

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ  
ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU"  
IMSP INSTITUTUL DE FTIZIOPNEUMOLOGIE  
"CHIRIL DRAGANIUC"**

**Cu titlu de manuscris**

**C.Z.U.: 612.396.11+582.26+612.017;577.1**

**MIHALCIUC OLGA**

**MODIFICĂRI IMUNOBIOCHIMICE LA ACȚIUNEA  
POLIZAHARIDELOR SULFATATE DIN SPIRULINĂ  
ÎN NORMĂ ȘI PATOLOGIE**

**324.03 – DIAGNOSTIC DE LABORATOR**

**Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale**

**CHIȘINĂU, 2017**

Teza a fost elaborată în laboratorul de Biochimie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și în laboratorul Alergologie și Imunologie al Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”.

**Conducător științific:**

**Gudumac Valentin**

doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Om Emerit al R. Moldova

**Consultant științific:**

**Procopișin Larisa**

doctor în științe medicale, conferențiar cercetător

**Referenți oficiali:**

**Bacinschi Nicolae**

doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

**Smeșnoi Valentina**

doctor în științe medicale

**Componența consiliului științific specializat:**

**Vișnevschi Anatol**

**președinte**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Sardari Veronica**

**secretar**, doctor în științe medicale, cercetător științific superior

**Rudic Valeriu**

doctor habilitat în științe biologice, doctor în științe medicale, profesor universitar, academician, Om Emerit al R. Moldova

**Ghinda Sergiu**

doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător

**Cobeț Valeriu**

doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

**Gonciar Veaceslav**

doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

**Bologa Vitalie**

doctor în științe medicale, conferențiar cercetător

Susținerea va avea loc la „19” mai 2017 ora 14.00 în ședința Consiliului științific specializat (D 54.324.03-01) din cadrul Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, or. Chișinău, str. C. Vârnav 13.

Teza de doctor, lucrările științifice în baza cărora se susține teza și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca Institutului de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” și pe pagina web a C.N.A.A. ([www.cnaa.md](http://www.cnaa.md)).

Autoreferatul a fost expedit la „\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2017 .

**Secretar științific al Consiliului științific specializat:**

d. ș. m., cerc. șt. superior

**Sardari Veronica**

**Conducător științific:**

d. h. ș. m., prof. univ.

**Gudumac Valentin**

**Consultant științific:**

d. ș. m., conf. cerc. superior

**Procopișin Larisa**

**Autor: Mihalciuc Olga**

## REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

**Actualitatea temei.** Progresele din ultimul deceniu ale științelor fundamentale au permis o mai bună cunoaștere a fenomenelor imunității specifice și nespecifice. Evoluția umanității este însoțită de creșterea continuă a patologiilor cu implicare imună, iar mecanismele lor se studiază continuu cu aprofundare la nivel tisular, celular și molecular.

Numărul lucrărilor în domeniul imunologiei și imunopatochimiei a crescut considerabil în ultimii ani. Grație acestor cercetări a fost descoperit rolul important al structurilor numite *tipare moleculare asociate patogenilor* sau PAMPs (*patogen associated molecular patterns*) și al receptorilor lor membranari specifici numiți *receptori de recunoaștere a tiparelor moleculare* sau PRR (*pattern-recognition receptor*). Cei mai valoroși reprezentanți ai PRR sunt receptorii Toll-asemănători – TLRs (*Toll-like receptors*), aceștea fiind implicați nu numai în recunoașterea PAMPs, ci și altor molecule, inclusiv cele de origine vegetală, precum și în reglarea hematopoiezei, proliferării și diferențierii celulelor-stem mieloide, T- și B-limfocitelor, activarea apoptozei etc. [25, 46]

**Situația în domeniul de cercetare.** Prevalența înaltă a diverselor stări patologice cu tendință spre cronicizare și formare a complicațiilor grave cauzate și de dificultățile alegerii unor metode optime și inofensive de tratament și/sau profilaxie constituie una din multiplele probleme actuale ale medicinei contemporane. Conform studiilor de specialitate, incidența stărilor de imunodeficiență provocate de diverse stări patologice, acțiunea factorilor nocivi ai mediului înconjurător, folosirea preparatelor medicamentoase cu efecte nedorite de imunosupresie etc., este în permanentă ascensiune. Aceste date pun în evidență necesitatea elaborării și implementării medicamentelor eficiente și inofensive noi în baza materiei prime autohtone și corespunde direcțiilor prioritare de dezvoltare a științei – biomedicina, farmaceutica, menținerea și fortificarea sănătății [3].

Un interes deosebit în acest aspect prezintă polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS), precum și remediile cianobacterine (RC) ce conțin PSS și diverse principii bioactive obținute din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM sub conducerea academicianului Valeriu Rudic [12, 13, 14].

Publicațiile științifice, la care am avut acces, nu ne-au furnizat informații despre existența unor studii detaliate privind mecanismele patobiochimice și imunochimice, ce stau la baza acțiunii PSS și RC în condiții fiziologice, precum și la modelarea unor patologii cu implicarea sistemului imunitar. Astfel, cercetările efectuate în această direcție sunt de o incontestabilă actualitate și valoare, ceea ce ar permite elaborarea unor noi formule de diagnostic, monitoring și tratament eficient și inofensiv ale unui șir de tulburări ale sistemului imun prin care se asigură un efect curativ și profilactic înalt, optimizarea și eficientizarea tratamentului medicamentos a mai multor afecțiuni și stări patologice, preîntâmpinarea și eliminarea complicațiilor, fiind o premieră pentru Republica Moldova.

**Problema de cercetare care reiese din analiza situației în domeniu** costă în necesitatea inițierii cercetării detaliate privind relevarea unor aspecte ale activității biologice ale PSS și RC ce conțin PSS și elucidarea mecanismelor moleculare imunobiochimice, ce stau la baza acțiunii lor la modelarea unor patologii cu implicare imună (imunodeficit, astm bronșic) și de natură toxică (hepatopatia toxică), fapt ce ar permite diversificarea arsenalului de remedii folosite în profilaxia și tratamentul acestor patologii.

**Scopul lucrării.** Evaluarea particularităților și semnificației modificărilor indicilor imunobiochimici la acțiunea polizaharidelor sulfatate din spirulină (PSS) și remediilor ce conțin PSS în normă și la modelarea unor patologii cu implicarea sistemului imunitar și de natură toxică.

### **Obiectivele cercetărilor:**

1. Cercetarea acțiunii PSS asupra parametrilor sangvini, principalilor indici metabolici, mediatorilor inflamației și fibrogenezei, stării funcționale a aparatului lizozomal, proceselor de oxidare cu radicali liberi și sistemului antioxidant în normă și la modelarea HT.
2. A determina acțiunea PSS și a RC ce conțin PSS și alte principii bioactive asupra indicilor metabolici în splină la modelarea imunodeficitului experimental.
3. Evaluarea proceselor metabolice în măduva osoasă în imunodeficitul experimental și influența PSS și a RC ce conțin PSS și alte principii bioactive.
4. Studiarea *in vitro* a particularităților indicilor sistemului glutatonic eritrocitar în normă și astmul bronșic de severitate diferită și influența PSS și RC ce conțin PSS și alte principii bioactive.
5. Evaluarea *in vitro* a modificărilor citokinelor pro- și antiinflamatoare sangvine în normă și astm bronșic de severitate diferită și influența PSS și RC ce conțin PSS și alte principii bioactive.

**Metodologia cercetării științifice.** S-a efectuat o cercetare fundamentală *in vivo* pe animale de laborator (șobolani albi) și *in vitro* pe probele biologice colectate de la persoane condiționat sănătoase și de la pacienți cu astm bronșic. Pentru realizarea scopului și obiectivelor trasate au fost folosite un șir de micrometode de cercetare (peste 50 micrometode) elaborate de noi în baza metodelor existente. Indicii imunobiochimici au fost studiați în sânge, țesutul hepatic, lienal și măduva osoasă în condiții fiziologice, hepatopatie toxică (HT), imunodeficit (ID), astm bronșic (AB) și la tratamentul cu polizaharide sulfatate din spirulină (PSS) și RC ce conțin PSS și alte principii bioactive. ID a fost modelat prin administrarea ciclofosfanului, iar HT a fost indusă prin administrarea CCl<sub>4</sub>. Rezultatele obținute au fost supuse prelucrării statistice prin utilizarea programelor computerizate „StatsDirect” și „Statistica 6,0” și prezentate prin procedee tabelare și grafice.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată a fost efectuat un studiu multiplanic, complex de cercetare, care a permis obținerea datelor noi privind modificările indicilor imunobiochimici în sânge, ficat, splină și măduva osoasă la modelarea unor patologii cu implicare imună și de natură toxică. A fost demonstrată acțiunea pleiotropă a administrării PSS în hepatopatia toxică indusă de CCl<sub>4</sub> și imunodeficitul experimental. În premieră au fost elucidate particularitățile acțiunii PSS și RC asupra indicilor sistemului glutatonic eritrocitar, precum și asupra nivelului de citokine la testarea *in vitro* în normă și în AB de severitate diferită.

**Problema științifică importantă soluționată** în teză constă în elucidarea mecanismelor imunobiochimice de acțiune a polizaharidelor sulfatate din spirulină și a semnificației lor la administrarea în condiții fiziologice și în patologie, fapt ce a condus la evidențierea metodelor eficiente de monitorizare a procesului patologic și obținerea unor noi strategii de abordare terapeutică a maladiilor cu implicare imună pe baza remediilor autohtone ce conțin PSS.

**Semnificația teoretică.** Elucidarea mecanismelor imunobiochimice fine, care stau la baza acțiunii PSS și RC autohtone asupra organismului în condiții fiziologice și patologice, largesc cunoștințele teoretice despre proprietățile biologice ale unor compuși naturali, oferind noi posibilități de a explora obiecte de perspectivă în scopul obținerii de noi principii biologice active autohtone și care ar putea fi folosite la elaborarea unor strategii terapeutice eficiente.

**Valoarea aplicativă a lucrării.** Cunoștințele noi fundamentale obținute în cadrul realizării lucrării pot fi utilizate la elaborarea schemelor noi de diagnostic precoce al dereglărilor imunobiochimice ce survin în patologiile imunitare, precum și în monitoringul eficienței

tratamentului aplicat. Datele obținute pot fi folosite în procesul de elaborare și verificare a altor remedii medicamentoase, care ar putea să se implice redresant în tratamentul proceselor patologice cu implicare imună.

### **Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere.**

1. Polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS) manifestă proprietăți pleiotrope, polivalente acționând prin mecanisme variate asupra diverselor verigi homeostazice la administrarea în condiții fiziologice, hepatopatia toxică (HT) indusă cu CCl<sub>4</sub>, imunodeficitul (ID) experimental indus de ciclofosfan și AB.

2. PSS ameliorează starea funcțională a ficatului în HT prin: a) diminuarea mediatorilor inflamației și fibrogenezei – TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  și CTGF și stimularea proceselor de hidroliză enzimatică a matricei extracelulare hepatice; b) restabilirea și/sau normalizarea indicilor metabolismului proteic și glucidic; c) activizarea notabilă a 5'-nucleotidazei; d) influență pozitivă asupra indicilor SO și sistemului AO, manifestată prin atenuarea proceselor de oxidare cu SRO și reactivarea relevantă a enzimei antioxidante – catalaza.

3. În ID experimental PSS și RC ce conțin polizaharide sulfatate acționează prin diferite mecanisme asupra verigilor homeostazice în țesutul splenic și măduva osoasă, influențând esențial procesele oxidative aerobe, metabolismul nucleotidic, reduc intensitatea SO, înlătură depresia sistemului AO și ameliorează metabolismul tiol-disulfidic.

4. PSS și remediile ce conțin polizaharide sulfatate influențează neunivoc asupra sistemului glutatonic eritocitar la testarea *in vitro* în normă și AB de severitate diferită: în forma ușoară a maladiei efectele pozitive ale remediilor studiate se manifestă prin majorarea conținutului de GSH, creșterea activității GR, G-6-PDH și GPO; în formele moderate și grave ale AB remediile testate influențează important doar activitatea G-6-PDH care se menține la valori majorate și condiționează reducerea până la valorile martorului sau menținerea la nivel normal a funcționalității GPO.

5. În AB de severitate diferită și la persoanele condiționat sănătoase PSS și RC ameliorează balanța citokinică sangvină la testarea *in vitro*, fapt demonstrat prin reducerea nivelului citokinelor pro-inflamatoare – IL-6, TNF- $\alpha$  și TGF- $\beta$ 1 și creșterea valorilor citokinei anti-inflamatoare – IL-10.

**Implementarea rezultatelor științifice.** Rezultatele obținute au fost implementate în procesul didactic și lucrul științific la Catedra Medicină de laborator și Laboratorul de biochimie ale IP USMF "Nicolae Testemițanu" și activitatea practică a Laboratorului de diagnostic clinic al IMSP Institutul de Cardiologie și Centrul Republican de Control Extern al Calității.

**Aprobarea rezultatelor științifice.** Rezultatele de bază ale lucrării au fost prezentate și discutate în cadrul următoarelor foruri științifice: Conferințele științifice anuale ale colaboratorilor și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”, aa. 2010 – 2015; A VIII-a ediție a Conferinței Naționale de Pneumologie INSPIR, 14-16 octombrie 2010, Iași, România; Congresul al IX-lea Național cu participare internațională al Geneticienilor și Amelioratorilor, Chișinău, 21-22 octombrie 2010; Conferința științifică internațională „Microbiologic biotechnology – the scientific intensive domain of modern knowledge”, Chișinău, 2011; The six-th session of the Balcan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova on 22th-24th September 2013; Expozițiile Internaționale Specializate MoldMEDIZIN & MoldDENT, Conferința științifico-practică „Problemele actuale ale serviciului de laborator. Standartizarea în medicina de laborator clinic. Aspecte organizatorice și metodologice. Tehnologii moderne în medicina de laborator”, 2013;. Conferința științifico-practică „Medicina de laborator eficientă: metode și instrumente de organizare și standarde de practică”, 2014; Conferința științifico-practică „Managementul calității investigațiilor de laborator – viziuni moderne asupra problemei și căile de perfecționare”, 2015;. 3rd French-Romanian

Colloquium on Medicinal Chemistry. Iași, Roumanie, 30-31 October 2014; Scientific International Conference on Microbial Biotechnology. Chișinău, Moldova, 9-10 October 2014; The XVIII-th International Conference "Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry", Chișinău, Moldova, 8-9 October, 2015.

Materialele tezei au fost aprobate la ședința laboratorului de Biochimie (proces-verbal nr. 3 din data 25.05.2016) și a Seminarului științific de profil, specialitatea diagnostic de laborator, din cadrul IP USMF *Nicolae Testemițanu* (proces-verbal nr. 4 din data 21.11.2016).

**Publicații la tema tezei:** materialele tezei au fost reflectate în 27 publicații, inclusiv 8 lucrări fără coautori, 10 articole în reviste naționale și 12 teze ale comunicărilor naționale și internaționale și 13 certificate de inovație.

**Volumul și structura tezei.** Teza este expusă pe 172 de pagini text dactilografiat, inclusiv 32 tabele și 20 figuri. Lucrarea constă din adnotare în limbile română, rusă și engleză, introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie (251 surse științifice), 2 anexe.

**Cuvintele-cheie:** remedii cianobacteriene, polizaharide sulfatate din spirulină, hepatopatia toxică, imunodeficit experimental, astm bronșic, indici imunobiochimici, citokine, sistem glutatonic.

## CONȚINUTUL TEZEI

### 1. PARTICULARITĂȚI IMUNOBIOCHIMICE ALE PATOLOGILOR CU IMPLICAREA SISTEMULUI IMUNITAR ȘI DE NATURĂ TOXICĂ ȘI EFECTELE UTILIZĂRII PRODUSELOR CIANOBACTERIENE

În acest capitol sunt sintetizate și analizate datele de ultimă oră din literatura de specialitate referitor la particularitățile imunobiochimice în normă și patologie și este structurat în 6 subcapitole. În primele două subcapitole sunt prezentate achizițiile moderne ale fenomenelor imunității nespecifice și specifice și importanța lor patogenetică, precum și date noi despre modificările imunobiochimice ale parenchimului hepatic în hepatopatia toxică indusă de administrarea  $\text{CCl}_4$ . În subcapitolul 3 sunt descrise mecanismele celulare și moleculare ale imunopresiei induse de ciclofosfan și efectele protectoare ale unor remedii. În subcapitolul 4 este realizată o analiză complexă a mecanismelor pato-imunobiochimice în astmul bronșic, precum și impactul lor pentru elaborarea unor noi abordări terapeutice. Subcapitolul 5 este consacrat activității biologice a produselor bioactive și remediilor din microalgele (cianobacteriile) maritime și mecanismele de acțiune ale acestora. În subcapitolul 6 sunt formulate concluziile analizei situației din domeniu.

### 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

#### 2.1. Experiențele și grupurile de studiu

Studiul a fost realizat la Institutul de Ftiziopneumologie "Chiril Draganiuc" și în laboratorul de Biochimie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” în cadrul proiectului instituțional de cercetări fundamentale 11.817.09.07F "Identificarea mecanismelor biochimice ale acțiunii compușilor biologici activi autohtoni și argumentarea folosirii lor în profilaxia și tratamentul unor boli hepatice, renale, osteopatii și imunodeficite" finanțat de AȘM.

Polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS) și remediile de origine cianobacteriană (BioR-Ge, BioR-Zn) au fost obținute la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM, sub conducerea dlui Valeriu Rudic, dr.hab.șt.biol., dr.șt.med., profesor universitar, academician [13]. PSS reprezintă o polizaharidă acidă din cianobacteria *Spirulina platensis* cu masa moleculară cuprinsă între  $3,4 \times 10^3$  –  $2,9 \times 10^6$  Da [50]. Remediu BioR-Ge conține PSS (1%) și microelementul germaniu (1

µg/ml) legat organic cu proprietăți imunostimulatoare și antiinflamatoare pronunțate [45]. Remediu BioR-Zn conține PSS (1%) și microelementul Zn (10 µg/ml) legat organic, manifestă proprietăți antioxidante, osteoregeneratoare, imunostimulatoare, etc. [15].

Studiile fundamentale de cercetare a produselor medicamentoase menționate s-au efectuat *in vivo* pe animale de laborator și *in vitro* pe baza probelor biologice colectate conform principiilor contemporane în standardizarea biologică a experiențelor, aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (Aviz favorabil din 19.06.2011).

În conformitate cu scopul și obiectivele lucrării au fost efectuate 3 serii de experiențe.

Prima (I) serie de experiențe – evaluarea activității biologice a compusului PSS în condiții fiziologice și la modelarea hepatopatiei toxice (HT) induse de CCl<sub>4</sub> a fost efectuată pe 26 șobolani, divizați în 4 loturi experimentale: 1 – martorul (6 animale cărora li s-a administrat enteral câte 20 ml bulion de vită, zilnic, timp de 5 săptămâni); lotul 2 – 6 animale, cărora li s-a administrat enteral PSS în doza 50 mg/kilocorp, dizolvat în 20 ml bulion de vită, timp de 5 săptămâni; lotul 3 – 7 șobolani cu HT modelată prin administrarea a 0,1 ml soluție 50% de CCl<sub>4</sub> în ulei de măsline la 100 g masă corporală, bisăptămânal, timp de 5 săptămâni; lotul 4 – 7 șobolani cu HT modelată, cărora li se administrat enteral zilnic PSS în doza 50 mg/kilocorp timp de 5 săptămâni.

A doua (II) serie de experiențe – evaluarea activității biologice a compusului PSS și remediuului BioR-Ge la modelarea imunodeficitului (ID) experimental cu ciclofosfan (CF) a fost efectuat pe un lot de 47 șobolani divizați în 5 loturi: 1 – martorul (8 animale, întreținute la un regim obișnuit de vivariu, alimentația fiind suplimentată cu 20 ml bulion de vită per capitum, zilnic, timp de 14 zile); lotul 2 – 9 șobolani cu ID experimental, suplimentat cu 20 ml bulion de vită, administrat enteral, zilnic timp de 14 zile; lotul 3 (CF + PSS 50 mg/kg) și lotul 4 (CF + PSS 125 mg/kg) – câte 10 șobolani cu ID, suplimentat cu 50 și, respectiv, 125 mg/kg PSS, dizolvat în 20 ml bulion de vită, administrat enteral, zilnic timp de 14 zile; lotul 5 (CF + BioR-Ge 1,0 mg/kg) - 10 șobolani cu ID, tratați cu BioR-Ge 1 mg/kg, injectat i/m și suplimentat cu 20 ml bulion de vită, administrat enteral zilnic timp de 14 zile.

A treia (III) serie de experiențe - evaluarea activității biologice a compusului PSS și remediilor BioR-Ge, BioR-Zn în condiții fiziologice și în astmul bronșic (cercetări *in vitro*). Materialul studiului a fost colectat de la 40 persoane, inclusiv 30 pacienți cu astm bronșic (AB) persistent, aflați la evidență în IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”, diagnosticați cu AB persistent ușor (10 pacienți), moderat (10 pacienți), sever (10 pacienți), faza de acutizare și 10 persoane condiționat sănătoase, care n-au prezentat simptome ale AB niciodată în viață.

*Criterii de eligibilitate:* vârsta pacienților >18 ani; diagnostic confirmat al AB persistent, faza de acutizare (conform criteriilor internaționale GINA-2014).

*Criterii de excludere din studiu:* vârsta pacienților < 18 ani; pacienți cu patologie asociată (maladii hepatice active, insuficiența cardiacă decompensată, hipertensiune arterială gr.III, insuficiența renală cu creatinina >130 µmol/l, maladii sistemice, diabet zaharat, nivel bazal al glicemiei >7,0 mmol/l și alt.), pacienți fumători.

La momentul includerii în studiu, vechimea bolii la pacienții cu AB persistent ușor a fost mai puțin de 5 ani la 9 persoane, mai mult de 10 ani la 1 persoană; la pacienții cu AB persistent moderat vechimea bolii a fost mai puțin de 5 ani la 5 persoane, de la 7 la 10 ani – la 4 persoane și 20 ani la 1 persoană; la pacienții cu AB persistent sever vechimea bolii a fost mai puțin de 5 ani la 3 persoane, de la 10 la 15 ani – la 4 persoane, peste 15 ani – la 3 persoane. Vârsta medie a persoanelor incluse în studiu a fost de 44±2,2 ani. În toate loturile de studiu au prevalat femeile, ceea ce se explică prin incidența comparativ mai înaltă a AB printre persoanele de sex feminin.

După 24 ore de la expirarea termenului experiențelor *in vivo*, animalele incluse în studiu au fost sacrificate sub anestezie ușoară cu eter sulfuric, materialul de studiu fiind recoltat la una și aceeași oră a zilei.

*Sângele periferic* pentru studiul indicilor hematologici a fost prelevat și colectat în eprubete tip vacutainer. Indicii sangvini au fost apreciați la analizorul hematologic PCE-210, firma ERMA, Japonia. Determinarea formulei leucocitare s-a efectuat în frotiurile sângelui periferic fixate cu colorantul May-Grünwald și colorate după Noht. *Serul sangvin* a fost obținut prin centrifugarea sângelui periferic prelevat fără anticoagulant la 3000 tur/min timp de 10 minute.

*Ficatul și splina* au fost prelevate, spălate cu sol. 0,85% NaCl și omogenizate în tampon fosfat 0,1M (pH 7,4), ce conținea 1mM EDTA, astfel ca diluția finală a omogenatului să constituie 1:10. Pentru distrugerea completă a membranelor celulare omogenatul a fost prelucrat cu triton X-100 în concentrația finală de 0,1%. Ulterior, omogenatele tisulare au fost supuse centrifugării timp de 15 min la 5000 tur/min, iar supernatantul a fost transferat în eprubete curate și până la examinare păstrat în congelator la  $-40^{\circ}\text{C}$ . *Măduva osoasă* a fost prelevată din oasele femurale prin spălări repetate cu 0,85% NaCl.

## 2.2 Metodele de evaluare a indicilor imunobiochimici.

Pentru realizarea scopului și obiectivelor lucrării au fost elaborate un șir de micrometode de cercetare a indicilor imunobiochimici în baza metodelor existente. Ele au fost adaptate și optimizate pentru dozarea în divers material biologic (sânge, ser sangvin, țesut hepatic, lienal, măduva osoasă) și aplicarea la riderul multifuncțional cu microplăci. Avantajele tehnico-economice și sociale ale micrometodelor propuse față de metodele descrise în literatura de specialitate constă în faptul că ele au permis de a simplifica procedeul analitic, micșora cheltuielile de reagenți, timpul de efectuare a analizelor prin procesarea concomitentă a unui număr mare de probe biologice și de a mări reproductibilitatea și precizitatea analizelor efectuate.

*Metodele de evaluare a metabolismului azotic, proteic și glicoproteic* au inclus dozarea proteinelor totale, conținutul de substanțe cu masă moleculară mică și medie (SMM), conținutul de substanțe necrotice (SN), collagen, hidroxiprolină (HP), acizi uronici, glucozaminoglicani sulfatați, determinarea activității ALAT, ASAT, pseudocolinesterazei (PCE) după modificările noastre [6,7].

*Intensitatea metabolismului glucidic și energetic* a fost apreciată prin dozarea concentrației de lactat, piruvat, malat,  $\alpha$ -cetoglutarat și prin determinarea activității hexokinazei (HK), piruvatkinazei (PK), lactatdehidrogenazei (LDH), glucozo-6-fosfat-dehidrogenazei (G-6-PDH), izocitratdehidrogenazei NADP-dependente (ICDH-NADPd), glutamat-dehidrogenazei (GLDH), malatdehidrogenazei NADP-dependente (MDH-NADPd) și succinat dehidrogenazei (SDH). Studiul metabolismului nucleotidelor adenilice a inclus determinarea activității adenilatdezaminazei (AMP-zei), adenozindezaminazei (ADA-zei) și 5'-nucleotidazei (5'-HT) după modificările noastre [6, 7].

*Starea funcțională a aparatului lizozomal* a fost evaluată prin determinarea principalelor hidrolaze acide: activității catepsinelor D, B, H, L, G,  $\beta$ -glucozidazei,  $\beta$ -galactozidazei,  $\beta$ -glucuronidazei, N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidazei (NAG), arilsulfatazelor A și B, C, fosfatazei acide (FA). S-a determinat activitatea colagenolitică, elastaza și leucinaminopeptidaza (LAP) după modificările noastre [6, 7].

*Evaluarea indicilor stresului oxidativ (SO) și sistemului antioxidant (SAO)* a fost efectuată prin determinarea: dienei conjugate (DC), cetodienelor (CD), trienelor conjugate (TC), precum și a dialdehidei malonice (DAM) cu înregistrarea separată a absorbantei lipoperoxizilor în faza hexanică (peroxidarea compușilor hidrofobi – lipidelor neutre și altor substanțe nepolare, hidrofobe) și în faza izopropanolică (peroxidarea fosfolipidelor și altor compuși polari). Paralel, s-a efectuat



determinarea produşilor proteici de oxidare avansată (AOPP), dozarea albuminei (proteinei) ischemic-modificate (AIM, PIM), produşilor finali de glicare avansată (AGEs), determinarea activităţii NADH- și NADPH-oxidazelor, mieloperoxidazei (MPO) și metaboliţilor oxidului nitric (NO). Pentru aprecierea SAO au fost utilizate mai multe metode: dozarea activităţii antioxidante totale (AAT) cu separarea fazelor - nepolară (hexanică) și polară (izopropanolică) prin metoda cu ABTS și metoda CUPRAC. Au fost evaluaţi indicii SAO enzimatici și neenzimatici prin determinarea activităţii superoxidismutazei (SOD), catalazei, glutatireductazei (GR), glutatireperoxidazei (GPO), glutaredoxinei, glutatire-S-transferazei (GST), conţinutului de glutatire (GSH), S-nitrozotiolilor și grupărilor tiolice ale proteinelor după modificările noastre [6, 7].

*Aprecierea efectelor PSS și RC în normă și AB in vitro* s-a efectuat conform procedurii descris de Рыжикова С. Л. и др. [62] în modificarea noastră [6, 7]. Sângele de la persoanele incluse în studiu a fost recoltat dimineaţa *à jeun*, prin puncţia venei cubitale, în cantitate de 2 ml. În continuare, sângele a fost introdus în condiţii sterile într-un flacon ce conţinea 8 ml mediu nutritiv Eagle modificat după Dulbecco (DMEM) și suplimentat cu heparină (2,5 un/ml), gentamicină (100 µg/ml) și L-glutamină (0,6 mg/ml). Apoi, s-a pipetat câte 1,0 ml din acest amestec în 6 eprubete sterile. În prima eprubetă (1) pentru stabilirea nivelului iniţial al indicilor studiaţi s-a turnat ser fiziologic 0,9% – 0,1 ml. În celelalte s-au adăugat remediile testate, diluate în 0,1 ml ser fiziologic: 2) PSS 50 µg/ml; 3) PSS 100 µg/ml; 4) BioR-Ge 50 ng/ml; 5) BioR-Ge 100 ng/ml și 6) BioR-Zn 50 ng/ml. După incubare la 37°C timp de 24 h, eprubetele au fost centrifugate 5 min la 2000 tur/min. Supernatantul obţinut a fost transferat în eprubete Eppendorf și folosit ulterior la determinarea citokinelor. Sedimentul de eritrocite a fost suplimentat cu 1 ml ser fiziologic și după o agitare ușoară - centrifugat 5 min la 2000 tur/min. Masa eritrocitară obţinută a fost diluată cu 0,5 ml H<sub>2</sub>O distilată și folosită ulterior la determinarea indicilor sistemului glutatirenic.

*Determinarea citokinelor IL-6, IL-10, TNF-α, TGF-β, CTGF* a fost efectuată cu ajutorul kiturilor de analize mini-ELISA sandwich ale firmei PeproTech Company (USA) conform instrucţiunilor oferite de producător.

### **2.3. Metodologia analizei statistice**

Calcululele statistice a datelor obţinute au fost efectuate cu ajutorul programelor computerizate „StatsDirect” și „Statistica 6,0”. S-au calculat media aritmetică și eroarea mediei (M±m). Pentru aprecierea diferenţei semnificative dintre loturile comparate a indicilor studiaţi s-au utilizat testele statistice „T-Student” și nonparametric „U Mann-Whitney”.

## **3. MODIFICĂRILE IMUNOBIOCHIMICE ÎN HEPATOPATIA TOXICĂ INDUSĂ DE CCl<sub>4</sub> ȘI LA REMEDIEREA CU PSS**

### **3.1. Influenţa PSS asupra indicilor sangvini**

Comparând un șir de indici hematologici, biochimici și imunochimici ce reflectă starea diferitor verigi ale homeostaziei celulare și tisulare, am reușit să elucidăm mecanismele de acţiune ale PSS în condiţii normale și hepatopatia toxică (HT) indusă de CCl<sub>4</sub>.

În condiţii fiziologice PSS exercită un efect imunomodulator, preponderent imunostimulant evident, fapt demonstrat prin apariţia monocitozei, formelor tinere de celule ale hematopoiezei, creșterea esenţială a numărului de leucocite și limfocite (de 1,4 ori) în sângele periferic al animalelor de laborator. În grupul de animale cu HT se atestă o creștere statistic neveridică a numărului de leucocite și limfocite. Medicaţia HT cu PSS, conduce la creșterea numărului de eritrocite (cu +10 %), leucocite (WBC) mai mult de 1,3 ori (+ 37 %) și a numărului absolut de

limfocite (LYM) de 1,4 ori (+44%) față de indicii martorului, fapt ce indică la intensificarea leucopoiezei și limfopoiezei. Tratamentul HT cu PSS favorizează reducerea și chiar normalizarea indicelui neutrofilic și a raportului indicelui devierii nucleare.

Astfel, PSS influențează pozitiv asupra indicilor hematologici ai sângelui periferic, fapt ce justifică utilizarea acestui remediu pentru reducerea deteriorărilor în sistemul hematopoietic și corecția dereglărilor imunității nespecifice ce apar în HT indusă de CCl<sub>4</sub>.

### 3.2. Influența PSS asupra mediatorilor inflamației și factorilor profibrotici, constituenților matricei extracelulare hepatice, funcției proteosintetice a ficatului

Intoxicația cu CCl<sub>4</sub> provoacă dezvoltarea inflamației și fibrozei hepatice, fapt confirmat prin majorarea statistic concludentă (de 1,8 ori) a citokinei proinflamatoare TNF- $\alpha$ , precum și a factorilor de creștere TGF- $\beta$  (de 3 ori) și CTGF (de 2 ori) și acumularea în ficat a unei cantități importante de colagen, hidroxiprolină, acizi uronici și glucozaminoglicani (GAG) sulfatați care intră în componența matricei extracelulare (MEC) hepatice. Datele obținute se află în concordanță cu rezultatele unor autori, care au depistat valori crescute ale citokinelor menționate în inflamație și fibroza hepatică indusă de diferiți agenți [29, 49].

Medicația cu PSS înlesnește atenuarea creșterii TNF- $\alpha$  cu 81%, TGF- $\beta$  – cu 71% și a CTGF – cu 65% în comparație cu lotul de animale cu HT indusă cu CCl<sub>4</sub>.

**Tabelul 3.1.** Nivelul citokinelor în serul sangvin în hepatopatia toxică indusă de CCl<sub>4</sub> și la administrarea PSS

Grupurile de studiu	TNF- $\alpha$ , pg/ml	TGF- $\beta$ , pg/ml	CTGF, pg/ml
Martor	76,4 $\pm$ 9,8 (100%)	96,2 $\pm$ 21,4 (100%)	256,2 $\pm$ 30,2 (100%)
CCl <sub>4</sub>	138,1 $\pm$ 34,2 (181%)*	293,1 $\pm$ 52,5 (305%)*	532,8 $\pm$ 86,2 (208%)*
CCl <sub>4</sub> +PSS	112,5 $\pm$ 29,7 (147%)	206,8 $\pm$ 31,7 (215%)* <sup>#</sup>	348,1 $\pm$ 79,7 (136%)* <sup>#</sup>

Notă: Veridicitatea statistică: a) \* – față de lotul martor, p<0,05;

b) <sup>#</sup> – față de lotul cu HT, p<0,05.

Astfel, PSS manifestă un efect terapeutic evident manifestat prin capacitatea sa de a diminua exacerbarea nivelului factorilor proinflamatori și profibrotici în modelul de HT indusă de CCl<sub>4</sub>, efect ce ar putea fi explicat prin faptul că PSS pot activa anumiți receptori de semnalizare, cum ar fi TLRs, iar aceștea condiționează declanșarea răspunsului imun înnăscut prin activarea mecanismelor de expresie a unui șir de gene responsabile de producerea citokinelor efectoare [26, 47]. Un mecanism posibil de acțiune al PSS ar putea fi inhibarea translocării nucleare a factorului NF- $\kappa$ B, responsabil de sinteza citokinelor proinflamatoare. Nu este exclus faptul că PSS reduce expresia genelor pro-inflamatoare și factorilor de creștere prin modificări epigenetice precum deacetilarea histonelor, ceea ce scade nivelul de transcriere a acestor gene, mecanism descris recent de unii autori [40]. Pe de altă parte, PSS ar putea determina supresia celulelor hepatice stelate (CHS), adică inhibiția proliferării acestor celule, rezultând cu un nivel semnificativ mai înalt al apoptozei [58].

Intoxicația cu CCl<sub>4</sub> provoacă suprimarea activității ALAT și ASAT, care erau cu 41% și, respectiv, cu 75% mai reduse (p<0,05) față de indicii respectivi ai martorului și induce tulburări pronunțate ale funcției proteosintetice a ficatului, ceea ce se manifestă prin deprimarea activității

PCE serice (cu 43%), scăderea nivelului de proteine totale serice cu 18% ( $p < 0,05$ ) și tendința de diminuarea albuminei serice față de valorile martorului.

Administrarea PSS contribuie la micșorarea efectelor toxice ale  $\text{CCl}_4$  asupra hepatocitelor, ceea ce se manifestă prin reducerea deficitului de proteine totale și albumină serică, normalizarea valorilor ASAT și tendința de restabilire a nivelului PCE, fapt ce indică la intensificarea funcției proteosintetice hepatice și a proceselor de reparație tisulară. Nu se exclude faptul că, regenerarea tisulară poate fi acompaniată nu numai de amplificarea numărului de celule și sporirea masei totale a țesutului, dar și de accelerarea vitezei de substituire a unor elemente celulare prin altele, adică de intensificarea proceselor de renovare celulară.

Astfel, PSS manifestă proprietăți antifibrotice, antiinflamatoare și regenerative evidente. Aceste constatări sugerează că PSS poate fi un remediu promițător pentru tratamentul fibrozei hepatice.

### **3.3. Influența PSS asupra indicilor metabolismului glucidic și a nucleotidelor adenilice**

Conform cercetărilor noastre, în HT au loc tulburări pronunțate ale metabolismului glucidic, confirmate prin creșterea notabilă a nivelului metaboliților intermediari – lactatului, piruvatului și malatului, precum și modificări profunde ale principalelor enzime glicolitice – creșterea activității LDH cu 91% ( $p < 0,05$ ), reducerea funcționalității SDH cu 42% ( $p < 0,001$ ), scăderea evidentă a ICDH-NADP<sub>d</sub> și MDH-NADP<sub>d</sub> cu 30% ( $p < 0,01$ ) și, respectiv, 25% ( $p < 0,05$ ), ceea ce indică la stimularea fluxului energetic anaerob și reducerea celui aerob. Acest fapt s-ar putea datora dezechilibrului dintre căile de semnalizare NF- $\kappa$ B și SIRT1, prezente în multe boli metabolice cronice [40], și nu este exclus, are loc și în HT.

PSS ameliorează metabolismul glucidic și energetic în HT, dovadă fiind însușirea acestui remediu de a reduce conținutul de lactat și piruvat până la valori normale, fapt ce indică la reorientarea reacției reversibile de la lactat la piruvat cu includerea acestuia în glicoliza aerobă. Efectul pozitiv al PSS se manifestă și prin proprietatea sa de a restabili deficitul de  $\alpha$ -cetoglutarat și chiar de a induce sporirea moderată (cu 23%,  $p < 0,05$ ) a acestui metabolit al ciclului Krebs, asigurând astfel necesitățile energetice ale țesutului hepatic afectat. PSS reușește să reducă intensitatea efectelor toxice ale  $\text{CCl}_4$  asupra hepatocitelor și prin tendința de atenuare a hiperactivității LDH și readucerea la valori normale a nivelului MDH-NADP<sub>d</sub>. Activizarea dehidrogenazelor NADP-dependente sub acțiunea PSS, înregistrată în cercetările noastre, este expresia efectului anabolic, iar NADPH generat deținând funcții importante poate fi utilizat la sinteza diverșilor biopolimeri și substanțe biologice active (acizi nucleici, fosfolipide, acizi grași, hormoni steroizi, etc) [15]. Având în vedere datele recente din literatură, mecanismul de acțiune al PSS s-ar putea explica prin faptul că, pe de o parte, el inhibă NF- $\kappa$ B, ceea ce reduce fluxul energetic glicolitic anaerob în HT, iar, pe de altă parte, activează calea de semnalizare SIRT1, ameliorând astfel metabolismul aerob oxidativ și diminuând intensitatea inflamației [40]. Deducem de aici, că PSS poate fi considerat remediu patogenic de corecție a tulburărilor metabolismului glucidic, ce însoțesc leziunile toxice ale ficatului.

Printre numeroși factori ce reglează intensitatea reacțiilor metabolice, un rol aparte revine sistemului nucleotidelor adenilice. Cercetările efectuate relevă activizarea principalelor enzime ale metabolismului adenilic – AMP deaminazei (AMP-azei) și adenoindeaminazei (ADA-zei), ambele cu cca 40% ( $p < 0,05$ ), cât și a 5'-nucleotidazei (5'-NT) – cu 74% ( $p < 0,05$ ) în HT indusă de  $\text{CCl}_4$ , ceea ce poate fi apreciată drept o reacție de adaptare, orientată spre ameliorarea homeostaziei nucleotidice în ficatul afectat [39].

Astfel, PSS contribuie nu doar la menținerea activității enzimelor sistemului adenilic la valori sporite în HT, dar și la reactivarea notabilă a 5'-NT care depășea aproape triplu valorile martorului. Acest fapt poate fi apreciat drept o reacție pozitivă, orientată nu numai spre menținerea nivelului înalt de adenzină, dar și de modulare a metabolismului energetic și nucleotidic, care la rândul lor, asigură procesele de protecție și reparație în hepatocite. Datele literaturii atestă că adenzina posedă proprietăți antiinflamatoare puternice, iar creșterea nivelului de adenzină sub influența 5'-NT ar putea diminua intensitatea inflamației în ficat, reduce alte efecte patologice prin medierea numeroaselor căi de semnalizare intracelulară în care adenzina este implicată [48, 61].

### 3.4. Influența PSS asupra stării funcționale ale aparatului lizozomal

În cadrul cercetărilor noastre s-a stabilit, că activitatea proteazei aspartilice – catepsinei D și a proteazei cisteinice – catepsinei L crește veridic în HT în raport cu valorile lotului martor. Totodată, se atestă o sporire notabilă a activității colagenolitice (de 2,5 ori) și a funcției catalitice a  $\beta$ -glucozidazei,  $\beta$ -galactozidazei și a fosfatazei acide (cu 22%, 49% și, respectiv, 44%,  $p < 0,05$ ) și o diminuare a N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidazei (NAG),  $\beta$ -glucuronidazei și a arilsulfatazei C (cu 33%, 23% și 60%), în raport cu valorile lotului martor.

Administrarea PSS conduce la normalizarea catepsinei D, fapt ce ar putea reduce intensitatea inflamației indusă de  $CCl_4$ . Catepsina D joacă un rol important în reglarea apoptozei, și, pe lângă activitatea enzimatică, ea interacționează cu alte molecule importante și influențează semnalizarea celulară [27]. Cura de tratament cu PSS determină restabilirea valorilor normale ale  $\beta$ -glucuronidazei,  $\beta$ -glucozidazei și a NAG, menținerea nivelului înalt al activității colagenolitice,  $\beta$ -galactozidazei și fosfatazei acide, majorarea activității arilsulfatazelor A și B și tendința de reactivare a funcționalității arilsulfatazei C.

Astfel, PSS manifestă proprietăți lizozomotrope evidente prin modularea expresiei catepsinelor și activității glicozidazelor lizozomale, fapt ce rezultă cu stimularea proceselor de hidroliză enzimatică a matricei extracelulare hepatice și componentelor ei – nivelului de acizi uronici, GAG sulfatați, hidroxiprolină și collagen.

### 3.5. Influența PSS asupra indicilor oxidării cu radicali liberi și sistemului antioxidant

Conform cercetărilor noastre în HT are loc activizarea proceselor de oxidare peroxidică cu radicali liberi ai oxigenului în serul sangvin, ceea ce se traduce prin creșterea excesivă a produșilor nepolari și polari ai oxidării peroxidice a lipidelor (POL): dienelor conjugate, cetodienelor și trienelor cuplate (DC, CD și TC), valorilor DAM, și a nivelului AGEs – cu 35%, AIM – cu 33% și AOPP – cu 64%.

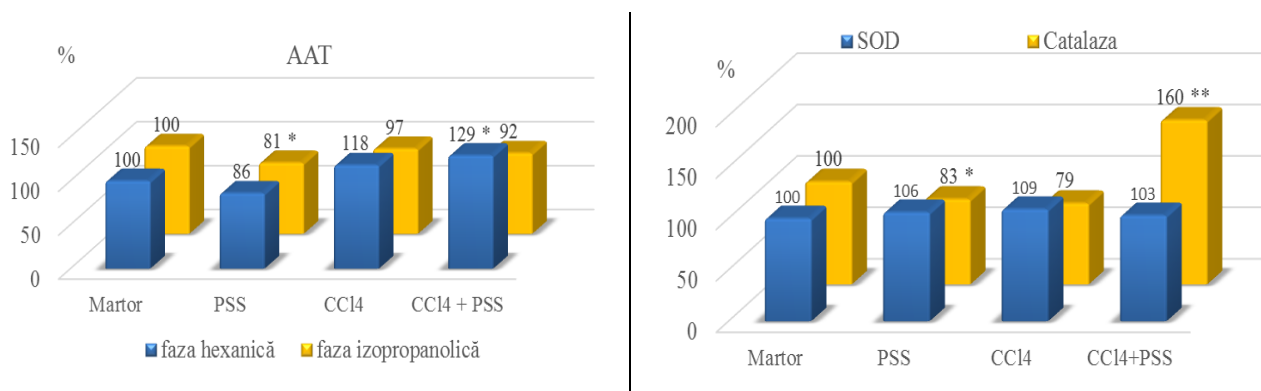


Figura 1. Influența PSS asupra activității antioxidante totale (AAT), activității superoxidismutazei (SOD) și catalazei în serul sangvin în condiții fiziologice și HT.

Notă: Diferență statistic semnificativă față de lotul-martor: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %

Efectele pozitive ale medicației cu PSS se manifestă prin normalizarea compușilor hidrofobi inițiali – DC, precum și a conținutului de CD și TC polare, creșterea concludentă (cu +29%) a AAT nepolare și reactivarea relevantă a catalazei cu +60% față de valorile martorului. Reactivarea notabilă a catalazei sub influența PSS contribuie nu numai la diminuarea efectelor nocive ale RLO și creșterea verigii enzimatice de protecție antioxidantă, dar poate reduce intensitatea procesului inflamator în ficat. Există dovezi, care susțin că catalaza reduce inflamația hepatică prin inhibarea NF-kB, care joacă un rol crucial în procesele inflamatorii și imunitare, proliferarea celulelor și apoptoză [37, 43].

Medicația patologiei modelate cu PSS se soldează cu reducerea discretă a valorilor AGEs, AIM și AOPP (cu 9%-12%) față de cele înregistrate la animalele cu patologia netratată.

Totodată, PSS activează formarea DAM, atât în condiții fiziologice, cât și în intoxicația cu CCl<sub>4</sub>, fapt ce ar putea fi atribuit nu numai peroxidării lipidelor, dar și intensificării biosintezei eicosanoizilor, care joacă un rol important în reglarea homeostaziei organismului și care permite de a depăși SO [63]. Conform unor studii reducerea capacității de formarea DAM, dar și a AOPP corelează cu prognosticul nefavorabil al diferitor procese patologice [24, 32]. Recent s-a constatat că POL, în special fosfolipidele oxidate, manifestă efecte anti-inflamatorii, mecanismul de bază fiind activarea factorului nuclear (eritroid-derivat 2)-like 2 (Nrf2) de transcripție [31].

În baza acestor date se poate conchide că PSS pot exercita un important control feed-back negativ, inhibând activarea excesivă a reacțiilor imune și dezvoltarea procesului inflamator datorită proprietăților sale de a modula formarea POL.

#### 4. MODIFICĂRILE IMUNOBIOCHIMICE LA ACȚIUNEA PSS ÎN NORMĂ, IMUNODEFICIENȚĂ ȘI ASTM BRONȘIC

##### 4.1. Influența PSS asupra indicilor imunobiochimici în splină în imunodeficiența ciclofosfanică

Cercetările efectuate au stabilit că tratamentul cu PSS și BioR-Ge înlătură eficient suprimarea notabilă a activității ALAT în țesutul lienal în ID ciclofosfanică, astfel încât la utilizarea PSS și BioR-Ge se remarcă creșterea activității ALAT cu 24% și, respectiv, 60% față de indicii atestați în lotul martor. Remediile PSS (în doza 125 mg/kg) și BioR-Ge s-au arătat capabile să inducă esențial activitatea ASAT în țesutul lienal al animalelor cu patologia modelată.

Un interes deosebit reprezintă studiul influenței remediilor autohtone asupra metabolismului glucidic în ID experimentală.

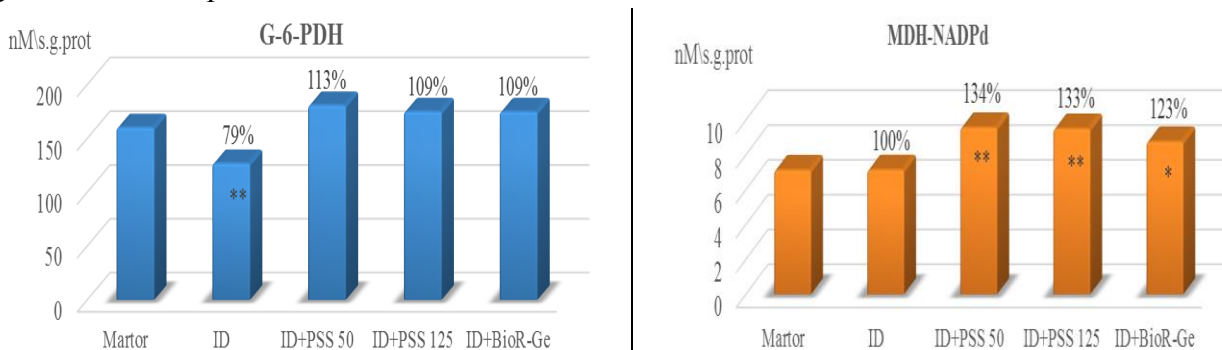


Figura 4.1. Influența PSS și Bior-Ge asupra unor indici ai metabolismului glucidic în țesutul lienal în ID.

Notă: Diferență statistic semnificativă față de lotul-martor: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01.

Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %

Datele expuse în figura 2 relevă suprimarea sugestivă a enzimei șuntului pentozic G-6-PDH cu 21%, fapt ce poate reduce asigurarea proceselor biosintetice cu NADPH în ID. Utilizarea remediilor testate înlătură declinul activității G-6-PDH și chiar conduce la o creștere discretă a acestei enzime cu 9-13% față de nivelul lotului martor, pe când funcționalitatea dehidrogenazei anabolice – MDH-NADP<sub>d</sub> sub influența remediilor testate este indusă cu 23-34%. Astfel, administrarea remediilor testate favorizează activizarea enzimelor NADP-dependente în țesutul lienal al animalelor cu ID și care rezultă cu intensificarea producției de NADPH, rolul căruia constă în asigurarea proceselor biosintetice și accelerarea proceselor reparatorii în țesuturi.

S-a constatat, că în ID ciclofosfanică are loc reducerea statistic concludentă a catepsinei B și NAG (cu 29% și, respectiv, cu 21%), scăderea insugestivă a catepsinei G și creșterea veridică a activității LAP și fosfatazei acide (cu 56% și 74%). Administrarea PSS în dozele 50 mg/kg și 125 mg/kg conduce la restabilirea funcționalității catepsinei G, însă nu reușește să anuleze supresia catepsinei B indusă de CF. Remediile testate contribuie la restabilirea valorilor normale ale LAP, iar PSS în doza 125mg/kg reduce funcția catalitică a catepsinei D cu 39% (p<0,01). PSS și BioR-Ge modifică starea funcțională a lizozomilor splenocitelor prin menținerea la valori sporite a fosfatazei acide, supresia pronunțată a NAG și, deasemenea, datorită capacității lor de a menține în limite normale activitatea β-glucozidazei, β-galactozidazei și arilsulfatazelor.

Astfel, remediile testate manifestă un lizozomotropism evident, fiind capabile să influențeze în mod specific activitatea hidrolazelor lizozomice și să modifice starea funcțională a lizozomilor țesutului lienal în ID experimentală indusă de CF.

Studiile efectuate demonstrează că în ID indusă de CF în țesutul lienal are loc reducerea nivelului de AOPP cu 44% (p<0,05); PIM cu 12% (p>0,05) și S-nitrozotoli cu 38% (p<0,05), și creșterea conținutului de AGEs (cu 40%). Administrarea PSS în doza 50 mg/kg practic readuce nivelul AOPP, PIM și AGEs la valori normale, și, totodată, face să crească conținutul de NO în țesutul lienal cu 32% (p<0,05). Remediul PSS în doza 125 mg/kg nu anihilează deficitul de S-nitrozotoli la animalele cu ID, dar contribuie la accentuarea acestui deficit (reducere esențială cu 55% față de valorile martor). Acest fapt s-ar putea datora inducției sau amplificării forței catalitice ale denitrozilazelor - enzime care mediază denitrozilarea cisteinei din catena laterală a proteinelor. După cum se știe, aceste enzime prin multiple căi de semnalizare reglează funcția anumitor receptori și influențează diverse răspunsuri celulare [28, 34, 60].

Tabelul 4.1. Influența PSS asupra indicilor protecției antioxidante în țesutul lienal în ID experimental

Indicii cercetați	Loturile de studiu			
	Martor	ID	ID+PSS, 50 mg/kg	ID+PSS, 125mg/kg
SOD, u/g.prot	27,31±1,1 (100%)	31,08±1,51 (114%)	29,27±2,57 (107%)	20,16±1,18***## (74%)
Catalaza, μM/s.g.prot	8,60±0,95 (100%)	11,95±1,15* (139%)	11,0±1,16 (127%)	8,82±0,84 (103%)
SH-grupe proteice, Mol/g.prot	25,40±2,52 (100%)	25,29±0,98 (99,5%)	26,58±2,98 (105%)	25,22±3,01 (99%)
GST, nM/s.g.prot	1,58±0,12 (100%)	2,51±0,38* (159%)	2,31±0,31* (133%)	1,49±0,15 (94%)
γ-GTP, nM/s.g.prot	10,44±0,05 (100%)	32,58±2,73*** (312%)	19,77±3,25** (189%)	14,79±1,33## (142%)

Notă: \* - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001; ## - față de lotul cu ID ciclofosfanică, p<0,05.

Rezultatele determinărilor indicilor protecției antioxidante demonstrează că sub influența CF în țesutul lienal crește activitatea catalazei, GST și  $\gamma$ -GTP, iar administrarea PSS contribuie la minimizarea și, chiar, normalizarea disfuncțiilor indicilor studiați în țesutul lienal al animalelor cu ID ciclofosfanică (tabelul 2).

Tratamentul cu PSS în ambele doze favorizează reducerea funcției  $\gamma$ -GTP (cu 40 %– 55 %) în raport cu patologia netratată, dar care nu atinge nivelul martorului. Totodată, PSS în doza 125 mg/kg influențează negativ asupra enzimozității SOD-lui, provocând supresia acesteia cu 26% în raport cu valorile de referință ale martorului.

Reeșind din faptul că GST și  $\gamma$ -GTP joacă un rol important în homeostazia GSH și a sistemului de apărare contra SO celular, dar și în proliferarea celulară [36, 44, 51], bioremediul PSS ar putea manifesta un efect protector asupra modificărilor homeostaziei redox celulare specifice diverselor afecțiuni ale sistemului imun.

#### 4.2. Influența PSS asupra indicilor imunobiochimici în măduva osoasă în imunodeficiența ciclofosfanică

Rezultatele obținute indică la instalarea unei stări de ID pronunțat și dezvoltarea anemiei toxice la animalele incluse în studiu, care se manifestă prin descreșterea numărului de leucocite și limfocite și reducerea numărului de eritrocite (RBC) și hemoglobină (HGB) față de indicii înregistrați în lotul martor. Medicația cu PSS în dozele 50 și 125 mg/kg, deși contribuie la creșterea numărului de leucocite și limfocite, totuși, nu anulează dereglările induse de CF. PSS favorizează restabilirea parțială a RBC și HGB. Rezultatele obținute de noi concordă cu datele unor autori [59] care evidențiază efectele chemo- și radioprotective ale PSS asupra sistemului hematopoietic la acțiunea CF și a iradiției cu  $\text{Co}^{60}$  în experiențe pe animale.

Cercetările efectuate denotă că în ID ciclofosfanică activitatea enzimelor ciclului Krebs - GLDH și SDH scade pregnant (cu 38% și, respectiv, 61%) în raport cu martorul, fapt ce afectează procesele oxidative aerobe și metabolismul energetic în celulele măduvei osoase.

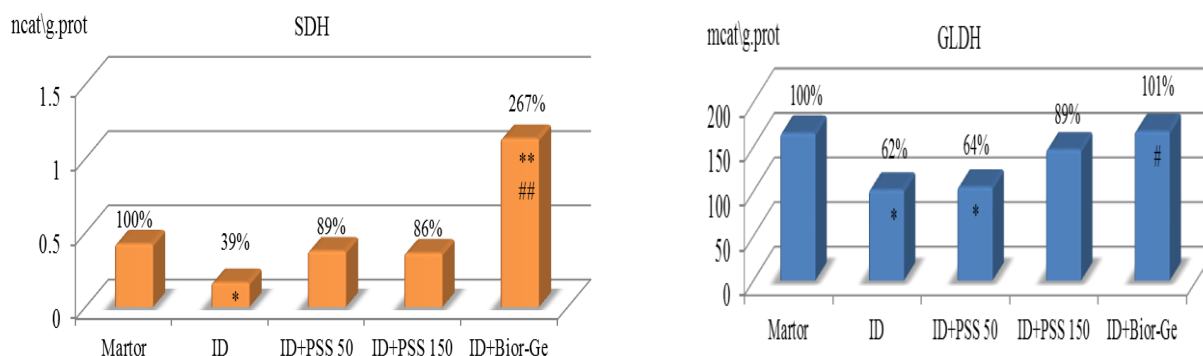


Figura 4.2. Influența remediilor cianobacteriene asupra glutamat dehidrogenazei (GLDH) și succinatdehidrogenazei (SDH) în măduva osoasă în ID ciclofosfanică.

Notă: diferență statistic semnificativă față de lotul-martor: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; față de lotul cu ID ciclofosfanică: # -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ .

Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %

Reducerea notabilă a enzimozității SDH la animalele intoxicate cu CF poate conduce la creșterea nivelului de succinat, iar acesta poate acționa ca moleculă de semnalizare prin expresarea factorului de inducere a hipoxiei 1-alfa (HIF-1 $\alpha$ ), care, la rândul său, induce în mod specific expresia genelor citokinelor proinflamatoare și altor gene HIF-1 $\alpha$ -dependente. Totodată, succinatul poate modifica activitatea proteinelor prin succinilizarea lor [41, 57].



Medicația animalelor cu PSS în doza de 50 mg/kg conduce la activizarea SDH, care atinge nivelul matorului. Administrarea PSS în doza de 125 mg/kg s-a dovedit a fi mai eficientă, deoarece practic toți indicii metabolismului glucidic studiați în măduva osoasă revin către valorile matorului. BioR-Ge, de asemenea, contribuie la normalizarea activității enzimelor metabolismului glucidic, în plus el revocă inducția esențială a SDH (cu 167% în raport cu matorul). Această acțiune a remediei BioR-Ge, înregistrată în cercetările noastre, prezintă un mare interes, deoarece creșterea SDH ar putea reduce nivelul succinatului, moleculă importantă de semnalizare endogenă, remediu dat putând manifesta efecte terapeutice în diverse patologii [53].

Cercetările efectuate de noi demonstrează că în ID activitatea AMP-azei crește veridic cu 133% ( $p < 0,05$ ), iar activitatea ADA-azei scade ne semnificativ cu 16%. După tratarea cu PSS în ambele doze, activitatea AMP-azei dis crește cu 85-80% în raport cu patologia netratată, dar rămâne la nivel înalt comparativ cu matorul ( $p < 0,05$ ). Administrarea BioR-Ge induce majorarea activității acestor enzime comparativ cu lotul mator. În ID s-a constatat scăderea neesențială a valorilor FA, care se normalizează la tratarea cu PSS în doza de 125mg/kg și BioR-Ge în doza de 1 mg/kg.

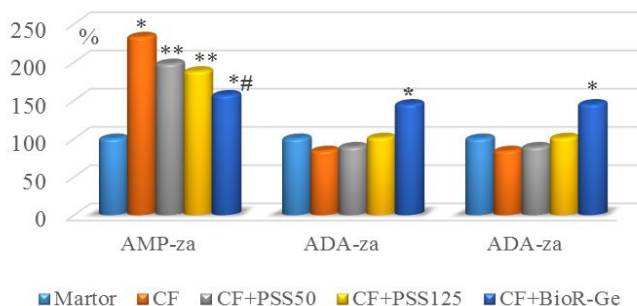


Figura 4.3. Influența unor remedii de origine cianobacteriană asupra activității enzimelor metabolismului adenilic și fosfatazei alcaline în măduva osoasă în ID experimental.

Notă: Diferență statistic semnificativă cu lotul-mator \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; față de lotul cu ID ciclofosfanică: # –  $p < 0,05$ . Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %

Remarcăm, că menținerea la valori sporite a activității AMP-azei și supresarea insugestivă a ADA-zei exercitată de bioremediile studiate poate influența pozitiv asupra concentrației extracelulare de adenzină în măduva osoasă, care prin intermediul receptorilor adenzinici A1, A2A, A2B și A3 mediază numeroase căi de semnalizare intracelulară, inclusiv, reacțiile imune, funcțiile celulelor endoteliale, răspunsul inflamator sistemic, etc. [39, 48].

Astfel, remediile studiate sunt apte să amelioreze esențial procesele oxidative aere și metabolismul energetic în celulele măduvii osoase prin efectul lor pozitiv asupra enzimelor ciclului Krebs și metabolismului adenilic.

Rezultatele de evaluare a influenței remediilor luate în studiu asupra activității enzimelor lizozomale în măduva osoasă relevă că în ID activitatea catepsinei D este deosebit de înaltă, ea depășind de 2 ori valorile lotului mator. După medicația cu PSS în doza 125 mg/kg și BioR-Ge funcția enzimei se temperează ușor, dar nu revine în cadrul normal și tinde spre normalizare doar în cazul administrării PSS în doza de 50 mg/kg. Activitatea catepsinei H scade veridic (cu 38%,  $p < 0,05$ ) în patologia modelată și nu se normalizează sub influența tratamentului cu PSS și BioR-Ge. În ID experimental activitatea catepsinei G scade neimportant (-8%), însă tratamentul cu remediile studiate induce majorări esențiale ale activității acestei catepsine (de 1,6- 2,0) în toate cazurile.

Nu se exclude că activizarea catepsinei G reprezintă un mecanism de acțiune pozitivă a acestor remedii. Datele literaturii indică că catepsina G este o enzimă multifuncțională, prezentă în granulele azurofilice ale neutrofilelor, care participă nu numai în calea non-oxidativă de distrugere a patogenilor, dar și în mecanismele de modularea răspunsului imun prin procesarea citokinelor, chemokinelor, factorilor de creștere, procesarea și activarea receptorilor celulari, etc. [30, 42].



Conform rezultatelor noastre, în intoxicația cu CF în măduva osoasă are loc diminuarea potențialului pro-oxidant care se manifestă prin reducerea activității NADPH-oxidazei cu 21%, NADH-oxidazei cu 22% și MPO cu 24%, fapt ce ar putea afecta capacitatea fagocitară și compromite eliminarea celulelor afectate de către celulele imune. Sub influența ciclofosfanului se atestă o scădere discretă cu până la 20% a concentrației DAM, AOPP și S-nitrozotiolilor.

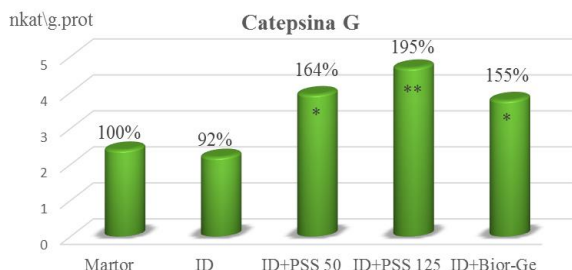


Figura 4.4. Activitatea Catepsinei G în măduva osoasă în ID ciclofosfanică și influența unor remedii de origine cianobacteriană.

Notă: diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %

La administrarea PSS în ambele doze activitatea oxidazelor NADH- și NADPH- dependente a rămas la nivel redus, valorile DAM se normalizează, iar BioR-Ge induce majorarea cu 55% a acestui indice. Valorile AOPP revin în cadrul normal doar la acțiunea PSS în doza de 125 mg/kg. Nivelul metaboliților NO la modelarea ID crește cu 21% și revine la normal după administrarea BioR-Ge. Remedierea ID experimental cu preparatele studiate readuce nivelul S-nitrozotiolilor în cadrul normal, cel mai eficient în acest caz fiind PSS în doza de 125 mg/kg și cu BioR-Ge.

Intoxicația ciclofosfanică provoacă supresia verigii enzimatică a sistemului antioxidant, ceea ce se manifestă prin scăderea semnificativă a activității SOD cu 28% și activității catalazei cu 44%. Tratamentul patologiei modelate cu PSS influențează slab asupra tulburărilor depistate în sistemul enzimelor pro- și antioxidante studiate, acestea menținându-se la nivel redus, similar celor înregistrate la animalele netratate. Preparatul BioR-Ge s-a dovedit a fi mai eficient, deoarece, înlătură supresia SOD-lui, activitatea MPO rămâne redusă, iar funcția celorlalte enzime studiate tinde să se restabilească.

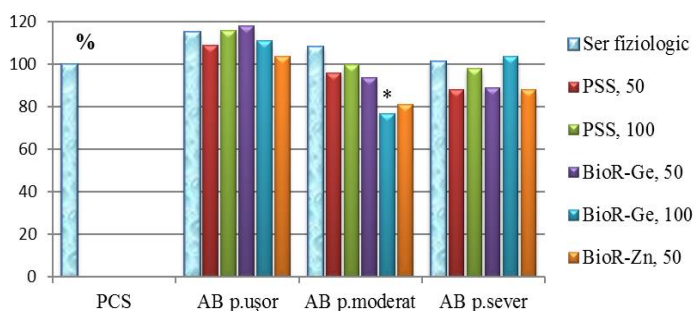
Cercetările efectuate au scos în evidență modificări concludente ale indicilor metabolismului tiol-disulfidic în măduva osoasă în ID experimental – diminuarea activității GR (cu 29%), glutaredoxinei (cu 16%), SH-grupelor proteice (cu 26%) și creșterea expresivității GPO (cu 34%). Tratamentul cu PSS în doza de 50 mg/kg nu înlătură devierile produse de CF în sistemul tiol-disulfidic cu excepția GPO care se normalizează. La utilizarea PSS în doza de 125 mg/kg se produce activizarea GPO, care ajunge să depășească cu 80% valorile martorului, iar activitatea celorlalte enzime studiate practic revine în cadru normal. La administrarea BioR-Ge are loc restabilirea nivelului glutaredoxinei și concentrației SH-grupelor, iar activitatea GPO în acest caz crește important cu 86%.

Astfel, remediile studiate influențează pozitiv asupra metabolismului tiol-disulfidic în măduva osoasă la modelarea ID experimental, ceea ce se manifestă prin proprietățile lor de redresare sau normalizare și chiar creșterea valorilor indicilor acestui metabolism.

#### 4.3. Influența PSS asupra sistemului glutacionic eritrocitar în normă și astm bronșic

Cercetările efectuate atestă că, la persoanele sănătoase nivelul GSH în eritrocite scade veridic sub influența PSS 50  $\mu\text{g/ml}$  și a BioR-Ge în dozele 50 și 100  $\text{ng/ml}$  în comparație cu nivelul inițial, până la tratarea cu remediile studiate. În același timp, remediile testate induc modificări veridice ale conținutului de GSH în eritrocitele pacienților, cele mai semnificative fiind înregistrate în AB forma ușoară. În acest grup de pacienți toate remediile (cu excepția BioR-Zn 50  $\text{ng/ml}$ ) induc creșterea

veridică a concentrației de GSH în comparație cu martorul. Totodată, se evidențiază scăderea conținutului de GSH în AB forma gravă sub influența BioR-Ge 50 ng/ml ( $p < 0,05$ ), iar în cazul formei moderate - la acțiunea BioR-Ge 100 ng/ml și a BioR-Zn 50 ng/ml ( $p < 0,05$ ), în comparație cu nivelul inițial.



*Figura 4.5.* Modificările conținutului de glutation redus în eritrocitele pacienților cu AB la tratarea cu PSS și RC (procente față de valorile înregistrate în lotul persoanelor condiționat sănătoase).  
Notă: \* – diferență statistic semnificativă față de lotul cu persoane condiționat sănătoase:  $p < 0,05$ .  
Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %

Remediile studiate manifestă proprietatea de a menține la valori sporite activitatea GR în AB forma ușoară comparativ cu martorul. În AB forma moderată, dimpotrivă, se atestă o reducere concludentă a activității GR în eritrocite la tratarea sângelui cu PSS în ambele doze, atât față de lotul martor, cât și față de nivelul inițial. Aceiași diminuare a activității GR comparativ cu martorul se înregistrează și la utilizarea remediei BioR-Ge în doza 50 ng/ml.

În AB forma gravă remediile testate practic nu influențează asupra activității GR, aceasta menținându-se în limitele valorilor inițiale înregistrate la incubarea sângelui cu ser fiziologic fără remedii. Doar la utilizarea BioR-Zn 50 ng/ml se evidențiază o tendință neconcludentă de creștere a activității enzimei față de valorile inițiale.

Remediile testate exercită acțiune diferită asupra nivelului G-6-PDH, dependentă de severitatea astmului bronșic. Astfel, în AB forma ușoară activitatea G-6-PDH rămâne practic la nivelul valorilor inițiale înregistrate la incubarea sângelui cu ser fiziologic fără remedii. În AB forma moderată acest indice atinge un nivel net superior martorului (depășind-ul de cca 3 ori,  $p < 0,001$  în toate loturile), dar este cu 55-69% mai mic comparativ cu valorile inițiale.

În AB forma gravă sub acțiunea tuturor remediilor testate are loc activizarea concludentă a G-6-PDH atât în comparație cu martorul, cât și față de valorile inițiale.

Creșterea activității G-6-PDH poate fi privită drept o reacție de adaptare orientată spre sporirea fondului de NADPH redus, necesar pentru menținerea potențialului înalt reducător celular cât și homeostaziei celulare.

Analiza datelor obținute demonstrează că, în lotul martor sub influența remediilor testate nivelul GPO scade veridic, cu excepția BioR-Zn 50 ng/ml, care induce creșterea acestei enzime cu 33% ( $p < 0,001$ ) în comparație cu nivelul inițial. În AB forma ușoară atât PSS, cât și BioR-Ge mențin la nivel sporit funcționalitatea GPO comparativ cu nivelul martor. În AB forma moderată are loc reducerea activității GPO până la valorile martorului la administrarea PSS în ambele doze și BioR-Ge în doza de 50  $\mu\text{g/ml}$ , iar în doză de 100  $\mu\text{g/ml}$  – nivelul funcțional al enzimei îl depășește pe cel al martorului. În AB forma gravă remediile testate nu induc schimbări esențiale ale nivelului GPO în eritrocite în raport cu indicii martorului.

Cercetările noastre demonstrează că, în lotul martor PSS în doza 50  $\mu\text{g/ml}$  induce creșterea nivelului glutation-S-transferazei (GST) - cu 24% ( $p > 0,05$ ), iar la dublarea dozei (PSS 100  $\mu\text{g/ml}$ ) expresia enzimei crește cu 50% ( $p < 0,05$ ). Remediile BioR-Ge și BioR-Zn practic nu influențează activitatea GST comparativ cu nivelul inițial.

În AB forma ușoară PSS induce scăderea funcționalității GST, iar BioR-Ge nu modifică activitatea enzimei comparativ cu nivelul martor. În AB forma moderată toate remediile testate măresc activitatea GST, dar aceste modificări s-au dovedit statistic insugestive cu excepția BioR-Ge 50 ng/ml care induce creșterea acestei enzime cu 36% ( $p < 0,05$ ). În AB persistent sever are loc reducerea activității GST până la valorile martorului la administrarea PSS în ambele doze și BioR-Ge în doză de 50  $\mu\text{g/ml}$ , iar în doză de 100  $\mu\text{g/ml}$  – nivelul funcțional al enzimei se menține în limitele normale, fapt ce ar trebui interpretat pozitiv, deoarece în astmul atopic activizarea GST este asociată cu indicerea factorului de transcriere inflamator, NF-kB la nivel genomic [51].

Astfel, în AB toate remediile studiate exercită efecte modulatorie potente asupra enzimelor metabolismului GSH. Unul din mecanismele posibile de acțiune ale remediilor studiate ar putea fi stimularea factorului Nrf2, care reglează expresia proteinelor antioxidante, citoprotectoare, stimulează sinteza GSH și expresarea enzimelor glutacionice [35, 54].

#### 4.4. Influența PSS asupra statutului citokinic sangvin în normă și astm bronșic

Cercetările efectuate denotă, că secreția citokinei IL-6 de către celulele mononucleare ale sângelui integral la persoanele sănătoase scade brusc (reducere cu 45%-52%) sub influența PSS și practic nu este influențat de remediile BioR-Ge și BioR-Zn.

Administrarea remediilor testate la pacienții cu AB persistent ușor produce o supresie veridică a nivelului de IL-6 cu 48%-73% față de nivelul atestat la persoanele sănătoase.

În AB forma moderată și gravă sub influența PSS are loc o reducere sugestivă a secreției IL-6 cu 71%-74% ( $p < 0,001$ ), și respectiv, cu 48%-60% ( $p < 0,01$ ) față de nivelul inițial, aceste valori fiind în medie de 2 ori mai joase, comparativ cu nivelul persoanelor practic sănătoase netratate cu PSS. Diminuarea evidentă a conținutului de IL-6 în AB forma moderată și gravă sub influența medicației cu remediilor testate denotă efectul lor antiinflamator.

S-a constatat că la persoanele practic sănătoase utilizarea PSS în ambele doze induce o scădere concludent statistică a conținutului de TNF- $\alpha$  cu 61%-68%, pe când remediul BioR-Ge în ambele doze (50 ng/ml și 100 ng/ml) sporește inoportun statistic nivelul citokinei nominalizate cu 45% și 38% respectiv.

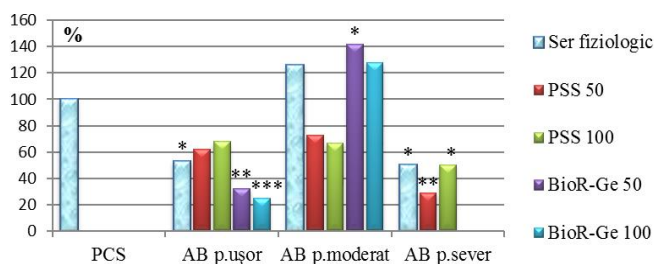


Figura 4.6. Modificările conținutului de TNF- $\alpha$  la pacienții cu AB la tratarea cu PSS și RC (procente față de valorile înregistrate în lotul persoanelor condiționat sănătoase). Notă: diferență statistic semnificativă față de lotul cu persoane condiționat sănătoase: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ . Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %.

La pacienții cu AB persistent ușor s-a depistat proprietatea PSS și BioR-Ge de a menține la valori scăzute secreția TNF- $\alpha$  de către celulele nucleate ale sângelui periferic, mult inferioare în raport cu cele înregistrate la persoanele practic sănătoase. În același timp, în AB persistent ușor BioR-Ge reduce veridic nivelul citokinei date cu 21%-28% față de nivelul inițial, ceea ce mărturisește despre capacitatea remediului dat de a bloca biosinteza citokinei proinflamatoare TNF- $\alpha$ .

În AB persistent moderat PSS în ambele doze reduce secreția TNF- $\alpha$  cu 42%-47%, iar sub influența BioR-Ge, nivelul TNF- $\alpha$  se menține la cote sporite similare celor înregistrate inițial. Nivelul de TNF- $\alpha$  în AB persistent grav sub influența PSS 100  $\mu\text{g/ml}$  scade dublu ( $p < 0,05$ ) față de cel înregistrat la persoanele practic sănătoase. PSS în doză 50  $\mu\text{g/ml}$  reduce și mai expresiv secreția citokinei date, aceasta constituind 29% ( $p < 0,001$ ) din nivelul atestat în lotul martor.

TGF- $\beta$ 1 este un factor de creștere multifuncțional care modulează proliferarea celulară și induce diferențierea și sinteza proteinelor matricei extracelulare, inclusiv colagen și fibronectină, în multe tipuri de celule pulmonare [29, 52]. Conform datelor obținute, la pacienții cu AB are loc creșterea de 2,3-2,5 a secreției mediatorului inflamației TGF- $\beta$ 1 de către celulele nucleare ale sângelui periferic.

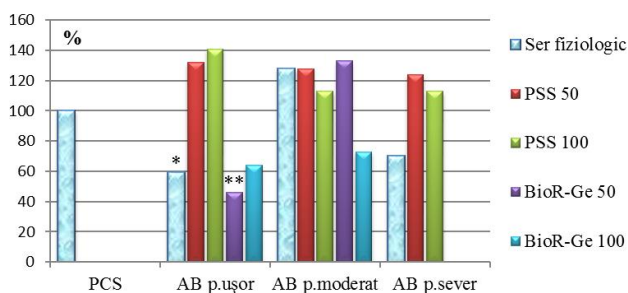
S-a constatat că, în AB persistent ușor și în AB persistent moderat, PSS în ambele doze reduce concludent secreția TGF- $\beta$ 1 față de valorile inițiale, dar menține nivelul acestei citokine la valori sporite ce depășeau cu 26%-33% și, respectiv, cu 41%-42% indicii relevați în lotul martor.

În AB forma gravă PSS în ambele doze posedă capacitatea de a diminua sugestiv statistic conținutul de TGF- $\beta$ 1 cu 59%-62% ( $p < 0,05$ ) față de cel înregistrat până la tratarea sângelui cu acest remediu.

Rezultatele studiului efectuat demonstrează că, tratamentul AB cu PSS se soldează cu scăderea secreției TGF- $\beta$ 1 în toate grupele luate în studiu, fapt ce ar putea reduce inflamația și fibrogenza în AB, oferind o strategie nouă de tratament al acestei maladii.

Se știe că, producția de citokine anti-inflamatoare poate fi considerată un mecanism important pentru limitarea inflamației și restabilirea homeostaziei în diverse stări patologice. Interleukina-10 (IL-10) este o citokină pleiotropă cu funcții imunoreglatoare importante, care inhibă producția de citokine proinflamatoare, cum ar fi TNF- $\alpha$ , IL-6 și IL-1 $\beta$ , demonstrând astfel proprietăți anti-inflamatoare și efecte supresive puternice în prevenirea bolilor autoimune [38].

Utilizarea remediilor autohtone nu a condus la careva modificări veridice ale concentrației IL-10 la persoanele sănătoase. În același timp, în AB persistent ușor se constată o diminuare concludent statistică cu 41% ( $p < 0,05$ ) a valorilor IL-10 la etapa inițială de cercetare. Administrarea PSS în ambele doze înlătură depresia IL-10 în lotul cu AB persistent ușor față de valorile martorului și, totodată, induce creșterea secreției IL-10 care ajunge să depășească cu 124-139% nivelul inițial al acestei citokine, ceea ce denotă efectul antiinflamator al acestui remediu. În AB persistent grav PSS crește oportun statistic conținutul de IL-10 cu 61%-76% ( $p < 0,05$ ) în raport cu nivelul inițial.



*Figura 4.11.* Modificările conținutului de IL-10 la pacienții cu AB la tratarea cu PSS și RC (procente față de valorile înregistrate în lotul persoanelor condiționat sănătoase).  
Notă: diferență statistic semnificativă față de lotul cu persoane condiționat sănătoase:  
\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .  
Axa X – loturile experimentale. Axa Y – %.

Datele obținute demonstrează cert capacitatea PSS de a intensifica secreția IL-10 de către celulele nucleare sangvine la pacienții cu AB, fapt ce indică la potențialul anti-inflamator al acestui remediu și confirmă perspectiva utilizării lui pentru medicația inflamației și imunoreglarea stărilor alergice.

Unul din mecanismele posibile ale efectului supresiv exercitat de PSS asupra mediatorilor inflamației în AB ar putea fi inhibarea NF- $\kappa$ B, probabil, datorită modificărilor epigenetice, exercitate de acest preparat.

## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Polizaharidele sulfatate din spirulină și remediile ce conțin PSS acționează în sens și grad divers prin mecanisme variate asupra diferitor verigi homeostazice, atât la administrarea în condiții fiziologice, cât și patologice – hepatopatia toxică, intoxicația ciclofosfanică, precum și la testarea *in vitro* în astmul bronșic asociat de severitate diferită. Micrometodele de cercetare a indicilor imunobiochimici elaborate au permis de a simplifica procedeul analitic, micșora cheltuielile de reagenți, timpul de efectuare a analizelor prin procesarea concomitentă a mai multor probe biologice și de a mări reproductibilitatea și precizitatea analizelor efectuate [6, 7].
2. În condiții fiziologice influența pozitivă a PSS se manifestă prin:
  - a) majorarea în hemoleucogramă a neutrofilelor nesegmentate cu 40% ( $p < 0,001$ ), numărului absolut de leucocite cu 37% ( $p < 0,05$ ), de celule mononucleare cu 44% ( $p < 0,05$ ), precum și apariția celulelor sangvine tinere, fapt ce indică la activarea mielopoiezei [20, 21, 22];
  - b) intensificarea proceselor de formare a produșilor nepolari și polari ai peroxidării lipidelor, ceea ce reflectă inducerea proceselor enzimatiche de biosinteză a eicozanoizilor – molecule de semnalizare celulară implicate în răspunsul imun (inhibarea inflamației, alergiei, febrei, etc.) [4];
  - c) stimularea formării AOPP – compuși intermediari, care joacă un rol crucial în reglarea funcției celulelor dendritice [2].
3. În hepatopatia toxică PSS reduce efectele toxice ale  $\text{CCl}_4$  prin:
  - a) activarea hematopoiezei și deviația regenerativă spre stânga, fapt ce reflectă influența pozitivă asupra indicilor hematologici ai sângelui periferic) [20];
  - b) reducerea semnificativă a factorilor de creștere – TGF- $\beta$  cu 90% ( $p < 0,05$ ) și CTGF cu 72% ( $p < 0,05$ ), a conținutului de hidroxiprolină cu 55% ( $p < 0,05$ ), acizi uronici cu 126% ( $p < 0,05$ ) vs patologia netratată, manifestând astfel efecte antiinflamatorii și antifibrotice [18, 55];
  - c) stimularea activității enzimelor adenilice AMP-zei cu 56% ( $p < 0,01$ ), ADA-zei cu 51% ( $p < 0,01$ ) și 5'-nucleotidazei cu 189% ( $p < 0,01$ ) în țesutul hepatic, mecanism orientat spre reducerea procesului inflamator și menținerea la nivel sporit al metabolismului energetic și nucleotidic [16];
  - d) diminuarea intensității glicolizei anaerobe și stimularea proceselor aerobe oxidative, manifestând astfel acțiune pozitivă asupra metabolismului glucidic hepatic [16];
  - e) creșterea ASAT-lui hepatic (cu 42%,  $p < 0,01$ ), normalizarea valorilor albuminelor serice și restabilirea parțială a funcționalității PCE ( $p < 0,01$ ), fapt ce indică la sporirea, amplificarea funcției proteosintetice hepatice și proceselor de reparație tisulară [11, 18];
  - f) implicarea enzimelor lizozomice în procesele de hidroliză a diferitor substraturi biologice, fapt ce rezultă cu stimularea proceselor hidrolitice în ficat [5].
  - g) sporirea activității antioxidante totale nepolare (cu 29%,  $p < 0,05$ ) și creșterea marcată a funcționalității catalazei (cu 60%,  $p < 0,05$ ), ceea ce contribuie la diminuarea efectelor nocive ale POL și fortificarea verigii enzimatiche de protecție antioxidantă a celulelor hepatice [1, 2, 4].
4. În ID ciclofosfanică PSS și remediile ce conțin PSS acționează prin diferite mecanisme asupra verigilor homeostazice în țesutul lienal:

- a) înlătură suprimarea ALAT-lui și determină creșterea ASAT-lui tisular cu 32-65% ( $p < 0,01$ ), contribuind, astfel, la îmbunătățirea metabolismului aminoacidic și proteic;
  - b) normalizează G-6-PDH și stimulează activitatea MDH-NADPd, astfel ameliorând starea metabolismului glucidic;
  - c) modifică starea funcțională a aparatului lizozomal, fapt demonstrat prin menținerea la nivel scăzut a catepsinei B și NAG, menținerea fosfatazei acide la valori sporite cu 78% ( $p < 0,01$ ) la acțiunea PSS și cu 58% ( $p < 0,05$ ) sub influența Bior-Ge în raport cu martorul și, deasemenea, prin suprimarea activizării excesive a LAP cu 53-67% ( $p < 0,01$ ) în raport cu patologia netratată [19, 56];
5. În ID ciclofosfanică acțiunea pozitivă a PSS și remediilor ce conțin PSS în măduva osoasă se manifestă prin:
- a) înlăturarea suprimării marcate a activității enzimelor metabolismului aerob oxidativ – glutamatdehidrogenazei de către Bior-Ge și succinatdehidrogenazei la administrarea PSS și activarea marcată de 1,7 ori a acestei enzime sub influența Bior-Ge [10];
  - b) menținerea nivelului înalt al AMP-azei și normalizarea ADA-azei sub influența PSS și majorarea activității ambelor enzime ale metabolismului adenilic sub influența BioR-Ge (cu 57% și, respectiv, 45%,  $p < 0,05$ ), necesare pentru întreținerea nivelului înalt al metabolismului nucleotidic și energetic la realizarea hematopoiezei și funcțiilor celulelor imune [10];
  - c) activizarea (de 1,6-2 ori) a catepsinei G care participă, atât în calea non-oxidativă de distrugere a patogenilor, cât și în mecanismele de modulare a răspunsului imun prin procesarea citokinelor, chemokinelor, factorilor de creștere și activarea receptorilor celulari [9];
  - d) diminuarea suprimării SOD-lui, NADPH- și NADH-oxidazelor, reducerea deficitului de catalază și redresarea activității enzimelor metabolismului tiol-disulfidic, comparativ cu patologia netratată, ceea ce contribuie la ameliorarea evidentă a stării acestui metabolism.
6. În AB de severitate diferită și la persoanele condiționat sănătoase PSS și remediile ce conțin PSS influențează în mod diferit asupra indicilor sistemului glutationic eritrocitar la testarea *in vitro*:
- a) în condiții fiziologice remediile testate determină micșorarea moderată a conținutului de GSH eritrocitar (cu 12-18%,  $p < 0,05$ ), diminuarea dozodependentă a activității GPO (PSS - până la 33%,  $p < 0,01$ ; Bior-Ge – până la 57%,  $p < 0,01$ ) și creșterea G-6PDH (PSS – până la 71%,  $p < 0,01$ , Bior-Ge – până la 61%,  $p < 0,01$ ) [17];
  - b) în AB forma ușoară remediile testate determină majorarea conținutului de GSH și creșterea notabilă a activității GR, G-6-PDH și GPO, fapt ce contribuie la fortificarea sistemului protecției antioxidante celulare [17];
  - c) în formele moderate și grave ale AB remediile testate influențează important doar activitatea G-6-PDH, care se menține la valori majorate, și condiționează reducerea până la valorile martorului sau menținerea la nivel normal a funcționalității GPO [17].
7. În AB de severitate diferită și la persoanele condiționat sănătoase PSS și remediile ce conțin PSS ameliorează echilibrul citokinic sangvin la testarea *in vitro*, fapt demonstrat prin:
- a) reducerea nivelului citokinelor pro-inflamatoare: IL-6 și TNF- $\alpha$  sub influența PSS în AB forma medie și gravă și la persoanele sănătoase; scăderea certă a TNF- $\alpha$  sub influența Bior-Ge și Bior-Zn în AB forma ușoară; suprimarea pronunțată a TGF- $\beta$ 1 sub influența PSS în AB formele ușoare, medie și gravă [8];



- b) creșterea dozodependentă a valorilor citokinei IL-10 sub influența PSS în AB formele ușoare cu 124-139% ( $p < 0,05$ ) și severe cu 61-76% ( $p < 0,05$ ), fapt ce demonstrează acțiunea anti-inflamatoare al acestui remediu [8].

**Problema științifică importantă** soluționată în teză constă în elucidarea mecanismelor imunobiochimice de acțiune a polizaharidelor sulfatate din spirulină și a semnificației lor la administrarea în condiții fiziologice, hepatopatia toxică, imunodeficitul experimental și astmul bronșic, fapt ce a condus la evidențierea metodelor eficiente de monitorizare a procesului patologic și obținerea unor noi strategii de abordare terapeutică a maladiilor cu implicare imună pe baza remediilor autohtone cianobacteriene.

### **Recomandări practice:**

Se recomandă:

1. Aplicarea metodologiei de studiere a parametrilor imunochimici a metabolismului intermediar cu utilizarea micrometodelor optimizate elaborate, prezentată în teză pentru evaluarea aprofundată a mecanismelor patogenice ale afecțiunilor cu implicarea sistemului imun și la elaborarea strategiilor de tratament, precum și la testarea preparatelor medicamentoase noi, în scopul depistării proprietăților lor curative.
2. Aprecierea profilului citokinic și evaluarea principalilor constituenți ai matricei extracelulare la pacienți cu maladii hepatice (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, CTGF, hidroxiprolina, acizi uronici, glucozaminoglicani) pentru monitorizarea procesului inflamator și fibrogenetic cu scop de urmărire a eficacității tratamentului și prevenirii complicațiilor.
3. Evaluarea indicilor metabolismului proteic, glucidic, energetic, nucleotidelor adenilice, tiol-disulfidic, stresului oxidativ și protecției antioxidante, aprecierea stării funcționale a aparatului lizozomal pentru elaborarea algoritmilor diagnostice științific argumentate, monitoringul evoluției bolii și eficienței tratamentului hepatoregenerator și imunomodulator aplicat.
4. Monitorizarea indicilor sistemului glutationic (glutation redus, glutacion reductaza, glucozo-6-fosfat dehidrogenaza, glutacionperoxidaza, glutacion-S-transferaza) pentru determinarea gradului de extindere a proceselor oxidative și inflamatorii în căile respiratorii în AB, iar determinarea citokinelor (IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-10) în calitate de markeri pentru aprecierea eficacității tratamentului antiinflamator.
5. Implementarea micrometodelor optimizate de cercetare a metabolismului proteic, glucidic, tiol-disulfidic, a nucleotidelor adenilice, a stresului oxidativ și sistemului antioxidant în laboratoarele de diagnostic clinic cu scopul sporirii exactității și reproductibilității analizelor, eficientizării diagnosticului precoce a maladiilor cu implicare imună și de natură toxică, depistării complicațiilor și urmăririi eficacității tratamentului.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Andronache Lilia, Olga Tagadiuc, Veronica Sardari, **Olga Știrba** ș.a. Indicii metabolismului tiol-disulfidic în ficat în ciroza hepatică experimentală și influența polizaharidelor sulfatate din spirulină. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 136-142. ISSN 1857-1719.
2. Andronache Lilia, Olga Tagadiuc, Veronica Sardari, **Olga Știrba** ș.a. Modificările proceselor de oxidare cu radicali liberi și protecției antioxidante în intoxicația cu CCl<sub>4</sub> și influența polizaharidelor sulfatate din spirulină. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 112-118. ISSN 1857-1719.
3. Ghicavii V. Noi direcții de elaborare a medicamentelor autohtone. În: Academos. 2013, nr 2(29), p. 74-79.
4. Gudumac Valenin, Valeriu Rudic, Olga Tagadiuc, **Olga Știrba** ș.a. Influența polizaharidelor sulfatate din spirulină asupra stresului oxidativ la șobolani în normă și hepatită toxică. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, p. 255-261. ISSN 1857-1719.
5. Gudumac Valentin, Râvneac Victor, Tagadiuc Olga, Sardari Veronica, Andronache Lilia, **Știrba Olga**. Influența unor compuși biologici activi autohtoni asupra activității enzimelor lizozomale în ficat în ciroza hepatică experimentală. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2012, 1(33), p. 22-25. ISSN 1857-0011.
6. Investigații biochimice: Elaborare metodică. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V., Pantea V., Andronache L., Știrba O. Vol. II. Micrometode. Univ. De Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Ch.: Tipogr. „Elena V. I.”, 2010. 97 p. ISBN 978-9975.
7. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică. V. Gudumac, V. Rîvneac, O. Tagadiuc; V.Sardari; E.Rîvneac; L.Andronache; O.Știrba; V.Pantea; V.Popa. Univ. De Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Sub red. Valentin Gudumac. Ch.: Tipogr. „Tehnica-Info”, 2012. 162 p.
8. **Mihalciuc Olga**, Larisa Procopișin, Valeriu Rudic. Influența polizaharidelor sulfatate din spirulina platensis asupra profilului citokinic sangvin în normă și astmul bronșic asociat. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2016, nr 1(50), p. 220-225. ISSN 1857-0011.
9. **Mihalciuc Olga**. Influența remediilor cianobacteriene autohtone asupra hidrolazelor lizozomale în măduva osoasă în imunodeficiența indusă cu ciclofosfan. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2016, nr 1(50), p. 230-234. ISSN 1857-0011.
10. **Mihalciuc Olga**. Influența remediilor cianobacteriene asupra metabolismului glucidic și adenilic în măduva osoasă în intoxicația cu ciclofosfan. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2016, nr 1(50), p. 234-238. ISSN 1857-0011.
11. Popa Veaceslav, Lilia Andronache, **Olga Știrba** ș.a. Modificările indicilor metabolismului proteic în hepatopatia experimentală și influența unor compuși biologici activi autohtoni. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 142-148. ISSN 1857-1719.
12. Rudic V. BioR – Studii biomedicale și clinice. Chișinău: Elena VI SRL, 2007. 376p. ISBN978-9975-9548-8-4.
13. Rudic V., Cojocari A., Cepoi L. și alții. Ficobiotehnologie - cercetări fundamentale și realizări practice. Chișinău: Editura Elena-V.I., 2007. 364 p. ISBN: 978-9975-9892-5-1.
14. Rudic V., Gudumac V., Popovici M. Ficobiotehnologie - realizări noi în biomedicină. Chișinău: Cuant, 1995. 195p.
15. Sardari V. Contribuții la studiul metabolismului glucidic, remodelării osoase și influenței unor biopreparate algale cu conținut divers de Zn în osteoporoza experimental: Autoref. tezei dr. șt. medicale. Chișinău, 2008, 24 p.
16. Sardari Veronica, Olga Tagadiuc, **Olga Știrba** ș.a. Influența unor compuși biologic activi noi asupra principalilor indici ai metabolismului glucidic în hepatopatia experimentală. În: Anale științifice ale USMF



- „Nicolae Testemițanu”.Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 124-130. ISSN 1857-1719.
17. **Știrba Olga**, Andronache Lilia, Tagadiuc Olga ș.a. Influența unor remedii autohtone asupra sistemului glutational eritocitar în normă și astmul bronșic asociat. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2012, 4(36), p. 102-106. ISSN 1857-0011.
  18. **Știrba Olga**, Tagadiuc Olga, Rudic Valeriu ș.a. Acțiunea polizaharidelor sulfatate din *Spitulina platensis* asupra unor indici biochimici ai sîngelui periferic în normă și inflamația aseptică. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2012, 1(33), p. 42-45. ISSN 1857-0011.
  19. **Știrba Olga**, Veronica Sardari, Olga Tagadiuc ș.a. Modificările hidrolazelor lizozomale în splină la șobolani cu inflamație aseptică sub influența polizaharidelor sulfatate. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Zilele Universității, consacrate celor 65 ani ai învățămîntului superior medical din Republica Moldova. Chișinău, 2010, p. 274-278. ISSN 1857-1719.
  20. **Știrba Olga**. Influența Polizaharidelor sulfatate asupra indicilor sangvini la șobolani cu hepatită toxică. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, p. 278-283. ISSN 1857-1719.
  21. **Știrba Olga**. Influența polizaharidelor sulfatate asupra indicilor sangvini la șobolani cu imunodeficit experimental. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”.Vol. I.Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2011, p. 244-249. ISSN 1857-1719.
  22. **Știrba Olga**. Influența polizaharidelor sulfatate asupra indicilor sangvini in condiții fiziologice la șobolani. Materialele Conferinței Internaționale INSPIR Iași-Chișinău.În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale.Chișinău, 2011, 4(32), p. 123-127. ISSN 1857-0011.
  23. Tagadiuc Olga, Veronica Sardari, **Olga Știrba** ș.a. Modificările indicilor metabolismului adenilic în hepatopatia experimentală și sub influența unor compuși biologic activi autohtoni. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 118-124. ISSN 1857-1719.
  24. Alderman Charles J. J, Shah Sachit, Foreman John C., et al. The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. In: Free Radical Biology and Medicine. 2002, 32(5):377–385.
  25. Aoyama T., Paik Y. H., Seki E. Toll-like receptor signaling and liver fibrosis. In: Hindawi Publishing Corporation Gastroenterology Research and Practice Volume. 2010, Article ID 192543, 8 pages doi:10.1155/2010/192543.
  26. Balachandran P., N. D. Pugh, G. Pasco. Toll-like receptor 2-dependent activation of monocytes by *Spirulina* polysaccharide and its immune enhancing action in mice. In: Int Immunopharmacol. 2006, 6(12):1808-1814.
  27. Benes P., Vetricka V., Fusek M. Cathepsin D – many function of one aspartic protease. In: Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2008, 68(1):12-28.
  28. Benhar M., Forrester M. T., Stamler J. S. Protein denitrosylation: enzymatic mechanisms and cellular functions. In: Nat Rev Mol Cell Biol. 2009 Oct;10(10):721-32.
  29. Border W.A , Noble N. Transforming growth factor- $\beta$  in tissue fibrosis. N.Engl.Med. 1994;331: 1286-1292.
  30. Boya P. Lysosomal Function and Dysfunction: Mechanism of Disease. In: Antioxid. Redox Signal. 2012, 17:766-774.
  31. Bretscher P., Egger J., Shamshiev A., Trötz Müller M., et al. Phospholipid oxidation generates potent anti-inflammatory lipid mediators that mimic structurally related pro-resolving eicosanoids by activating Nrf2. In: EMBO Molecular Medicine. 2015, 7(5):593-607.
  32. Cai Z., Yan L. J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. In: J. Biochem. Pharmacol. Res. 2013, 1(1): 15-26.
  33. Constandinou C., Henderson N., Iredale J.P. Modelling liver fibrosis in rodents. In: Methods Mol. Med.2005;117:237–250.

34. Duan S., Chen C. S-nitrosylation/de nitrosylation and apoptosis of immune cells. In: *Cell Mol. Immunol.* 2007, 4(5):353-358.
35. Fitzpatrick A. M., Stephenson S. T., Hadley G. R., Burwell L., et al. Thiol redox disturbances in children with severe asthma are associated with posttranslational modification of the transcription factor nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2. In: *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, 127(6):1604-11.
36. Franco R., Schoneveld O. J., Pappa A., Panayiotidis M. I. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. In: *Arch. Physiol. Biochem.* 2007, 113(4-5):234-58.
37. Hyoudou K., Nishikawa M., Kobayashi Y., et al. Analysis of In Vivo Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation during Liver Inflammation in Mice: Prevention by Catalase Delivery. In: *Mol Pharmacol.* 2007, 71:446–453.
38. Iyer S. S., Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. In: *Crit. Rev. Immunol.* 2012, 32(1):23-63.
39. Kaminsky Y., Kosenko E. AMP deaminase and adenosine deaminase activities in liver and brain regions in acute ammonia intoxication and subacute toxic hepatitis. In: *Brain Res.* 2010 Jan 22;1311:175-81.
40. Kauppinen A., Suuronen A., Ojala J., et al. Antagonistic crosstalk between NF- $\kappa$ B and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. In: *Cell Signal.* 2013 Oct;25(10):1939-1948.
41. Koivunen P., et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF) hydroxylases by citric acid cycle intermediates: possible links between cell metabolism and stabilization of HIF. In: *J. Biol. Chem.* 2007;282:4524–4532.
42. Korkmaz B., Horwitz Marshall S., Jenne Dieter E, Gauthier Francis. Neutrophil Elastase, Proteinase 3, and Cathepsin G as Therapeutic Targets in Human Diseases. In: *Pharmacol.Reviews.* 2010, 62 (4):726-759.
43. Ku C. S., Pham T. X., Park Y., et al. Edible blue-green algae reduce the production of pro-inflammatory cytokines by inhibiting NF- $\kappa$ B pathway in macrophages and splenocytes. In: *Biochim.Biophys.Acta.* 2013, 30:2981–2988].
44. Lee D. H., Jacobs D. R. Jr. Is serum gamma-glutamyltransferase a marker of exposure to various environmental pollutants? In: *Free Radic. Res.* 2009, 43(6):533–537.
45. Lee J. S., Park J. I., Kim S. H., Lee H. Y., et al. Oral single- and repeated-dose toxicity studies on Geranti Bio-Ge Yeast, organic germanium fortified yeasts, in dogs. In: *J. Toxicol. Sci.* 2004; 29(5):555-69.
46. Li Yu, Liantang Wang, Shangwu Chen. Endogenous toll-like receptor ligands and their biological significance. In: *J Cell Mol Med.* 2010 Nov; 14(11): 2592–2603.
47. Makarenkova I. D., Logunov D. Y., Tukhvatulin A. I., Semenova, I. B., et al. Interactions between sulfated polysaccharides from sea brown algae and Toll-like receptors on HEK293 eukaryotic cells in vitro. In: *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012, 154(2):241-244.
48. Melanie R. Power Coombs, Mirjam E. Belderbos, Leighanne C. Gallington, et al. The adenosine system modulates Toll-like receptor function: basic mechanisms, clinical correlates and translational opportunities. In: *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2011, 9(2):261–269.
49. Neuman M. G., Maor Y., Nanau R. M., Melzer E., et al. Alcoholic liver disease: role of cytokines. In: *Biomolecules.* 2015, 5:2023-2034.
50. Ngo D. H., Kim S. K. Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. In: *Int. J. Biol. Macromol.* 2013, 62:70-5.
51. Polosukhin V. V., Polosukhin I. V., Hoskins A., Han W., et al. Glutathione S-transferase M1 modulates allergen-induced NF- $\kappa$ B activation in asthmatic airway epithelium. In: *Allergy.* 2014, 69(12):1666-1672.
52. Redington A.E., Madden J., Frew A.J., et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1 in asthma: measurement in bronchoalveolar lavage fluid. In: *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 1977;156:642-647.
53. Selak M. A. et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- $\alpha$  prolyl hydroxylase. In: *Cancer Cell.* 2005;7, 77–85.
54. Sharma R., Yang Y., Sharma A., et al. Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. In: *Antioxid. Redox Signal.* 2004, vol. 6, no 2, p. 289–300.

55. Tagadiuc Olga, **Olga Știrba**, Elena Rîvneac ș.a. Influence of new complex compounds and cyanobacterial remedies on the main fibrogenesis markers and fibrosis in liver cirrhosis. The six-th session of the Balcan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova on 22th-24th September 2013. In: ARCHIVES of the Balcan Medical Union. Vol. 48, 3-supliment, p.475-477. ISSN 0041-6940. <http://www.umbalk.org/reviews>.
56. Tagadiuc Olga, **Olga Știrba**, Valentin Gudumac. Changes of the activity of lysosomal cathepsins and glycosidases in the experimental immunodeficiency and administration of local biologically active compounds. The six-th session of the Balcan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova on 22th-24th September 2013. In: ARCHIVES of the Balcan Medical Union. Vol. 48, 3-supliment, p. 478-480. ISSN 0041-6940. <http://www.umbalk.org/reviews>.
57. Tannahill G. M., Curtis A. M., Adamik J., et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1b
58. Weiskirchen R., Tacke F. Cellular and molecular functions of hepatic stellate cells in inflammatory responses and liver immunology. In: Hepatobiliary Surg. Nutrition. 2014, vol. 3, no 6, p. 344-363.
59. Zhang H. Q., Lin A. P., Sun Y., Deng Y. M. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs. In: Acta Pharmacol. Sin. 2001, 22(12):1121-4.
60. Zhiyong Yang, Zhi-En Wang, Paschalis-Thomas Doulias, et al. Lymphocyte Development Requires S-nitrosoglutathione Reductase. In: J. Immunology. 2010, 185: 6664–6669.
61. Zimmermann H., Zebrisch M., Slater N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. In: Purinergic Signal. 2012;8(3):437-502.
62. Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Рябичева Т.Г., Варакин Н.А. Стандартизация методики определения продукции цитокинов клетками крови ex vivo. В: Клин.лабор.д-ка. 2011, №11, с. 49-53.
63. Казимирко В. К., Иваницкая Л. Н., Кутовий В. В., Дубкова А. Г., Силантьева Т. С. Перекисное окисление липидов: противоречия проблемы. В: Украин. ревм. журнал. 2014, № 57 (3).

## LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE

- **Articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil (cu indicarea categoriei)**

### **Categoria B**

1. **Știrba Olga**. Influența polizaharidelor sulfatate asupra indicilor sangvini în condiții fiziologice la șobolani. Materialele Conferinței Internaționale INSPIR Iași-Chișinău. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2011, 4(32), p. 123-127. ISSN 1857-0011.
2. Gudumac Valentin, Rîvneac Victor, Tagadiuc Olga, Sardari Veronica, Andronache Lilia, **Știrba Olga**. Influența unor compuși biologici activi autohtoni asupra activității enzimelor lizozomale în ficat în ciroza hepatică experimentală. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2012, 1(33), p. 22-25. ISSN 1857-0011.
3. **Știrba Olga**, Tagadiuc Olga, Rudic Valeriu ș.a. Acțiunea polizaharidelor sulfatate din *Spirulina platensis* asupra unor indici biochimici ai sîngelui periferic în normă și inflamația aseptică. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2012, 1(33), p. 42-45. ISSN 1857-0011.
4. **Știrba Olga**, Andronache Lilia, Tagadiuc Olga ș.a. Influența unor remedii autohtone asupra sistemului glutatonic eritocitar în normă și astmul bronșic asociat. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2012, 4(36), p. 102-106. ISSN 1857-0011.
5. **Mihalciuc Olga**. Influența remediilor cianobacteriene autohtone asupra hidrolazelor lizozomale în măduva osoasă în imunodeficiența indusă cu ciclofosfan. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2016, nr 1(50), p. 230-234. ISSN 1857-0011.
6. **Mihalciuc Olga**. Influența remediilor cianobacteriene asupra metabolismului glucidic și adenilic în măduva osoasă în intoxicația cu ciclofosfan. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2016, nr 1(50), p. 234-238. ISSN 1857-0011.
7. **Mihalciuc Olga**, Larisa Procopișin, Valeriu Rudic. Influența polizaharidelor sulfatate din *Spirulina platensis* asupra profilului citokinic sangvin în normă și astmul bronșic asociat. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2016, nr 1(50), p. 220-225. ISSN 1857-0011.

### Categoria C:

8. **Olga Știrba**, Veronica Sardari, Olga Tagadiuc ș.a. Modificările hidrolazelor lizozomale în splină la șobolani cu inflamație aseptică sub influența polizaharidelor sulfatate. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Zilele Universității, consacrate celor 65 ani ai învățământului superior medical din Republica Moldova. Chișinău, 2010, p. 274-278. ISSN 1857-1719.
9. Valenin Gudumac, Valeriu Rudic, Olga Tagadiuc, **Olga Știrba** ș.a. Influența polizaharidelor sulfatate din spirulină asupra stresului oxidativ la șobolani în normă și hepatită toxică. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, p. 255-261. ISSN 1857-1719.
10. **Olga Știrba**. Influența Polizaharidelor sulfatate asupra indicilor sangvini la șobolani cu hepatită toxică. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, p. 278-283. ISSN 1857-1719.
11. **Olga Știrba**. Influența polizaharidelor sulfatate asupra indicilor sangvini la șobolani cu imunodeficit experimental. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2011, p. 244-249. ISSN 1857-1719.
12. Lilia Andronache, Olga Tagadiuc, Veronica Sardari, **Olga Știrba** ș.a. Modificările proceselor de oxidare cu radicali liberi și protecției antioxidante în intoxicația cu CCl<sub>4</sub> și influența polizaharidelor sulfatate din spirulină. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 112-118. ISSN 1857-1719.
13. Veaceslav Popa, Lilia Andronache, **Olga Știrba** ș.a. Modificările indicilor metabolismului proteic în hepatopatia experimentală și influența unor compuși biologici activi autohtoni. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 142-148. ISSN 1857-1719.
14. Veronica Sardari, Olga Tagadiuc, **Olga Știrba** ș.a. Influența unor compuși biologic activi noi asupra principalilor indici ai metabolismului glucidic în hepatopatia experimentală. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 124-130. ISSN 1857-1719.
15. Olga Tagadiuc, Veronica Sardari, **Olga Știrba** ș.a. Modificările indicilor metabolismului adenilic în hepatopatia experimentală și sub influența unor compuși biologic activi autohtoni. În: Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 118-124. ISSN 1857-1719.

- **Materiale la forurile științifice internaționale în republică:**

16. **Știrba O.**, Tagadiuc O. Receptori Toll-like – noutăți și perspective. Materialele Conferinței a XV-a Științifice Internaționale. În: Bioetica, filosofia și medicina în strategia de asigurare a securității umane. Redactor responsabil profesor Teodor N. Țirdea. Chișinău: Ediția PRINT-CARO. 2010, p. 164-167.
17. Olga Tagadiuc, **Olga Știrba**, Elena Rîvneac ș.a. Influence of new complex compounds and cyanobacterial remedies on the main fibrogenesis markers and fibrosis in liver cirrhosis. The six-th session of the Balcan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova on 22th-24th September 2013. In: ARCHIVES of the Balcan Medical Union. Vol. 48, 3-supliment, p.475-477. ISSN 0041-6940. <http://www.umbalk.org/reviews>.
18. Olga Tagadiuc, **Olga Știrba**, Valentin Gudumac. Changes of the activity of lysosomal cathepsins and glycosidases in the experimental immunodeficiency and administration of local biologically active compounds. The six-th session of the Balcan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova on 22th-24th September 2013. In: ARCHIVES of the Balcan Medical Union. Vol. 48, 3-supliment, p.478-480. ISSN 0041-6940. <http://www.umbalk.org/reviews>.

- **Teze la forurile științifice internaționale (peste hotare):**

19. Tagadiuc Olga, **Știrba Olga**, Andronache Lilia, Garbuz Olga, Popa Veaceslav. Bioactive coordination compounds action on the intensity of the oxidative stress and antioxidant system activity in animals under physiological. 3rd French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry. Iași, Roumanie. October, 30-31 2014, p. 229, poster 25.
20. Sardari Veronica, Tagadiuc Olga, Pantea Valeriana, **Știrba Olga**. Influence on new bioactive compounds on carbohydrate metabolism markers in experimental liver disease. 3rd French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry. Iași, Roumanie. October, 30-31 2014, p. 230, poster 26.
21. **Olga Știrba**, Olga Tagadiuc, Valentin Gudumac ș.a. Influența polizaharidelor sulfatate din Spirulina platensis asupra hidrolazelor lizozomale în splină în inflamație aseptică. În: A VIII-a ediție a Conferinței Naționale de Pneumologie INSPIR. Iași, România, 2010. <http://www.inspir.ro>.
22. **Olga Știrba**, Larisa Procopișin, Lilia Andronache ș.a. Influence of bioactive coordination compounds on erythrocyte glutathione system in asthma. In: 3rd French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry. Iași, Roumanie, 2014, p. 234, poster 30.

- **Teze la forurile științifice internaționale în republică:**

23. **Știrba Olga**, Andronache Lilia, Pantea Valeriana ș.a. Influence of the cyanobacterial byoremedies on liver antioxidant protection in cyclophosphane induced immunodeficiency. In: Scientific international conference on microbial biotechnology. Chișinău, 2014, p. 178. ISBN 978-9975-4432-8-9.
24. Larisa Procopișin, **Olga Mihalciuc**. Influence of the local bioactive compounds and asthma. Book of abstracts. In: The XVIII-th International Conference "Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry" (dedicated to the memory of the professor Constantin Turta and professor Mihail Revenco). Chișinău, 2015, p. 126. ISBN 978-9975-71-692-5.

- **Teze la forurile științifice din republică cu participare internațională:**

25. Olga Tagadiuc, **Olga Știrba**, Lilia Andronache ș.a. Acțiunea polizaharidelor sulfatate din Spirulina platensis asupra indicilor metabolismului proteic în serul sangvin la animale cu inflamație aseptică. În: Congresul al IX-lea Național cu participare internațională al Geneticienilor și Amelioratorilor. Chișinău, 2010, p.195. ISBN 978-9975-4126-1-2.

- **Forurile științifice naționale:**

26. **Olga Știrba**. Modificările oxidării peroxidice a lipidelor și sistemului antioxidant în țesutul lienal la animalele cu imunodeficiență experimentală și la administrarea unor compuși biologic activi autohtoni. Culegere de rezumate științifice. MEDICINĂ FUNDAMENTALĂ. În: Conferința științifică anuală a colaboratorilor și studenților. Chișinău, 2014, p. 15.
27. **Olga Mihalciuc**. Influența polizaharidelor sulfatate asupra nivelului de citokine în normă și astmul bronșic asociat. Cercetări fundamentale. În: Culegere de rezumate științifice ale studenților, rezidenților și tinerilor cercetători. Chișinău, 2015, p. 27.

### LUCRĂRI ȘTIINȚIFICO-METODICE ȘI DIDACTICE:

- **Îndrumări metodice**

28. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V., Pantea V., Andronache L., **Știrba O.** Investigații biochimice. Volumul II. Micrometode. Elaborare metodică. Chișinău: Tipogr. „Elena VI”, 2010, 97 p. ISBN 978-9975-106-06-1.
29. Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O., Sardari V., Andronache L., **Știrba O.** ș. a. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică sub red. Valentin Gudumac. Chișinău: Tipogr. „Tehnica-Info”, 2012, 162 p. ISBN 978-9975-63-340-6.



## ADNOTARE

**Mihalciuc Olga. Modificări imunobiochimice la acțiunea polizaharidelor sulfatate din spirulină în normă și patologie.** Teză de doctor în științe medicale. Chișinău, 2017.

**Structura tezei:** introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie (251 surse), 32 tabele, 20 figuri, 185 de pagini text de bază. Rezultatele obținute sunt publicate în 27 lucrări științifice.

**Cuvinte cheie:** polizaharide sulfatate din spirulină, hepatopatia toxică, imunodeficit experimental, astm bronșic, indici imunobiochimici, citokine, sistem glutatonic.

**Domeniul de studiu:** 324.03 - Diagnostic de laborator.

**Scopul studiului:** evaluarea particularităților și semnificației modificărilor indicilor imunobiochimici la acțiunea remediilor ce conțin polizaharide sulfatate din spirulină (PSS) în normă și la modelarea unor patologii cu implicarea sistemului imunitar și de natură toxică.

**Obiectivele lucrării:** cercetarea acțiunii PSS asupra parametrilor sangvini, indicilor imunobiochimici și proceselor metabolice în ser, ficat, splină și măduva osoasă în normă, la modelarea hepatopatiei toxice (HT) și imunodeficit (ID), elucidarea *in vitro* a particularităților proceselor imunobiochimice sangvine la pacienții cu astm bronșic (AB) și la acțiunea PSS.

**Metodologia cercetării științifice:** s-a efectuat o cercetare fundamentală *in vivo* pe animale de laborator și *in vitro* pe probele biologice colectate de la persoane condiționat sănătoase și de la pacienți cu AB. Au fost folosite peste 50 micrometode de cercetare elaborate de noi în baza metodelor existente. Indicii imunobiochimici au fost studiați în sânge, țesutul hepatic, lienal și măduva osoasă în condiții fiziologice, HT, ID, AB și la tratamentul cu PSS și remedii ce conțin PSS și alte principii bioactive. ID a fost modelat prin administrarea ciclofosfanului, iar HT a fost indusă prin administrarea CCl<sub>4</sub>. Rezultatele obținute au fost supuse prelucrării statistice prin utilizarea programelor computerizate „StatsDirect” și „Statistica 6,0” și prezentate prin procedee tabelare și grafice.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată a fost efectuat un studiu multiplanic complex de cercetare, care a permis obținerea datelor noi privind modificările indicilor imunobiochimici în sânge, ficat, splină și măduva osoasă la modelarea unor patologii cu implicare imună și de natură toxică. A fost demonstrată acțiunea pleiotropă a remediei PSS în hepatopatia toxică, imunodeficitul experimental și la pacienții cu astm bronșic de gravitate diferită.

**Semnificația teoretică.** Elucidarea mecanismelor imunobiochimice, care stau la baza acțiunii PSS asupra organismului în condiții fiziologice și patologice, largesc cunoștințele teoretice despre proprietățile biologice ale unor compuși naturali, oferind noi posibilități de a explora obiecte de perspectivă în scopul obținerii de noi remedii terapeutice eficiente.

**Valoarea aplicativă a lucrării.** Datele obținute pot fi utilizate la elaborarea schemelor noi de diagnostic precoce al dereglărilor imunobiochimice ce survin în patologii imunitare și de natură toxică și monitoringul eficienței tratamentului aplicat. Proprietățile farmacologice ale PSS pot fi testate și în cazul altor patologii, aplicațiile terapeutice putând fi extinse.

**Implementarea rezultatelor științifice:** în procesul didactic și lucrul științific la Catedra Medicină de laborator, IP USMF “Nicolae Testemițanu”, laboratorul clinic al IMSP Institutul de Cardiologie, Centrul Republican de Control Extern al Calității.

## SUMMARY

**Mihalciuc Olga. Immunobiochemical changes upon the administration of sulfated polysaccharides from spirulina in normal and pathological condition.** Thesis MD, Chisinau, 2017.

**The structure of thesis:** introduction, 4 chapters, conclusions and recommendations, bibliography (251 sources), 32 tables, 20 diagrams, 185 basic content pages. The results are published in 27 articles.

**Keywords:** sulfated polysaccharides from spirulina, toxic hepatopathy, experimental immunodeficiency, asthma, immunobiochemical indices, cytokines, glutathione system.

**Field of study:** 314.03 - Diagnostic Laboratory.

**The aims of the study:** to evaluate the particularities and significance of the modifications of immunobiochemical (IMB) indices induced by the remedies containing sulphated polysaccharide from Spirulina (SPS) in the normal and in pathological conditions with implication of the immune system and toxic nature diseases.

**Objectives of the study:** to study the action of SPS on the blood parameters, IMB indices and metabolic processes in the serum, liver, spleen and bone marrow in the normal conditions, toxic hepatopathy (TH) and experimental immunodeficiency (ID), *in vitro* elucidation of the particularity of the IMB processes in the blood of asthmatic patients and the influence of the SPS.

**Research methodology:** a fundamental research on *in vivo* laboratory animal and *in vitro* on biological samples collected from healthy individuals and patients with asthma was effectuated. Over 50 assays micro methods developed on base of existing methods were used. The IBM indices were studied in blood, liver and spleen tissues, and bone marrow under physiological conditions, TH, ID, asthma and after treatment with SPS and remedies containing SPS. The TH was induced by CCl<sub>4</sub> administration and ID was modeled by cyclophosphamide. The results were processed using a statistical software "StatsDirect" and "Statistics 6.0" and presented in tabular and graphical form.

**The novelty and the scientific originality:** For the first time, the multiplane complex research study was conducted, which allowed us to obtain new data on the IMB indices modifications in the blood, liver, spleen and bone marrow in the pathological conditions with implication of the immune system and toxic nature diseases. The beneficial action of the administration of SPS in toxic hepatopathy, experimental ID, and atopic patients with various severity was demonstrated.

**Theoretical significance:** Elucidation of IMB mechanisms, underlying the action of the SPS on the organism in the normal and pathological conditions, expand the theoretical knowledge about the biological properties of natural compounds, offering new opportunities to explore perspective objects to obtain new efficient therapeutic remedies.

**The practical value of the work:** Obtained data can be used to develop new schemes for early diagnosis of immune and biochemical disorders that occur in immune pathologies and toxic nature, and for monitoring of the efficiency of applied treatment. The pharmacological properties of the SPS can be tested in other diseases, the therapeutic applications may be extended.

**Implementation of scientific results:** In the teaching process and scientific work of the Department of Laboratory Medicine of The State University of Medicine and Pharmacy *Nicolae Testemitsanu*, and in the clinical diagnostic laboratory of Institute of Cardiology and Republican Center of External Quality Control.

## АННОТАЦИЯ

**Михальчук Ольга "Иммунобиохимические изменения при введении сульфатированных полисахаридов из спирулины в норме и патологии".**

Диссертация на степень кандидата медицинских наук, Кишинев, 2017.

**Структура диссертации:** введение, 4 главы, выводы и рекомендации, библиографии (251 источник) 32 таблицы, 20 рисунков, 185 стр. основного текста. Результаты исследования опубликованы в 27 научных статьях.

**Ключевые слова:** сульфатированные полисахариды из спируллины, токсический гепатит, экспериментальный иммунодефицит, бронхиальная астма, иммунобиохимические показатели, цитокины, система глутатиона.

**Область исследования:** 324.03 – лабораторная диагностика.

**Цель исследования:** изучить изменения иммунобиохимических (ИМБ) показателей при воздействии препаратов содержащих сульфатированные полисахариды из спирулины (СПС) в норме и при моделировании заболеваний, связанных с вовлечением иммунной системы, а также токсической природы.

**Задачи исследования:** изучить влияние СПС на параметры периферической крови, ИМБ показатели и метаболические процессы в сыворотке крови, печени, селезенке и костном мозге в норме и при моделировании токсической гепатопатии (ТГ) и иммунодефицита (ИД). Выяснить особенности ИМБ изменений в крови *in vitro* у больных с бронхиальной астмой (БА), а также при воздействии СПС.

**Методология исследования:** было проведено фундаментальное исследование *in vivo* на лабораторных животных и *in vitro* на биологических пробах, взятых у здоровых людей и пациентов с БА. Были использованы около 50 микрометодов, разработанные нами на базе существующих методик. Иммунобиохимические показатели определяли в крови, в тканях печени, селезенки и костного мозга в физиологических условиях, при ТГ, ИД, БА и при воздействии СПС и препаратов, содержащие СПС. ИД моделировали введением циклофосфана, а ТГ индуцировали  $CCl_4$ . Результаты были обработаны с помощью статистической компьютерной программы «StatsDirect» и «Statistica 6.0» и представлены в виде таблиц и графиков.

**Новизна и оригинальность исследования:** впервые было проведено комплексное, мультиплановое исследование, что позволило получить новые данные об изменениях ИМБ показателей крови, печени, селезенки и костного мозга при моделировании патологии иммунной и токсической природы. Было продемонстрировано плейотропное действие СПС при ТГ, ИД, а также у пациентов с БА различной тяжести.

**Теоретическая значимость работы:** выяснение механизмов, лежащих в основе действия СПС на организм в норме и патологии, позволяют расширить теоретические знания о биологических свойствах ряда природных соединений и открывают новые возможности для изучения перспективных объектов с целью получения новых эффективных лекарств.

**Практическая ценность работы:** полученные данные могут быть использованы для разработки новых схем ранней диагностики иммунобиохимических сдвигов, возникающих при иммунных заболеваниях, а также для мониторинга эффективности проведенного лечения. Фармакологические свойства СПС могут быть исследованы и при других заболеваниях, что позволит расширить показания их применения.

**Внедрение результатов:** в учебный процесс и в научной работе Кафедры Лабораторной Медицины ГУМФ им. Николая Тестемицану, в клиничко-диагностической лаборатории Института Кардиологии и в Республиканском Центре Внешнего Контроля Качества.



**MIHALCIUC OLGA**

**MODIFICĂRI IMUNOBIOCHIMICE LA ACȚIUNEA  
POLIZAHARIDELOR SULFATATE DIN SPIRULINĂ  
ÎN NORMĂ ȘI PATOLOGIE**

**324.03 – DIAGNOSTIC DE LABORATOR**

**Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale**

Aprobat spre tipar: data  
Hârtie ofset. Tipar ofset.  
Coli de tipar: 1,5

Formatul hârtiei 60x84 1/16  
Tiraj 50  
Comanda nr.

---

S.C. „ELAN POLIGRAF” S.R.L.  
mun. Chișinău, str. Mesager 7,  
tel: 022 74-65-03; fax: 022 74-65-00