

Rezumat

Studiul a avut scopul de a cerceta influența polizaharidelor sulfatate din *Spirulina platensis* (PSS) în doză de 1, 10 și 125 mg/kg *per os* asupra modificărilor parametrilor sangvini la șobolani în condiții fiziologice. S-a stabilit că PSS în doză 1 mg/kg diminuează veridic numărul de eritrocite (RBC). PSS în dozele 1 și 10 mg/kg influențează slab intensitatea leucopoiezei și limfopoiezei manifestat prin tendința de creștere a numărului de leucocite (WBC) și a numărului absolut de limfocite (LYM). S-a observat efectul imunomodulator al PSS în doză de 125 mg/kg prin creșterea veridică al raportului procentual a limfocitelor și tendința de majorare a numărului absolut de limfocite din sângele periferic.

Summary

Influence of Sulphatated Polysaccharides on the blood parameters of rats in physiological conditions

The aim of the study was to investigate the influence of sulphatated polysaccharides from *Spirulina platensis* (PSS) in doses of 1, 10 and 125 mg/kg *per os* on blood parameters in rats in physiological conditions. It was established that PSS in dose of 1 mg/kg significantly reduces the number of erythrocytes (RBC). PSS in doses of 1 and 10 mg/kg exerts weak effects on the intensity of leucopoiesis and lymphopoiesis manifested by an upward trend of the white blood cells (WBC) count and of the absolute number of lymphocytes (LYM). Immunomodulatory effect of PSS in dose of 125 mg/kg was observed which has been shown by the reliable increase of the LYM ratio and the tendency of increase of the absolute number of LYM in peripheral blood.

STUDIAREA ACTIVITĂȚII ANTITUBERCULOASE A UNOR COMPUȘI NOI SINTETIZAȚI A TIUREIDELOR ACIDULUI 2-(2'-FENILETIL)-BENZOIC

T. Cotelea¹, L. Morușciag², G. Nițulescu², I. Chirița², V. Crudu³, N. Moraru³, Ecaterina Stratan³, Nadejda Turcan³, Elena Romancenco³

USMF "Nicolae Testemițanu"¹, Chișinău,
Universitatea de Medicină și Farmacie
„Carol Davila"², București,
Institutul de Ftiziopneumologie
„Chiril Draganiuc"³, Chișinău

Deși agentul tuberculozei (*M. tuberculosis*) a fost descoperit cu peste 100 ani în urmă, iar preparatele antituberculoase cu eficacitate mare sunt disponibile de peste jumătate de secol, infecția tuberculoasă rămâne și astăzi pentru cea mai mare parte a populației planetei un pericol de sănătate publică, fiind o boală cu o morbiditate și o letalitate înaltă. Suferințele cau-

zate populației de către *M. tuberculosis* sunt extrem de mari. Ele depășesc suma daunelor provocate de toate celelalte bacterii, luate împreună.

Tratamentul antituberculos, considerat ca una din metodele principale de prevenire a răspândirii infecției, tot mai des nu dă rezultatele așteptate, și una din pricinile de bază a ineficienței terapeutice este rezistența *M. tuberculosis* față de preparatele antituberculoase. Extinderea nivelului rezistenței primare și acumularea unui număr tot mai mare de tulpini de *M. tuberculosis* rezistente la preparatele antituberculoase devine o problemă majoră în controlul acestei infecții la etapa actuală. Urmare a acestui fenomen este creșterea numărului de eșecuri terapeutice și numărului de bolnavi cronici. Este o cauză destul de periculoasă deoarece în viitor pot apărea tot mai frecvent forme de tuberculoză incurabilă, ori preparate antituberculoase nu se elaborează prea des.

Un nivel înalt al rezistenței micobacteriilor tuberculozei față de remediile specifice se observă nu numai în regiunile cu incidența sporită a acestei infecții, dar și în țările unde incidența tuberculozei este joasă.

Organizația Mondială a Sănătății a declarat tuberculoza o urgență globală, iar fenomenul în cauză de o importanță primordială, și recomandă, ca cercetările efectuate în domeniul elaborării unor remedii noi, mai efective în tratamentul cazurilor de tuberculoză multirezistentă, să fie apreciate ca direcție de studiu prioritar.

În Republica Moldova incidența globală a tuberculozei în a. 2010 a constituit 113 pacienți la 100000 populație, sau de 3 ori mai mare ca în a. 1990. Rezistența medicamentoasă (primară și secundară) față de preparatele antituberculoase strategice, utilizate pe larg la etapa actuală în tratamentul tuberculozei, a atins cifre extrem de periculoase – 63,3%.

Studiul preconizat este de importanță majoră, atât din punct de vedere științific, cât și pentru domeniul sănătății publice.

Obiectivul. Studiarea activității antituberculoase a unor substanțe noi sintetizate cu perspectiva elaborării unor noi remedii, care ar putea lărgi arsenalul preparatelor antituberculoase, și influența esențială la eficacitatea tratamentului cazurilor de tuberculoză multirezistentă.

Materiale și metode. Pentru atingerea acestui obiectiv au fost utilizați numeroși compuși originali, sintetizați de specialiștii în domeniu de la Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București, care au fost testați pe tulpina de referință (H37Rv) și tulpini sălbatice de *M. tuberculosis*, izolate de la pacienți cu tuberculoză pulmonară aflați la tratament în clinica IFP „Chiril Draganiuc”.

Scopul de bază a fost stabilirea *in vitro* a prezenței sau absenței la substanțele din clasa *tioureidelor acidului 2-(2'-fenetil)-benzoic* a activității tuberculostatice sau tuberculocide.

Dizolvarea compușilor. Pentru dizolvarea inițială a substanțelor sintetizate în acest studiu a fost utilizat dimetilsulfoxidul (DMSO). Diluțiile ulterioare au fost efectuate pe apă distilată sterilă. Pentru activitatea bactericidă au fost selectate 3 concentrații maxime a substanțelor noi sintetizate: 500 µg/ml 100 µg/ml și 50 µg/ml.

Pregătirea suspensiei de *M.tuberculosis*. Au fost utilizate tulpinile de referință $H_{37}Rv$, precum și tulpini de *M.tuberculosis* „sălbatică”, izolate de la pacienți cu tuberculoză pulmonară cu termenul de izolare până la 2 săptămâni. Suspensia micobacteriană a fost pregătită după standardul de turbiditate de 5 UFC.

Inocularea. Pentru însămânțare s-au utilizat câte 0,2 ml suspensie $H_{37}Rv$ și suspensii de tulpini sălbatică de o turbiditate 5 UFC la fiecare concentrație a substanței: 500 µg/ml, 100 µg/ml și 50 µg/ml.

Expoziția. Au fost stabilite 3 expoziții - 1 oră, 4 ore și 24 de ore. După fiecare expoziție se centrifuga 10 min., după care supernatantul se înlătură, iar la sediment se adăuga 1,0 ml apă distilată sterilă.

Concentrațiile și expozițiile utilizate pentru studierea activității antituberculoase a substanțelor sintetizate sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1

Studierea activității antituberculoase a substanțelor sintetizate FBT-1..... FBT-12.

Tulpină	$H_{37}Rv^*$			<i>M.tuberculosis</i> **		
Concentrație	Expoziție			Expoziție		
500 µg/ml	1 oră	4 ore	24 ore	1 oră	4 ore	24 ore
100 µg/ml	1 oră	4 ore	24 ore	1 oră	4 ore	24 ore
50 µg/ml	1 oră	4 ore	24 ore	1 oră	4 ore	24 ore

Control 1- Suspensie $H_{37}Rv$ 0.2 ml+2.0ml apă sterilă;

*Tulpină de referință - $H_{37}Rv$;

**Tulpină sălbatică *M.tuberculosis*, izolată de la pacienți TB.

Activitatea bactericidă a substanțelor susmenționate a fost studiată pe medii lichide (metoda BACTEC MGIT 960) și pe medii solide (Lowenstein-Jensen).

Pentru studierea activității bacteriostatice a noilor compuși chimici din clasa tioureidelor a fost utilizată metoda concentrațiilor absolute clasică de testare a sensibilității antibacteriene pe medii solide pe bază

de ou. În calitate de mediu solid a fost pregătit mediul LJ, cu două concentrații absolute – 50 µg/ml și 200 µg/ml.

Ca tulpini de referință au fost utilizate $H_{37}Rv$ și tulpini sălbatică *M.tuberculosis*, izolate de la pacienți TB.

În calitate de control a fost utilizat tubul cu mediu LJ fără substanță și al doilea control - tubul cu mediu LJ cu o concentrație de 40 µg/ml Rifampicină.

Rezultate. Pentru studierea activității bactericide au fost efectuate mai multe investigații în dinamică. Astfel, au fost montate 11 experiențe, utilizând în fiecare câte o tulpină de referință $H_{37}Rv$ și de la 2 până la 5 tulpini sălbatică la fiecare testare. Fiecare substanță a fost testată la trei concentrații și trei expoziții diferite. În total au fost efectuate 384 testări la diferite concentrații și expoziții pe medii lichide (BACTEC MIGIT) și medii solide (LJ). Rezultatele testărilor au demonstrat, ca substanțele cercetate nu posedă activitate bactericidă în concentrații de până la 50 µg/ml până 500 µg/ml și expoziție de la 1 oră până la 24 de ore.

Analiza mai aprofundată a creșterii pe medii lichide (BACTEC MIGIT), utilizând programa BD EpiCenter™ TB-eXiST, a constatat că substanțele RM 01-RM 12 au demonstrat o activitate inhibitoare la toate concentrațiile și expozițiile utilizate. Această activitate se exprimă prin reținerea creșterii în cazul acestor substanțe, față de control (figura 1).

Studierea activității bacteriostatice „*in vitro*” a noilor compuși chimici din clasa tioureidelor pe medii solide s-a efectuat pe mediul solid LJ prin metoda concentrațiilor absolute. Astfel, au fost testate 12 substanțe a câte două concentrații fiecare (50 µg/ml și 200 µg/ml). Rezultatele testării au fost evaluate după 2 luni de incubare la 37°C.

Toate substanțele cercetate au demonstrat acțiune bacteriostatică în concentrație de 50 µg/ml până 200 µg/ml pe mediu solid LJ față de tulpina de referință $H_{37}Rv$ și tulpinile sălbatică de *M.tuberculosis*, luate în studiu (tab. 2).

Concluzii

Studierea activității antituberculoase „*in vitro*” a noilor compuși chimici sintetizați din clasa tioureidelor pe medii solide și lichide a demonstrat:

1. Compușii menționați nu posedă activitate bactericidă față de tulpina de referință $H_{37}Rv$ sau față de tulpinile sălbatică de *M.tuberculosis*.

2. În același timp, toate aceste substanțe sintetizate din clasa tioureidelor FBT-1..... FBT-12 au demonstrat activitate inhibitoare în concentrații de 50 µg/ml și 200 µg/ml față de tulpina de referință și tulpinile sălbatică de micobacterii pe mediul de cultură solid pe bază de ou LJ.

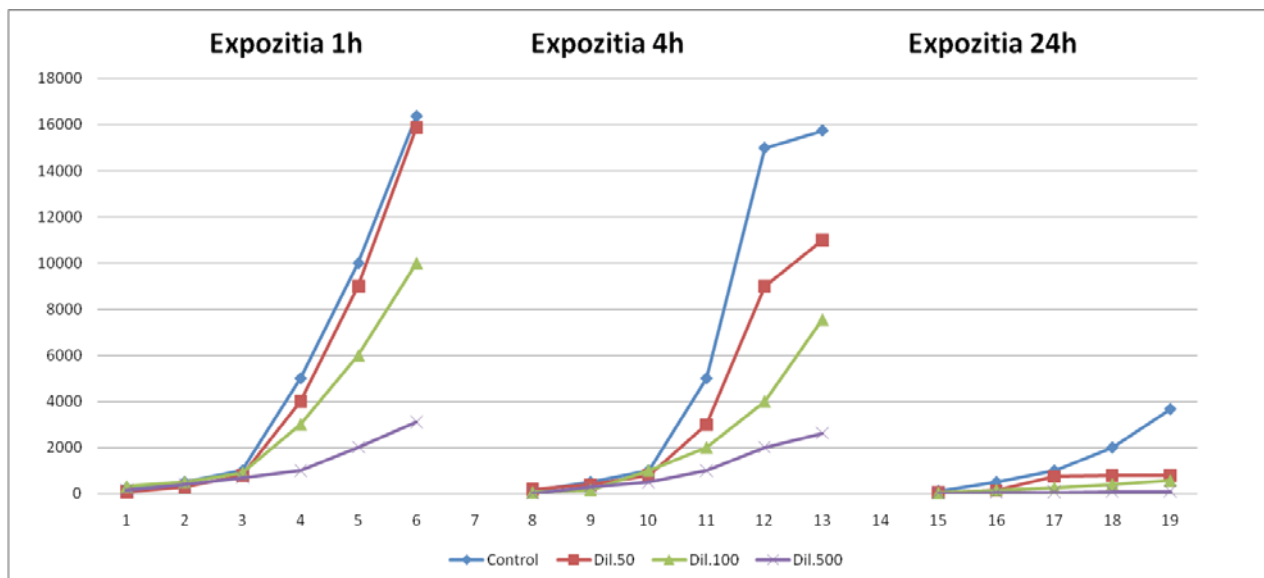


Fig.1. Unitățile de creștere a substanței nr.1

Tabelul 2

Studierea activității antituberculoase bacteriostatice a substanțelor sintetizate din clasa tioureidelor FBT-1..... FBT-12

Substanța/Concentrație	Rezultat	
	50 μg/ml	200 μg/ml
RM 01 C ₂₂ H ₂₀ N ₂ OS N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(fenil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 02 C ₂₃ H ₂₂ N ₂ OS N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(o-tolil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 03 C ₂₃ H ₂₂ N ₂ OS N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(m-tolil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 04 C ₂₃ H ₂₂ N ₂ OS, N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(p-tolil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 05 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(2,4-xilil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 06 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(2,6-xilil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 07 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(2,3-xilil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 08 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(2,5-xilil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 09 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(3,4-xilil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 10 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(3,5-xilil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 11 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(2-etilfenil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
RM 12 C ₂₄ H ₂₄ N ₂ OS, M = 388,54 N-(2-fenetilbenzoil)-N'-(3-etilfenil)-tiouree	Creșterea lipsește	Creșterea lipsește
Control 1 - Mediu LJ fără substanță	Creștere confluentă	
Control 2 - Mediu LJ cu o concentrație de 40 μg/ml Rifampicină	Creșterea lipsește	

Cercetările ulterioare vor avea drept scop determinarea concentrațiilor minime inhibitorii a noilor compuși chimici sintetizați din clasa tioureidelor.

Bibliografie selectivă

1. Parsons L. M., Somosko A., Gutierrez C., Lee E., Paramasivan C.N., Spector S., Roscigno G, and Nkengasong J. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis in Resource-Poor Countries: Challenges and Opportunities. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Apr. 2011, p. 314–350.
2. Blakemore, R., et al. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. J. Clin. Microbiol. 48:2495–2501. 2010.
3. Boehme, C. C., et al. 2010. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N. Engl. J. Med. 363:1005–1015.
4. Cain, K. P., et al. 2010. An algorithm for tuberculosis screening and diagnosis in people with HIV. N. Engl. J. Med. 362:707–716.
5. Centers for Disease Control and Prevention. 2009. Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 58:7–10.
6. Chaisson R. E., and Churchyard G. J.. 2010. Recurrent tuberculosis; relapse, reinfection, and HIV. J. Infect. Dis. 201:653–655.
7. Interim recommendations for the surveillance of drug resistance in tuberculosis. Geneva, World Health Organization, 2007, (document WHO/HTM/TB/2007.385).
8. Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): Policy Statement. Geneva, World Health Organization, 2008; http://www.who.int/tb/dots/laboratory/lpa_policy.pdf, accessed 6, 09.2009.
9. Resolution WHA62.15. Prevention and control of multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis. In: Sixty-Second World Health Assembly, Geneva, 18–22 May 2009. Resolutions and decisions, annexes. Geneva, World Health Organization, 2009; http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_fles/A62/A62_R15-en.pdf, accessed 6 September 2009.
10. Guidelines for treatment of tuberculosis. Fourth edition. Geneva, World Health Organization, 2009, (document WHO/HTM/TB/2009.420).
11. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Geneva, World Health Organization, 2008 (document WHO/HTM/TB/2008.402).
12. Crudu V., Moraru N. Organizarea serviciului microbiologic în diagnosticul tuberculozei în cadrul strategiei DOTS. Actualități în fiziopneumologie. Metode de limnologie clinică și reabilitare endoecologică în pneumologie, fiziologie și terapie generală: Conferința științifico-practică a IFP. Chișinău, 2006, vol. 1, p.112-117.
13. Missir A, Morușciag L, Nițulescu G, Ilie C, Căproiu M. Noi tioureide ale acidului 2-fenilbenzoic cu activitate potențială antimicrobiană. Sinteza și caracterizarea spectrală, , Revista de Chimie (București), 2009, 60 (12), 1288-92.
14. Morușciag L., Missir A, Ilie C, Guță R, Nănu-

Andreescu D, Căproiu M. Noi tioureide ale acidului 2-fenilbenzoic cu activitate potențială antimicrobiană, Revista de Chimie (București), 2009, 60 (8), 806-9.

Rezumat

Problema tratamentului cu succes a tuberculozei rămâne foarte actuală, din cauza apariției frecvente a rezistenței micobacteriilor față de remediile existente. Au fost studiate concentrațiile minime inhibitoare (CMI) și concentrațiile minime bactericide (CMB) față de tulpina de referință *M. tuberculosis* (H37Rv) și față de tulpinile sălbatice de *M. tuberculosis* cu rezistență la diferite preparate antituberculoase cunoscute, a noilor compuși sintetizați a tioureidelor acidului 2-(2'- Feniletil)-Benzoic. S-a stabilit că compușii menționați posedă doar activitatea tuberculostatică.

Summary

The studying of antituberculosis activity of new synthesized compounds of Tioureide Acid 2-(2'- Pheniletil)- Benzoic

The emergence of drug resistant tuberculosis poses a growing threat to national Public Health Sector. There were studied the minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) against *M. tuberculosis* reference strain (H37Rv) of new drugs (compounds synthesized to benzoic Acid Thioureides). It was determined that compounds mentioned have tuberculostatic activity.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЦИТОХРОМА-450 2С19 В ЮГО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ УКРАИНЫ

П.Б. Антоненко, В.И. Кресюн, В.В. Годован, Е.А. Антоненко
Одесский национальный медицинский университет, Украина

Цитохром-450 (СУР) 2С19 принимает участие в метаболизме омепразола, варфарина, мефенитоина, а также других препаратов. С его генетическим полиморфизмом связаны значительные вариации метаболической активности. Известно, что некоторые противотуберкулезные препараты – изониазид, рифампицин – могут изменять активность СУР2С19. Литературные данные относительно распространенности полиморфных вариантов гена СУР2С19 в Украине практически отсутствуют. Целью данной работы явилось исследование наследственного полиморфизма гена СУР2С19 в Одесской области.

Полиморфизм гена СУР2С19 изучался с помощью ПЦР (полимеразно-цепной реакции) и