

<sup>1</sup>ANGELA CRACEA, <sup>1,2</sup>NINEL REVENCO

<sup>1</sup>Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

<sup>2</sup>IMSP Institutul Mamei și Copilului

SUMMARY

## EFFECTS OF TREATMENT WITH ANTIOXIDANT DRUG VITA GRAPES ON NITRIC OXIDE IN JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

**Key words:** juvenile idiopathic arthritis, nitric oxide, treatment.

Juvenile Idiopathic Arthritis is a chronic disease, disabling, with a high socio-economic impact. *Material and methods.* 50 patients with Juvenile Idiopathic Arthritis were selected. The children were divided into 4 groups: group I - 14 children with Juvenile Idiopathic Arthritis who received treatment with Metotrexat and Vita Grapes - antioxidant drug; group II - 12 children treated with Metotrexate, Prednisolone and Vita Grapes; group III - 11 children only treated with Methotrexate; group IV - 13 children treated with Metotrexate and Prednisolone. *Results.* After the 3 months of treatment, the level of Nitric Oxide was higher in groups I and II, which administered the antioxidant drug Vita Grapes compared with groups III and IV, which did not receive antioxidant treatment ( $p > 0,05$ ). *Conclusion.* Vita Grapes increases the nitric oxide level, ensuring the active remodeling of bone tissue necessary for children, especially those with Juvenile Idiopathic Arthritis. In the first two groups after the antioxidant treatment the nitric oxide level increased significantly, while in the III and IV groups nitric oxide level increased insignificantly.

РЕЗЮМЕ

## ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕНИЯ АНТИОКСИДАТИВНЫМ ПРЕПАРАТОМ VITA GRAPES НА УРОВЕНЬ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ ЮВЕНИЛЬНОМ АРТРИТЕ

**Ключевые слова:** идиопатический ювенильный артрит, оксид азота, лечение.

Ювенильный идиопатический артрит считается хронической патологией, инвалидизирующей, с высоким социально-экономическим воздействием. *Материал и методы.* Было отобрано 50 пациентов с идиопатическим ювенильным артритом. Дети были разделены на 4 группы: I группа - 14 детей с ювенильным идиопатическим артритом, которые получали лечение Метотрексатом и Vita Grapes - антиоксидантный препарат; II группа - 12 детей, получавших Метотрексат, Преднизолон и Vita Grapes; III группа - 11 детей, получавших только Метотрексат; IV группа - 13 детей, получавших только Метотрексат и Преднизолон. *Результаты.* После 3-х месячного периода лечения мы отметили гораздо более высокий рост оксида азота в I и II группах, которые получали антиоксидантный препарат Vita Grapes, по сравнению с группами III и IV, которые не получали антиоксидантную терапию ( $p > 0,05$ ). *Заключение.* Vita Grapes повышает уровень оксида азота, обеспечивая активное ремоделирование костной ткани, необходимое для детей, особенно с ювенильным идиопатическим артритом. В первых двух группах после антиоксидантной терапии уровень оксида азота значительно увеличился, в то время как в III и IV группах уровень оксида азота увеличился незначительно.

REZUMAT

## EFECTELE TRATAMENTULUI CU PREPARATUL ANTIOXIDANT VITA GRAPES ASUPRA OXIDULUI NITRIC ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ

**Cuvinte-cheie:** artrită juvenilă idiopatică, oxid nitric, tratament.

Artrita juvenilă idiopatică se consideră o maladie cronică, invalidizantă, cu impact social-economic înalt. *Material și metode.* Au fost selectați 50 pacienți cu artrită juvenilă idiopatică, cărora, la medicația de fond (Metotrexat, Prednisolon), li s-a suplimentat un preparat cu efect antioxidant - extract Vita Grapes. Copiii au fost divizați în 4 loturi de studiu subcurativ: lotul I - 14 copii cu artrită juvenilă idiopatică, care au urmat tratament cu Metotrexat și Vita Grapes; lotul II - 12 copii tratați cu Metotrexat, Prednisolon și Vita Grapes; lotul III - 11 copii medicați doar cu Metotrexat; lotul

IV – 13 copii tratați doar cu Metotrexat și Prednisolon. *Rezultate.* După termenul de 3 luni curative am confruntat titrelor NO între loturile studiate, remarcând majorarea lui mult mai pronunțată în loturile I și II, cărora li s-a administrat preparatul cu efect antioxidant Vita Grapes, comparativ cu loturile III și IV, care nu au urmat tratament antioxidant ( $p>0,05$ ). *Concluzie.* Preparatul

### Introducere.

Artrita juvenilă idiopatică (AJI), conform definiției ILAR (Durban, 1997; revizuire Edmonton, 2001), reprezintă artrita persistentă cu debutul înaintea vârstei de 16 ani și durată de cel puțin 6 săptămâni, fără a se putea stabili o cauză cunoscută a bolii. Artrita juvenilă idiopatică se consideră o maladie cronică, invalidizantă, cu impact social-economic înalt.

La bolnavii cu AJI se determină un dezechilibru în sistemul NO. Astfel, stimularea sintezei de NO cu încetinirea creșterii condrocitelor este rezultatul acțiunii complexelor imune și IFN- $\gamma$ , care se găsesc în lichidul sinovial al acestor copii în cantități mari. La pacienții cu AJI, o activitate sporită în raport cu iNOS denotă sinoviocitele, fibroblaștii, celulele endoteliale și cele interstițiale. În AJI, neutrofilele și macrofagele exprimă iNOS. Aceasta din urmă generează cantități mari de NO. Se consideră că NO joacă rolul de mediator al apoptozei celulelor sinoviale în AJI. IL-1, de asemenea, stimulează expresia iNOS cu majorarea secreției de NO. Anionii superoxid își pot amplifica acțiunea agresivă prin reacția cu NO existent în mod fiziologic în organism și cu generarea anionilor peroxinitrit ( $OONO^-$ ) care sunt specii puternic prooxidante. Condrocitele exprimă două din trei izoforme ale NOS, una constitutivă (eNOS sau NOS3) și una inductibilă (iNOS sau NOS2). La nivelul cartilajului NO stimulează producția de citokine proinflamatorii, cum ar fi IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , MMPs, și inhibă sinteza de proteoglicani. O activitate pronunțată inhibitorie a NO posedă glucocorticoizii, mai puțin citostaticele și AINS. Glucocorticoizii inhibă iNOS, dar nu influențează activitatea izoenzimelor constitutive.

NO poate avea un rol atât citoprotector, cât și citotoxic, depinzând de concentrația și izoforma NOS.

Antioxidantul utilizat – extractul Vita Grapes (firma producătoare ÎCS Eurofarmaco SA) – este un sirop fabricat din extract de semințe și piele de struguri, sursă naturală de substanțe fenolice: bioflavonoizi cu calități distincte de captare a radicalilor liberi ai oxigenului. Unul dintre principalii bioflavonoizi pe care îi conține siropul Vita Grapes este *Resveratrolul*. Resveratrolul este un antibiotic vegetal din clasa de polifenoli, subclasa Stilbene (trans-3,5,4-trihidroxistilbene). Extractul din semințe de struguri conține un complex de bioflavonoizi care nu se sintetizează în organismul uman: quercetina, hesperitina, fisetina, picetanolul, buteina etc.

Mecanismele de acțiune: inhibă agregarea plachetară și sinteza de eicosanoide; dezvoltă acțiune vasodilatatoare,

Vita Grapes crește nivelul oxidului nitric, asigurând remodelarea activă a țesutului osos necesară copiilor, în special celor cu artrită juvenilă idiopatică. Astfel, în primele două loturi, după tratamentul antioxidant, nivelul oxidului nitric s-a majorat semnificativ, pe când în loturile III și IV nivelul oxidului nitric s-a majorat nesemnificativ.

crește activitatea eNOS; inhibă enzimele inflamatorii; activează rapid receptorii  $\alpha$  și  $\beta$  în celulele endoteliale. Resveratrolul este un potent inhibitor al cascadei acidului arahidonic, acționează prin micșorarea inflamației; are acțiune antioxidantă, leagă și elimină din organism radicalii liberi ai oxigenului; normalizează nivelul de lipide în sânge (în particular colesterolul); menține funcția normală a trombocitelor, scade vâscozitatea sângelui, asigură circulația liberă a sângelui în vasele sangvine, menține elasticitatea pereților vasculari; are acțiune antiinflamatorie, antibacteriană și antivirală; stimulează sinteza fibrelor de colagen; are acțiune antialergică, neutralizează eliminarea histaminei; scade nivelul de glucoză în sânge; scindează energia de surplus la nivel mitocondrial; inhibă degranularea mastocitelor și eliberarea histaminei; scade nivelul sangvin al colesterolului total și al trigliceridelor; previne și combate osteoporoza.

Vita Grapes se administrează intern, după mese. Se indică copiilor de la 1 an, câte 5 ml de 3 ori în zi, cure de 2–3 luni, ce se pot relua de 2 ori în an. Doza noctemerală de substanțe polifenolice constituie 50–300 mg, conținute în 20–30 ml de sirop Vita Grapes.

### Material și metode.

Au fost selectați 50 de pacienți cu artrita juvenilă idiopatică, cărora, la medicația de fond (Metotrexat, Prednisolon), li s-a suplimentat un preparat cu efect antioxidant – extract Vita Grapes, urmat pe parcursul a 3 luni în doza de 5 ml de 3 ori în zi, după mese.

Criteriile de includere în etapa de tratament:

1. afectarea a 6 sau mai multe articulații;
2. proteina C-reactivă  $\geq 20$  g/l;
3. viteza de sedimentare a hematiilor  $\geq 20$  mm/h.

Copiii au fost divizați în 4 loturi de studiu subcurativ:

lotul I – 14 copii cu artrita juvenilă idiopatică, care au urmat tratament cu Metotrexat și Vita Grapes;

lotul II – 12 copii tratați cu Metotrexat, Prednisolon și Vita Grapes;

lotul III – 11 copii medicați doar cu Metotrexat;

lotul IV – 13 copii tratați doar cu Metotrexat și Prednisolon.

Toți acești 50 pacienți, inițial și după 3 luni de tratament, au fost evaluați după un protocol special. Lotul I a inclus 14 copii (9 fete – 64,3% și 5 băieți – 35,7%) cu vârsta medie de  $138,36 \pm 8,4$  luni (53 – 211 luni) și o durată a bolii cuprinsă între 1 lună și 76 luni (media –  $33,57 \pm 4,2$  luni).

În lotul II au fost examinați 12 copii (7 fete – 58,3% și 5 băieți – 41,7%) cu vârste cuprinse între 55 și 209 luni

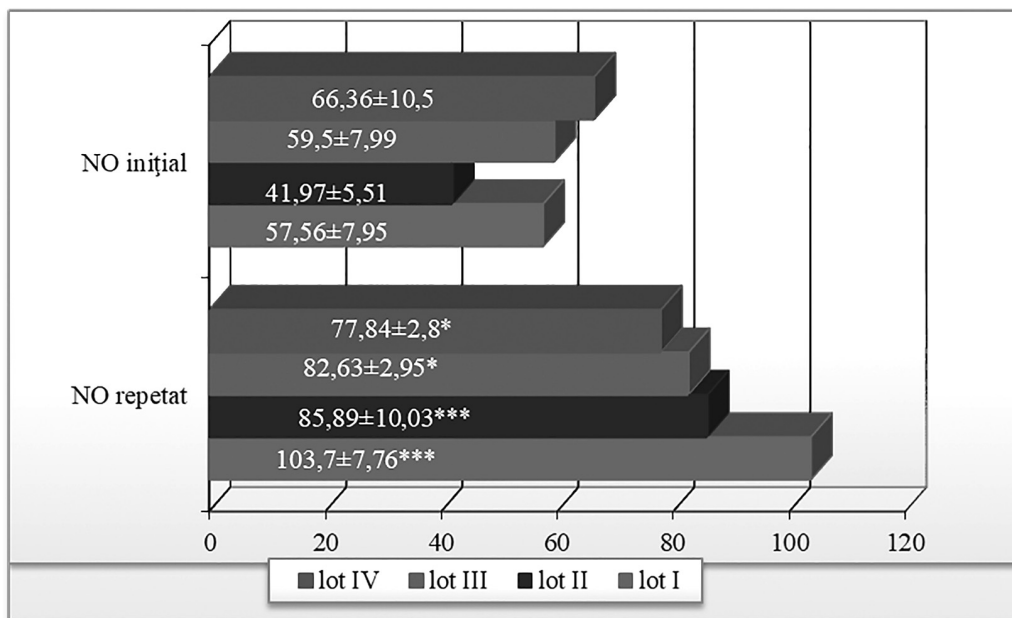


Fig. 1. Nivelul NO observat în dinamică la 3 luni de tratament

\*\*\* –  $p < 0,001$ ; \* –  $p < 0,05$

(media 139,25±9,5 luni) și o durată medie a maladii de 37,7±4,5 luni (2 – 92 luni).

Lotul III a inclus 11 copii (10 fetițe – 90,9% și 1 băiețel – 9,1%) cu o medie de vârstă de 123,9±17,8 luni (24 – 197 luni) și o durată medie a maladii de 44,9±13,6 luni (3 – 156 luni).

În lotul IV au fost examinați 13 copii (7 fetițe – 53,8% și 6 băieți – 46,2%) cu o medie de vârstă de 101,0±14,3 luni (37 – 196 luni) și o durată medie a maladii de 48,5±13,7 luni (2 – 180 luni).

**Rezultate.**

Valorile oxidului nitric (NO) au fost în creștere în toate loturile, cu remarcă că la pacienții din loturile I și II creșterea valorilor NO după tratamentul cu Vita Grapes a fost mult mai pronunțată ( $p < 0,001$ ) decât indicii înregistrați pentru NO în loturile III și IV care nu au folosit remediu antioxidant ( $p < 0,05$ ), figura 1.

Astfel, în lotul I valorile NO după tratamentul cu Vita

Grapes au crescut semnificativ – cu 46,14±12,3  $\mu\text{mol/l}$ , față de titrul inițial 57,56±7,95  $\mu\text{mol/l}$ , atingând 103,7±7,76  $\mu\text{mol/l}$  ( $p < 0,001$ ).

În lotul II tratamentul cu Vita Grapes a elevat titrele de NO – 85,89±10,03  $\mu\text{mol/l}$ , comparativ cu indicele acestuia de start de 41,97±5,51  $\mu\text{mol/l}$  (creșterea cu 43,9±7,2  $\mu\text{mol/l}$  este de sugestivitate statistică netă –  $p < 0,001$ ). În lotul III creșterea valorilor NO după 3 luni a fost mai puțin pronunțată (82,63±2,95  $\mu\text{mol/l}$ , față de valorile inițiale de 59,5±7,99  $\mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0,05$ ).

În lotul IV majorarea NO după 3 luni de tratament a fost și mai puțin pregnantă: 77,84±2,8  $\mu\text{mol/l}$ , comparativ cu valorile inițiale de 66,36±10,5  $\mu\text{mol/l}$  ( $p < 0,05$ ), figura 2. După termenul de 3 luni curative, am confruntat titrele NO între loturile studiate, remarcând majorarea lui mult mai pronunțată în loturile I și II, care au luat preparatul cu efect antioxidant Vita Grapes, comparativ cu loturile III și IV, care nu au urmat tratament antioxidant ( $p > 0,05$ ), tabelul 1.

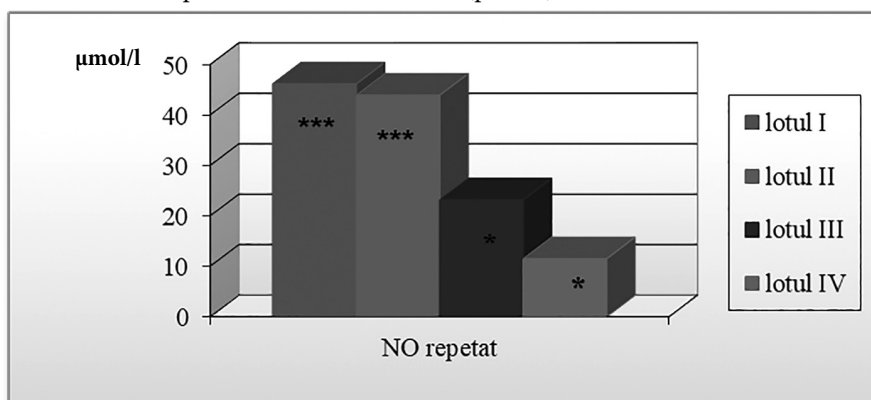


Fig. 2. Nivelul NO în dinamică la 3 luni de tratament

\*\*\* –  $p < 0,001$ ; \* –  $p < 0,05$

**Tabelul 1. Dinamica nivelului NO la copiii cu artrită juvenilă idiopatică pe fundalul tratamentului cu Vita Grapes.**

Parametri evaluați	Inițial				La 3 luni de tratament			
	lotul I (n=14)	lotul II (n=12)	lotul III (n=11)	lotul IV (n=13)	lotul I (n=14)	lotul II (n=12)	lotul III (n=11)	lotul IV (n=13)
NO, μmol/l	57,56±7,95	41,97±5,5	59,5±7,99	66,36±10,5	103,7±7,76	85,89±10,0	82,63±2,95	77,84±2,8
Dinamica					+46,14±12,3	+43,9±7,2	+23,14±9,3*	+11,48±11,35*

Notă: \* - p<0,05.

#### Discuții și concluzii.

A fost efectuat un studiu comparativ al oxidului nitric (NO) care a fost determinat în ser și lichidul sinovial la 40 pacienți cu AJI cu vârsta medie 12,7 ani și durata medie a bolii 7,8 ani, demonstrând nivel de nitrit/nitrați mult mai crescut în lichidul sinovial la pacienții cu AJI, comparativ cu serul. Nivelul nitrit/nitraților în lichidul sinovial al acestor pacienți s-a corelat pozitiv cu numărul de celule limfomononucleare, ceea ce confirmă creșterea stresului oxidativ la copiii cu AJI, sugerând la aceștia un nivel ridicat de producție *in situ* a NO. Speciile reactive de oxigen și azot contribuie în comun la distrucția articulară în AJI. Un alt grup de autori a studiat NO la 97 pacienți cu AJI (forma oligoarticulară – 34 copii, forma poliarticulară – 29 copii și forma sistemică – 34 copii) cu vârsta medie 11,7 ani și durata medie a bolii 4,8 ani. S-a determinat nivel crescut de NO în boala activă cu uveită, FR pozitiv și artrită erozivă, ceea ce confirmă producția excesivă de NO la pacienții cu AJI.

Preparatul Vita Grapes crește nivelul oxidului nitric, asigurând remodelarea activă a țesutului osos necesară copiilor, în special celor cu artrită juvenilă idiopatică. Astfel, în primele două loturi, după tratamentul antioxidant, nivelul oxidului nitric s-a majorat semnificativ, pe când în loturile III și IV nivelul oxidului nitric s-a majorat mai puțin pregnant.

#### Bibliografie

1. Tagadiuc O. Modificările ontogenetice ale nivelului NO în țesutul osos în condiții fiziologice și osteopatia experimentală. *Buletin de perinatologie*, 2011, 50(2), p. 45-48.
2. Aguirre J., Buttery L., Afzal F. Endothelial nitric oxide synthase gene-deficient mice demonstrate marked retardation in postnatal bone formation, reduced bone volume, and defects in osteoblast maturation and activity. *Am J Pathol.*, 2001, 158(1), p. 247-257.
3. Bar-Shai M., Reznick A. Z. Peroxynitrite induces an alternative NF-kB activation pathway in L8 rat myoblasts. *Antioxid. Redox. Signal.*, 2006, 8(3-4), p. 639-652.
4. Beri A., Singh S., Gupta A. Comparison of serum nitric oxide levels in active juvenile rheumatoid arthritis with those of patients in remission. *Rheumatol Int.*, 2004, 24(5), p. 264-266.
5. Bica B. E., Gomes N. M., Fernandes P. D. Nitric oxide levels and the severity of juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int.*, 2007, 27(9), p. 819-825.
6. Hofer M. F., Mouy R., Prieur A. M. Juvenile idiopathic arthritides evaluated prospectively in a single center according to the Durban criteria. *J Rheumatol.*, 2001, 28, p. 1083.