în științe (≤5 ani de la obținerea titlului).	Studii privind biomarkeri în oncologie.
TE – Tinere echipe	Încurajează formarea de echipe de cercetare independente.	Tineri cercetători (≤7 ani de la doctorat).	Cercetare asupra impactului microbiotei în diabet.
PED – Proiecte experimentale demonstrative	Sprijină tranziția de la cercetare fundamentală la aplicare practică.	Universități, institute, companii.	Dezvoltarea unui kit de diagnostic rapid.
ERANET / Bilaterale	Promovează colaborarea internațională.	Echipe române + parteneri UE.	Studii comune România–Germania în neuroreabilitare.

Durata granturilor:

de obicei 24–36 luni.

Valoarea finanțării:

între 250.000 – 1.000.000 lei.

Granturile internaționale

A. Horizon Europe (2021–2027)

Cel mai mare program de finanțare al Uniunii Europene pentru cercetare și inovare.

Buget total: peste **95 miliarde euro**.

Structurat pe **3 piloni principali:**

Pilon	Descriere	Exemple relevante în medicină
Pilon I: Excelență științifică	Finanțează cercetarea fundamentală și infrastructurile.	Granturi ERC, acțiuni Marie Curie.
Pilon II: Provocări globale & competitivitate industrială	Proiecte tematice (sănătate, climă, digitalizare).	„Cluster Health" – cercetări privind cancerul, bolile rare, sănătatea mintală.
Pilon III: Europa inovatoare	Sprijină inovarea și transferul tehnologic.	European Innovation Council (EIC).

Caracteristici cheie:

- **Consorții internaționale (min. 3 țări UE / asociate).**
- **Durată: 3–5 ani.**
- **Bugete: 0,5 – 10 milioane €.**
- **Accent pe impactul socio-economic, diseminare și inovare.**

Granturile internaționale B. ERC – European Research Council

Un program de elită în cadrul Horizon Europe, dedicat **cercetării fundamentale de excelență.**

Tip de grant ERC	Descriere	Valoare	Public țintă
Starting Grant (StG)	Pentru tineri cercetători la 2–7 ani de la doctorat.	până la 1,5 mil. € / 5 ani	Tineri lideri de echipă.
Consolidator Grant (CoG)	Pentru cercetători aflați în consolidarea carierei (7–12 ani de la doctorat).	până la 2 mil. € / 5 ani	Lideri de grup în formare.
Advanced Grant (AdG)	Pentru cercetători consacrați cu rezultate remarcabile.	până la 2,5 mil. € / 5 ani	Profesori / coordonatori seniori.
Proof of Concept (PoC)	Pentru aplicarea practică a rezultatelor ERC anterioare.	până la 150.000 € / 18 luni	Titulari de grant ERC.

Alte surse internaționale relevante în domeniul medical

Organizație / Fondator	Tip grant	Observații
NIH (SUA – National Institutes of Health)	Granturi individuale și de colaborare internațională	Foarte competitive, accent pe impact clinic.
WHO / Wellcome Trust / Bill & Melinda Gates Foundation	Finanțări pentru cercetări aplicate în sănătate publică și boli infecțioase.	Frecvent destinate cercetărilor transnaționale și educației medicale.
EIT Health (European Institute of Innovation & Technology)	Sprijină inovarea și antreprenoriatul medical.	Accent pe digital health, AI medical, prevenție.

Cum alegem tipul potrivit de grant?

- **Criterii principale:**

1. **Stadiul carierei cercetătorului:** postdoc, tânăr cercetător, lider consacrat.
2. **Tipul de cercetare:** fundamentală, aplicativă, clinică, translațională.
3. **Resurse disponibile:** echipă, infrastructură, parteneri internaționali.
4. **Durata și complexitatea proiectului:** scurt vs. multi-anual.
5. **Regulile de eligibilitate:** instituționale și financiare.

- **Concluzie**

Managementul granturilor de cercetare nu înseamnă doar redactarea unei aplicații, ci și **înțelegerea cadrului strategic de finanțare** – alegerea programului potrivit, planificarea bugetului, urmărirea termenelor și raportarea transparentă.

11. Structura și redactarea unei teze de doctorat

Teza de doctorat este ***lucrarea științifică personală***, elaborată în baza unei cercetări originale, care aduce contribuții semnificative la cunoașterea științifică dintr-un domeniu.

Rolul tezei:

- Demonstrează capacitatea de cercetare independentă.
- Reflectă originalitatea contribuției științifice.
- Respectă rigorile metodologice, etice și de redactare academică.

Particularități în domeniul medical:

- Combinație între cercetare experimentală / clinică și analiză teoretică.
- Necesită aprobarea comisiei de etică.
- Include rezultate publicate în reviste indexate (PubMed / WoS).

Structura generală a tezei

Conform **Ghidului oficial – Școala Doctorală de Medicină (UOC)**, teza are următoarea arhitectură standard:

https://www.univ-ovidius.ro/scoli-doctorale/scoala-doctorala-de-medicina

Element	Conținut / Explicație
Coperta și primele pagini	Conțin datele de identificare (universitate, doctorand, conducător, titlu, anul, sigla). Se respectă dimensiunile oficiale (17 × 24 cm, Times New Roman).
Motto / dedicație (opțional)	Element personal, plasat înainte de lista publicațiilor.
Lista publicațiilor științifice	Include articolele publicate / trimise spre publicare în cadrul tezei (cu mențiunea revistei și factorului de impact).
Abrevieri	Se listează în ordine alfabetică toate acronimele utilizate.
Introducere	Prezintă contextul științific, importanța temei și obiectivele generale. Nu se confundă cu capitolul „Stadiul actual".
Stadiul actual al cunoașterii (Reviu bibliografic)	Analiză critică a literaturii de specialitate. Identifică lacunele de cunoaștere și justifică ipoteza.

Contribuția personală	Partea centrală, organizată în capitole și subcapitole: metodologie, studii clinice, analize, rezultate, discuții.
Discuții generale / Concluzii generale	Sinteză integratoare a rezultatelor obținute, corelate cu literatura actuală.
Originalitatea tezei	Demonstrează noutatea adusă, comparativ cu literatura anterioară.
Referințe bibliografice	Stil **Vancouver / ICMJE**, obligatoriu conform ghidului UOC.
Anexe	Materiale suplimentare: chestionare, imagini, tabele detaliate, aprobări etice.

Teza de doctorat trebuie să aibă un volum de **minimum 120 și maximum 180 de pagini**, exclusiv anexe și bibliografie ➡️ acest interval se referă **la conținutul propriu-zis** (introducere, stadiul actual, contribuția personală, concluzii). Anexele, tabelele extinse, listele de publicații, avizele etice sau chestionarele **nu se includ în calcul**.

Orice teză de doctorat în domeniul medical este structurată, tradițional, în **două secțiuni majore**:

Partea tezei	Conținut	Pondere aproximativă
I. Partea teoretică (Stadiul actual al cunoașterii)	Analiza critică a literaturii de specialitate, prezentarea contextului științific, definirea lacunelor și justificarea cercetării.	**30–40%** din volumul tezei (≈ 40–60 pagini)
II. Partea experimentală (Contribuția personală)	Descrierea studiilor proprii: ipoteză, metodologie, rezultate, discuții, concluzii, originalitate, direcții viitoare.	**60–70%** din volumul tezei (≈ 80–110 pagini)

Sugestie practică de structură completă (cu volum estimativ)

Capitol	Conținut	Nr. pagini (orientativ)
Introducere generală	Context, scop, obiective	5–8
Stadiul actual al cunoașterii	Revizuirea literaturii	40–60
Contribuția personală	Material și metodă, rezultate, discuții	70–100
Concluzii generale	Sinteză integrativă	3–5
Originalitatea tezei	Elemente noi, comparații	2–3
Direcții viitoare de cercetare	Perspective	1–2
Bibliografie	Format Vancouver	8–10
Anexe	(neincluse în calcul)	–

Total: ≈ **150–170 pagini utile**

Teza ideală are 150–170 pagini, cu 1/3 teorie și 2/3 cercetare proprie, prezentată riguros, lizibil și logic.

Regulile sunt clare, dar accentul trebuie să cadă pe **calitatea științifică și originalitatea contribuției**.

„Stadiul actual al cunoașterii”

Este **baza teoretică** a întregii teze — dovada că doctorandul:

- cunoaște critic literatura de specialitate;
- înțelege mecanismele și teoriile din domeniul studiat;
- poate **identifica lacunele de cunoaștere** care justifică propria cercetare.

Practic, răspunde la întrebarea:

„Ce s-a făcut până acum și ce lipsește, încât studiul meu devine necesar?”

Exemplu de structură

Teză: *„Rolul biomarkerilor inflamatori în boala coronariană acută”*

Capitol / Subcapitol	Conținut sugerat
1. Introducere în contextul bolii	Definiție, epidemiologie, importanță clinică.
2. Fiziopatologia inflamației în bolile cardiovasculare	Mecanisme inflamatorii implicate, citokine, rolul CRP și IL-6.
3. Biomarkeri tradiționali și emergenți	CRP, IL-6, TNF-α, IL-1β, markeri genetici noi.
4. Studii clinice privind valoarea predictivă a markerilor inflamatori	Sinteză critică a cercetărilor relevante (metodologie, rezultate, limite).

Conform *Instrucțiunilor pentru elaborarea tezei de doctorat – UOC*:

- Stadiul cunoașterii trebuie să acopere **cel puțin 40–60 de surse științifice** relevante, recente (ultimii 5–10 ani).
- Se recomandă **utilizarea articolelor ISI / PubMed**; sursele secundare (manuale, review-uri generale) doar pentru introducere.
- Se evită compilarea necritică („copy-paste” între articole).
- Doctorandul trebuie să **interpreteze și compare** rezultatele studiilor, nu doar să le enunțe.

Greșeli frecvente de evitat

- Stadiul cunoașterii transformat în compilație de articole.
- Lipsa unei legături clare cu tema propriei teze.
- Prea multe detalii irelevante sau prea puține explicații logice.
- Lipsa unui paragraf final de **sinteză critică**, care să justifice ipoteza.

Structura detaliată a capitolului „Contribuția personală”

Pentru tezele medicale se recomandă următoarea **structură logică a studiilor proprii**:

1. Introducere specifică – contextul particular al studiului.

2. Ipoteza de lucru – formularea clară și testabilă.

3. Material și metodă – populația, criterii de includere/excludere, tehnici utilizate, metode statistice.

4. Rezultate – prezentate sintetic, tabele, grafice, imagini.

5. Discuții – interpretarea rezultatelor comparativ cu literatura.

6. Concluzii – punctuale, coerente cu ipoteza.

👉 Fiecare studiu din teză se prezintă separat, dar trebuie să contribuie la **tema centrală**.

Exemplu :

Titlul tezei: „***Biomarkerii inflamatori în bolile cardiovasculare”***

Studiul 1 – Evaluarea CRP la pacienți cu infarct miocardic acut.

Studiul 2 – Corelația IL-6 cu severitatea bolii coronariene.

Studiul 3 – Analiza longitudinală post-tratament.

- **Originalitatea tezei - s**e explică ce aduce nou cercetarea în raport cu literatura anterioară; poate fi *o metodă, un model experimental, o corelație nouă, o aplicație clinică sau un set de date originale.*

  Ex.:„Este primul studiu realizat pe populația românească care corelează nivelurile IL-6 și CRP în evoluția sindroamelor coronariene.”

- **Direcțiile viitoare de cercetare (Perspective) - s**e sugerează cum pot fi continuate rezultatele obținute, aplicabilitatea clinică sau direcții interdisciplinare.

  Exemple:

  - Extinderea studiului pe un eșantion mai larg.
  - Corelarea cu parametri genetici sau imagistici.
  - Aplicarea în dezvoltarea unui protocol terapeutic personalizat.

👉 Capitolele **„Originalitatea”** și **„Direcțiile viitoare”** se redactează separat, în finalul tezei, dar pot fi și **integrate la finalul „Contribuției personale”**, dacă structura este unitară.

Stilul academic și cerințele formale

- **Redactare și formatare:**
  - **Font:** *Times New Roman*, corp 12p (text), 14p (titluri).
  - **Spațiere:** 1,5 rânduri, justificat, indent 1 cm la început de paragraf.
  - **Margini:** sus 2,3 cm; jos 1,5 cm; interior 2 cm; exterior 1,5 cm.
  - **Numerotare:** continuă, în colțul inferior exterior.
  - **Tabele / figuri:** numerotate consecutiv, titlu explicativ (ex. *Figura 1. Distribuția vârstelor pacienților*).
  - **Imagini:** rezoluție 300 dpi, lizibilitate bună, fără suprapuneri de text.
- **Stil științific:**
  - Obiectiv, clar, fără formulări subiective („cred că”, „mi se pare”).
  - Evită exprimările redundante.
  - Fiecare afirmație trebuie susținută de o sursă.
  - Folosește verbe impersonale („s-a observat”, „s-a demonstrat”) și termeni standardizați.
- **Aspecte de etică:**
  - Se menționează aprobarea comisiei de etică.
  - Se declară contribuțiile proprii și colaborările.
  - Orice preluare textuală sau figurativă se citează.

Referințe bibliografice

Stil recomandat: Vancouver / ICMJE

Adoptat obligatoriu de:

- Universitatea „Ovidius” Constanța – Școala Doctorală de Medicină
- Revistele indexate PubMed și CNCSIS categoria A

Principii:

- Numerotare consecutivă în text: [1], [2–4], etc.
- Lista de referințe apare la final, în ordinea citării.

Tip sursă	Format	Exemplu
Articol științific	Autor(i). Titlul articolului. *Nume revistă*. An;Volum(Număr):Pagini.	Popescu I, Ionescu M. Effects of diet on cardiac risk. *Rom J Med*. 2022;69(4):345–352.
Carte	Autor(i). *Titlul cărții*. Ediția. Oraș: Editura; An.	Harrison TR, Fauci AS. *Principles of Internal Medicine*. 20th ed. New York: McGraw-Hill; 2018.
Capitol din carte	Autor capitol. Titlul capitolului. În: Editor(i), ed. *Titlul cărții*. Oraș: Editura; An. p. xx–xx.	Dumitrescu C. Research ethics. In: Georgescu V, ed. *Modern Medical Studies*. București: Academica; 2021.
Resurse online	Autor (dacă există). Titlu. URL. Accesat la: dată.	WHO. Global Health Observatory Data Repository. https://www.who.int/data. Accesat la 20 septembrie 2025.

Planificarea activităților – model:

Etapa / Activitate principală	Perioada estimată	Responsabil / Colaboratori	Livrabile / Rezultate
1. Delimitarea temei și documentarea preliminară – identificarea problemei științifice – formularea ipotezei și a obiectivelor – stabilirea comisiei de îndrumare - obținere avize	Anul I luni 1–4	Doctorand + coordonator	Temă și ipoteză clar definite, bibliografie inițială
2. Elaborarea proiectului de cercetare și aprobarea etică – redactare conform ghidului UOC - susținerea proiectului	Anul I luni 4–12	Doctorand	Proiect aprobat + avize etice
3. Revizuirea aprofundată a literaturii și redactarea capitolului teoretic („Stadiul cunoașterii”)	Anul I - II luni 8 - 14	Doctorand	Capitol teoretic finalizat
4. Colectarea datelor (I) – recrutarea participanților, aplicarea protocoalelor – monitorizare clinică / experimentală	Anul I - II luni 4 – 24	Doctorand + echipă clinică / laborator	Bază de date inițială completă
5. Colectarea datelor (II) și prelucrarea intermediară – completarea lotului, validarea datelor, primele analize	Anul III luni 1–6	Doctorand (+ biostatistician?)	Raport intermediar, rezultate preliminare

6. Elaborarea și trimiterea primului articol – redactare conform cerințelor jurnalului – trimitere la o revistă indexată WOS	Anul III luni 4–8	Doctorand + coordonator + comisia de îndrumare/colab.	Articol trimis / în revizie
7. Analiza completă și redactarea tezei – partea de rezultate și discuții	Anul III - IV luni 30 - 40	Doctorand	Capitole „Material și metodă”, „Rezultate”, „Discuții” redactate
8. Redactarea și trimiterea articolelor II și III – articole derivate din teza de doctorat – în reviste din zona tematică a cercetării	Anul III - IV luni 30 - 42	Doctorand + coordonator + comisia de îndrumare/colab.	2 articole trimise / acceptate
9. Revizuirea finală și diseminarea rezultatelor – participare la conferințe, actualizare teza cu publicațiile	Anul IV luni 6–10	Doctorand	3 articole publicate / acceptate WOS
10. Depunerea și susținerea tezei – verificare antiplagiat, validare formală, aviz coordonator	Anul IV luni 10–12	Doctorand + coordonator + comisia de îndrumare	Teză completă, validată pentru susținere publică

12. Structura și redactarea unui proiect de cercetare

Ce este un proiect de cercetare?

Definiție:

Proiectul de cercetare științifică este documentul care descrie **planul de lucru al doctorandului**, prezentând logica, obiectivele, metodologia și resursele cercetării propuse. Este documentul strategic și metodologic care fundamentează viitoarea teză de doctorat.

📘 Se susține la sfârșitul **anului I doctoral**, în fața **conducătorului științific** și a **comisiei de îndrumare**.

Rol:

- demonstrează că doctorandul stăpânește metodologia cercetării;
- definește clar *ce* va face, *de ce* și *cum*;
- verifică **fezabilitatea** (dacă proiectul se poate realiza în termenul de 4 ani), ***originalitatea*** (dacă aduce cunoaștere nouă) și **coerența logică** a viitoarei teze de doctorat.

Structura proiectului de cercetare

Proiectul de cercetare ştiinţifică va evidenţia contribuţia personală a studentului doctorand şi va cuprinde:

Capitol	Conținut obligatoriu	Explicații și exemple medicale
I. Stadiul actual al cunoașterii	Descriere sintetică a domeniului cercetat, importanța științifică a temei, limitele studiilor anterioare, justificarea cercetării propuse.	Ex.: În studiile privind diabetul, există puține date despre relația dintre controlul glicemic și densitatea minerală osoasă. Această lacună justifică studiul propus.
II. Obiectivele cercetării	Formulate clar, măsurabile și coerente cu ipoteza. Se menționează elementele de originalitate și inovație.	Ex.: Determinarea impactului controlului glicemic asupra riscului de fracturi osteoporotice la pacienții cu diabet tip 2.
III. Materiale și metode	Descrierea designului studiului (observațional / experimental), loturile de pacienți, criteriile de includere/excludere, instrumentele de colectare a datelor, analiza statistică, calendarul activităților, respectarea eticii.	Ex.: Studiu prospectiv pe 120 pacienți, analiza markerilor serici, evaluare DEXA, test t Student și regresie logistică.
IV. Rezultate preconizate	Ce se așteaptă să se obțină, cum se valorifică rezultatele (articole, prezentări, brevete).	Ex.: Se așteaptă o corelație negativă între HbA1c și densitatea osoasă; rezultatele vor fi publicate în *Acta Endocrinologica*.
V. Resurse necesare	Resurse existente și necesare: infrastructură, echipamente, personal, buget.	Ex.: Laborator de biochimie UOC; necesar: kituri ELISA, reactivi, soft statistic.
VI. Bibliografie	Minimum 15–20 surse relevante, citate conform stilului Vancouver.	Ex.: articole PubMed, reviste ISI, manuale de specialitate.

Un proiect de cercetare trebuie să aibă **coerență și progresie logică** — fiecare capitol duce la următorul:

Etapă	Rol	Întrebarea la care răspunde	Exemplu medical
1. Problema științifică	Identifică fenomenul insuficient cunoscut sau controversat.	„Ce nu se știe încă?"	Relația dintre deficitul de vitamina D și evoluția infecțiilor respiratorii.
2. Lacuna de cunoaștere	Definirea golului din literatura de specialitate.	„Ce lipsește din studiile existente?"	Majoritatea studiilor au analizat doar populații adulte, nu și copii.
3. Ipoteza de lucru	Propune o explicație testabilă pentru fenomen.	„Ce presupun că se întâmplă?"	Nivelurile scăzute de vitamina D cresc riscul infecțiilor respiratorii la copii.
4. Obiectivele cercetării	Derivă direct din ipoteză, sunt clare și măsurabile.	„Ce voi demonstra concret?"	- Să determin nivelul mediu de vitamina D la copii. - Să corelez valorile cu frecvența infecțiilor.
5. Metodologia	Precizează *cum* se va testa ipoteza (design, eșantion, metode, analiză).	„Cum verific ipoteza?"	Studiu prospectiv, 200 copii, determinare serică 25(OH)D, analiză statistică ANOVA.
6. Rezultatele așteptate	Anticipează concluziile și valoarea adăugată.	„Ce se așteaptă să reiasă?"	Deficitul de vitamina D se asociază semnificativ cu frecvența infecțiilor.
7. Impactul științific și aplicativ	Demonstrează relevanța pentru știință și practică.	„De ce contează această cercetare?"	Posibilitatea de a recomanda suplimentarea preventivă cu vitamina D.

Stadiul actual al cunoaşterii

Va cuprinde descrierea succintă a problematicii cercetării, în contextul ştiinţific actual din domeniul abordat (cu citarea în text a referinţelor bibliografice).

Se va justifica motivaţia ştiinţifică a temei de cercetare alese.

Se vor evidenţia următoarele trei aspecte :

- importanţa temei de cercetare alese din punct de vedere ştiinţific ;
- limitările abordărilor curente, prin analiza stadiului actual al cunoaşterii legat de tematica proiectului;
- punctarea contribuţiilor originale aduse de cercetare doctorală si relevanţa acestora din punct de vedere al impactului științific internațional.

Obiectivele cercetării

Se va prezenta abordarea proiectului la nivel de principiu, cu evidențierea următoarelor aspecte:

- obiectivele proiectului sunt concrete şi clar precizate;
- elemente de originalitate şi inovaţie pe care implementarea obiectivelor le aduce domeniului de cercetare, la nivel internaţional.

Materialele şi metodele de lucru utilizate

În elaborarea acestei secţiuni, se vor evidenţia următoarele aspecte:

- modul de selecţie a loturilor de studiu (criterii de includere şi criterii de excludere din studiu);
- descrierea metodelor şi instrumentelor de investigaţie a loturilor de studiu;
- metode de prelucrare statistică;
- prezentarea unui plan de lucru, eşalonat în timp, ce va descrie modul de organizare şi planificare a activităţilor proiectului, în raport cu obiectivele propuse;
- măsuri privind respectarea normelor de bioetică în cercetarea doctorală;
- descrierea potenţialelor riscuri şi abordările prin care aceste riscuri urmează să fie redresate.

Rezultate preconizate

În cadrul acestei secţiuni, se va prezenta:

- descrierea rezultatelor asumate;
- modalitatea de diseminare/valorificare a rezultatelor: lucrări prezentate la manifestări ştiinţifice, articole publicate in extenso cu identificarea potenţialelor reviste indexate Web of Science sau BDI, brevete de invenţie.

Resurse necesare

Vor fi prezentate resursele existente, relevante pentru desfăşurarea proiectului, precum şi cele necesare. Pentru resursele necesare se va preciza modalitatea de obtinere a acestora. Trebuie descrisă infrastructura de cercetare existentă şi eventual a laboratoarelor, unde se va face cercetarea, precum şi modul în care acestea pot susţine activităţile de cercetare prezentate în proiect.

Bibliografie

Bibliografia este obligatorie şi cuprinde lucrările ştiinţifice care au stat la baza redactării proiectului – standardul Vancouver.

Recomandări privind redactarea proiectului de cercetare ştiinţifică

Proiectul va avea aproximativ 10-12 pagini (excluzând pagina de copertă, sumarul și bibliografia).

1 Foaia de titlu va conţine:

- denumirea IOSUD (font Times New Roman, de 14 puncte, Bold, centered);
- titlul proiectului de cercetare (TNR, 16, Bold, centerd). Titlul proiectului de cercetare este identic cu tema de cercetare (titlul tezei de doctorat);
- 4-5 cuvinte cheie;
- Numele de familie, prenumele autorului (TNR, 14, Bold, centerd);
- Numele de familie, prenumele conducătorului de doctorat (TNR, 14, Bold, centerd);
- Localitatea, anul (TNR, 12, centerd).

2 Redactarea poiectului de cercetare

- Proiectul de cercetare ştiinţifică va cuprinde aproximativ 10 -12 pagini.
- Formatul paginii: A4, font Times New Roman, de 12 puncte, spaţierea între rânduri: 1,5 linii, margini: stânga – 3,5 cm, dreapta, sus, jos – 2,5 cm, header 1,27cm, footer 1.27 cm.
- *Titlul capitolului* se va redacta cu 14 pt, bold, center/left.
- *Titlul subcapitolului* se va redacta cu 12 pt, bold, left.
- Fiecare subcapitol trebuie să aibă o structură clară, delimitată prin alte subcapitole distincte. Textul unui capitol, respectiv subcapitol, 12 pt, trebuie să fie împărţit în paragrafe, separate printr-un spatiu („spacing") de 6 pt, inaintea paragrafului.
- Toate paginile se numerotează începând cu foia de titlu şi terminând cu ultima pagină, numărul se plasează în centrul paginii, jos. La foaia de titlu, numărul paginii nu se indică.
- Referinţele bibliografice sunt prezentate în succesiune numerică, conform ordinii citării inserate în text, dupa standardul Vancouver.

Proiectul de cercetare ştiinţifică va fi susţinut la sfârşitul primului an de studii, în faţa conducătorului de doctorat şi a comisiei de îndrumare şi va descrie, succint, programul individual de cercetare ştiinţifică.

11. Etica și integritatea academică în cercetare

Ce este etica cercetării?

Etica cercetării reprezintă ansamblul principiilor morale, normelor și regulilor care ghidează comportamentul cercetătorilor în procesul de producere, analiză și publicare a cunoașterii științifice.

Ea garantează că:

- cercetarea respectă **demnitatea, drepturile și siguranța participanților**;
- rezultatele sunt **veridice și verificabile**;
- comunitatea științifică menține **încrederea publicului** în știință.

📘 **În medicină**, etica cercetării este dublu responsabilă:

1) față de știință (adevăr și rigoare);
2) față de oameni (siguranță, consimțământ, confidențialitate)

Cercetarea medicală implică **ființe umane, animale, date personale și intervenții asupra sănătății**, de aceea nu poate fi separată de normele morale și juridice.

Fundamente internaționale ale eticii în cercetare

1. **Declarația de la Helsinki (1964, revizuită 2013)** – documentul fundamental al Asociației Medicale Mondiale privind cercetarea pe subiecți umani.
   - principiul „primum non nocere” (să nu faci rău);
   - necesitatea consimțământului informat;
   - prioritatea interesului pacientului asupra scopului științific.

2. **Raportul Belmont (1979)** – stabilește cele 3 principii universale:
   - *Respectul pentru persoane* (autonomie și consimțământ);
   - *Binefacerea* (maximizarea beneficiilor, minimizarea riscurilor);
   - *Dreptatea* (distribuția echitabilă a riscurilor și beneficiilor).

3. **Ghidurile CIOMS / OMS (2016)** – reguli detaliate pentru cercetările biomedicale internaționale.

4. **Codul European de Conduită pentru Integritatea Cercetării (ALLEA, 2017)** – model adoptat și în România.

Etica cercetării în România

La nivel național, cadrul legal este stabilit prin:

- **Legea Educației Naționale nr. 1/2011**, art. 124–128 (integritatea academică);
- **Codul Național de Etică a Cercetării Științifice, Dezvoltării Tehnologice și Inovării** (HG 475/2022);
- **Comisia Națională de Etică (CNECSDTI)** – instituție care analizează abaterile de etică;
- **Comisiile de etică universitară** – funcționează în fiecare universitate;
- **Regulamentele școlilor doctorale** (ex.: UOC – capitolul privind integritatea și sancțiunile).

Principii fundamentale ale eticii cercetării medicale

Aceste principii derivă din **Declarația de la Helsinki** (Asociația Medicală Mondială, 1964, revizuită 2013) și din **Codul de la Nürnberg (1947):**

Principiu	Explicație	Aplicare practică
Respectul pentru persoane	Participanții sunt indivizi autonomi și trebuie protejați.	Consimțământ informat, confidențialitate, dreptul de retragere.
Beneficența	Cercetarea trebuie să aducă beneficii reale și să minimizeze riscurile.	Evaluarea raportului risc–beneficiu înainte de aprobare.
Non-maleficența	„Să nu faci rău" – evitarea oricărei vătămări nejustificate.	Proceduri sigure, monitorizare medicală, oprirea studiului în caz de risc.
Justiția	Repartizarea echitabilă a riscurilor și beneficiilor cercetării.	Incluziune echilibrată (vârstă, gen, categorie socială), acces egal la tratamente.
Integritatea științifică	Corectitudine, transparență și onestitate în toate etapele cercetării.	Raportare completă, evitare plagiat și falsificare de date.

Etica cercetării se bazează pe un set de principii universale care definesc **comportamentul corect al cercetătorului**. Acestea sunt valabile indiferent de domeniul științific, dar în medicină ele capătă o importanță dublă: cercetătorul are **responsabilitate atât față de adevărul științific, cât și față de oameni**.

1. Onestitatea

Onestitatea este fundamentul oricărei activități științifice. Ea presupune **raportarea veridică și completă a datelor, rezultatelor și metodelor**, fără falsificare, omisiuni intenționate sau exagerări.

- *În practică:*
  - se raportează **toate rezultatele**, chiar dacă unele nu confirmă ipoteza;
  - nu se modifică valorile „neconvenabile” pentru a obține semnificație statistică;
  - se descriu cu exactitate procedurile, instrumentele și condițiile de lucru.

- *Exemplu medical:*

Într-un studiu clinic privind efectele unui nou medicament antihipertensiv, onestitatea presupune raportarea tuturor reacțiilor adverse apărute, chiar dacă sunt minore sau aparent nesemnificative statistic.

2. Rigoarea științifică

Rigoarea implică aplicarea **metodelor de cercetare adecvate**, documentarea completă a procedurilor, controlul erorilor și respectarea standardelor metodologice.

Cercetarea riguroasă este **reproductibilă**, adică un alt cercetător, folosind aceleași metode, poate obține rezultate similare.

- *Elemente de rigoare:*
  - designul studiului (alegere corectă între RCT, cohortă, caz-control etc.);
  - mărimea adecvată a eșantionului;
  - utilizarea corectă a testelor statistice;
  - descrierea clară a limitărilor.

- *Exemplu medical:*

Într-un studiu privind incidența obezității la copii, lipsa rigoarei apare dacă datele provin din surse diferite, necomparabile (urban vs rural) fără ajustare statistică.

3. Transparența

Transparența înseamnă **deschidere totală în privința procesului științific**: metode, surse, finanțări, conflicte de interese, limitări ale studiului.

Ea permite verificarea și reproducerea cercetării, asigurând încrederea comunității științifice.

- *Concret:*
  - se declară sursele de finanțare (de ex. granturi, sponsori);
  - se menționează clar contribuțiile fiecărui autor;
  - se raportează conflictele de interese (de ex. legături cu industria farmaceutică);
  - se publică metodologia completă, inclusiv în registrul studiilor clinice (ClinicalTrials.gov).

- *Exemplu medical:*

Dacă un studiu despre un nou antibiotic este sponsorizat de compania producătoare, acest lucru trebuie **explicit menționat** în articol.

4. Responsabilitatea socială

Cercetarea științifică trebuie să servească **binele public**. Responsabilitatea socială implică orientarea cercetării spre **nevoile reale ale comunității**, folosirea resurselor în mod etic și diseminarea rezultatelor pentru îmbunătățirea sănătății publice.

- *În medicină:*
  - selectarea temelor de cercetare relevante (ex. prevenția bolilor cronice);
  - utilizarea resurselor publice cu maximă eficiență;
  - evitarea cercetărilor cu scop exclusiv comercial, fără beneficiu social.

- *Exemplu:*

Un proiect privind vaccinarea HPV la adolescenți are un impact social clar prin prevenția cancerului de col uterin, spre deosebire de un studiu cu valoare marginală științifică, dar costisitor.

5. Respectul pentru participanți

Participanții la cercetare — fie pacienți, fie voluntari sănătoși — au drepturi fundamentale care trebuie respectate.

Principiul respectului presupune:

- **obținerea consimțământului informat**;
- **dreptul la confidențialitate și retragere**;
- **evitarea suferinței inutile**;
- **tratament egal și demn** pentru toți participanții.

- *Exemplu medical:*

Într-un studiu care implică recoltarea de probe biologice, pacientul trebuie informat despre scop, durată, riscuri, posibila utilizare viitoare a probelor și dreptul de a se retrage oricând.

⚠️ Cercetarea fără consimțământ valid constituie o abatere gravă de etică medicală.

6. Echitatea și colaborarea corectă

Cercetarea este o activitate colectivă — colaborarea onestă și echitabilă este esențială.

Principiul echității cere:

- recunoașterea corectă a contribuțiilor fiecărui membru al echipei;
- evitarea excluderii sau includerii nejustificate în lista de autori;
- respectarea diversității și egalității de gen;
- promovarea unui climat de respect și cooperare.

- *Exemplu medical:*

Într-un studiu multicentric, autoratul trebuie stabilit prin consens: primul autor (contribuția principală), autorii intermediari (participare semnificativă), ultimul autor (coordonatorul). Adăugarea unor „autori onorifici” este o formă de **abuz academic**.

7. Confidențialitatea datelor

Respectarea confidențialității este o obligație legală și etică.

Cercetătorii trebuie să asigure:

- anonimizarea datelor personale (nume, CNP, adrese, fișiere medicale);
- stocarea securizată a datelor;
- respectarea Regulamentului European privind Protecția Datelor (GDPR – Regulamentul UE 2016/679);
- utilizarea datelor doar în scopurile aprobate de Comisia de Etică.

- *Exemplu medical:*

Într-un registru de pacienți oncologici, identificatorii personali trebuie eliminați înainte de analiză. Accesul la baza de date este permis doar cercetătorilor autorizați.

8. Evitarea conflictelor de interese

Un conflict de interese apare atunci când **interesele personale, financiare sau profesionale** pot influența obiectivitatea cercetării sau percepția acesteia.

- *Poate fi:*
  - **financiar** (colaborare cu o companie farmaceutică);
  - **intelectual** (favorizarea propriei teorii);
  - **relațional** (presiune de la un superior sau partener).

- *Exemplu:*

Dacă un cercetător testează un medicament produs de compania unde lucrează, trebuie să declare conflictul de interese. Lipsa acestei mențiuni poate duce la retragerea articolului din revistă.

Aceste principii nu sunt simple norme formale, ci **repere morale și profesionale** care definesc identitatea cercetătorului.

Respectarea lor:

- asigură **credibilitatea cercetării**;
- protejează **drepturile participanților**;
- consolidează **încrederea publică în știință**;
- garantează **progresul științific responsabil**.

Consimțământul informat

Consimțământul informat reprezintă acordul liber, expres și documentat al unei persoane de a participa la un studiu medical, **după ce a primit informații complete și inteligibile** despre natura, scopul, riscurile și beneficiile cercetării.

El este o expresie a **respectului pentru autonomia individului** – adică dreptul fiecărei persoane de a decide liber ce se întâmplă cu propriul corp și propriile date.

📘 *Conform Declarației de la Helsinki (2013)*:

„Participarea la cercetarea medicală trebuie să fie voluntară și bazată pe un consimțământ informat, dat în cunoștință de cauză, de către persoana participantă sau reprezentantul legal al acesteia.”

Scopul consimțământului informat:

- să protejeze **drepturile, siguranța și demnitatea** participanților;
- să asigure **transparența** între cercetător și subiectul de studiu;
- să confirme **responsabilitatea etică și juridică** a echipei de cercetare;
- să prevină exploatarea sau manipularea participanților vulnerabili (pacienți, copii, vârstnici, persoane cu dizabilități cognitive).

Condiții generale de validitate - pentru ca un consimțământ să fie considerat valid din punct de vedere etic și legal, el trebuie să îndeplinească **patru condiții fundamentale**:

Condiție	Descriere
Informație completă	Participantul trebuie să primească toate detaliile relevante privind scopul, durata, procedurile, riscurile, beneficiile, alternativele, drepturile și confidențialitatea.
Înțelegere reală	Explicațiile trebuie oferite într-un limbaj clar, accesibil, adaptat nivelului de educație și stării de sănătate.
Voluntaritate	Decizia nu trebuie influențată prin presiune, constrângere sau promisiuni nerealiste.
Capacitate de decizie	Persoana trebuie să fie competentă legal și mental să înțeleagă consecințele participării.

Forma consimțământului

Consimțământul se obține:

- **în scris**, prin completarea unui formular standardizat, semnat de participant și de cercetător;
- în anumite situații, **oral**, dar cu martori și consemnat în proces-verbal (ex. analfabetism, urgențe medicale).

Formularul de consimțământ trebuie:

1. să fie redactat într-un limbaj accesibil, fără termeni tehnici neexplicați;
2. să precizeze clar:
    a. titlul studiului și instituția organizatoare;
    b. scopul cercetării și durata;
    c. natura procedurilor implicate;
    d. posibilele riscuri și beneficii;
    e. dreptul de a refuza participarea sau de a se retrage oricând;
    f. garanția confidențialității datelor;
    g. persoana de contact pentru informații suplimentare.

Situații speciale

a) Minori sau persoane fără capacitate de decizie

- Consimțământul este oferit de **reprezentantul legal**, dar se solicită și **asentimentul** participantului, dacă este posibil (ex. copil >7 ani).
- Se minimizează riscurile și se justifică relevanța științifică a participării.

b) Situații de urgență

- Dacă pacientul este inconștient și cercetarea nu poate fi amânată, consimțământul poate fi obținut ulterior („consimțământ prezumat”), dar numai cu aprobarea **Comisiei de Etică** și respectând prevederile legale.

c) Studii retrospective

- Pentru studiile care folosesc date medicale deja existente, este necesar **acordul instituțional** (spital/universitate) și **anonimizarea completă** a datelor.

Drepturile participanților

Participantul are dreptul:

- să primească o **copie** a formularului semnat;
- să **pună întrebări** și să primească răspunsuri clare;
- să **refuze** participarea fără a-și afecta relația cu medicul;
- să **se retragă oricând**, fără penalizări sau pierderea beneficiilor medicale;
- să solicite **ștergerea datelor** (în limitele legii GDPR).

Consimțământul informat este un proces continuu, nu un simplu act administrativ — participantul trebuie ținut la curent dacă apar modificări în protocolul studiului.

Rolul comisiilor de etică

În toate universitățile și spitalele, **Comisia de Etică a Cercetării Biomedicale** are obligația de a:

- revizui formularele de consimțământ;
- verifica claritatea și completitudinea informațiilor;
- proteja grupurile vulnerabile;
- asigura conformitatea cu legislația (Legea 206/2004 și Directivele UE).

Un studiu fără aprobare etică **nu poate fi demarat** și nu este acceptat pentru publicare în reviste indexate (inclusiv PubMed, Web of Science).

Integritatea academică

Integritatea academică reprezintă ansamblul valorilor, principiilor și comportamentelor care definesc **corectitudinea morală, onestitatea intelectuală și responsabilitatea științifică** a cercetătorului în toate etapele activității academice.

Ea implică **respectarea adevărului**, **transparența metodelor** și **asumarea responsabilității** pentru rezultatele produse — de la conceperea studiului, până la diseminarea și aplicarea concluziilor.

📘 *Conform Codului European de Conduită pentru Integritatea Cercetării (ALLEA, 2017)*: „**Integritatea în cercetare este o condiție esențială pentru menținerea încrederii publice în știință și pentru garantarea calității și credibilității rezultatelor**.”

În medicină, integritatea academică are o **dublă dimensiune**:

1) **științifică** – asigură validitatea cunoștințelor;
2) **umană și etică** – protejează drepturile, siguranța și demnitatea pacienților.

Prin urmare, un **cercetător integru**:

- ***nu falsifică*** date pentru a obține semnificație statistică;
- ***nu exagerează*** rezultatele pentru a publica mai rapid;
- ***respectă*** principiul „primum non nocere” (a nu face rău);
- ***recunoaște*** contribuțiile colegilor și sursele de finanțare;
- își ***declară conflictele de interese*** și limitele studiului.

- *Integritatea nu este doar o cerință administrativă — este un angajament moral față de știință și societate.*

Componentele integrității academice

Integritatea trebuie să fie prezentă în **fiecare etapă** a procesului științific.

a) În conceperea studiului

- alegerea unei **probleme de cercetare reale și relevante**;
- revizuirea onestă a literaturii (fără omisiuni intenționate);
- formularea clară și realistă a ipotezelor;
- aprobarea etică prealabilă;
- asigurarea transparenței privind finanțarea și partenerii.

Exemplu: Un doctorand propune un studiu clinic privind un nou biomarker. El include în protocol toate studiile anterioare, chiar dacă unele nu confirmă ipoteza sa — dovadă de integritate științifică.

b) În colectarea datelor

- utilizarea metodelor corecte și reproductibile;
- înregistrarea completă și fidelă a observațiilor;
- păstrarea datelor brute (minim 5 ani, conform normelor CNCS/UEFISCDI);
- interzicerea „fabricării” (inventării) sau „falsificării” datelor;
- respectarea consimțământului informat și confidențialității pacienților.

Exemplu: Dacă o analiză biologică dă un rezultat neobișnuit, cercetătorul nu îl elimină, ci îl notează și îl verifică ulterior — aceasta este o dovadă de integritate.

c) În analiza statistică

- aplicarea testelor statistice potrivite;
- evitarea manipulării datelor („data dredging”, „p-hacking”);
- interpretarea rezultatelor în limitele semnificației reale;
- prezentarea și a valorilor nesemnificative, nu doar a celor „pozitive”.

Exemplu: Cercetătorul nu selectează doar subgrupurile unde tratamentul pare eficient, ci analizează întreaga populație conform principiului *intention-to-treat*.

d) În redactarea și publicarea rezultatelor

- citarea corectă a surselor;
- recunoașterea contribuțiilor tuturor autorilor;
- evitarea plagiatului și a auto-plagiatului;
- raportarea completă a metodelor, limitărilor și conflictelor de interese;
- publicarea în reviste evaluate prin *peer-review*;
- respingerea colaborării cu reviste „predatory”.

Exemplu: Într-un articol științific, cercetătorul menționează: „Acest studiu a fost finanțat printr-un grant UEFISCDI, fără influență asupra designului, analizei sau publicării rezultatelor.” — transparență = integritate.

Abateri de la etica și integritatea academică

Integritatea cercetării poate fi compromisă printr-o serie de comportamente considerate **abateri grave**, care afectează atât credibilitatea științifică, cât și reputația instituțională. Conform **Codului European de Conduită pentru Integritatea Cercetării (ALLEA, 2017)** și **Legii 206/2004 privind buna conduită în cercetare și dezvoltare**, principalele abateri sunt:

- **plagiatul,**
- **fabricarea și falsificarea datelor,**
- **autoratul incorect,**
- **conflictul de interese**
- **și publicarea dublă.**

Plagiatul

Plagiatul reprezintă **asumarea frauduloasă a ideilor, textelor, imaginilor, rezultatelor sau datelor aparținând altor autori**, fără menționarea sursei și fără utilizarea corectă a citării. Este considerat cea mai gravă abatere academică, întrucât **încalcă principiul fundamental al onestității intelectuale**.

Forme de plagiat:

1) **Plagiat de text:** copierea integrală sau parțială de paragrafe, propoziții, fără ghilimele și fără citare.
2) **Plagiat de idei / concepte:** preluarea argumentelor sau interpretărilor altui autor fără recunoaștere.
3) **Auto-plagiat:** reutilizarea propriilor texte sau rezultate publicate anterior fără trimitere la lucrarea originală (de exemplu, includerea unui articol publicat în teza de doctorat fără citare).
4) **Plagiat de traducere:** traducerea unui text străin fără menționarea sursei.
5) **Plagiat de figuri / tabele:** reproducerea imaginilor, graficelor, fotografiilor sau datelor fără permisiune și fără referință.
6) **Parafrazare neetică:** reformularea ușoară a unui text (schimbarea câtorva cuvinte) fără indicarea autorului original.

Fabricarea și falsificarea datelor

Fabricarea = inventarea completă a unor rezultate, date sau cazuri care nu au existat.
Falsificarea = modificarea sau manipularea datelor pentru a obține o concluzie dorită.

Ambele reprezintă **forme de fraudă științifică** și duc la invalidarea studiului.

- **Exemple medicale:**
  - raportarea fictivă a unui număr mai mare de pacienți decât cei incluși real în studiu;
  - modificarea valorilor tensionale sau a glicemiei pentru a demonstra eficiența unui tratament;
  - omisiunea intenționată a rezultatelor „negative” (care nu susțin ipoteza).

Autoratul incorect

Autoratul indică responsabilitatea și contribuția reală a persoanelor implicate în cercetare. Încălcarea regulilor de autorat este o abatere gravă, fiind considerată **furt intelectual sau abuz de autoritate**.

- **Forme de autorat incorect:**
  1) **Excluderea persoanelor care au contribuit semnificativ** (de exemplu, un student care a colectat datele, dar nu este menționat).
  2) **Includerea „autorilor onorifici”** — persoane cu poziție ierarhică superioară (ex. șef de clinică) care nu au participat efectiv la cercetare.
  3) **Schimbarea ordinii autorilor** fără acordul echipei (de exemplu, plasarea coordonatorului pe primul loc deși contribuția principală aparține doctorandului).

- **Criteriile ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors)**

Pentru a fi considerat autor, o persoană trebuie să îndeplinească **toate** cele patru condiții:

1) A contribuit substanțial la concepția, proiectarea, analiza sau interpretarea datelor;
2) A redactat sau revizuit în mod critic conținutul intelectual al articolului;
3) A aprobat versiunea finală înainte de publicare;
4) Își asumă public responsabilitatea pentru acuratețea datelor și concluziilor.

Orice persoană care nu îndeplinește toate aceste criterii (de ex. doar a oferit suport administrativ, logistic sau financiar) trebuie menționată la secțiunea **„Acknowledgements”**, nu ca autor.

Conflictul de interese

Conflictul de interese apare atunci când interesele personale, financiare, politice sau profesionale ale unui cercetător **pot influența obiectivitatea studiului** sau pot crea aparența unei influențe.

- **Exemple:**
  - un cercetător primește finanțare de la o companie farmaceutică pentru a evalua un medicament produs de aceeași companie;
  - un medic recenzează pentru o revistă un articol al unui fost doctorand;
  - un autor are legături economice cu o firmă ale cărei produse sunt evaluate în articol.

Publicarea dublă sau fragmentată

Publicarea dublă (duplicate publication)

– Trimiterea aceluiași articol, cu conținut identic sau foarte asemănător, la două reviste diferite.

Este o formă de **auto-plagiat** și contravine eticii publicațiilor științifice.

Publicarea fragmentată („salami slicing”)

– Împărțirea artificială a rezultatelor unui singur studiu în mai multe articole minore, doar pentru a crește numărul de publicații.

- *Exemplu:*

  Un doctorand publică separat „Efectele tratamentului X la bărbați” și „Efectele tratamentului X la femei”, deși ambele provin din același set de date.

  Aceasta distorsionează literatura și creează o **inflație falsă a rezultatelor**.

- **Alte forme de abatere**
  - **Nedeclararea surselor de finanțare**;
  - **Neînregistrarea studiilor clinice** în registre oficiale (ex. ClinicalTrials.gov);
  - **Neglijarea consimțământului informat**;
  - **Prezentarea de date neverificabile** („data on file” fără acces).

Prevenirea abaterilor – bune practici în cercetarea academică

Etica și integritatea nu se bazează doar pe sancțiuni, ci mai ales pe **prevenție** – pe formarea unei conduite responsabile încă din faza de inițiere a cercetării. Cercetătorul trebuie să înțeleagă **de ce** anumite reguli există și **cum** să le aplice în practică, nu doar să le respecte formal.

- **1. Respectarea regulilor de citare și a normelor bibliografice**

  Citarea corectă este o **formă de respect intelectual** și o dovadă de transparență academică.

- **2. Folosirea programelor antiplagiat**

  Orice lucrare (teza, articolul științific, raportul de grant) trebuie verificată **cu un sistem antiplagiat certificat**.

- **3. Păstrarea datelor originale**

  Conform *Codului Național de Etică a Cercetării (HG 475/2022)*, cercetătorul are **obligația de a păstra datele originale cel puțin 5 ani** de la finalizarea studiului. Aceasta asigură posibilitatea de verificare ulterioară, reproducere și transparență.

- **4. Consemnarea clară a surselor**

  Orice informație preluată trebuie să fie **identificabilă.**

- **5. Colaborarea transparentă în echipa de cercetare**

Etica colaborării presupune:

- stabilirea clară a responsabilităților fiecărui membru (ex. coordonator – design, doctorand – colectare date, statistician – analiză);
- comunicarea deschisă privind modificările în proiect;
- evitarea competiției neloiale în cadrul echipei.

- **6. Raportarea abaterilor**
  - Orice suspiciune de abatere (plagiat, falsificare, conflict de interese) trebuie raportată către: **Comisia de Etică a universității / facultății**; **Consiliul Național de Etică a Cercetării Științifice (CNECSDTI)**; în cazul studiilor clinice, către **Comisia Națională de Bioetică a Medicamentului (CNBMDM)**.

- **7. Formarea continuă în etică**

Etica nu se învață o singură dată, ci se **perfecționează continuu**. Universitățile și institutele de cercetare trebuie să asigure:

- cursuri obligatorii de etică pentru doctoranzi și tineri cercetători;
- seminarii tematice despre plagiat, integritate și publicare responsabilă;
- acces la resurse online (CNECSDTI, ALLEA, COPE – *Committee on Publication Ethics*).

Integritatea este fundamentul cercetării autentice

„Integritatea nu se măsoară prin numărul de articole publicate, ci prin onestitatea fiecărui rezultat raportat.”

- **Important:**
  - Etica nu este o formalitate, ci o **responsabilitate morală**.
  - Onestitatea, transparența și respectul pentru adevăr garantează **credibilitatea științei**.
  - Abaterile afectează nu doar persoana, ci întreaga **comunitate academică**.
  - Fiecare cercetător devine un **model de integritate** pentru generațiile viitoare.

„A face știință înseamnă a căuta adevărul, nu confirmarea propriei teorii.”

14. Prezentarea și valorificarea rezultatelor cercetării – articole, conferințe, proiecte.

Importanța valorificării rezultatelor

Cercetarea nu se finalizează odată cu obținerea datelor — **devine valoroasă doar atunci când rezultatele sunt comunicate, validate și aplicate**.

„O descoperire care nu este împărtășită, nu există în știință.”

Obiectivele diseminării:

- **Validarea științifică** prin peer-review;
- **Creșterea vizibilității** cercetătorului și a instituției;
- **Transferul de cunoștințe** în practica medicală;
- **Fundamentarea de noi proiecte și granturi**;
- **Impact social și educațional** (ghiduri, politici, educație medicală continuă).

Modalități de prezentare și diseminare a rezultatelor

Există trei forme principale de comunicare a rezultatelor științifice:

Tip de diseminare	Scop	Exemple	Observații
Publicații științifice	Validare și diseminare academică	Articole, review-uri, meta-analize	Necesită rigurozitate, peer-review
Prezentări la conferințe	Schimb de idei, feedback rapid	Comunicări orale, postere	Vizibilitate mare, dar impact temporar
Proiecte / brevete / aplicare practică	Transfer în societate	Protocoale, aplicații clinice, politici	Crește impactul și finanțarea ulterioară

Publicațiile științifice

a) Tipuri de articole:

1) **Articol original** – rezultate proprii, structură IMRAD (Introduction, Methods, Results, Discussion).
2) **Articol de sinteză / review** – analiză critică a literaturii.
3) **Meta-analiză** – combinarea statistică a mai multor studii.
4) **Studiu de caz / serie de cazuri** – descriere detaliată a unor situații clinice rare.
5) **Scrisoare către editor / comunicare scurtă** – observații preliminare.

b) Structura IMRAD (I.M.Ra.D): este **standardul internațional de redactare a articolelor științifice**, în special în domeniul medical și biomedical.

Secțiune	Scop	Recomandări
Introducere	Definește problema, justifică studiul	1–2 pagini, bazată pe surse recente
Material și metodă	Descrie designul, eșantionul, procedurile	Transparentă, reproductibilă
Rezultate	Prezentarea datelor obiective	Tabele, figuri, $p < 0.05$
Discuții	Interpretarea critică a rezultatelor	Compară cu literatura, menționează limitele
Concluzii	Răspuns la ipoteză	Scurte, clare, coerente
Bibliografie	Sursele citate	Stil Vancouver (pentru medicină)

Procesul de publicare

- **Alegerea revistei potrivite:**
  - Indexare (Web of Science, Scopus, PubMed)
  - Factor de impact și domeniu
  - Politica de Open Access
  - Taxe de publicare (APC)
- **Pregătirea manuscrisului:**
  - Respectarea *Guide for Authors*;
  - Format, lungime, tabele, figuri;
  - Declarații etice (consimțământ, conflict de interese, finanțare).
- **Peer-review:**
  - Evaluare dublu-orb (double-blind review);
  - Răspuns detaliat la comentarii;
  - Revizie și re-sumbit.
- **Publicarea finală:**
  - DOI, indexare, vizibilitate;
  - Promovarea lucrării pe platforme academice (ResearchGate, ORCID, Google Scholar).

Prezentarea la conferințe științifice

Tipuri de participare:

- **Comunicare orală:** prezentare de 8–10 minute în sesiune științifică.
- **Poster științific:** afiș vizual al cercetării (rezumat, metodă, rezultate, imagini).
- **Workshop / panel:** discuții tematice între specialiști.

Sfaturi pentru o prezentare eficientă:

- ❑ Mesaj clar și concis – 1 idee principală / slide
- ❑ Folosește grafice și imagini, nu blocuri de text
- ❑ Evită jargonul excesiv
- ❑ Respectă timpul alocat
- ❑ Încheie cu ideea de impact / contribuție personală

Valorificarea rezultatelor în proiecte și inovare

După publicare, cercetătorul trebuie să gândească **impactul aplicat** al cercetării:

Formă de valorificare	Descriere	Exemplu medical
Proiecte de cercetare	Continuarea temei prin granturi (UEFISCDI, Horizon Europe, PNRR)	Extinderea studiului pilot la nivel național
Protocoale clinice	Integrarea rezultatelor în ghiduri / proceduri	Recomandări noi în tratamentul hipertensiunii
Inovație și brevete	Protejarea descoperirilor originale	Dispozitiv medical / algoritm diagnostic
Educație medicală	Cursuri, workshopuri bazate pe rezultate proprii	Prezentarea în cadrul EMC / EAN
Politici publice	Aplicarea datelor în sănătatea publică	Programe de prevenție, screening, vaccinare

Indicatori de performanță științifică

Pentru evaluarea activității academice și a tezei de doctorat:

Indicator	Descriere	Observații
Articole publicate (ISI, Scopus)	Măsoară productivitatea	Minim 3 articole în reviste indexate (UOC)
Factor de impact (IF)	Măsoară calitatea revistei	>1 considerat foarte bun în medicină
Număr de citări (h-index)	Măsoară vizibilitatea cercetătorului	Se calculează în Google Scholar
Prezentări la conferințe	Participare activă la comunitatea științifică	Naționale și internaționale
Proiecte și granturi	Finanțare obținută	Demonstrează competitivitate

Promovarea și comunicarea științei

- Crearea profilului de autor în baze internaționale (ORCID, ResearcherID, Scopus Author ID).
- Publicarea rezultatelor pe platforme academice: ResearchGate, Academia.edu.
- Comunicarea către publicul larg – articole de popularizare, interviuri, presă științifică.

Etica diseminării

- Respectarea drepturilor de autor;
- Evitarea publicării duble;
- Citarea corectă a tuturor coautorilor și surselor;
- Declararea conflictelor de interese;
- Respectarea consimțământului informat pentru date clinice.

„Rezultatele cercetării nu valorează nimic dacă nu ajung acolo unde pot schimba ceva.”