

16. Nakazawa H, Lythall DA, Noh J, et al. Is there a place for the late cardioversion of atrial fibrillation? A long-term follow-up study of patients with post-thyrotoxic atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2000;21:327-333.
17. Osman F, Franklyn JA, Holder RL, et al. Cardiovascular symptoms and cardiac rate and rhythm abnormalities improved with treatment in patients with hyperthyroidism. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:71-81.
18. Paran Y, Nimrod A, Goldin Y, et al. Pulmonary hypertension and predominant right heart failure in thyrotoxicosis. *Resuscitation*. 2006;69:339-341.
19. Park K, Dai H, Ojamaa K, et al. Direct vasomotor effect of thyroid hormones on rat skeletal muscle resistance arteries. *Anesth Analg*. 1997;85:734-738.
20. Petersen P, Hansen JM. Stroke in thyrotoxicosis with atrial fibrillation. *Stroke*. 1988;19:15-18.
21. Prisant LM, Gujral JS, Mulloy AL. Hyperthyroidism: a secondary cause of isolated systolic hypertension. *J Clin Hypertens*. 2006;8:596-599.
22. Sun Z, Ojamaa K, Coetzee WA, et al. Effects of thyroid hormone on the action of potential and repolarization currents in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*

The role of the immunocorrective activity of the medicine BioR in the patients after a failed anti-tuberculosis treatment

*E. Lesnic, S. Ghinda, V. Rudic

Department of Pneumophthisiology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy
Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: evelinalesnic@yahoo.com. Manuscript received July 15, 2013; accepted November 28, 2013

Abstract

Tuberculosis is a multi-pathogenetic disease, its treatment response is influenced by the degree immune disturbances. An acute progressive evolution with extensive destruction and dissemination provokes the lowest treatment results, which in most cases are influenced by a heterogeneous immune response. The immunological data obtained before and after the treatment of 54 new pulmonary TB cases have been compared with the data of 50 healthy individuals. By a blind selection 27 TB patients have been included in the control study group and have been treated with the standard antituberculosis treatment and immunocorrecting medicine BioR. The immune indices of 27 cases treated only with standard antituberculosis treatment have been compared with the control group. The associated antituberculosis treatment have reduced the severity of the immune deficiency, reduced the increased immune globulin level, increased the organism's sensibilisation to bacteriological and micobacteriological antigens, reduced the intoxication indices. Despite the immuno-regulatory activity of the medicine BioR, the comprehensive TB treatment in general has not improved the treatment results, as one course of treatment is insufficient for a complete immune rehabilitation and the involvement of other factors, influencing the treatment outcomes is required.

Key words: tuberculosis, antituberculosis treatment failure, immunity.

Rolul activității imunocorectoare a remediului BioR la pacienții cu eșec al tratamentului antituberculos

Actualitatea temei

Studiile imunogenetice au demonstrat că tuberculoza este o boală multifactorială, a cărei evoluție și răspuns la tratament sunt determinate de interacțiunea între *M. tuberculosis* și genotipul uman [19]. Imunitatea mediată celular, așa numita hipersensibilizare întârziată, este baza răspunsului imun în infecția tuberculoasă și determină particularitățile patogeniei, tabloului clinic și evoluției bolii [3]. S-a constatat ca evoluția acut progresivă a tuberculozei, cu distrucții parenchimoase extinse și multiple focare de diseminatie, au rezultate scăzute în tratamentul antituberculos și, în majoritatea cazurilor, este determinată de tulburările sistemului imun [4]. Demkow U. a demonstrat, că manifestările clinice variate în tuberculoză reflectă dezechilibrul dintre agresivitatea micobacteriilor și mecanismele de apărare imună ale organismului infectat [2]. Celulele sistemului macrofagic (neutrofilele, macrofagele alveolare și celulele dendritice) sunt inițiatoarele răspunsului imun în tuberculoză, a căror activitate începe cu protecția imună nespecifică – endocitoza micobacteriilor (pinocitoza și fago-

citoza) [16]. Celulele sistemului macrofagic sunt responsabile de activarea limfocitelor T și B, prin prezentarea antigenelor micobacteriene – pe suprafața lor, în asociere cu complexul de histocompatibilitate de clasa I, clasa II și moleculele CD1 [19]. Formarea granulomului tuberculos este prima etapă pentru blocarea evoluției infecției tuberculoase în boală, iar eșecul formării granulomului determină progresia bolii [3]. Rolul dominant în formarea granulomului tuberculos îl au macrofagele alveolare, însă cooperarea limfocitară este esențială în organizarea structurală a granulomului. Novicov D.C. a constatat că citokinele proinflamatorii (IL-2, IL-10, IFN- γ , TNF), produse de celulele natural killer și celulele dendritice, în perioada precoce a infecției tuberculoase, induc activarea macrofagelor care, activează consecutiv limfocitele CD1, CD3, CD4, CD8 și stimulează constituirea granulomului [19]. Л. Шовкун a determinat reducerea marcată a limfocitelor CD4 în sângele periferic și scăderea producerii IFN- γ la bolnavii de tuberculoză pulmonară extinsă și cu eșec al tratamentului antituberculos [23]. Кноринг Б. Е. a constatat

scăderea numărului limfocitelor T, în special al subpopulației CD4 și reducerea sintezei IL-10 la bolnavii cu tuberculoză pulmonară extinsă [17]. Cercetările imunologice au confirmat faptul că limfopenia din formele avansate ale tuberculozei este determinată de secreția de către celulele sistemului macrofagal infectate a citokinelor (IFN- γ și factorul de necroză tumorală), care provoacă apoptoza limfocitelor și agravarea imunosupresiei [3]. De asemenea, limfopenia este determinată de acțiunea apoptotică a exotoxinelor micobacteriene, asupra limfocitelor și macrofagelor, prin care micobacteriile își perpetuează parazitismul intracelular și își mențin infecția tuberculoasă latentă. Apoptoza determină supresia replicării intracelulare a micobacteriilor prin ruperea membranei celulare infectate, dispersia micobacteriilor și infecția celulelor vecine. Deficitul protecției imune celulare cauzate de limfopenia limfocitelor T, s-a constatat la 60-100% din bolnavii de tuberculoză pulmonară. Studiul subpopulațiilor limfocitare în tuberculoză a determinat reducerea cantității limfocitelor T, în special a subpopulațiilor CD4, CD8, CD72, inversarea raportului limfocitelor T helper versus T supresor și creșterea moderată a monocitelor. Aceste modificări sunt mai grav pronunțate la bolnavii de TB co-infecțaiți HIV și sunt predictive pentru decesul precoce [26].

Expunerea la frig, factor climateric determinant în țările Europei de Est, scade imunoreactivitatea organismului și crește morbiditatea și mortalitatea prin tuberculoză. Frigul este considerat un factor de risc pentru progresia infecției tuberculoase în tuberculoză și recidiva unui nou puseu de tuberculoză, iar bolnavii expuși frigului au rezultate nesatisfăcătoare ale tratamentului. Sub acțiunea combinată a frigului și antigenelor micobacteriene are loc inversarea raportului dintre limfocitele T helper 1 versus T helper 2 și creșterea activității limfocitelor T helper 2, ceea ce determină progresia procesului și extinderea distrucțiilor parenchimotoase [22].

S-a constatat că odată cu dezvoltarea hipersensibilității întârziate, au loc perturbări pronunțate ale răspunsului imun umoral [4]. Studiile lui H. A. Хонина confirmă că intensitatea răspunsului imun este heterogenă, diferită la fiecare bolnav, depinde de severitatea și extensia tuberculozei și explică diferența rezultatelor terapeutice, sub același tratament standard [14]. Utilizând tehnica ELISA pentru determinarea concentrației serice a anticorpilor împotriva antigenelor micobacteriene, s-au constatat concentrații foarte crescute ale IgG și IgA la bolnavii de tuberculoză infiltrativă extinsă și tuberculoză fibrocavitară [14]. Iar la persoanele cu răspuns imun sever diminuat și copiii de vârstă fragedă s-a constatat un titru scăzut al tuturor anticorpilor, ceea ce a fost considerat predictiv pentru prognosticul nefavorabil al bolii [24]. S-a confirmat că *M. tuberculosis* determină alterarea gravă a barierei de protecție imună bronșică, fapt confirmat de depistarea unui titru înalt al anticorpilor IgG și IgA împotriva antigenelor proteice micobacteriene în expectorațiile și lavajul bronhoalveolar [17]. Suprasolicitarea imunității umorale determină eliberarea exagerată a enzimelor proteolitice, kininelor, prostaglandinelor, peptidelor vasoactive, care duce la progresia procesului tuberculos, apariția distrucțiilor masive parenchimotoase și eșecul terapeutic [19].

La dezvoltarea eșecului terapeutic contribuie, pe lângă virulența agentului etiologic, și complexitatea tratamentului antituberculos. Tratamentul tuberculozei scade intoxicația endogenă și ameliorează starea bolnavului. Totuși, la bolnavii cu tulburări imune persistente, tratamentul antituberculos standard nu împiedică progresia tuberculozei. S-a determinat că în 2-20% din cazuri, chimioterapia antituberculoasă manifestă acțiune negativă asupra sistemului imun prin hipersensibilizarea pe care o induce [18]. Alergizarea organismului împotriva tratamentului antituberculos și antigenelor micobacteriene, rezultate în urma degradării micobacteriilor sub acțiunea preparatelor antituberculoase cu acțiune bactericidă, poate fi considerată predictivă dezvoltării imunodeficienței secundare [23]. Deficitul răspunsului imun celular secundar chimioterapiei antituberculoase crește durata tratamentului și expune riscului dezvoltării eșecului terapeutic [18].

Multiple studii au demonstrat, că asocierea tratamentului imunopatogenetic la tratamentul antituberculos, asigură o rată mai înaltă a succesului terapeutic [20]. În decursul ultimului deceniu, în Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei a fost elaborată biotehnologia obținerii preparatului BioR în baza biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis*. Iar în cadrul laboratorului de Imunologie și Imunochimie al IMSP IFP „Chiril Draganiuc” este evaluată activitatea lui imunocorectoare *in vitro* în concordanță cu aspectele clinice și paraclinice ale pacienților investigați. Partea activă a preparatului BioR este formată dintr-un complex de aminoacizi în stare liberă și în componența oligopeptidelor, din care 78% sunt aminoacizii activi – glicina, valina, alanina, acidul glutamic, acidul asparagic, arginina, serina și treonina, triptofanul, cisteina, acidul gamma-aminobutiric (fig. 1) [8, 9]. Acești aminoacizi, asociați polizaharidelor, macro- și microelementelor (Mn, Fe, Zn, Cu, Se, Cr) manifestă acțiune antioxidantă, stabilizatoare a membranelor celulare și acțiune imunomodulatoare. Preparatul imunocorector BioR, distribuit în capsule de 5 mg, posedă acțiune antioxidantă datorită normalizării metabolismului glutationului (stimularea sintezei enzimelor ciclului glutationic: glutationreductazei, glutationperoxidazei, glutation-S-transferazei), asigură menținerea echilibrului dintre sistemul de oxidare peroxidică a lipidelor și sistemul antioxidant (reduce radicalii liberi ai oxigenului, conjugatelor dienice, dialdehidei malonice și crește activitatea antioxidantă a enzimelor superoxid dismutazei, catalazei, tocoferolului, enzimelor glutationice), normalizează schimbul energetic, stimulează procesele de regenerare a țesuturilor, ameliorează imunitatea celulară și umorală [8].

În contextul celor expuse, am efectuat acest studiu cu scopul evaluării rolului activității imunocorectoare a preparatului BioR (capsule 5,0 mg), la bolnavii cu eșec al tratamentului tuberculozei pulmonare. **Obiectivele lucrării:** 1. Evaluarea activității imunocorectoare a preparatului BioR asupra imunității celulare la bolnavii de tuberculoză pulmonară cu eșec terapeutic; 2. Studiul activității imunocorectoare a preparatului BioR asupra imunității umorale la bolnavii de tuberculoză pulmonară cu eșec terapeutic; 3. Evaluarea activității imunocorectoare a preparatului BioR asupra rezistenței preimune la bolnavii de tuberculoză pulmonară cu eșec terapeutic.

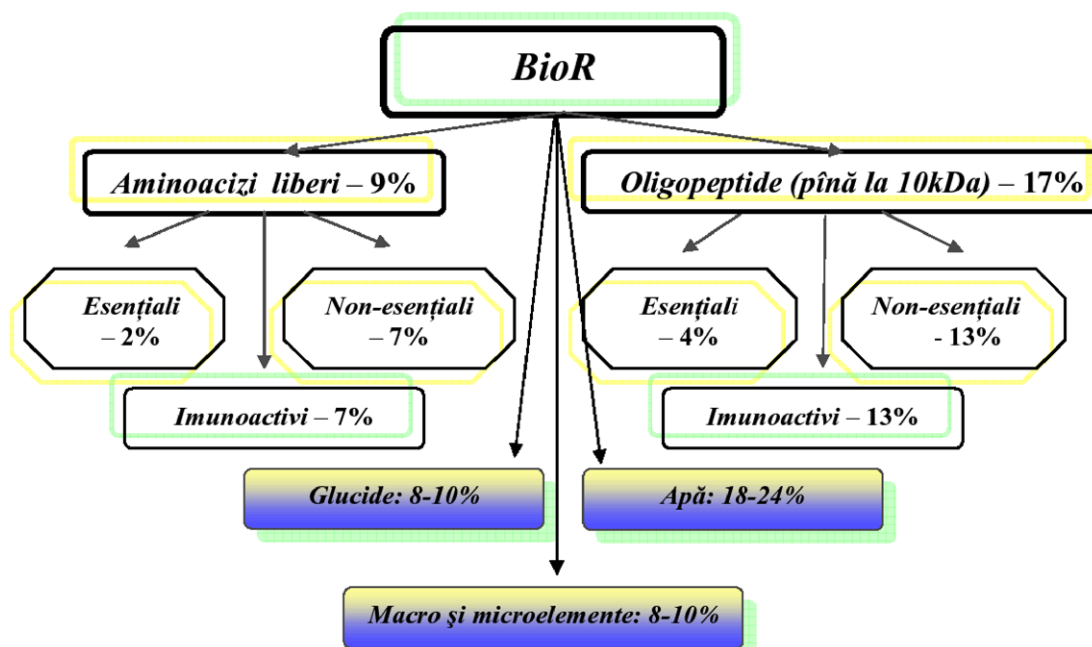


Fig. 1. Componența preparatului BioR.

Material și metode

Lucrarea este un studiu selectiv, descriptiv și retrospectiv, de tip caz-control, efectuat în baza a 54 de pacienți cu TB pulmonară caz nou, care au evoluat cu eșec terapeutic, înregistrați în perioada ianuarie 2007 – ianuarie 2011 și internați în IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganuic”, cu vârsta de peste 18 ani. Pacienții au fost distribuiți randomizat într-un eșantion de studiu (ES), format din 27 de pacienți cu TB caz nou, la care li s-a administrat pe lângă tratamentul antituberculos standard și preparatul BioR, și un eșantion de control (EC), format din 27 de pacienți cu TB caz nou, care au administrat doar tratamentul antituberculos standard. Eșecul terapeutic a fost evaluat la pacientul cu frotiul sputei pozitiv la colorația Ziehl-Neelsen, după cinci luni sau mai mult de tratament. Preparatul imunocorector BioR (produs de „FICOTEHFARM” SRL, R. Moldova), este distribuit în capsule de 5 mg și obținut în baza cianobacteriei *Spirulina platensis* (Certificat de înregistrare № 6840 din 22.04.03) și a fost administrat câte 1 capsulă, pe nemâncate, de 2 ori pe zi (dimineața și seara), timp de 20 de zile. Indicatorii testelor imune au fost comparați cu aceiași indicatori ai unui eșantion mator de laborator, format din 50 de indivizi sănătoși.

Tehnici și indicatori imuni investigați: reacția de transformare blastică a limfocitelor cu fitohemaglutinină (PHA) la antigenele micobacteriene (tuberculină), ale stafilococului, streptococului și pneumococului s-a utilizat pentru caracterizarea activității funcționale a limfocitelor T și a sensibilizării celulare specifice [5]. Reacția de formare a rozetelor s-a aplicat pentru estimarea cantitativă a conținutului limfocitelor T și B. Evaluarea titrului anticorpilor și imunoglobulinelor s-a efectuat prin analiza imunofermenativă pe suport solid. Activitatea fagocitară a neutrofilelor s-a evaluat cu ajutorul testului NBT (Nitroblue Tetrazolium) [11].

Formula leucocitară include toate elementele celulare, care

formează sistemul de protecție al organismului: monocite, neutrofile, eozinofile, bazofile, limfocite. Aprecierea statutului imun după parametrii leucogramei permite recunoașterea și prognosticul evoluției diferitor maladii. Determinarea indicelui leucocitar de alergizare (ILA) apreciază predispoziția alergică a bolnavului prin determinarea devierilor care s-au produs în formula leucocitară a sângelui [7].

$$ILA = \frac{MIE + CP + NT + NN + NS}{(L + M) \times (E + B + 1)}, \quad (1)$$

unde: MIE – mielocite, CP – celule plasmatică, NT – neutrofile tinere, NN – neutrofile nesegmentate, NS – neutrofile segmentate, L – limfocite, M – monocite, E – eozinofile, B – bazofile. Indicele mai mic de 0,5 indică prezența semnelor alergice. La persoanele sănătoase ILA este, în medie, de 0,96, cu variații admisibile de la 0,55 până la 1,39 ($\pm 1S$).

Determinarea indicelui leucocitar de intoxicație *Calf-Calif* (ILI_k) [15] s-a calculat conform formulei:

$$ILI_k = \frac{(4MIE + 3T + 2N + S) + (CP + 1)}{(L + M) \times (E + 1)}, \quad (2)$$

unde, MIE – mielocite, T – neutrofile tinere, N – neutrofile nesegmentate, S – neutrofile segmentate, CP – celule plasmatică, L – limfocite, M – monocite, E – eozinofile, B – bazofile. Valori normale $0,62 \pm 0,083$. Prelucrarea statistică a rezultatelor studiului s-a efectuat computerizat, utilizând aplicațiile programelor Microsoft Excel XP și Statistica 10,0.

Rezultate și discuții

Studiul imunității celulare a constatat faptul că cantitatea limfocitelor T până la tratament, în ambele eșantioane a fost semnificativ mai mică decât la cei sănătoși ($t = 4,15$; $p < 0,001$ pentru eșantionul studiu și $t = 7,08$; $p < 0,001$ pentru

șantionul control). După tratament, numărul limfocitelor T în ambele șantioane a crescut, însă semnificativ – doar la bolnavii din șantionul studiu ($t = 3,67$; $p < 0,001$). Cantitatea limfocitelor T-helper până la tratament în ambele șantioane a fost semnificativ mai redusă, comparativ cu persoanele sănătoase. După tratament, numărul limfocitelor T-helper în ambele șantioane a crescut, însă semnificativ – doar în șantionul de studiu ($t = 2,33$; $p < 0,05$). Până la tratament, numărul limfocitelor T supresor la bolnavii ambelor șantioane a fost mai mare, decât la cei sănătoși, dar ne semnificativ. După tratament, cantitatea limfocitelor T supresor a crescut și a devenit semnificativ mai înaltă, decât la cei sănătoși în ambele șantioane ($t = 3,8$; $p < 0,001$ pentru șantionul control și $t = 2,4$; $p < 0,05$ pentru șantionul studiu). Deci, tratamentul antituberculos complex a demonstrat reducerea gradului de severitate al deficitului imunității celulare, a limfocitelor T și subpopulațiilor sale, deși acești indicatori nu s-au întors la normalitate.

Cantitatea limfocitelor B, până la tratament, în ambele șantioane a fost semnificativ mai înaltă decât la cei sănătoși ($t = 2,2$; $p < 0,05$ pentru șantionul control și $t = 4,4$; $p < 0,001$ pentru șantionul studiu). După tratament, numărul limfocitelor B în ambele șantioane s-a redus, însă semnificativ doar în șantionul studiu ($t = 2,66$; $p < 0,01$). Astfel, tratamentul antituberculos și imunocorector asociat, a redus cantitatea crescută a limfocitelor B.

Activitatea funcțională a limfocitelor T, evaluate prin reacția de transformare blastică a limfocitelor cu fitohemaglutinină până la tratament, la bolnavii ambelor șantioane a fost semnificativ mai redusă ($t = 10,5$; $p < 0,001$ pentru șantionul

control, și $t = 10,9$; $p < 0,01$ pentru șantionul studiu), comparativ cu șantionul persoanelor sănătoase. După tratament activitatea a crescut, însă pragul semnificației statistice l-a atins doar șantionul studiu ($t = 2,66$; $p < 0,05$) (tab. 1).

Titulul imunoglobulinelor IgG în ambele șantioane, înaintea tratamentului, a fost semnificativ mai înalt decât la cei sănătoși ($t = 11$; $p < 0,001$ pentru șantionul control și $t = 12$; $p < 0,001$ pentru șantionul studiu). După tratament, titrul IgG la bolnavii ambelor șantioane s-a redus, însă semnificativ – doar la bolnavii șantionului studiu ($t = 2,65$; $p < 0,05$). Titulul IgA în ambele șantioane, până la tratament, a fost semnificativ mai înalt, decât la persoanele sănătoase ($t = 4,5$; $p < 0,001$ pentru șantionul control și $t = 5,1$; $p < 0,001$ pentru șantionul studiu). După tratament, conținutul IgA în ambele șantioane s-a redus, însă semnificativ – doar în șantionul studiu ($t = 2,56$; $p < 0,05$). Titulul IgM în ambele șantioane, până la tratament, s-a constatat mai crescut, comparativ cu cei sănătoși ($t = 3,5$; $p < 0,001$ pentru șantionul control și $t = 6,3$; $p < 0,001$ pentru șantionul studiu). După tratament, cantitatea IgM la bolnavii ambelor șantioane s-a redus, însă reducerea concludentă s-a determinat doar la bolnavii șantionului studiu ($t = 2,07$; $p < 0,05$). Astfel, am demonstrat că tratamentul complex antituberculos și imunocorector a redus severitatea perturbărilor imunității umorale, prin reducerea titrurilor imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM (tab. 2). Cantitatea anticorpilor naturali în ambele șantioane, până la tratament, a fost semnificativ mai redusă decât la cei sănătoși ($t = 7,21$; $p < 0,001$ pentru șantionul control și $t = 9,01$; $p < 0,001$ pentru șantionul studiu). După tratament, cantitatea anticorpilor naturali la bolnavii ambelor șantioane a cres-

Tabelul 1

Caracteristica imunității celulare (M ± m)

Indicatori	Sănătoși	Șantionul control		Șantionul studiu	
		Înainte	După	Înainte	După
RTBL cu PHA	79,9 ± 1,16	54,8 ± 2,09 □	59,7 ± 1,88	57,8 ± 1,67 □	63,8 ± 1,49♦
LimfociteT%	60,2 ± 0,75	52,6 ± 1,67 □	56,8 ± 1,36	51,8 ± 0,92 □	56,4 ± 0,83♦
LimfociteTh%	43,7 ± 0,85	33,6 ± 1,43□	36,2 ± 1,27	34,6 ± 0,81□	37,2 ± 0,78♦
LimfociteTs %	16,6 ± 0,72	19,0 ± 1,06	20,5 ± 0,75♦	17,2 ± 0,71	19,2 ± 0,82♦
Limfocite B %	24,9 ± 0,70	27,7 ± 1,08□	25,5 ± 0,84	29,9 ± 0,90□	26,7 ± 0,81♦

Notă: □ – diferență statistic semnificativă, în comparație cu șantionul persoanelor sănătoase;

♦ – diferență statistic semnificativă în subșantioane, înainte și după tratament.

Tabelul 2

Caracteristica imunității umorale

Indicatori	Sănătoși	Șantionul control		Șantionul studiu	
		Înainte	După	Înainte	După
IgGg/l	12,3 ± 0,27	18,4 ± 0,49 □	17,8 ± 0,41	18,0 ± 0,41 □	16,4 ± 0,42♦
IgAg/l	2,6 ± 0,10	3,8 ± 0,25 □	3,4 ± 0,18	3,4 ± 0,12 □	3,0 ± 0,12♦
IgMg/l	1,4 ± 0,06	2,0 ± 0,16	1,8 ± 0,15	2,3 ± 0,13	1,9 ± 0,13♦
Ac naturali (titru)	2,5 ± 0,08	1,4 ± 0,13□	1,6 ± 0,11	1,2 ± 0,12□	1,7 ± 0,14♦

Notă: □ – diferență statistic semnificativă, în comparație cu șantionul persoanelor sănătoase;

♦ – diferență statistic semnificativă în subșantioane, înainte și după tratament.

cut, însă creșterea concludentă s-a determinat doar la bolnavii eșantionului studiu ($t = 2,75$; $p < 0,01$). Sinteza rezultatelor studiului imunității umorale a demonstrat, că tratamentul complex a redus titrurile mărite ale imunoglobulinelor și a crescut titrul anticorpilor naturali (tab. 2).

Studiul sensibilizării celulare evaluate prin reacția de transformare blastică la mitogenele utilizate în cercetare, a determinat că sensibilizarea la antigenele micobacteriene până la tratament a fost semnificativ mai înaltă în ambele eșantioane față de cei sănătoși, însă mai sever – în eșantionul studiu ($t = 2,1$; $p < 0,05$ pentru eșantionul control și $t = 3,8$; $p < 0,001$ pentru eșantionul studiu). După tratament, sensibilizarea la antigenele micobacteriene la bolnavii ambelor eșantioane a crescut, însă concludent – doar la bolnavii eșantionului studiu ($t = 2,44$; $p < 0,05$). Sensibilizarea la antigenele stafilococice, până la tratament, a fost mai înaltă în ambele eșantioane, însă ne semnificativ, după tratament sensibilizarea a crescut, însă concludent – doar în eșantionul studiu ($t = 2,95$; $p < 0,01$). Sensibilizarea la antigenele streptococice, până la tratament, nu s-a deosebit de eșantionul persoanelor sănătoase, însă după tratament sensibilizarea a crescut în ambele eșantioane, însă semnificativ mai mult – doar la bolnavii eșantionului de studiu ($t = 2,5$; $p < 0,05$). Sensibilizarea la antigenele pneumococice, nu s-a diferențiat de eșantionul persoanelor sănătoase. După tratament sensibilizarea la antigenele pneumococice în ambele subeșantioane a crescut, însă semnificativ – doar în eșantionul studiu ($t = 2,45$; $p < 0,05$). Deci, tratamentul imunocorector asociat celui antituberculos a crescut sensibilizarea la antigenele micobacteriene, stafilococice, streptococice și pneumococice, datorită acțiunii imunostimulatoare a preparatului BioR asupra activității funcționale a leucocitelor.

Cantitatea anticorpilor antituberculoși până la tratament, a fost semnificativ mai înaltă decât la cei sănătoși în ambele eșantioane ($t = 6,8$; $p < 0,001$ pentru eșantionul control și $t = 5,5$; $p < 0,001$ pentru eșantionul studiu). După tratament, cantitatea anticorpilor antituberculoși la bolnavii ambelor eșantioane s-a redus, însă ne semnificativ. Reducerea ne-

semnificativă a titrului anticorpilor se explică prin faptul că imunitatea umorală este mai arhaică, decât cea celulară și se modifică mai lent în cursul infecțiilor.

Cantitatea IgE-total în ambele eșantioane, până la tratament, a fost semnificativ mai înaltă, comparativ cu persoanele sănătoase ($t = 4,4$; $p < 0,001$ pentru eșantionul control și $t = 5,6$; $p < 0,001$ pentru eșantionul studiu). După tratament, cantitatea IgE-total, în ambele subeșantioane, s-a redus, însă semnificativ – doar la bolnavii eșantionului studiu ($t = 2,6$; $p < 0,05$).

Indicatorul leucocitar al alergiei (1) în ambele eșantioane a fost mai mare decât la cei sănătoși, însă ne semnificativ. După tratament, în ambele eșantioane acest indice a scăzut, însă ne semnificativ. Acesta poate fi utilizat doar ca indicator de reper/orientare pentru evaluarea grupurilor cu diferențe mari ale reactivității imune (tab. 3).

Analiza unor indicatori ai intoxicației organismului, a demonstrat că cantitatea complexelor circulante imune (CIC) până la tratament, a fost semnificativ mai înaltă decât la cei sănătoși ($t = 5,1$; $p < 0,001$ pentru eșantionul control și $t = 6,5$; $p < 0,001$ pentru eșantionul studiu). După tratament, s-a determinat reducerea CIC în ambele eșantioane, însă concludent – doar în eșantionul studiu ($t = 2,61$; $p < 0,05$).

Indicele leucocitar al intoxicației Calf-Calif (2), raportul cantitativ al leucocitelor și limfocitelor (leucocite/limfocite) și raportul sumei neutrofilelor segmentate, nesegmentate și al neutrofilelor tinere/eozinofile nu a determinat modificări concludente, comparativ cu eșantionul persoanelor sănătoase. Acești indicatori pot fi utilizați doar ca repere de apreciere între eșantioane cu diferențe mari ale reactivității imune (tab. 4).

Activitatea funcțională a neutrofilelor, evaluate cu ajutorul testului de reducere a bluenitro-tetrasolium până la tratament, la bolnavii ambelor eșantioane a fost mai mică decât la cei sănătoși, însă ne semnificativ. După tratament, s-a determinat creșterea concludentă a activității funcționale a neutrofilelor doar la bolnavii eșantionului de studiu ($t = 3,7$; $p < 0,001$).

Conținutul neutrofilelor, capabile să fagociteze (numărul

Tabelul 3

Caracteristica hipersensibilizării celulare și umorale ($M \pm m$)

Indicatori	Sănătoși	Eșantionul control		Eșantionul studiu	
		Înainte	După	Înainte	După
RBTL cu Ag MBT%	2,0 ± 0,21	2,9 ± 0,40 □	3,8 ± 0,33	3,7 ± 0,40 □	5,1 ± 0,41 ♦
RBTL cu Ag stafilococice%	1,7 ± 0,21	2,0 ± 0,28	2,8 ± 0,33	2,2 ± 0,26	3,5 ± 0,34 ♦
RBTL cu Ag streptococice %	1,3 ± 0,18	1,2 ± 0,20	1,9 ± 0,27	1,4 ± 0,21	2,4 ± 0,29 ♦
RBTL cu Ag pneumococice%	0,7 ± 0,12	0,5 ± 0,09	0,6 ± 0,09	0,6 ± 0,09	1,0 ± 0,12 ♦
Ac anti MBT u.d.o.	2,3 ± 0,09	5,0 ± 0,34 □	5,3 ± 0,34	5,7 ± 0,58 □	4,8 ± 0,53
IgE UI/ml	17,4 ± 1,28	119 ± 23,0 □	75 ± 15,7	110 ± 16,4 □	69 ± 9,3 ♦
ILA u.c.	10,19 ± 0,061	00,88 ± 0,189	0,76 ± 0,165	00,78 ± 0,139	0,69 ± 0,135

Notă: □ – diferență statistic semnificativă, în comparație cu eșantionul persoanelor sănătoase;

♦ – diferență statistic semnificativă în subeșantioane, înainte și după tratament.

Tabelul 4

Indicatorii intoxicației (M ± m)

Indicatori	Sănătoși	Eșantionul control		Eșantionul studiu	
		Înainte	După	Înainte	După
CIC %	49,3 ± 2,38	99,4 ± 9,10□	80,9 ± 6,76	95,1 ± 6,69□	72,9 ± 5,2♦
Indice intox. Calf-Calif.c.	0,9 ± 0,04	1,0 ± 0,21	0,9 ± 0,18	0,8 ± 0,15	0,7 ± 0,14
Leucocite/limfocite u.c.	6,9 ± 0,21	9,9 ± 0,97	8,0 ± 0,72	9,0 ± 0,90	7,1 ± 0,51
Segmentate+nesegmentate+neutrofile u.c.tinere/eozinofile	28,3 ± 1,24	64 ± 2,4	62 ± 2,5	62 ± 2,1	60 ± 2,2

Notă: □ – diferență statistic semnificativă, în comparație cu eșantionul persoanelor sănătoase;

♦ – diferență statistic semnificativă în subeșantioane, înainte și după tratament.

fagocitar), până la tratament, la bolnavii ambelor eșantioane a fost mai mic ca la cei sănătoși, însă nesemnificativ. După tratament s-a determinat creșterea capacității de fagocitare a neutrofilelor în ambele eșantioane (t = 2,1; p < 0,05 pentru eșantionul control și t = 5,52 și p < 0,05 pentru eșantionul studiu).

Activitatea fagocitozei, evaluate prin indicele fagocitar (IF), până la tratament, la bolnavii ambelor eșantioane, a fost identică cu a celor sănătoși. După tratament, la bolnavii ambelor grupuri s-a determinat creșterea activității fagocitozei, însă concludent – doar în eșantionul studiu (t = 3,13; p < 0,01). Rezultatele studiului rezistenței preimune au determinat că indicatorii fagocitozei la bolnavii eșantionului de studiu, de la început au fost moderat diminuați, iar după tratament s-au activat mai lent, probabil datorită intoxicației severe și latenței funcționale a rezistenței preimune a acestui eșantion (tab. 5).

Activitatea totală hemolitică a complementului până la tratament, în ambele eșantioane a fost semnificativ mai redusă decât la cei sănătoși (t = 6,68; p < 0,001 pentru eșantionul control și t = 5,76 și p < 0,05 pentru eșantionul studiu). După tratament, la bolnavii ambelor eșantioane, s-a determinat creșterea activității hemolitice totale a complementului, însă concludent – doar la bolnavii eșantionului studiu (t = 4,3; p < 0,001). Cantitatea fracțiunii C3 a complementului, până la tratament, în ambele eșantioane a fost mai redusă decât la cei sănătoși (t = 7,67; p < 0,001 pentru eșantionul control și t = 6,08 și p < 0,001 pentru eșantionul studiu). După tratament, a crescut în ambele eșantioane, însă concludent – doar

la bolnavii eșantionului studiu (t = 2,85; p < 0,01). Cantitatea fracțiunii C4 a complementului, până la tratament în ambele eșantioane a fost mai redusă, decât la persoanele sănătoase și (t = 6,13; p < 0,001 pentru eșantionul control și t = 5,7 și p < 0,001 pentru eșantionul studiu). După tratament, s-a determinat creșterea în ambele eșantioane, însă concludentă – doar la bolnavii eșantionului studiu (t = 3,73; p < 0,001).

Cantitatea haptoglobulinei, până la tratament, în ambele subeșantioane nu s-a deosebit de cei sănătoși. După tratament, s-a determinat reducerea concludentă a haptoglobulinei, doar în eșantionul studiu (t = 2,49; p < 0,05). Cantitatea ceruloplasminei, până la tratament, a fost semnificativ mai înaltă decât la cei sănătoși (t = 13; p < 0,001 pentru eșantionul control și t = 9,4 și p < 0,001 pentru eșantionul studiu). După tratament, la bolnavii ambelor eșantioane, s-a determinat reducerea ceruloplasminei în ambele eșantioane, însă semnificativ – doar în eșantionul studiu (t = 2,47; p < 0,05). Cantitatea properdinei, până la tratament, în ambele eșantioane a fost semnificativ mai înaltă decât la cei sănătoși (t = 3,8; p < 0,001 pentru eșantionul control și t = 4,1 și p < 0,001 pentru eșantionul studiu). După tratament, la bolnavii ambelor eșantioane, s-a determinat reducerea properdinei, însă semnificativ – doar în eșantionul studiu (t = 2,55; p < 0,05).

Viteza de sedimentare a eritrocitelor (VSH) la bolnavii ambelor eșantioane a fost semnificativ mai înaltă decât la cei sănătoși (t = 7,1; p < 0,001 pentru eșantionul control și t = 4,5 și p < 0,001 pentru eșantionul studiu). După tratament, s-a determinat reducerea vitezei de sedimentare a eritrocitelor, nesemnificativ la bolnavii ambelor subeșantioane.

Tabelul 5

Indicatorii celulari ai rezistenței preimune (M ± m)

Indicatori	Sănătoși	Eșantionul control		Eșantionul studiu	
		Înainte	După	Înainte	După
NBT u.c.	0,14 ± 0,006	0,12 ± 0,007	0,14 ± 0,008	0,13 ± 0,007	0,16 ± 0,008♦
NF %	76,9 ± 0,86	72,7 ± 2,12	78,5 ± 2,01♦	75,3 ± 1,37	84,6 ± 0,99♦
IF u.c.	4,61 ± 0,17	4,4 ± 0,27	4,8 ± 0,18	4,4 ± 0,19	5,2 ± 0,17♦

Notă: ♦ – diferență statistic semnificativă în subeșantioane, înainte și după tratament.

Tabelul 6

Particularitățile unor indicatori ai rezistenței preimune ($M \pm m$)

Indicatori	Sănătoși	Eșantionul control		Eșantionul studiu	
		Înainte	După	Înainte	După
ATHC CH ₅₀	59,8 ± 1,56	47,8 ± 0,89□	50,4 ± 0,90	48,4 ± 1,22□	55,7 ± 1,19♦
C3 g/l	1,20 ± 0,06	0,71 ± 0,022□	0,74 ± 0,020	0,74 ± 0,046□	0,89 ± 0,37♦
C4 g/l	0,49 ± 0,02	0,35 ± 0,01□	0,37 ± 0,0113	0,36 ± 0,011□	0,44 ± 0,014♦
HPT g/l	1,08 ± 0,056	0,98 ± 0,034	0,88 ± 0,045	1,03 ± 0,051	0,85 ± 0,048♦
CER g/l	0,30 ± 0,012	0,64 ± 0,023□	0,58 ± 0,028	0,63 ± 0,033□	0,53 ± 0,028♦
PEB g/l	0,31 ± 0,012	0,38 ± 0,014□	0,35 ± 0,012	0,41 ± 0,021□	0,34 ± 0,017♦
VSH mm/h	7,2 ± 0,47	33,7 ± 3,71□	28,5 ± 4,13	23,5 ± 3,62□	16,9 ± 2,97

Notă: □ – diferență statistic semnificativă, în comparație cu eșantionul persoanelor sănătoase;

♦ – diferență statistic semnificativă în subeșantioane, înainte și după tratament.

Studiul indicatorilor rezistenței preimune a constatat faptul că cantitatea complementului și a proteinelor de fază acută a fost perturbată în ambele eșantioane. Însă, doar la administrarea tratamentului imunocorector asociat celui antituberculos, s-a redus semnificativ severitatea perturbărilor indicatorilor rezistenței preimune (tab. 6).

Concluzii

1. Tratamentul antituberculos asociat celui imunocorector a determinat reducerea semnificativă a severității deficitului imunității celulare (a crescut activitatea funcțională a limfocitelor T, a cantității limfocitelor T și subpopulației T-helper și a redus numărul limfocitelor B și subpopulației T-supresor, deși acești indicatori nu s-au normalizat); deasemenea a redus severitatea perturbărilor imunității umorale (a micșorat titrurile foarte crescute ale imunoglobulinelor IgG, IgA, IgM, IgE și a crescut titrul anticorpilor naturali).

2. Doar tratamentul imunocorector a determinat creșterea sensibilizării la antigenele bacteriene și micobacteriene, datorită acțiunii stimulative și de dezintoxicare a preparatului BioR.

3. Doar asocierea tratamentului imunocorector și antituberculos, a redus deficitul rezistenței preimune (a crescut activitatea funcțională a neutrofilelor, a indicelui fagocitar și numărului fagocitar, a crescut titrul fracțiunilor C3 și C4 ale complementului și a redus cantitatea proteinelor de fază acută).

4. În pofida activității imunoreglatoare a preparatului BioR, tratamentul antituberculos asociat nu s-a soldat cu succes, deoarece o singură cură de tratament imunopatogenic nu a fost suficientă pentru reabilitarea imună a acestor bolnavi și prevenția eșecului, dar și datorită altor factor influenți asupra rezultatului terapeutic.

References

1. Arshinova SS, Pinegin BV, Stakhanov VA. Immunomodulatory v terapii bolnykh aktivnym tuberkulozom legkikh [Immune modulators in the treatment of patients with active pulmonary tuberculosis]. *Lechiashchiy vrach [Attending physician]*. 2002;10:36-37.

2. Demkow U, Filewska M, Michalowska-Mitczuk D, et al. Heterogeneity of antibody response to mycobacterial antigens in different clinical manifestations of pulmonary tuberculosis. *J. Physiology Pharmacology*. 2007;58(Suppl. 5):117-127.

3. Drannik GH. Klinicheskaya imunologiya i allergologiya [Clinical immunology and allergology]. Kiev, 2010;552.

4. Ferraz JC, Melo FB, Albuquerque MF. Immune factors and immunoregulation in tuberculosis. *Brazilian J. Med. Biological Research*. 2006;39(1):1387-1397.

5. Ghinda SS, Darii V, Brumari A, et al. Modifikatsiya mikrometoda reaktzii blasttransformatsii limfotsitov [Modification of micromethod of lymphocyte blasttransformation]. *Laboratornoye delo [Laboratory deal]*. 1982;2:23-25.

6. Ghinda S, Darii V, Brumari A, et al. Metoda evaluării indicelui de intoxicație cu ajutorul indicelui leucocite/limfocite T. [Assessment method of leucocyte/lymphocyte T indices for intoxication evaluation. Inovator certificate Nr. 39, registred IFP 8.09.2004].

7. Ghinda S, Darii V, Brumari A, et al. Evaluarea metodei de detecție a gradului de intoxicație și alergizare a organismului [Assessment of the method for detection of intoxication and allergisation degree of organism. Inovator certificate No. 40, registred IFP 8.09.2004].

8. Ghinda S, Rudic V, Darii V, et al. Acțiunea preparatului BioR asupra activității imunologice și rezistenței naturale în tuberculoza pulmonară [Action of medicine BioR on immunological activity and natural resistance in pulmonary tuberculosis patients]. *Buletinul Academiei de Științe. Științe medicale [Bull. of Acad. Science. Științe medicale]*. 2004;3(4):100-109.

9. Ghinda S, Sain D, Cula E, et al. The study of the pathogenetic effect of the BioR drug in patients with tuberculosis sensitive or resistant to anti-tuberculosis drugs. In: IV-th National Congress of Phthysiopneumology. Thesis. Chisinau, 2009;104.

10. Ghinda S, Lesnic E, Chiroșca V, et al. Endogenous intoxication in patients with failure of lung tuberculosis treatment. In: IV-th National Congress of Phthysiopneumology. Thesis. Chisinau, 2009;103.

11. Ghinda S. Modificarea testului nitro blue-tetrasolium [Nitroblue-tetrazolium test modification. Inovator certificate Nr 4, registered IFP 20.11.1997].

12. Ghinda S, Rudic V, Popa M, et al. Studiu comparativ al acțiunii *in vitro* al preparatului BioR/BioR^{Zn} asupra activității limfocitelor T și subpopulațiilor [Comparative study *in vitro* action of medicine BioR/BioR^{Zn} on quantity of lymphocytes T and subpopulation]. In: Updates in ethiology, pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of tuberculosis and non-specific pulmonary diseases. Chișinău, 2011;194-198.

13. Haertonova IM, Valiev PS, Tsubulikin AP, et al. Klinicheskie proyavleniya i pokazateli immuniteta u bolnykh tuberkulozom na fone HIV-infektsii [Clinical manifestations and immunological indices in pulmonary TB on HIV-infection]. *Allergology and immunology*. 2010;246-249.

14. Khonina NA, Nikonov SD. Osobennosti immuniteta u bolnikh razlichnyimi formami tuberkuloza legkikh [Immune features in patients with different forms of pulmonary tuberculosis]. *Prob. tub. i bolezney legkikh [Tub and pulmonary diseases problems]*. 2000;1:30-32.
15. Kalf Kalifa Ia. O leykotsitarnom indekse intoksikatsii i ego klinicheskom znachenii [About intoxication index and its clinical importance]. *Vrachebnoye delo [Medical deal]*. 1941;1:31-36.
16. Karaulov AV. Klinicheskaya immunologiya i allergologiya [Clinical immunology and allergology]. *Meditsinskoye informatsionnoe agenstvo [Medical information agency]*. 2002;650.
17. Knoring BE. Osobennosti immunogo statusa bolnykh tuberkulozom i ego roli v diagnostike [Features of the immune status of patients with tuberculosis and their role in the diagnosis, prediction and immune correction treatment]: autoref. PhD thesis. St-Petersburg, 1996;25.
18. Nivotskii VV, Strelis AK, Serebryakova VA, et al. Immunnyi status bolnykh infiltrativnym tuberkulozom legkikh na fone protivotuberkuloznoy khimioterapii [Immune status of patients with infiltrative tuberculosis on the basis of antituberculosis treatment]. *Immunologiya [Immunology]*. 2007;5:27-30.
19. Novikov DC, Freidlin IS. Meditsinskaia immunologiya [Medical Immunology]. Minsk: Vysshaya shkola [High school], 2005;301.
20. Rudic V, Bulimaga V, Ghinda S, et al. Obtaining technologies of new immune modulator drugs from algae origin. *Buletinul Academiei de Stiinte. Stiinte biologice, chimice, agricole [Bulletin of Academy of Sciences. Biological, chemical, agricultural sciences]*. 2004;3(2):95-100.
21. Popov AV. Kliniko-immunologicheskie osobennosti manifestatsii infiltrativnogo tuberkuloza legkikh [Clinical immunological features of infiltrative tuberculosis]: PhD degree thesis. Moscow, 2002;18.
22. Popov AV, Suhovei IuG, Kostolomova EG. Nekotorye dannye k vozmozhnym mekhanizmam vliyaniya pereokhlajdeniya na reaktivatsiyu tuberkuloznoy infektsii [Some data about possible mechanism of cold on the reactivation of tuberculous infection]. *Allergology and immunology*. 2003;4:97.
23. Shovkun LA. Osobennosti kliniko-laboratornykh proyavleniy infiltrativnogo tuberkuloza legkikh pri ispolzovanii kombinirovannykh metodov terapii [Clinical laboratory features of infiltrative tuberculosis using combine methods of therapy]: PhD degree thesis. Moscow, 2010:20.
24. Shovkun L, Romantseva E. Caracteristica raspunsului imun la pacientii de tuberculoză pulmonară caz nou și recidivă [Characteristics of the immune response among patients with newly detected disseminated tuberculosis and relapse]. *Buletinul Academiei de Științe. Științe medicale [Bull. of Acad. Science. Medical sciences]*. 2011;4:66-69.
25. Tashpulatova FK. Efektivnost khimioterapii destruktivnogo tuberkuloza legkikh s uchiatom geneticheskogo fonda [Efficiency of anti-tuberculosis treatment of destructive tuberculosis in relation with genetic found]. *Prob. tub. i bolezney legkikh [Tub and pulmonary diseases problems]*. 2006;12:127-128.
26. Toossi Z. Virological and immunological impact of tuberculosis on human immunodeficiency virus type I disease. *J. Infectious Diseases*. 2003;188(8):1146-1155.

Research of antiexudative activity of erysimine and cymarine derivatives

*V. A. Nikolaev, B. A. Samura

Department of Pharmacotherapy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

*Corresponding author: nikolaev_vlad84@mail.ru. Manuscript received September 23, 2013; accepted December 05, 2013

Abstract

Comparative investigation of antiexudative activity-chemical structure dependence in a series of erysimine and cymarine derivatives was conducted on the model of carrageenan edema in white Wistar rats. The test substances were administered intragastrically at a dose of 5.0 mg/kg 30 minutes before introduction of the phlogogenic agent. Edema was caused by injection of 0.1 ml of 1% aqueous suspension of carrageenan. Antiexudative activity was determined by the degree of edema reduction in experimental animals as compared to control ones and expressed as a percentage. Diclofenac sodium was used as a comparative drug. The highest antiexudative activity among the erysimine derivatives was shown by 3',4'-O-propylidene-erysimine that reduced the carrageenan edema by 39.4% ($p < 0.05$) and provided an anti-inflammatory effect comparable with the effect of diclofenac sodium. Replacing ethyl radical with propyl, phenyl, methyl, phenylpropenoic and 3-methoxy-4-hydroxyphenyl radicals decreased the antiexudative activity from 39.4% to 13.5%. Derivatives of cymarine have a less pronounced antiexudative activity: ethanoliminocymarine reduced the volume of edema in rats by 29.9% ($p < 0.05$). Replacing ethanol with pyridine-para-methylene and urea reduced the antiexudative activity from 29.9% to 9.0%. Erysimine and cymarine derivatives are a promising group of organic compounds for further synthesis and pharmacological screening to be used as a basis for development of medicines with antiexudative activity.

Key words: antiexudative activity, erysimine, cymarine, 3',4'-O-propylidene-erysimine, ethanoliminocymarine.

Исследование антиэкссудативной активности производных эризимина и цимарина

Введение

В настоящее время возрос интерес к проблеме лекарственной регуляции воспалительного процесса, что способствовало расширению и углублению исследований патогенеза и патохимии воспаления. Регуляция воспалительного процесса, являющегося ведущим патогенетиче-

ским звеном в развитии многих заболеваний различного генеза, продолжает привлекать внимание, как исследователей, так и клиницистов. Одной из наиболее важных и сложных задач, стоящих перед врачом-ревматологом, является выбор эффективного и безопасного лечения для больных, страдающих ревматическими заболеваниями [1, 2].