

CZU: 616.379-008.64:615.322

DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.4431395>

## EFFECTUL IMUNOMODULATOR AL EXTRACTULUI APOS DIN *CALOTHRIX MARCHICA* PE FONDALUL DIABETULUI EXPERIMENTAL

Iurie BACALOV, Adriana DRUȚA, Alina TROFIM

Universitatea de Stat din Moldova

Cercetarea completează datele experimentale privind utilizarea extractului apos din *Calothrix marchica*, care ameliorează starea generală a organismului prin echilibrarea indicilor hematologici în diabetul experimental. Avantajul utilizării extractului apos din *Calothrix marchica* în diabetul experimental este accesibilitatea, acțiunea blândă și lipsa efectelor adverse la respectarea dozelor recomandate. Administrarea extractului apos cercetat a redus glicemia, a stimulat secreția insulinei și a influențat numărul leucocitelor în complicațiile acute și cronice ale diabetului alloxanic.

**Cuvinte-cheie:** imunitate, diabet zaharat, homeostazie, proces metabolic, alloxan, glucoză, leucocite, alge.

### IMMUNOMODULATORY EFFECT OF AQUEOUS EXTRACT FROM *CALOTHRIX MARCHICA* ON THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL DIABETES

This research complements experimental data on the use of aqueous extract of *Calothrix marchica*, which improves the general condition of the body by balancing haematological indices in experimental diabetes. The advantage of using aqueous extract of *Calothrix marchica* in experimental diabetes is the accessibility, mild action and lack of side effects when adhering to the recommended doses. The administration of the investigated aqueous extract reduced blood glucose, stimulated insulin secretion, and influenced leukocyte counts in acute and chronic complications of alloxan diabetes.

**Keywords:** immunity, diabetes, homeostasis, metabolic process, alloxan, glucose, leukocytes, algae.

### Introducere

Diabetul zaharat reprezintă o problemă medico-socială globală, caracteristică pentru majoritatea țărilor economice dezvoltate, deoarece posedă trăsăturile unei epidemii. În prezent în toate țările este efectuat screening-ul diabetului zaharat și este studiată importanța factorilor de risc în această maladie. Cei mai răspândiți fiind vârsta, factorul familial, hiperinsulinemia, obezitatea, lipsa activității fizice, modul de viață etc. Datele relatate anterior argumentează importanța studierii complexe a acestei maladii pentru a putea elabora metode noi de prevenire a diabetului zaharat, criteriile de diagnostic precoce și principiile terapeutice care ar permite atingerea normoglicemiei.

Diabetul zaharat determină apariția unor complicații cronice care reduc durata de viață a pacienților și calitatea acesteia, fiind prima cauză a amputațiilor, în multe cazuri și a decesului prin infarct miocardic la care aceasta se asociază. În ultimii ani, se face tot mai accentuată cercetarea mecanismelor-cheie ale etiologiei și patogenezei diabetului zaharat. Ca maladie metabolică, diabetul reprezintă o patologie generală care afectează întreg organismul. Conform datelor statistice, diabetul zaharat reprezintă una dintre cele mai răspândite afecțiuni endocrine cu caracter sever.

Anterior s-a crezut că în diabet nu există modificări hematologice sau, dacă sunt, ele sunt neesențiale. Anomaliile hematologice au o importanță din ce în ce mai mare pentru evaluări diagnostice, terapeutice, controlul diabetului și pentru evaluarea tendințelor la complicații. Afecțiunile cardiovasculare sunt răspunzătoare de 76% dintre cauzele de mortalitate în diabet, din care 55% se datorează cardiopatiei ischemice și 12% bolilor cerebrovasculare. Diabetul zaharat este în corelație strictă cu maladia vasculară periferică, hipertensiunea și cu modificările cerebrovasculare [1].

Datorită dietei alimentare adecvate, terapiei cu antidiabetice și fitoterapiei, diabeticii încetinesc riscul preponderent față de această patologie. În căutarea noilor metode de tratament, cercetătorii apelează deseori la metodele medicinei populare. Experimental a fost demonstrată capacitatea unor preparate din plante (afine, in etc.) de a regenera celulele  $\beta$  producătoare de insulină. De obicei, plantele medicinale și preparatele din ele au acțiuni polivalentă, ceea ce permite în același timp de a rezolva unele probleme cu un risc minim al complicațiilor cu caracter toxic și alergic. Preparatele din plante medicinale reproduc efectele terapiei chimice, îmbunătățesc absorbția glucozei de către țesuturi. Plantele medicinale modifică procesul de aprovizionare a țesuturilor cu oxigen, elimină surplusul de glucoză și săruri din organism cu urina și măresc imunitatea organismului [2,3].

Sistemul sanguin dispune de o serie de celule care sunt implicate în apărarea organismului. Printre acestea se enumeră și leucocitele, care sunt un grup heterogen de celule nucleate, în general circulante, care au o activitate metabolică mult mai intensă decât eritrocitele; unele dintre ele execută mișcări proprii. Rezistența osmotică a leucocitelor este mult mai mare decât a eritrocitelor.

Repartiția procentuală a formelor de leucocite din sânge reprezintă formula leucocitară. Leucocitele sunt distribuite în mediile circulante (sânge, limfa) și în spațiile interstițiale tisulare. În sistemul vascular leucocitele nu sunt repartizate uniform: în vasele organelor interne, în special pulmon, splină și ficat numărul leucocitelor este mai mare decât în vasele pielii. Modificarea funcțională a calibrului vasului, dat fiind tropismul leucocitelor pentru endoteliu, determină variații în distribuția leucocitelor. Tot datorită fenomenului de marginație leucocitară (dispunerea lor pe pereții vasculari) viteza de curgere a leucocitelor este de trei ori mai mică decât a eritrocitelor. Din punct de vedere funcțional, leucocitele circulante au o importanță redusă. Ele parcurg circuitul măduva-sânge-țesuturi unde își exercită funcția de bază. Morfologic, după aspectul nucleului și prezența granulațiilor cu afinități tinctoriale diferite, leucocitele se clasifică în: granulocite (polinucleare), care reprezintă 60-75% din totalul leucocitelor și agranulocite (mononucleare), care dețin circa 30% din leucocite [4].

*Granulocitele* prezintă nucleul polilobat și granulații citoplasmice care după afinitatea tinctorială se împart în neutrofile (65%), eozinofile (1-2%) și bazofile (0,5-1%). Granulocitele se acumulează în țesuturile în care se cantonează agenții antigenici. Acumularea locală este favorizată de vasodilatația capilarelor și venulelor din țesutul afectat; granulocitele își încetinesc deplasarea, se fixează pe pereții vasculari și prin emiteria de pseudopode străbat peretele vascular și se îndreaptă spre agentul antigenic.

Fagocitoza este mecanismul de apărare nespecifică a organismului față de elementele corpusculare și macromoleculare. Etapele desfășurării fagocitozei sunt: aderarea, înglobarea, digestia și distrugerea granulocitului; enzimele secretate de granulocite, necesare fagocitozei, sunt enzime glicolitice (amilaza) și proteolitice (pepsina, tripsina, diastaza, lipaza, catalaza, oxidaza, peroxidaza). Reacția febrilă care însoțește inflamația se datorează pirogenului secretat de granulocite care, ajuns prin circulație la hipotalamus, stimulează termogeneza.

Neutrofilele se găsesc în sângele circulat în proporția cea mai mare (67,5%). Funcția neutrofilelor este fagocitoza; aceasta este favorizată de cantitatea mare de hidrolaze prezente în granulații, cu care are loc degradarea completă a agenților infecțioși, comparativ cu macrofagele care distrug selectiv particulele fagocitate și care izolează determinanții antigenici, etapă indispensabilă răspunsului imun. Fagocitoza este sub control diencefalic prin coordonarea mecanismelor de declanșare, reglare și adaptare a reacțiilor de apărare.

Eozinofilele reprezintă 1-2% din leucocitele circulante. Ele au rol în inactivarea histaminei, a 5-hidroxitriptaminei și bradikininei. De asemenea, granulele conțin un precursor al fibrinolizinei, declanșând fibrinoliza. Eozinofilele mai participă la reacțiile antigen-anticorp, fagocitează bacterii și paraziți, având capacitate citotoxică pentru paraziți. În mecanismele imunogene eozinofilul cooperează cu limfocitele T și moderează activitatea mastocitelor în reacția imunitară imediată de tip anafilactic prin intermediul histaminazei și aril-sulfatazei.

Bazofilele sunt granulocitele prezente în cel mai mic număr în sângele circulat: 0,5-1%, iar granulele conțin histamină, precursori ai heparinei, heparină și o lipoproteină. Bazofilele furnizează cca jumătate din histamina circulantă și ele au o capacitate fagocitară mai redusă decât neutrofilele și eozinofilele. De asemenea, ele intervin în secreția de serotonină, în procesul de clarificare a plasmei și în fibrinoliză [5].

Monocitele sunt cele mai mari leucocite agranulare. Monocitele-macrofage au proprietatea de chemotaxie și conțin numeroase enzime. Funcțiile lor sunt diverse: funcția fagocitară este diferită la monocitele circulante și macrofagele fixe; fagocitoza se realizează prin emiteria de pseudopode sau prin deschiderea vacuolelor de captare la suprafață. Rolul monocitelor circulante se suprapune rolului neutrofilelor de care se diferențiază prin capacitatea de înglobare a particulelor de dimensiuni mari. Macrofagele fixe și cele ale sistemului reticulo-histiocitar participă la fagocitoză și la îndepărtarea din circulație a eritrocitelor îmbătrânite. Macrofagele îndepartează prin funcția de macrofagocitoză celule și țesuturi degradate; ele asigură nutriție celulară, resorbția țesuturilor și vindecarea plăgilor, turn-over-ul proteinelor serice și recuperarea fierului din hemoglobina eritrocitelor îmbătrânite.

Funcția imunitară a macrofagelor este strâns corelată cu funcția limfocitelor T. Macrofagele fagocitează agenții antigenici și prelucrează fracțiunile antigenice pe care le transmite limfocitelor T activându-le. La rândul lor, limfocitele T activează macrofagele, mărindu-le capacitatea fagocitară. Limfocitele T activate vor activa și limfocitele B care se vor transforma în plasmocite, producătoare de anticorpi. În timpul transmisiei informației antigenice macrofagul secretă mediatori nespecifici de tipul interferonului și substanțe care inhibă procesul de sinteză a anticorpilor, controlând astfel evoluția lor [6].

Din cele menționate anterior cunoaștem că limfocitele sunt elemente celulare implicate în apărarea imunologică față de diverși constituenți exogeni (bacterii, virusuri, fungi, macromolecule proteice) sau constituenți proprii, endogeni, rezultați sub acțiunea unor agenți diverși din mediul intern sau extern. Pentru supraviețuirea organismului este necesară recunoașterea și diferențierea structurilor străine (non-self) de cele proprii organismului (structuri self), care sunt funcții fundamentale ale seriei limfoplasmocitare. Capacitatea de discriminare a non-selfului de self apare în fibrogenie la nevertebratele inferioare, la care, deși nu există limfocite și imunoglobuline, se sintetizează aglutinine cu oarecare specificitate. Limfocitele se pot mișca activ și nu au capacitatea de fagocitare. Funcțional, sunt însă tipuri de limfocite: timodependente (T) și bursodependente (B); diferențierea lor morfologică este încă incertă. Imunochimic pe membrana limfocitelor T s-au descoperit marcheri antigenici, iar membrana limfocitelor B prezintă receptori pentru zona Fc a IgG, pentru componenta C3b a complementului și imunoglobuline care sunt receptori de recunoaștere a antigenului. Alături de limfocitele T și B există o populație unică de limfocite, numite „nule”, care prezintă pe membrana sa numai receptori pentru zona Fc a IgG. Precursorii limfocitelor sunt limfoblaștii, prezenți în organele limfoide, alături de o serie de forme intermediare în procesul de maturare. Din limfocitele B rezultă plasmocitele, care sunt celule tisulare fixe, caracterizate prin nucleul cu aspect de „spîțe de roată” datorita repartiției cromatinei; ele pot emite pseudopode și se pot deplasa.

În circulația sangvină limfocitele sunt fie în tranzit între organele limfoide primare și secundare, fie sunt limfocite recirculante; acestea au o importanță fiziologică deosebită, având rolul de a permite reînnoirea contactului dintre limfocitele cu memorie și antigenele corespunzătoare ce se conțin în macrofagele din limfonoduri. Din totalul limfocitelor circulante cca 90% sunt limfocite T, 10% limfocite B, limfocitele recirculante fiind în număr foarte mic.

Limfocitele prezente în limfă provin în proporție de 90% din sânge și 10% din diviziunea limfocitelor din limfonoduri. Limfocitele T sunt responsabile de răspunsul imun mediat celular, manifestat prin înlăturarea din organism a unor antigene macromoleculare și celulare care nu pot fi distruse de anticorpii umorali, iar limfocitele B sunt responsabile de imunitatea umorală. Contactul limfocitelor B cu antigenul determină legarea antigenului pe receptorul de suprafață (IgM) și determină modificarea receptorului de suprafață prin înlocuirea IgM cu IgG, aceasta având o afinitate antigenică mult mai mare.

Formarea plasmocitelor este rezultatul cooperării limfocitelor B cu limfocitele T și cu macrofagele: consecutiv încorporării antigenilor de către macrofage, prelucrarea lor și transmiterea lor, sub formă imunogenă a limfocitelor T, proteina purtătoare activează limfocitele T de cooperare (Th-T-helper) care vor secreta mediatori solubili nespecifici. Aceștia determină formarea de plasmocite. Limfocitele T controlează cantitativ secreția de imunoglobuline a plasmocitelor [7].

Scopul studiului respectiv constă în studierea modificărilor indicilor leucocitari în diabetul experimental la șobolanii albi de laborator pe fundalul administrării extractului apos din *Calothrix marchica*.

Actualmente, în cercetările științifice ficobiotehnologice se pune un accent deosebit asupra obținerii tulpinilor de alge care pot fi surse de substanțe biologice active. Aceste microorganisme conțin principii bioactive care, la rândul lor, sunt utilizate și în domeniul farmaceutic. În acest context au fost obținute culturi pure de *Spirulina*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Chlorella*, *Ulva*, *Calothrix* etc.

Cercetările în domeniu au evidențiat că cianobacteriile sunt utilizate pe larg în obținerea exopolizaharidelor, substanțelor antioxidante, iar extractele din acestea au efect fungicid, bactericid și bacteriostatic. Unele specii de cianobacterii sunt surse de sulfolipide și glicolipide, care au efect antiviral, fitoalexinele sunt substanțe antimicrobiene, iar malingolidele au efect bactericid pronunțat etc. De asemenea, au un conținut semnificativ de pigmenți, care are un rol decisiv în reglarea proceselor metabolice și în menținerea elasticității membranei celulare.

Unele cianobacterii conțin substanțe cu o valoare biologică ridicată, cum ar fi acizii grași polinesaturați, aminoacizii, proteinele, pigmenții, antioxidanții, vitaminele și mineralele. Polizaharidele de sulfat au activitate imunomodulantă, antitrombotică, anticoagulantă, antimutagenă, antiinflamatoare, antimicrobiană și chiar antivirală împotriva HIV, herpesului și hepatitei.

*Calothrix marchica* Lemm conține o cantitate sporită de lipide (33,70%), care poate fi utilizată în diferite ramuri ale biotehnologiei, și anume – la obținerea substanțelor biologice active precum proteine, lipide, glucide etc. Componenta biochimică a suplimentului nutritiv demonstrează prezența glucidelor, proteinelor, inclusiv (în cantități mai scăzute) a ficoeretrinei, ficocianinei, aloficocianinei și aminoacizilor, antioxidanților și a vitaminelor [8].

Din cele menționate mai sus complexe din plante medicinale au acțiune hipoglicemiantă, accelerează și normalizează metabolismul, regenerează vilozitățile intestinale și detoxifică organismul. În plus, ele au efect antiseptic, dezinfectant, antiinflamator, anestezic, analgezic, antibacterial, antifungic, antibiotic, antiviral și pot stimula regenerarea celulară. Prin efectele benefice, ele asigură combaterea numeroaselor probleme de sănătate și sunt susceptibile să vindece și să amelioreze boala și complicațiile ei.

### Material și metode

Cercetările au fost realizate în cadrul LCS „Ecofiziologie Umană și Animală” și „Ficobiotehnologie” ale Universității de Stat din Moldova. Studiul s-a efectuat pe 80 de șobolani albi de laborator de ambele sexe, cu masa corporală 170-230 g, împărțiți în grupe: una de control (martor) și experimentale (cinci), în decurs de 30 de zile.



Foto 1. Extractul apos de *Calothrix maricica*.

Foto 2. Administrarea biopreparatului.

Veridicitatea rezultatelor obținute a fost demonstrată prin analize clinice și de laborator: analiza indicilor hematologici cu ajutorul analizatorului hematologic Erma PCE 210; testarea glucozei în sânge cu ajutorul glucometrului „On Call Plus”; testarea hormonilor – prin metoda imunofermentativă.

Extractul apos din tulpina de *Calothrix maricica* are următoarele substanțe biologice active: proteine – 14,66%; lipide – 33,7%; glucide – 32,9%. Din concentratul dat au fost făcute diluții cu apă, care apoi au fost centrifugate și din care au fost extrași pigmentii glucidele și proteinele. Soluția administrată a fost diluată de 15 ori și administrată șobolanilor pentru 24 de ore, pe parcursul întregului experiment.

### Rezultate și discuții

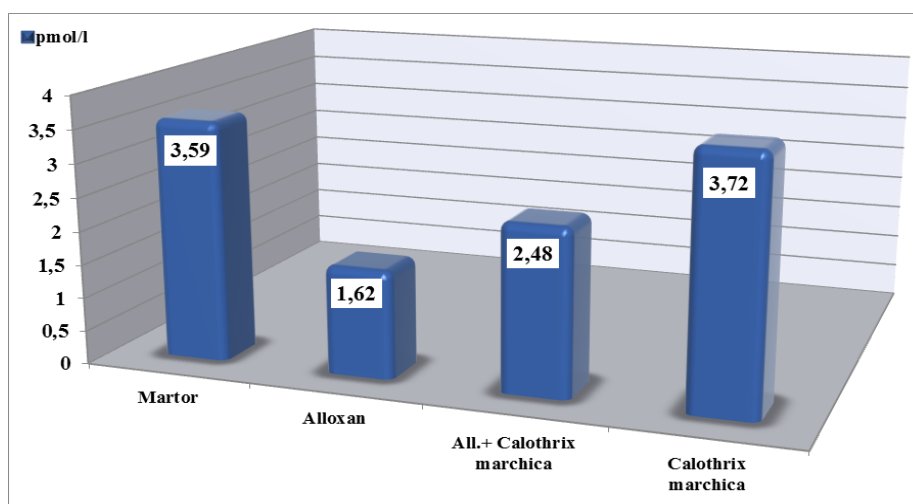
Insulina este cel mai important hormon în metabolismul glucidelor care contribuie în primul rând la micșorarea concentrației glucozei în sânge. Echilibrul dintre producția de glucoză și utilizarea ei este reglat de către o serie de hormoni, sistemul nervos și de semnale metabolice. Insulina joacă rolul principal în acest proces. În stare de foame, secreția insulinei este supresată, ceea ce duce la sporirea gluconeogenezei în ficat și rinichi, precum și la creșterea generării de glucoză prin descompunerea glicogenului din ficat. În stare de săturare, insulina generată și secretată de celulele  $\beta$  pancreatice inversează aceste procese prin inhibiția glicogenolizei și gluconeogenezei, sporind capturarea și utilizarea periferică a glucozei și reducând lipoliza și proteoliza. Rezultatul final este transformarea excesului de glucoză în glicogen, trigliceride și proteine. Dacă în celulele hepatice cantitatea de glucoză este mai mare decât poate fi metabolizată sau stocată în formă de glicogen, insulina condiționează transformarea excesului de glucoză în acizi grași liberi. Acești acizi grași liberi sunt „împachetați” în trigliceride în componența lipoproteidelor cu densitate foarte joasă, transportate în această formă în sânge și depozitate în formă de grăsime în țesutul adipos.

Nu toate tipurile de celule sunt capabile să reducă transportul transmembranar al glucozei în cazul hiperglicemiei, păstrând astfel concentrațiile stabile de glucoză intracelulară. Drept exemple pot fi celulele endoteliale ale capilarelor, celulele retinei, celulele mezangiale ale glomerulelor renale, neuronii și celulele Schwann ale nervilor periferici. Ca rezultat, parvin complicații în forma de retinopatie, nefropatie și neuropatie. Gradul de deteriorare a metabolismului glucidic este influențat atât de sensibilitatea țesuturilor la insulină, cât și de capacitățile de rezervă a celulelor  $\beta$  pancreatice. Rezistența la insulină este o stare în care defectele în acțiunea insulinei sunt de așa natură încât concentrațiile ei normale nu produc semnalul de absorbție a glucozei, ce

rezultă în hiperglicemie menită să mențină starea euglicemică intacelulară. Pancreasul compensează răspunsul redus la insulină prin sporirea secreției de insulină până când necesitățile metabolice nu vor depăși capacitățile lui de rezervă și secreția de insulină nu devine insuficientă. Pe măsura creșterii glicemiei, survine dereglarea toleranței la glucoză și, ulterior, se dezvoltă diabetul zaharat.

În literatura de specialitate sunt descrise o serie de condiții de ordin genetic sau achiziționate, care pot cauza rezistență la insulină. Printre ele se numără obezitatea, sindromul Cushing, sau terapia cu steroizi, acromegalia, sarcina (diabetul gestațional), polichistoza ovariană, lipodistrofia genetică sau dobândită, asociată cu acumularea lipidelor în ficat, autoanticorpi către receptorul insulinei, mutațiile receptorului de insulină, mutații care cauzează obezitatea genetică. Insulina este considerată și un factor de creștere, care stimulează proliferarea celulelor vasculare și sinteza proteinelor de matrice.

În tratamentul diabetului zaharat de tip II cu insulinorezistență și al complicațiilor lui fitoterapia are un rol important pentru ameliorarea și stoparea evoluției bolii. Analizând datele experimentale observăm o reducere a concentrației de insulină în lotul cu diabet experimental până la 1,62 pmol/l, în comparative cu lotul martor – 3,59 pmol/l, însă la lotul unde s-a administrat *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic acest indice este de 2,48 pmol/l, ceea ce demonstrează efect insulinotrop al extractului respectiv prin acțiunea sa directă asupra celulelor  $\beta$  ale pancreasului endocrin, stimulând astfel secreția de insulină.

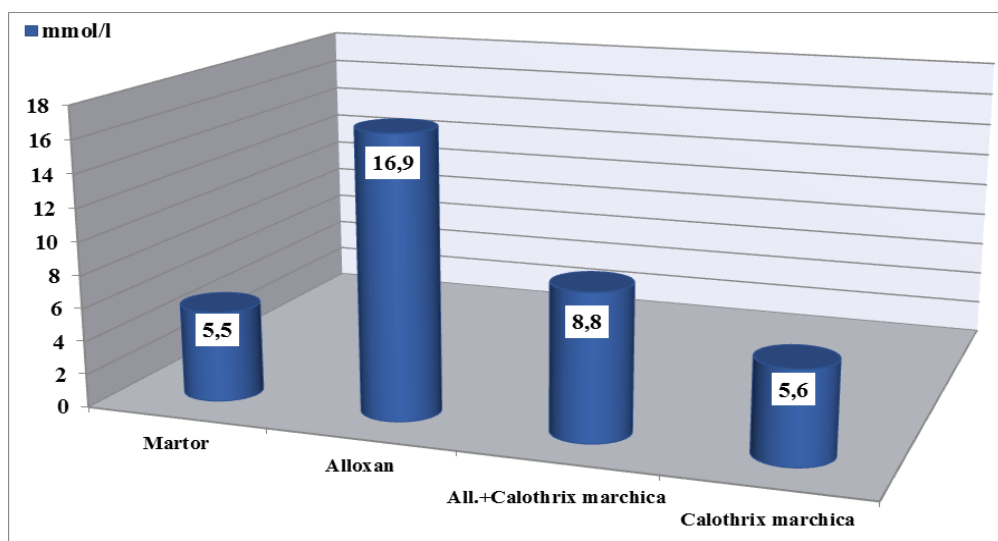


**Diagrama 1.** Nivelul insulinei (pmol/l) în plasma sanguină la administrarea extractului apos din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului experimental.

Preparatele din plante medicinale reproduc efectele terapiei chimice, îmbunătățesc absorbția glucozei de către țesuturi. Putem afirma că extractul apos din *Calothrix marchica* activează funcția celulelor pancreatice  $\beta$ , ceea ce determină majorarea concentrației de insulină. Rezultate asemănătoare au fost obținute în 2009 [9], unde se atestă că nivelul conținutului de insulină diminuează până la 2,25 pmol/l. Prezintă interes rezultatele obținute în lotul mixt, în care conținutul de insulină este de 3,9 pmol/l, în comparație cu lotul în care au fost administrate extrasele din spirulina – 5,88 pmol/l.

Din punct de vedere patogenic, diabetul este o tulburare în metabolismul glucidic, care duce la hiperglicemie și glicozurie. Datorită interconversiunii metabolismelor glucidic, lipidic și proteic la nivelul ciclului Krebs, sunt afectate și ultimele două metabolisme, ceea ce explică simptomele grave ale diabetului. În metabolismul glucidic deosebim 3 procese principale: glicogenogeneza – depunerea la nivelul ficatului a glucozei în glicogen; glicogenoliza – transformarea glicogenului în glucoză, prin hidroliză și mobilizarea lui în sânge după necesitățile gluconeogenezei, adică formarea glucozei din lipide și proteide la nivelul ciclului Krebs [2].

Când insulina este insuficientă cantitativ sau ineficientă calitativ, glucoza nu poate pătrunde în celule, crește în sânge și apare astfel hiperglicemia. Astfel, nivelul crescut al glicemiei a fost observat și în cercetările noastre în lotul cu diabet alloxanic – 16,9 mmol/l, norma fiind de 5,5 mmol/l. Un aspect important se observă în lotul în care s-a administrat extract apos din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic, fiind evidențiată o scădere a nivelului de glucoză până la 8,8 mmol/l.



**Diagrama 2.** Nivelul glicemiei (mmol/l) în sânge la administrarea extractului apos din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului experimental.

Impactul benefic al extractului apos obținut din tulpinile algelor autohtone în tratamentul diabetului zaharat indus s-a demonstrat și în alte cercetări științifice similare [10]. Prin urmare, putem afirma că extractul apos obținut din tulpinile algelor autohtone *Calothrix marchica* posedă particularități specifice și benefice de acțiune biostimulatoare asupra insulelor pancreatice, având un efect hipoglicemiant comparativ cu lotul alloxanic, care prezintă modificări negative asupra insulelor Langerhans.

Hiperglicemia este factorul principal care determină severitatea bolii și este în primul rând consecința insuficienței activității insulinice. Deoarece glucoza este agentul insulinotrop, cel mai important din cadrul organismului, ea joacă un rol important din sistemul glucoză-insulină, iar dereglarea acestui sistem în organism produce un aport crescut al glicemiei.

Astfel, nivelul crescut al glicemiei a fost observat și în cercetările noastre. În acest sens putem menționa că în diabetul experimental nivelul glucozei sangvine crește pe măsură ce conținutul de insulină se micșorează, deoarece în organism are loc reducerea capacității țesuturilor de a asimila glucoza, aceasta fiind consecința diminuării insulinei în plasma sangvină. Pe lângă acest aspect noi am evidențiat și rolul biostimulator al preparatelor vegetale. Astfel putem afirma că pentru a obține un efect pozitiv fitoterapia diabetului zaharat trebuie să aibă loc încontinuu, fără mari întreruperi. Întrebuințarea îndelungată a fitoterapiei îmbunătățește starea generală a bolnavului, scade glicemia, ceea ce permite de a reduce doza preparatelor antidiabetice sau chiar de a exclude folosirea lor. Fitoterapia în multe cazuri protejează bolnavii de afecțiunile sistemului cardiovascular, retinopatiei și ale neuropatiei diabetice, de afectarea rinichilor și ficatului sau îndepărtează apariția lor.

În cadrul preocupărilor de descifrare a mecanismelor patogenetice ale complicațiilor ce apar în diabet s-a acordat și continuă să se acorde un interes major modificărilor hematologice. În cercetările noastre am studiat influența extractelor din plante asupra stării funcționale a sistemului sangvin și în special asupra leucocitelor.

Starea generală a fiecărui organism este analizată în mod direct de către indicii sangvini, o importanță deosebită având leucocitele, ceea ce, reieșind din studiile efectuate, relatează rolul imunității celulare în patogeniza diabetului zaharat. Modificările imunității celulare pot fi în relație cu anumite schimbări metabolice, ceea ce a servit ca bază pentru cercetarea statutului leucocitar al organismului. Leucocitele prezintă unele anomalii în cursul diabetului zaharat. Astfel, se observă modificări privind adezivitatea, migrarea, chemotoxia, fagocitoza. Leucocitele au un rol important în eliminarea hematoamelor și descompun hemoglobina din hematiiile distruse, iar rolul lor principalul este de a apăra organismul împotriva unor factori străini. Creșterea numărului de leucocite reprezintă un semnal de alarmă, deoarece acest fapt indică existența unui focar de infecție în organism [11].

Cercetările noastre au determinat că numărul leucocitelor crește în lotul cu diabet alloxanic până la  $8,42 \cdot 10^9$  1/l în raport cu martorul –  $6,07 \cdot 10^9$  1/l. O tendință de normalizare se observă în lotul mixt, unde pe fondalul diabetului experimental s-a administrat extract apos din *Calothrix marchica* –  $7,08 \cdot 10^9$  1/l. Numărul majorat de leucocite la etapele inițiale ale diabetului demonstrează lupta organismului pentru menținerea homeostazei

în cadrul patologiei respective. Iar administrarea extractului apos bogat în substanțe biologic active din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic mărește considerabil capacitatea de rezistență a organismului față de modificările survenite pe fondalul acestei patologii.

Tabel 1

Influența extractului apos din *Calothrix marchica* asupra formulei leucocitare în diabetul experimental

Indicii	Martor	Alloxan	<i>Calothrix marchica</i>	<i>Calothrix marchica</i> + Alloxan
Numărul (n)	20	20	20	20
Leucocite ( $\bullet 10^9/l$ )	6,07± 0,74	8,42 ± 0,56	6,29± 0,68	7,08 ± 0,49
Limfocite ( $\bullet 10^9/ly/l$ )	3,95± 0,27	5,08 ± 0,19	4,01 ± 0,24	4,42 ± 0,31
Monocite ( $\bullet 10^9mo/l$ )	0,97± 0,15	1,61± 0,08	1,11 ± 0,17	1,32 ± 0,12
Granulocite ( $\bullet 10^9gr/l$ )	1,15± 0,14	1,73 ± 0,05	1,17 ± 0,11	1,34± 0,10

Asemenea rezultate au fost obținute și în urma cercetărilor științifice [12] efectuate la USM în 2013. Acest studiu denotă o majorare a numărului de leucocite în lotul cu administrare de alloxan, atingând valoarea de  $10,56 \cdot 10^9$  l/l față de lotul martor, ceea ce constituie  $6,56 \cdot 10^9$  l/l. Prezintă interes lotul mixt, a cărui valoare constituie  $6,96 \cdot 10^9$  l/l în comparație cu lotul Alloxan, ceea ce denotă activitatea benefică a substanțelor biologic active din extractul apos algal autohton. Astfel, în etapele tardive ale evoluției diabetului are loc o reducere a imunității, fiind urmată de o micșorare a numărului de leucocite, iar creșterea numărului leucocitelor coincide cu debutul disfuncțiilor vasculare diabetice. La administrarea șobolanilor cu diabet experimental a unor fitopreparate (precum, de exemplu, murul) a fost determinată o suprimare a aderării leucocitare și, ca urmare, bariera hemoretiniană este restabilită și este prevenită lezarea endotelială.

Din literatura de specialitate [13] cunoaștem că limfocitele au origine în diferite țesuturi (ganglioni limfatici, splină, amigdale, măduva osoasă roșie). Cea mai mare parte a limfocitelor intră în sânge prin vasele limfatice. O mică parte se pierde în lumenul intestinal și în plămâni, altele sunt fagocitate, iar cele mai multe, după ce vin în contact cu antigenele specifice, proliferază intens și unele dintre ele se transformă în celule producătoare de anticorpi, fiind răspândite în țesuturile organismului.

Cercetările noastre au semnalizat rezultate inedite asupra modificării numărului de limfocite, ceea ce denotă consecințele influenței extractului apos din *Calothrix marchica* în diabetul experimental. Astfel, s-a observat o creștere a limfocitelor în diabetul alloxanic până la  $5,08 \cdot 10^9$  l/l, în comparație cu lotul martor –  $3,95 \cdot 10^9$  l/l. Administrarea extractului din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic duce la o normalizare parțială a limfocitelor în perioada de debut, numărul cărora atinge valoarea de  $4,42 \cdot 10^9$  l/l. Aceste modificări care survin în decursul progresării diabetului alloxanic reprezintă motivul de bază ce a dus la aprofundarea investigațiilor științifice, ținându-se cont de necesitatea elaborării metodelor și procedurilor de menținere dirijată a organismului bolnav.

Rezultatele expuse mai sus, precum și investigațiile realizate în procesul experimental și de alți cercetători, ne permit să constatăm că în cazul diabetului alloxanic are loc o creștere a limfocitelor, iar administrarea extractului apos din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic menține acest indice în limitele normei, astfel contribuind la normalizarea acestei patologiei.

Limfocitele asigură și reglează imunitatea celulară și umorală a organismului. Scăderea și creșterea acestui indicator leucocitar în plasma sangvină asigură protejarea și buna funcționare a organismului. Creșterea numărului acestui indicator leucocitar în cadrul lotului experimental Alloxan denotă apariția maladiei și pornește lupta pentru apărare a organismului. Normalizarea numărului limfocitelor în plasma sangvină se datorează extractului cercetat datorită proprietăților hipoglicemizante și imunomodulatoare, care măresc considerabil capacitatea de rezistență, prin reorganizarea leucocitară în modificările survenite pe fondalul diabetului alloxanic.

În ceea ce privește influența diabetului zaharat asupra monocitelor, actualmente există argumente referitor la repercusiunile sale asupra numărului lor. Monocitele sunt celule mari, cu granulații foarte fine care se transformă în macrofage și fagocitează intens bacteriile și resturile celulare mai mari. Monocitele circulă prin sângele periferic înainte de a migra în țesuturi, unde se transformă în macrofage. Monocitele, macrofagele și celulele endoteliale posedă receptori cu o mare afinitate pentru produșii finali de glicare (Advanced Glycation End Products – AGE).

Prođușii finali de glicare reprezintă un grup heterogen de substanțe care rezultă din reacția neenzimatică între glucoză – pe de o parte, proteine, lipide și acizi nucleici – pe de altă parte. AGE joacă un rol esențial în dezvoltarea complicațiilor diabetului și sunt produși în cantități crescute datorită glicemiei ridicate. Dar AGE nu sunt produși doar în organism, o bună parte a lor provenind din aportul alimentar. Concentrația de AGE în alimente este cu atât mai mare, cu cât perioada de pregătire termică este mai lungă și temperatura este mai ridicată. AGE se leagă de receptorii macrofagici, determinând creșterea secreției de interleukine, a factorului de creștere insulin-like și a TNF-alfa. În timp ce legarea de celulele endoteliale determină efecte procoagulante care duc la tromboze și vasoconstricție focală, formarea AGE în țesutul conjunctiv crește riscul modificării conținutului de monocite în diabet [11].

Cercetând numărul monocitelor, s-a observat o creștere a lor de la  $0,97 \cdot 10^9$  mo/l (norma) până la  $1,61 \cdot 10^9$  mo/l în lotul cu diabet experimental. Iar la administrarea extractului apos din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului experimental numărul de monocite se menține la un nivel mai redus –  $1,32 \cdot 10^9$  mo/l. Aceasta este încă o dovadă a rolului bioactiv al extractului apos din *Calothrix marchica* asupra indicilor hematologici în diabetul zaharat experimental.

Monocitele reprezintă celule sangvine care fac parte din sistemul imun al organismului cu funcția de apărare, de fagocitoză, declanșând un răspuns imun asupra unei anumite afecțiuni. Monocitele migrează din sânge spre țesuturi, unde se transformă în macrofage tisulare. Compoziția cantitativă a anumitor tipuri de leucocite din sângele periferic, îndeosebi monocitele, caracterizează starea funcțională a sistemului hematopoietic. Modificările acestuia se pot datora bolilor sistemului sangvin și reacției aparatului hematopoietic la dezvoltarea unei largi varietăți de afecțiuni patologice, precum și a diabetului zaharat. Scăderea numărului de monocite pe fondalul administrării extractului apos din *Calothrix marchica* se datorează acțiunii biostimulatoare a indicilor hematologici și, îndeosebi, asupra monocitelor și capacității imunostimulatoare, de echilibrare și de fortificare a activității sistemului imun prin intermediul complexului biochimic de fitonutrienți. În diabetul alloxanic, creșterea numărului de monocite în sânge prezintă un semnal de alarmă care și duce la apariția tulburărilor metabolismului glucidic.

Rezultatele expuse în literatură, precum și investigațiile realizate în procesul experimental, ne permit să constatăm că, paralel cu creșterea monocitelor menționate mai sus, în diabetul alloxanic mai persistă și creșterea numărului de granulocite.

Cercetând nivelul granulocitelor în diabetul alloxanic, am observat creșterea lor, proces numit granulopoieză. Acest proces are loc la nivelul măduvei osoase, considerându-se că granulocitele neutrofile, eozinofile și bazofile urmează același model de proliferare, diferențiere, maturare și eliberare în sânge. În afara măduvei osoase, granulocitele neutrofile se găsesc în țesuturi, circulante la nivelul vaselor de sânge și marginale, care aderă la endoteliul vascular. Creșterea neutrofilelor circulante se datorează fie eliberării din măduva osoasă, fie mobilizării neutrofilelor marginale.

Astfel, această creștere în diabetul experimental este de  $1,73 \cdot 10^9$  gr/l, în comparație cu lotul martor –  $1,15 \cdot 10^9$  gr/l. În lotul unde s-a administrat extract din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic acest indice este  $1,34 \cdot 10^9$  gr/l. Deci, administrarea extractului din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului alloxanic duce la normalizarea granulocitelor prin menținerea homeostaziei glicemice în limitele noirmei. Comparând rezultatele noastre cu cele obținute de alți cercetători, putem afirma că numărul de granulocite în diabetul alloxanic cunoaște o oarecare creștere, însă s-a observat că la administrarea remediilor fitonutriționale pe fondalul diabetului experimental are loc o echilibrare semnificativă a granulocitelor.

Granulocitele sunt cel mai numeros tip de leucocite, joacă un rol major în apărarea antiinfecțioasă primară a organismului prin fagocitarea și digestia microorganismelor, iar activarea lor necorespunzătoare poate duce la lezarea țesuturilor normale ale organismului prin eliberarea de enzime și agenți patogeni.

Modificările hematologice survenite în diabetul zaharat este o problemă de mare interes în prezent. Cercetările efectuate de noi pe baza extractului din *Calothrix marchica*, precum și studiile efectuate de alți cercetători pe baza complexelor din plante medicinale, scot în evidență efectul benefic al fitopreparatelor asupra indicilor hematologici în această patologie. Comparând rezultatele noastre cu cele obținute de alți cercetători, putem afirma că indicii leucocitari în diabetul alloxanic cunosc unele modificări, însă la administrarea remediilor fitoterapeutice pe fondalul acestei patologii are loc o echilibrare semnificativă a lor.

Folosirea remediilor bazate pe plante a devenit o ramură bine determinată a medicinei moderne. Tratatamentul bolilor pe bază de plante medicinale stimulează sistemul de apărare al organismului, astfel încât, în esență, corpul luptă singur împotriva maladiei, ceea ce reprezintă o abordare holistică. Totuși, trebuie să ținem cont de faptul că nu toate organismele au aceeași capacitate de autovindecare și că nu răspund în



aceiași mod la stimulii tratamentelor naturiste. Medicina naturistă se poate dovedi insuficient de puternică în anumite afecțiuni și nu se potrivește neapărat tuturor. Cu toate acestea, putem menționa, în baza rezultatelor noastre, că plantele medicinale alături de medicația de bază ameliorează situația persoanelor ce suferă de diabet zaharat de tip II și îndepărtează apariția complicațiilor care pot afecta toate organele și sistemele de organe.

### Concluzii

Rezultatele investigațiilor denotă că extractul apos din *Calothrix marchica* posedă proprietăți hipoglicemice și insulinotrope având, deci, un rol important în menținerea glicemiei și, respectiv, în stoparea apariției complicațiilor în diabetul experimental.

Diabetul zaharat afectează toate organele și sistemele de organe, printre care și sistemul sanguin – cele mai sensibile primar fiind leucocitele. Administrarea extractului apos din *Calothrix marchica* mărește considerabil capacitatea de rezistență a organismului, prin reorganizarea leucocitară față de modificările survenite pe fondalul diabetului alloxanic.

### Referințe:

1. CHITIC, T. *Repercusiunile diabetului alloxanic asupra unor parametri fiziologici sub influența extractelor medicinale din plante medicinale*: Autoreferatul tezei de doctor în științe biologice. Chișinău: CEP USM, 2009, p.3-19.
2. BACALOV, Iu., CRIVOI, A. *Fitoterapia în dereglările metabolismului glucidic: Îndrumar instructiv metodic pentru studenți*. Chișinău: CEP USM, 2009, p.9.
3. ЕРШОВ, Н., КОРСУН, В., КОРСУН, Е., ОГРЕНИЧ, Н., ТРУМПЕ, Т.Е. *Фитотерапия против диабета. Травы жизни*. Москва: ЗАО Центрполиграф, 2016, с.14-54.
4. CORCIMARU, I. *Hematologie clinică*. Chișinău, 2001, p.200-250.
5. BEFUS, D., DENBURG, J. Basophilic Leukocytes: Mast Cells and Basophils. In: *Wintrobe's Clinical Hematology*. Lippincott, Williams, and Wilkins, Philadelphia, 11 ed., 2004, p.336-345.
6. ALBERTS, B., JOHNSON, A., LEWIS, M., etc. Leukocyte also known as macrophages functions and percentage breakdown. In: *Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science, 2002.
7. WEINBERG, B. Mononuclear Phagocytes. In: *Wintrobe's Clinical Hematology*. Philadelphia, 2004, p.349-377.
8. TROFIM, A., ȘALARU, V., ZOSIM, L., etc. Cyanobacterium *Calothrix Elenkinii* Kossinsk. In: *A Promising Source of Bioactive Compounds. International Scientific conference on Microbiol. biotechnology*. Ed. 3. Chișinău, 2016, p.159.
9. GHERMAN, I., GOROȘCIUC, T., BACALOV, Iu. etc. Influența *Spirulinei platensis* asupra pancreasului endocrin pe fondul diabetului experimental. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe Reale și ale Naturii”*, 2010, nr.1(31), p.139-141.
10. BACALOV, Ir. Interrelația pancreas endocrin – corticosuprarenale în diabetul experimental pe fondalul administrării spirulinei crescute pe ape reziduale de la complexe de bovine. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe Reale și ale Naturii”*, 2014, Nr.6(76), p.28-34.
11. MINCU, I. *Diabetul zaharat și sângele*. București: Editura Viața medicală, 1978, p.225-247.
12. BACALOV, Iu., BACALOV Ir., DOBROJAN, S. Formula leucocitară în diabetul experimental pe fondul administrării extractului din Spirulină crescută pe ape reziduale. În: *Buletin Științific. Revistă de Etnografie. Științele Naturii și Muzeologie*, 2013, vol.18(31), p.112-117.
13. PĂUN, R. *Medicina internă. Hematologie. Partea I*. București: Editura Medicală, 1997, p.16- 28, 146-174.

**Notă:** Articolul a fost publicat în cadrul expresiei de interes „Modularea statusului imunitar cu ajutorul principiilor bioactive naturale pentru prevenirea și profilaxia infecțiilor acute în contextul pandemiei COVID-19”, cu cifrul 20.70086.06/COV(70105).

### Date despre autori:

**Iurie BACALOV**, doctor în științe biologice, conferențiar universitar, Universitatea de Stat din Moldova.

**E-mail:** iurabacalov@mail.ru

**ORCID:** 0000-0002-1651-9056

**Adriana DRUȚA**, cercetător științific în LCS „Ecofiziologie Umană și Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.

**E-mail:** druta.adriana@mail.ru

**ORCID:** 0000-0002-5961-6518

**Alina TROFIM**, cercetător științific superior în LCS „Ficobiotehnologie”, Universitatea de Stat din Moldova.

**E-mail:** alinatrofim@yahoo.com

**ORCID:** 0000-0003-4557-9602

Prezentat la 02.12.2020