

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “Gr. T. POPA” IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ**



**REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT**

**REECHILIBRAREA APITERAPICĂ A PROTEINELOR PLASMATICE.
IMPORTANȚA SA ÎN TRATAREA AFECȚIUNILOR AUTOIMUNE
MOȘTENITE SAU DOBÂNDITE**

**Conducător științific,
PROF. UNIV. DR. ELENA CARMEN COTRUTZ**

**Doctorand,
VASILE ANDRIȚOIU**

IAȘI, 2012

CUPRINS

În loc de introducere: Întoarcerea la natură.....	1
PARTEA GENERALĂ	
Cap. I. Imunitatea între empiric și știință.....	2
Cap. II. Sistemul imun.....	2
Cap. III. Răspunsul imun.....	2
Cap. IV. Bolile autoimune.....	2
Cap. V. Potențialul imunomodulator al apiterapiei.....	3
PARTEA A II-A. CONTRIBUȚII PERSONALE	
Cap. VI.1. Obiectul, scopul și metodologia cercetării.....	5
VI.1. Motivația cercetării.....	6
VI.1. Ipoteze de lucru.....	5
VI.2. Obiectul cercetării.....	5
VI.3. Scopul cercetării.....	6
VI.4. Material și metodă.....	6
Cap. VII. STUDIU CLINIC PRIVIND RECONSIDERAREA VALORILOR NORMALE ALE PROTEINELOR TOTALE, ELECTROFOREZEI PROTEINELOR SERICE ȘI CALCIULUI IONIC ÎN DIAGNOSTICAREA BOLILOR AUTOIMUNE.....	6
VII.1. Obiectul și scopul studiului.....	6
VII.1.1. Motivația cercetării.....	6
VII.1.2. Ipoteze de lucru.....	7
VII.1.3. Obiectul cercetării.....	7
VII.1.4. Scopul cercetării.....	8
VII.1.5. Materialul cercetării. Metoda și prelucrarea statistică a rezultatelor.....	8
VII.2. Proteinele plasmatice totale: valori reale în autoimunitate.....	8
VII.2.1. Raportul A/G controlează cantitativ și calitativ proteinele totale.....	9
VII.2.2. Electroforeza proteinelor serice.....	12
VII.2.3. Albumina în autoimunitate.....	12
VII.2.4. Raportul A/G și albumina în autoimunitate.....	12
VII.2.5. Raportul A/G albumina și globulinele în autoimunitate.....	12
VII.3. Calciul și albumina în bolile autoimune.....	15
VII.4. Cazuri clinice care ilustrează necesitatea electroforezei.	16
VII.5. Un caz de hipoalbuminemie familială.....	20
VII.6. Oprirea medicală: orosomucoidul.....	21
VII.7. Propuneri privind valorile normale ale analizelor discutate.....	21
VII.8. Concluzii	22
Cap. VIII. STUDIU CLINIC CENTRALIZAT PRIVIND REECHILIBRAREA PROTEINELOR PLASMATICE PRIN REECHILIBRAREA APITERAPICĂ A RAPORTULUI A/G, METODĂ DE TRATAMENT ÎN BOLILE AUTOIMUNE.....	22
VIII.1. Materialul cercetării.....	22
VIII.2. Ipoteze de lucru.....	23
VIII.3. Obiectul și scopul cercetării.....	23
VIII.4. Metodologia cercetării. Prelucrarea statistică a rezultatelor.....	23
VIII.5. Discutarea comparativă a rezultatelor.....	23

VIII.5.1. Influența vârstei și lipidemiei asupra reechilibrării A/G și PT.....	26
VIII.6. Apiterapie și apiterapice în autoimunitate.....	30
Cap. IX. STUDII CLINICE MONOGRAFICE PRIVIND POTENȚIALUL PROFILACTIC ȘI TERAPEUTIC AL APITERAPICELOR ÎN BOLILE AUTOIMUNE.....	33
IX.1. Material, scop și metodă.....	33
IX.2. Comun în autoimunitate.....	33
IX.3. Rezultate și discuții	33
IX.4. Cazuri clinice de boli autoimune.....	35
IX.4.1. Profilaxia astmului bronșic infantil.....	35
IX.4.2. Sindromul anticorpilor antifosfolipidici.....	36
IX.4.3. LES și hepatită autoimună iatrogenă.....	37
IX.4.4. LES și artrită psoriazică.....	37
IX.5. Premieră medicală: negativarea infecțiilor cu HUMAN PAPILLOMA VIRUS.....	38
IX.5.1. Material și metodă.....	38
IX.5.1. Obiective și scop.....	38
IX.5.3. Infectarea cu Human Papilloma Virus.....	38
IX.5.4. Profilaxia prin vaccinul Silgard. Risc și beneficiu.....	38
IX.5.5. Cele mai frecvente tulpini ale HPV detectate în infecții.....	39
IX.5.6. Discutarea rezultatelor intervenției apiterapice.....	41
IX.5.7. Cazuri clinice de apiterapie a infecțiilor cu HPV.....	42
IX.6. Apiterapia hepatitelor și cirozelor.....	42
IX.6.1. Material și metodă.....	42
IX.6.2. Obiective și scop.....	43
IX.6.3. Autoimunitatea în domeniul hepatitelor și cirozelor.....	43
IX.6.4. Intervenția apiterapice în tratarea hepatitelor.....	43
IX.6.5. Rezultate și discuții	44
IX.6.6. Cazuri clinice. Hepatite și ciroze.....	45
IX.6.7. Concluzii privind relația PT-PS în hepatite.....	47
Concluzii finale.....	47
Aspecte ale originalității tezei.....	50
Bibliografie selectivă.....	50

ÎN LOC DE INTRODUCERE: ÎNTOARCEREA LA NATURĂ

Dezvoltarea fără precedent a științelor, inclusiv a celor medicale, a putut crea, pentru un timp limitat însă, printr-o abstractizare ascendentă, impresia nu neapărat suficient conștientizată, a unei *ruperi de natură*, a unor lumi paralele: societate și natură. Astfel, natura a putut fi privită doar ca un mediu natural ambiental și, evident, ca o sursă de materiale și materii, suport al tuturor structurilor socio-economice umane. O privire de ansamblu asupra naturii, sumară desigur, ar putea evidenția doar pământul și viețuitoarele sale: plante și animale. Folositoare și nefolositoare.

Chiar dacă materialele, materiile, substanțele preluate din natură sunt cunoscute în cvasitotalitatea lor, științele, în căutarea celor mai variate răspunsuri la problemele cele mai diverse, s-au întors înspre modelele naturale, de la care împrumută idei. Dar nu numai idei. La începuturile acestei întoarceri înspre natură s-au împrumutat spre exemplu forme, ca acelea pentru avioane sau nave maritime, de la păsări și animalele marilor. S-au căutat materiale rezistente, concretizate, spre exemplu, în încercările de reproducere industrială a structurii pânzei de păianjen. Așa au apărut preocupări care au dat naștere la încă două științe cu largi ramificații: biomimetica, recunoscută ca știință în 1917- și bionica, devenită știință în 1960 (Chiriță Gh., Chiriță M., 2009). „Pe parcursul vieții lor – spun cei doi autori -, atât plantele, cât și animalele au evoluat...soluționând probleme pe care, astăzi, cu alte mijloace, încearcă să le rezolve oamenii de știință. Plantele și animalele au dat soluții optime... la probleme existențiale.”

Știința se îndreaptă tot mai mult înspre cercetarea biosubstanțelor – unele imposibil sau dificil de reprodus în laboratoare - care au făcut posibile adaptabilitatea și funcționalitatea din lumea plantelor și animalelor.

Momentul în care medicina a părut a se desprinde de natură, a fost acela în care se înființau drogheriile și spițeriile, adică farmaciile contemporane. Farmacognozia și farmacologia, a căror sursă de substanțe - materia primă - rămâne natura, alături de biochimia și biologia moleculară și celulară, căutând să rezolve probleme legate de impasurile medicinei clinice, au început să caute, în natură, nu numai substanțe, ci și modele de biomolecule, de biocompozite, de noi structuri micro- și macromoleculare. Nanotehnologiile de ultimă oră au făcut posibilă ajungerea la terapiile inteligente, folosindu-se biomateriale capabile de recunoaștere moleculară, care pot forma complexe moleculare specifice cu cele proprii organismului uman.

Toate organismele vii sunt alcătuite din celule, unități structurale ale materiei vii, în care se desfășoară metabolismul. Iar pentru asigurarea unui metabolism fiziologic normal, în limitele a ceea ce se numește homeostazie, toate organismele vii, inclusiv omul, au nevoie de oferta biochimică a naturii, ofertă exprimată în: proteine, glucide, lipide, minerale etc.- ca atare sau la nivel de biomolecule. Biomimetica, bionica, biotehnologiile la nivel de nanotehnologii, biomedicina, stârnesc tot mai mult interesul oamenilor de știință, interes materializat în aplicații practice și în numărul crescând de cărți și studii care li se dedică. Din uriașa zestre de biomolecule existente în natură, o parte însemnată a acestora le sunt transmise oamenilor prin plante și animale. Oricine studiază biochimia produselor apicole, nu poate să tragă decât o singură concluzie: cea mai complexă și mai completă transmitere a substanțelor existente în natură, inclusiv la nivel de biomateriale, dar mai ales ca biomolecule o face **ALBINA**.

PARTEA GENERALĂ

Cap. I. IMUNITATEA ÎNTRE EMPIRIC ȘI ȘTIINȚĂ

Sănătatea și boala au fost și sunt o preocupare majoră a umanității din cele mai vechi timpuri. Față de bolile contagioase, oamenii au căutat mijloace de protecție empirice. În secolul XI î.Hr., în China, prin scarificarea mucoasei nazale, copiilor li se inocula pulbere de la crustele de puroi în care se afla virusul variolei. În Europa, practica variolizării a fost adusă în 1418 de Mary Wortley Montague, soția ambasadorului Angliei în Turcia. În anul 1789 medicul englez Edward W. Jenner a imunizat un copil administrându-i virusul variolic recoltat de pe ugerul unei vaci (a fost prima vaccinare). Întemeietorul imunologiei medicale moderne este considerat Louis Pasteur. În ultimul deceniu al secolului XIX s-au descoperit anticorpii serici, punându-se bazele cunoașterii imunității la nivel umoral. Până la începutul secolului XX se credea că reacțiile imune ale organismului uman pot fi numai benefice, fiind un răspuns la agresiunea antigenelor exogene. În anul 1902 însă, Charles Richet și P. Portier au demonstrat că anticorpii pot ataca propriile celule și țesuturi, devenind autoanticorpi. Astfel apare noțiunea de boli autoimune.

Cap. II. SISTEMUL IMUN

Sistemul imun, unul dintre cele mai complexe sisteme ale organismului, este format din organele limfoide, precum și din celule și molecule cu o mare diversitate de funcții.

Organele sistemului imun, ontogenic și funcțional, au fost împărțite în două grupe: organe limfoide primare (timusul și măduva osoasă) și organe limfoide secundare (ganglionii limfatici, splina, apendicele, amigdalele și plăcile Peyer).

Celulele sistemului imun își au originea în celula stem (imunologul Andrei Olinescu o compară cu “albina matcă” a coloniei de albine); rezistentă la acțiunea citostaticelor, este foarte sensibilă la acțiunea radiațiilor): celulele seriei granulocitare și celulele seriei limfoide. Moleculele sistemului imun, de o mare diversitate, transmit mesaje informaționale, dar intervin și activ în funcțiile imunității (ca molecule fixe și molecule libere).

Cap. III. RĂSPUNSUL IMUN

Organismul uman, în confruntarea cu antigenele (răspunsul imun), poate fi în starea de: imunitate, imunosupresie sau autoimunitate.

Imunitatea poate fi înăscută (specifică și nespecifică), sau dobândită – care se poate instala pasiv sau artificial. În imunitatea fiziologică, anticorpii antigenele proprii (self), pe care le tolerează, ca și antigenele străine (non-self), pe care le neutralizează prin efectorii umorali și celulari ai răspunsului imun.

Imunosupresia (imunodepresia) este acea stare a organismului, de a nu putea reacționa, celular sau umoral, la contactul cu antigenele, răspunsul imun fiind insuficient sau absent (imunocompromis), fie congenital, fie dobândit pe diverse căi.

Autoimunitatea este starea în care efectorii imunității nu mai fac deosebirea între non-self și self, anticorpii devenind autoanticorpi care acționează împotriva propriilor celule, țesuturi și organe.

Cap. IV. BOLILE AUTOIMUNE

Cercetările interdisciplinare, fundamentale și de medicină clinică, au făcut, timp de peste un secol, un domeniu de interes deosebit din cunoașterea bolilor autoimune. S-au identificat **cauzele care pot determina debutul bolilor autoimune**, iar pe baza acumulării de date, s-au

făcut clasificări ale acestora. O primă clasificare, le împarte în: alergii; boli autoimune cu fond congenital (boli autoimune primare) și boli autoimune dobândite. În funcție de gradul de afectare a unui sau mai multe țesuturi, au fost clasificate în: boli autoimune cu specificitate de organ și boli autoimune fără specificitate de organ (sistemic).

Investigațiile pentru diagnosticul diferențial în bolile autoimune sunt deosebit de complexe și implică mai multe etape: anamneza-simptomatologia afirmativă; examenul fizic; ecografia; fibroscanul; rezonanța magnetică nucleară (RMN); examenul lichidului sinovial; investigații de laborator pentru a evidenția proteinele de fază acută, titrurile autoanticorpilor; celulele lupice (LE), nivelul complexelor imune circulante (CIC); nivelul complementului (C₃, C₄ îndeosebi); crioglobulinele etc.

Strategia terapeutică în bolile autoimune vizează îndeosebi simptomatologia și negativarea autoanticorpilor și proteinelor de fază acută pozitivitate.

Medicația obișnuită include: antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS), corticoterapicele (AIS), imunosupresoarele (Methotrexatul (MTX), Leflunomidul (LF), Sărurile de aur, Hidroxiclorochina, Sulfasalazina, D-penicilamina, Ciclofosfamida, Azathioprina, Ciclosporina A, agenții biologici citokinici (de tipul MAB - Infliximab – un MAB chimeric, Adalimumab – un MAB de tip IgG₁ anti-TNF- α complet uman; receptori solubili de TNF- α : Etanerceptul, receptorul solubil de IL-1, antagoniștii de receptor de IL-1, citokine antiinflamatoare – IFN γ , TGF- β , IL-4, IL-10), agenții biologici non-citokinici, pentru care nu s-au raportat beneficii.

Potențialul de intervenție al acestor agenți terapeutici este limitat de o multitudine de efecte adverse, care merg până la determinarea apariției unor afecțiuni mai grave decât boala inițială, inclusiv a unor noi boli autoimune, iatrogene.

Cap. V. POTENȚIALUL IMUNOMODULATOR AL APITERAPIEI

Apiterapia este știința tratării diverselor afecțiuni umane folosind: 1) produse apicole neprelucrate; 2) combinații ale diverselor produse apicole; 3) extracte din produsele apicole; 4) combinații între produsele apicole sau a extractelor din acestea și extracte din plante, fructe, semințe, minerale solubilizate, vitamine, enzime, hormoni etc.; 5) medicamente apiterapice standardizate. Sunt țări în care apiterapia este practică staționar, (Canada, Franța, Argentina etc.) În România apiterapia se practică ambulatoriu, făcând dificil feedback-ul, ca și posibilitatea unor studii de siguranță și eficiență, precum și întocmirea de studii și statistici. Apelul pacienților la apiterapie se face, de cele mai multe ori, abia atunci când au fost epuizate orice alte căi terapeutice. Într-un șir lung de afecțiuni, apiterapia poate fi terapie suficientă și unică: LES, poliartrită reumatoidă, hepatite, ciroze, boli autoimune, infertilitate feminină și masculină, endometrioze, dislipidemii, diverse disproteinemii, infecțiile virale cu Human Papilloma Virus (HPV) etc. Apiterapia nu poate fi confundată cu consumul obișnuit, desigur benefic, al unor produse apicole. Recomandarea administrării apiterapicelor trebuie să se facă numai de către specialiști. Aparent inofensive, apiterapicele administrate necorespunzător pot să aibă unele efecte secundare.

Pot fi sintetizate câteva **considerente pentru care apiterapia și apiterapicele intervin benefic în tratarea autoimunității**: 1) au efect binom – sunt, simultan, aliment și medicament; 2) nu creează dependență; 3) nu au contraindicații și nici efecte secundare adverse dacă sunt administrate corespunzător; 4) conțin, în sinergie de prezență și de acțiune, toate elementele care intră în biostrucura celulei umane; 5) conțin biomolecule identice cu cele exocitate în mediul extracelular (MEC) de către celula umană, ori necesare homeostaziei celulei, pe care aceasta le preia din mediul extracelular fără nici o intervenție la nivelul biosintezei organice; 6) au o inegalabilă capacitate profilactică; 7) sunt superioare oricăror agenți terapeutici farmacochimici prin biocompatibilitate.

Produsele apicole (miere, polen , păstura, lăptișor de matcă , apilarnil, propolis, descăpăcitură, venin și ceară), prin spectrul extrem de larg al substanțelor pe care le conțin, pot concura cu cea mai aprovizionată farmacie. **Sunt substanțe care, îndeosebi la nivelul biomoleculelor, farmacochimia le poate prelua ca atare, dar nu le poate reproduce!**

Albina face cea mai completă și mai echilibrată transmitere a substanțelor din natură către om, produsele apicole - și prin acestea, apiterapicele – conținând: **toți aminoacizii esențiali și neesențiali** din structura tuturor proteinelor - ca holoproteine și heteroproteine -, dar și ca biomolecule de holoproteine și heteroproteine utilizabile intracelular și extracelular fără vreo prelucrare, fapt de o importanță excepțională în cazul deficiențelor metabolice umane; **lipide:** sub cele mai diverse forme: acizi grași, gliceride, fosfogliceride, sfingolipide, compuși steroidieni, sau suportul formării lipidelor (inclusiv pentru colesterol, acizi biliari, terpene, acizi alifatici superiori, carotenoizi etc.); unele lipide sunt oferite sub forma biomoleculelor direct utilizabile de către organismul uman, fără nici o prelucrare; **glucide** direct asimilabile: toate cele care au un rol biologic uman la nivel celular și extracelular, inclusiv cele care intră în structura glicolipidelor, proteoglicanilor și glicoproteinelor; **hormoni-** androgeni, estrogeni, somatohormoni, somatomedine etc., ca și precursorii hormonal caracteristici organismului uman; **vitamine:** toate cele cunoscute, dar și toate substanțele precursorare, necesare biosintezei lor de către organismul uman; **factori vitamin-like** sau substanțe care intră în structura acestora: colină (o amină – $C_5H_{15}O_2N$, cu acțiune vitaminică), carnitină (numită și vitamina T), mioinozitol (considerat și ca fiind un membru al grupului vitaminelor B), ubiquinone (coenzime cu acțiune vitaminică, cea mai cunoscută fiind coenzima Q_{10} : CaQ_{10}); bioflavonoizi cu rol inclusiv vitaminic (ca flavanoli, flavanone, flavone, flavonoli, flavine etc.); **factori cu acțiune insulin-like:** IGF-I; o peptidă de tip insulină, vitaminele B8, E, C; mineralele Se, Zn, Vn, Cr, Ca; proteine, ca albumina în valori homeostazice etc.; **minerale:** toate cele cunoscute ca având un rol în metabolismul uman, ca atare, inclusiv ionizate, dar și în structura unor biomolecule – metaloproteine, metaloenzyme, metalocorticoizi; **enzime și coenzime**, ca biomolecule direct utilizabile, dar și precursorii acestora; bogăția enzimatică a produselor apicole este categoric inegalabilă, enzimele (identificate numai parțial), fiind în număr de peste 800, cele mai importante fiind: diastaza, invertaza, sucraza, zaharaza, catalaza, fosfataza acidă, peroxidaza, superoxid dismutaza (SOD); glucozidaza (α și β), acetiltransferaza, citocrom oxidaza, tirozinaza, monofenol monooxigeza, glicozil-transferaze, lipaze, sucraze, oxidaza acidului ascorbic, inhibina, hialuronidaza, fosfolipaza A etc.; **antioxidanți** – toți cei cunoscuți în științele medicale; **acizi organici:** unii fiind de o importanță remarcabilă inclusiv în tratarea cancerelor, așa cum este acidul 10-hidroxi-2-decenoic sau 9-hidroxi-decenoic, ca și acizii ADN și ARN; acetic, butiric, citric, formic, maleic, oxalic, piroglutamic, lactic, succinic, glicolitic, 2 sau -3 fosfoglicerici, α -cetoglutamic, piruvic, tartric etc.; **compuși aromatici:** precum formaldehida, aldehida acetică, izobutiraldehida, butiraldehida, acetona, metiletiletetona; **alcooli:** izopropanol, etanol, 2-butanol, 4-propanolol, 3-pentanol, izobutanol, 3-metil-2-butanol, 3-metil-1-butanol, n-butanol, alcool β -metilic, 2-metil-1-butanol, alcool feniletic, alcool benzilic; **esteri:** format de metil, format de etil, eter dietilic etc.; **substanțe azotate:** xantina, hipoxantina, geranina, trimetilamina; **factori antibiotici și antigerminativi:** mierea este antiseptică; **factori de creștere:** majoritatea lor provin din polen, apilarnil și lăptișorul de matcă; **amine bioactive, dar și precursorii lor:** histamină, dopamină, noradrenalină, serotonină

Biomoleculele direct utilizabile de către organismul uman, de o diversitate și de o eficiență care ar trebui să facă obiectul unor ample studii la nivel fundamental și clinic includ. Spre exemplu, **peptida MCDP (Mast Cell Degranulating Peptide)**, a cărei standardizare ca medicament, ar putea avea **efecte deosebite de importante în bolile autoimune, dar mai ales în tratarea poliartritelor:** este de 100 de ori mai eficientă decât hidroclorizolul.

Apiterapia, timid și cu multe necunoscute încă, va deveni, fără nici o îndoială, suportul de o valoare inestimabilă al biomedicinii viitorului.

Biomedicina prin apiterapie însă, are nevoie să fie descoperită și ajutată de către biologia celulară și moleculară, veritabilă regină a științelor medicale, în strânsă conlucrare cu biochimia, farmacologia, imunologia etc. Apiterapia oferă arsenalului terapeutic - a ceea ce numim biomedicină clinică - mai mult decât toți macronutrienții și totalitatea biostimulenților sau antioxidanților cunoscuți în științele medicale. Apiterapia oferă mai mult decât biocompatibilități. Apiterapicele oferă identități la nivel de biomolecule.

PARTEA A II-A. CONTRIBUȚII PERSONALE

Cap. VI. OBIECTUL, SCOPUL ȘI METODOLOGIA CERCETĂRII

VI.1. IPOTEZE DE LUCRU

Ipotezele de lucru pentru realizarea cercetării clinice privind eficiența reechilibrării PT prin reechilibrarea PS în diagnosticarea și tratarea bolilor autoimune, congenitale ori dobândite, sunt în strânsă legătură cu obiectul și scopul:

a) debutul bolilor autoimune este precedat de dezechilibrarea proteinelor serice (PS), fapt care determină atât dezechilibrarea proteinelor plasmatiche totale (PT), atât cantitativ (hiperproteinemie sau hipoproteinemie), cât și calitativ (structural): pozitivarea proteinelor de fază acută, pozitivarea autoanticorpilor, creșterea excesivă a sintezei substanței fundamentale, însoțită de hialinizare, fibrozare, amiloidoză, orosomuroid, neoangiogeneză, calcificări etc. La originea dezechilibrării PS se află în scăderea cantitativă a ALB serice, însoțită de scăderea cantității Ca^{2+} , proporțional cu creșterea cantitativă a globulinelor serice (îndeosebi a globulinei γ , deși potențialul de a determina hipoalbuminemie aparține și globulinelor α și β);

b) în nici o boală autoimună nu se poate obține remisia durabilă/definitivă, fără reechilibrarea PT prin reechilibrarea PS, iar reechilibrarea PS, exprimată în valoarea raportului A/G, nu poate avea loc decât prin creșterea sintezei de albumină, creștere care reechilibrează raportul A/G;

c) importanța electroforezei proteinelor serice și a determinării Ca^{2+} , impune introducerea acestora între analizele medicale pentru diagnosticarea și monitorizarea actului terapeutic în autoimunitate, dar și în rândul analizelor medicale de rutină, inclusiv din nevoia de a se institui profilaxia debutului autoimunității;

d) hipoalbuminemia și hipocalcemia ionică, cu dereglarea raportului A/G sunt prezente, raportate la nivelul PT, atât în stările de hiperproteinemie, cât și în stările de hipoproteinemie;

e) ținta apiterapiei ca metodă propusă în terapia bolilor autoimune, ca și cea a apiterapicelor ca agenți terapeutici, este restabilirea potențialul ficatului de sintetiza o cantitate fiziologică de albumină care, în sinergie de acțiune cu o cantitate fiziologică de Ca^{2+} , reechilibrează PS, reechilibrare exprimată în valoarea raportului A/G, conducând astfel la reechilibrarea PT;

g) albumina și Ca^{2+} , în limite homeostazice, au un potențial imunomodulator care depășește net acțiunea tuturor agenților terapeutici întrebuințați curent.

VI.2.OBIECTUL CERCETĂRII

Obiectul cercetării este propunerea unei noi metode de abordare a bolilor autoimune, ca diagnostic, monitorizare și obținere a remisiei definitive. Această abordare face necesară introducerea, între analizele de rutină, a electroforezei proteinelor serice și a determinării calciului ionic. Reevaluarea valorilor normale (limitele de referință) adoptate de laboratoarele de analize medicale pentru PT, PS (albumină/globuline- exprimate în valoarea raportului A/G), Ca^{2+} , astfel încât limitele de referință să excludă valorile la care se pozitivează autoanticorpii și

proteinele de fază acută. Introduse ca analize de rutină, dar la valori real fiziologice, acestea fac posibil încă un act medical pe care îl propunem: **înstituirea profilaxiei în bolile autoimune**. Punerea în discuție a unei noi metode terapeutice – apiterapia, ca și a unor noi mijloace de tratament, apiterapicele. Raportarea unor premiere medicale obținute prin apiterapie în domeniul autoimunității.

VI.3. SCOPUL CERCETĂRII

Pentru că metoda, ca și mijloacele terapeutice întrebuințate în abordarea autoimunității sunt o premieră, scopul cercetării este multiplu:

- 1) ***punerea în discuție a unei noi metode de abordare a autoimunității;***
- 2) ***propuneri pentru cercetarea fundamentală și clinică în domeniul autoimunității;***
- 3) ***propuneri pentru laboratoarele de analize medicale.***

VI.4. MATERIAL ȘI METODĂ

Metodele de prelucrare a datelor cercetării sunt cea aritmetică și comparativă. Aceste metode au fost necesare datorită faptului că cercetarea a inclus analizele medicale pentru loturi numeroase de subiecți (1.200, cap. VII, 120, cap. VIII, 150, cap. IX), pe care le-am considerat suficient de cuprinzătoare pentru argumentarea scopului propus.

Prelucrarea statistică a rezultatelor cercetării, s-a făcut după metodele SPSS 16 și după Microsoft Office Excel 2007.

Am comparat valorile ante- și post-terapie ale analizelor specificate pentru a vedea dacă diferențele înregistrate sunt sau nu semnificative statistic. În acest scop se va folosi un test de comparare între eșantioane perechi, respectiv testul t-pairs sau testul neparametric Wilcoxon.

Pentru a identifica tipul de test pentru care vom opta, verificăm în prealabil dacă diferențele între valorile analizelor ante și post terapie respectă sau nu legea de repartiție normală, folosind testul de fitare Kolmogorov-Smirnov. În cazurile în care legea de repartiție normală este respectată (adică pentru parametrii A/G, albumină, gamaglobulină, Ca total și Ca ionic), vom folosi pentru comparare testul t – pentru perechi, iar pentru celelalte variabile (PT și Colesterol) vom folosi în același scop testul neparametric Wilcoxon.

Cap. VII. STUDIU CLINIC

PRIVIND RECONSIDERAREA VALORILE NORMALE ALE PROTEINELOR TOTALE, ELECTROFOREZEI PROTEINELOR SERICE ȘI CALCIULUI IONIC ÎN DIAGNOSTICAREA BOLILOR AUTOIMUNE

VII.1. OBIECTUL ȘI SCOPUL CERCETĂRII

VII.1.1. MOTIVAȚIA CERCETĂRII

Sunt necesare câteva observații care să clarifice motivele pentru care, în prezentul studiu, propunem reevaluarea valorilor considerate normale ale referințelor de laborator pentru probele biologice puse în discuție. Aplicând metoda apiterapiei în tratarea afecțiunilor autoimune, atenția noastră a fost atrasă de ***discordanța dintre valorile reale ale determinărilor biochimice*** din domeniul vast al autoimunității și ***valorile considerate normale*** de către buletinele emise de diverse laboratoare de analize medicale, privite ca limite de referință pentru o serie de analize: proteinele plasmatice totale (PT), proteinele serice (PS), albumina serică (ALB), globulinele serice, raportul albumină/globuline (A/G), calciul seric total (CaT), calciul seric ionic (Ca²⁺).

Urmare a rezultatelor obținute prin apiterapie, ne-a preocupat și ideea instituirii profilaxiei bolilor autoimune, ca și aceea a obținerii unor remisii definitive. Față de acestea însă, este necesar **să știm care este pragul real al valorilor normale – minim-maxim – pentru analizele de laborator** (menționate mai sus), valoarea lor reală servind clinicianului pentru:

- suspicionarea unei evoluții înspre debutul unor afecțiuni autoimune din cauze congenitale sau dobândite prin acumularea unui anume nivel al disproteinemiei;
- aprecierea pragului disproteinemiei de risc al desecheștrării antigenelor proprii;
- suspicionarea evoluției unei afecțiuni de etiologie exogenă înspre debutul răspunsului imun (ca, spre exemplu, în hepatitele cronicizate cu evoluție înspre fibrozare/cirozare);
- diagnosticul de precizie în bolile autoimune (un număr însemnat de autoanticorpi se pozitivează în mai multe boli autoimune, dar sunt și cazuri de boli autoimune în care nu se pozitivează autoanticorpi);
- identificarea cazurilor de hipoalbuminemie familială, cât și ale celor de imunosupresie (sunt cazuri în care autoimunitatea nu exclude imunosupresia, putând fi simultane);
- monitorizarea eficienței și duratei protocolului terapeutic adoptat, care implică reducerea nivelului disproteinemiei până la un anumit prag al valorilor normale ale analizelor de laborator, cu referire nu numai la anticorpi/autoanticorpi, ci și la proteinele de fază acută pozitive, ca și la reducerea sintezei de proteine fibrilare la limitele fiziologice etc.

VII.1.2. IPOTEZE DE LUCRU

Ipotezele abordării cercetării privind necesitatea reconsiderării valorilor normale ale PT, PS și Ca^{2+} în diagnosticul, protocolul terapeutic, și monitorizarea tratamentului în bolile autoimune pentru obținerea remisiei durabile sau definitive sunt:

- fără reechilibrarea PT nu se poate obține remisia în bolile autoimune;
- reechilibrarea PT nu este posibilă fără reechilibrarea PS;
- reechilibrarea PS, exprimată prin restabilirea în limite fiziologice a raportului A/G, este posibilă numai prin creșterea albuminei la limite fiziologice care să controleze biosinteza globulinelor, complexând biosinteza autoanticorpilor, proteinelor de fază acută pozitive, hialinizarea, fibrozarea, neoangiogeneza etc.;
- albumina nu poate rămâne în limite fiziologice decât în prezența Ca^{2+} în limite fiziologice, împreună cu care crește, scade și acționează sinergic;
- albumina controlează cantitatea de calciu seric care se ionizează, fără a avea influențe sensibile asupra CaT;
- albumina și Ca^{2+} controlează valorile raportului A/G, prin intermediul căruia controlează echilibrul PT;
- **valorile considerate normale** ca limite de referință pentru PT, albumină, globuline și raportul A/G de către laboratoarele de analize medicale **nu corespund realității fiziologice**, fiind necesară, datorită importanței, reșezarea lor în valori care să servească în mod real activității clinicienilor:

VII.1.3. OBIECTUL CERCETĂRII

Determinarea valorilor reale ale PT, PS – albumină/globuline – exprimate prin valoarea raportului A/G, ca și a Ca T și Ca^{2+} . Valorile actuale ale limitelor de referință (minim-maxim), adoptate ca valori normale (deci fiziologice) pentru aceste analize medicale de laborator, nu corespund celor reale. Considerăm valori normale (v.n.) acele valori ale limitelor de referință la care clinicianul poate suspiciiona riscul evoluției înspre autoimunitate, poate diagnostica boala, poate monitoriza eficiența tratamentului, poate aprecia remisia și riscul eventualelor recidive.

VII.1.4. SCOPUL CERCETĂRII

Propunerea unor noi valori normale pentru analizele de laborator menționate mai sus, valori care, exprimate cifric, între limitele adoptate ca fiind minim-maxim, să fie reale fiziologice, astfel încât să excludă suspiciunea autoimunității. Evident, valorile obținute prin analize de laborator trebuie interpretate în context clinic.

Propunerea unei noi metode de abordare a autoimunității: reechilibrarea PT prin reechilibrarea PS, reechilibrare posibilă numai prin restabilirea în limite fiziologice (valori normale) ale albuminei și calciului ionic.

VII.1.5. MATERIALUL CERCETĂRII. METODA ȘI PRELUCRAREA STATISTICĂ A REZULTATELOR

Materialul acestei cercetări este constituit, în exclusivitate, din buletinele de analize medicale prezentate de un lot de 1.200 de subiecți incluși în studiu, buletine care cuprind investigațiile medicale făcute înainte de a recurge la apiterapie.

Criteriile de includere în lotul de subiecți luați în studiu sunt:

- să aibă un diagnostic cert de boală sau de boli autoimune;
- să prezinte analize medicale dintre care să nu lipsească proteinemia, exprimată în valoarea cantitativă a PT, electroforeza proteinelor serice (albumina, globulinele și raportul A/G), calciul seric total (CaT) și Ca^{2+} .

Numai o parte dintre subiecții studiului au prezentat buletine de analize care să cuprindă electroforeza PS și valoarea determinată a calciului seric ionic. Majoritatea dintre aceștia s-au adresat laboratoarelor pentru aceste analize numai la cererea noastră: deci, obișnuit, în strategiile de abordare a bolilor autoimune, nu se solicită aceste analize.

Metoda de lucru adoptată este cea aritmetică și comparativă. Aritmetic, am însumat valorile decelate ale fiecărei probe biologice, iar valoarea totală obținută am împărțit-o la 1.200 (numărul subiecților incluși în studiu), obținând astfel mediile valorilor înscrise în buletinele de analize medicale pentru PT, PS (albumină, globuline, raportul A/G), CaT și Ca^{2+} . Pentru a obține rezultate cât mai apropiate de realitate, am recurs la buletinele de analize medicale eliberate de Laboratoarele Synevo, la ale căror limite de referință pentru fiecare probă biologică, considerate valori normale (v.n.), raportăm întregul studiu.

VII.2.PROTEINELE PLASMATICE TOTALE: VALORI REALE ÎN AUTOIMUNITATE

Sursa biosintezei PT o constituie aportul alimentar de proteine care, după valoarea lor biologică, sunt: 1) proteine complete; 2) proteine parțial complete; 3) proteine incomplete. O clasificare deosebit de utilă a proteinelor plasmatiche în bolile autoimune este împărțirea lor în:

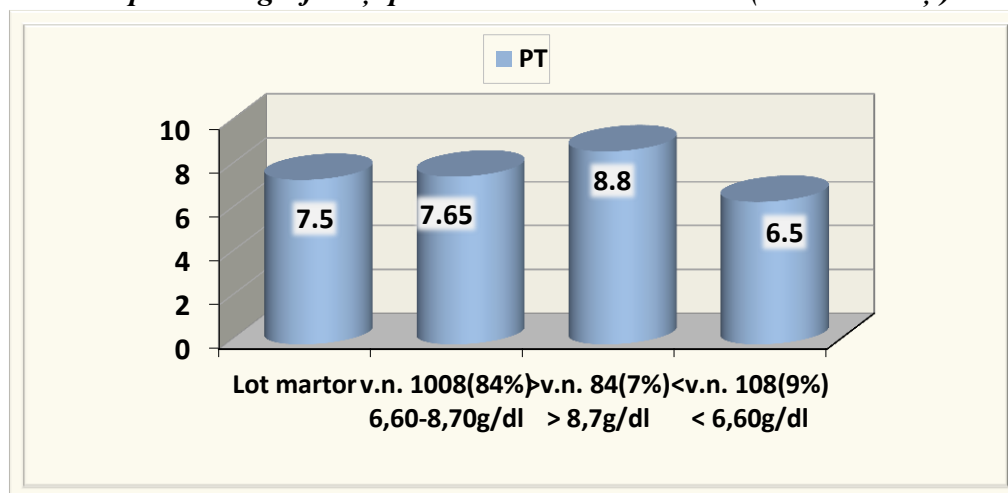
- **proteine pozitive de fază acută:** α_1 -glicoproteina acidă (orosomuroid), α_1 -antitripsina, α_1 -antichimotripsina, ceruloplasmina (Cp), haptoglobina (Hp), proteina C-reactivă (CRP), fibrinogenul (Fib), proteina Amiloidă A (SAA), complementul;
- **proteine negative de fază acută:** Albumina (Alb), prealbumina, Retinol Binding Proteine (RBP), transferina (Tf), apolipoproteina A₁ (Apo A₁), Corticosteroid Binding Globuline (CBP).

Limitele extreme ale proteinemiei sunt: **limita minimă- 5,60g/dL- limita maximă 9,24g/dL**. Calculată aritmetic, **media proteinemiei este de 8,37g/dL**, deci cu mult **peste media aproape general acceptată în studiile medicale (7,50g/dL)**, dar se încadrează în limitele **referințelor de laborator (Synevo = v.n.: 6,6-8,7g/dL)**. Prin urmare, media PT ale celor 1.200 de subiecți poate fi considerată fiziologică.

Am procedat la încadrarea valorilor PT în limitele de referință ale laboratoarelor Synevo.

Tabel nr.1. Raportarea PT ale celor 1.200 de subiecți la valorile normale (Synevo)

Proteine plasmatice totale: v.n. 6,6-8,7	Numărul subiecților
v.n. (6,60-8,70g/dL)	1008 (84,0%)
> v.n. (> 8,70g/dL)	84 (7,0%)
< v.n. (< 6,60g/dL)	108 (9,0%)

Exprimarea grafică și procentuală a valorilor PT (1.200 subiecți)

VII.2.1. RAPORTUL A/G CONTROLEAZĂ CANTITATIV ȘI CALITATIV PT

Am notat valorile A/G (1.200 subiecți): în buletinele de analize medicale, citim ca fiind "normale", cele mai diverse valori ale raportului A/G: >1; 1,60-1,71; 1-1,50, 1,39-2,23 etc.

Am calculat valorile A/G, obținând **media de 1,05**, deci mult sub limita minimă acceptată ca fiind normală (v.n.: 1,39-2,23, Synevo). Am comparat media obținută a raportului A/G, cu media obținută a PT, pentru întregul lot de 1.200 de subiecți luați în studiu.

Tabel nr.2. Raportarea mediilor obținute ale PT și A/G la v.n. (Synevo).

Analize: 1.200 subiecți	Media aritmetică obținută	Valori de laborator considerate normale
Proteine plasmatice totale (PT)	8,37g/dL (în v.n.)	6,6 – 8,7 g/dL
Raportul albumină/globuline A/G	1,05 < v.n.	1,39 – 2,23

(Date rezultate din analiza documentelor bazei de date a Apitherapy Medical Center)

Comparând valorile PT și raportului A/G pentru lotul de 1.200 de subiecți, concluzionăm:

1. *bolile autoimune sunt însoțite, în funcție de cronicizare: fie de hiperproteinemie, fie de hipoproteinemie PT;*
2. *atât creșterea valorilor PT, cât și reducerea PT (hiper- și hipoproteinemie) sunt însoțite de reducerea relativ proporțională a valorii raportului A/G;*

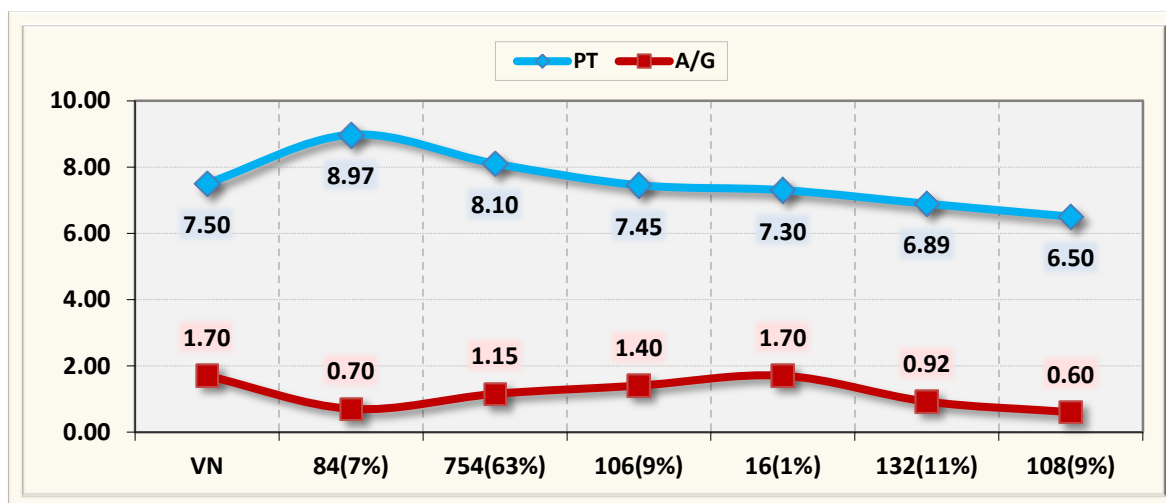
În funcție de aceste observații, am procedat la încadrarea celor 1.200 de subiecți în limitele valorilor PT și A/G obținute din analizele prezentate. Ca **valori de lot martor** am optat: pentru PT – 7,50g/dL, iar pentru A/G – 1,70.

Tabel nr. 3. Raportarea subiecților la valorile A/G și PT **considerate normale** și la **cele reale**.

Analize 1.200 cazuri	Valori măsurate (reale)	Număr subiecți 1.200	Procent	Comparativ cu v.n. (Synevo)	Observații
PT v.n.=6,6- 8,7g/dL	PT: 8,71-9,24 (8,97) Media A/G: 0,70	84	7%	PT: > v.n. A/G: < v.n.	CAZURI RARE
	PT: 7,51-8,70 (8,10) Media A/G: 1,15	754	63%	PT: v.n. A/G < v.n.	NU EVITĂ AUTOIMUNITATEA
	PT: 7,41-7,50 (7,45) Media A/G: 1,40	106	9%	PT: v.n. A/G: v.n.	ZONA GRI
A/G v.n.=1,39-2,23	PT: 7,20-7,40 (7,30) Media A/G: 1,70	16	1%	PT: v.n. A/G: v.n.	ZONA BUNĂ
	PT: 6,60-7,19 (6,89) Media A/G: 0,92	132	11%	PT: v.n. A/G : < v.n.	ZONĂ DE RISC
	PT: <6,60 Media A/G: <0,70	108	9%	PT : < v.n. A/G : < v.n	MAJORITAR CIROZE, HAI

(Conform documentelor din baza de date a Apitherapy Medical Center)

Comparativ: mediile PT și A/G ale celor 1.200 de subiecți



Putem astfel determina limitele ideale ale PT și A/G, după cum putem propune și valorile real normale.

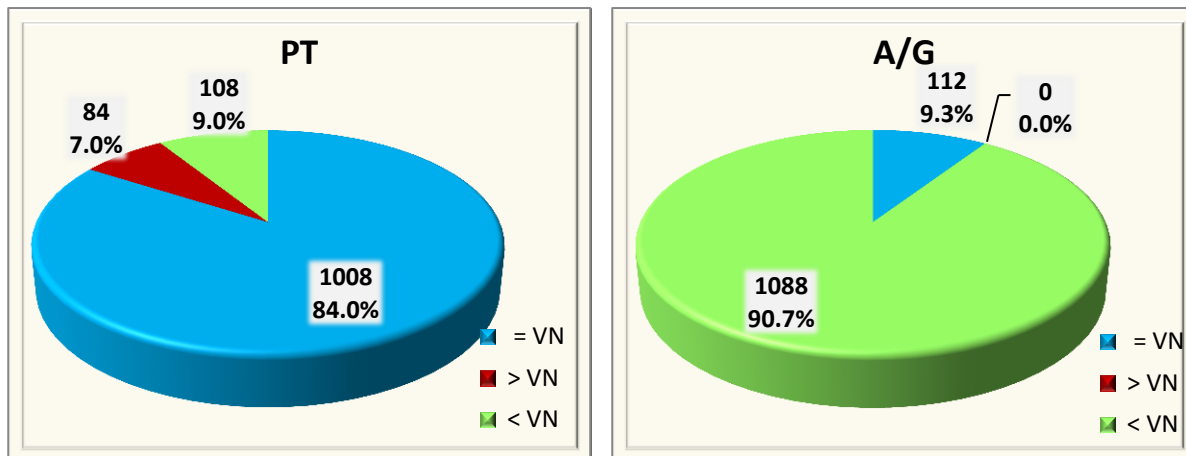
Tabel nr.4. Valori ideale și normale propuse pentru PT și A/G

ANALIZA	VALORI DECELANTE	VALORI IDEALE	Valori propuse ca valori normale
PT v.n.=6,6- 8,7g/dL	1.008 = v.n.-84% 84 > v.n.- 7% 108 < v.n.- 9%	7,20-7,40 g/dL	7-7,50g/dL

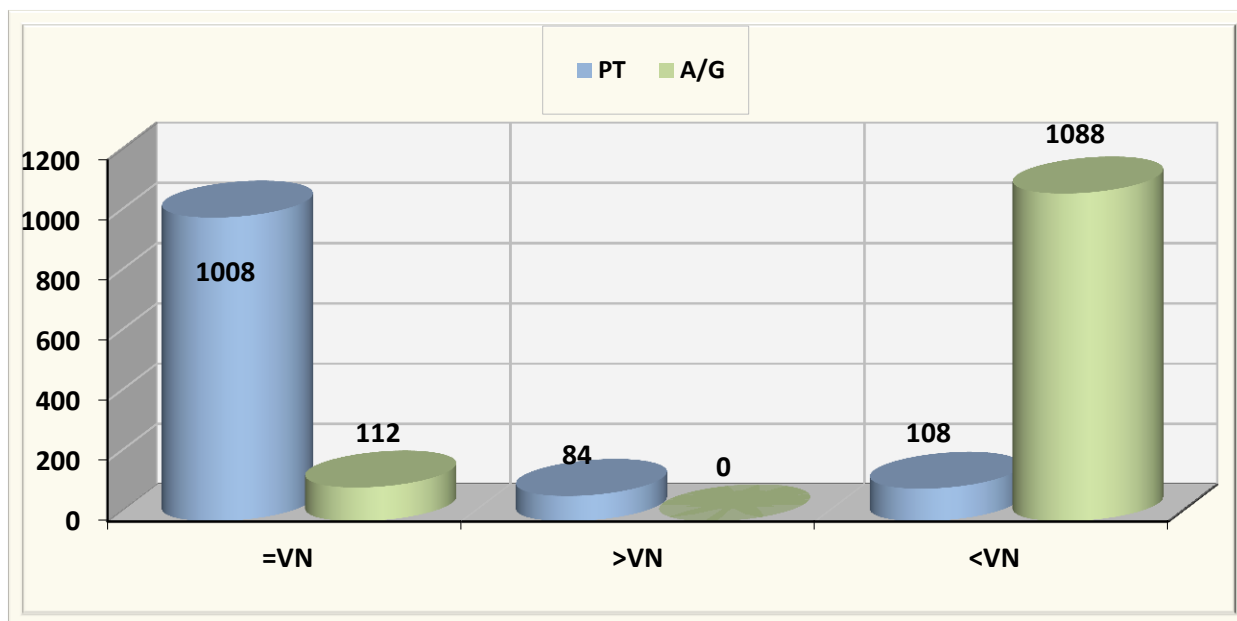
A/G v.n.=1,39-2,23	112 = v.n.- 9% 0 > v.n.- 0% 1.088 < v.n.- 91%	> 1,70	>1,60
-------------------------------------	--	------------------	-----------------

Conform documentelor din baza de date a AMC

Exprimarea procentuală a raportării celor 1.200 de subiecți la valorile PT și A/G



Exprimarea grafică a raportării celor 1.200 de subiecți la valorile PT și A/G



Prin urmare: 1.008, prezintă autoimunitate deși PT au valori normale;
1.088 prezintă autoimunitate, având A/G sub valorile normale.

VII.2.2. ELECTROFOREZA PROTEINELOR SERICE

Fiziologic, raportul A/G obținut prin electroforeza proteinelor serice, trebuie să fie supraunitar pentru albumină, a cărei cantitate trebuie să fie mai mare decât totalul globulinelor (α , β și γ). Electroforeza PS indică tipurile de disproteinemii serice, acestea determinând valoarea raportului A/G, cu repercursiuni cantitative și structural-calitative asupra PT.

VII.2.3. ALBUMINA ÎN AUTOIMUNITATE

Albumina este o glicoproteină prezentă în plasmă conține, împreună cu fibrinogenul și globulinele. Este cea mai abundentă proteină plasmatică (circa 4,5-5,5g%); o cantitate egală cu cea din plasmă se află în spațiile extracelulare. Concentrația sa normală asigură 75-80% din presiunea coloidosmotică normală a plasmei, necesară menținerii apei în compartimentul intravascular. Este sintetizată hepatic, în cantitate de circa 15 g în 24 h. Timpul de înjumătățire plasmatică este de 18-21 de zile.

Patologic, albumina poate fi întâlnită în: albumozurie, albuminorahie, albuminurie, analbuminemie, hipoalbuminemii și în hiperalbuminemii. Hipoalbumemiile au multiple semnificații în patologia umană, inclusiv autoimune. **Hiperalbumemiile, mai puțin incriminate, când sunt constante însă, pot exprima o stare patologică: imunosupresia.**

VII.2.4. RAPORTUL A/G ȘI ALBUMINA ÎN AUTOIMUNITATE

Intercon condiționarea evoluției valorilor PT și A/G în autoimunitate, ne-a determinat să căutăm factorul care condiționează valoarea A/G: acesta este albumina.

Media calculată a albuminei serice a celor 1.200 de subiecți este de 51,2%, deci se află sub limita minimă a valorilor normale a laboratoarelor Synevo (52-68%).

Am raportat valorile albuminei decelate prin electroforeza PS la lotul de 1.200 de subiecți diagnosticați cu boli autoimune:

- 707 subiecți prezintă hipoalbuminelie serică: < 52%;
- 493 subiecți prezintă albumina în valori considerate normale: > 52%.

Dacă un număr însemnat de subiecți diagnosticați cu boli autoimune (493) au albumina peste limita minimă considerată ca fiind fiziologică. Care sunt valorile normale reale ale acestei proteine de importanță vitală ?

Am raportat mediile **valorile obținute** ale PT, A/G și ALB, **la valorile considerate normale**, constatând: în timp ce media PT se încadrează în limitele valorilor normale, mediile raportului A/G și albuminei se află sub limitele minime ale valorilor considerate normale.

Tabel nr. 5. Media valorilor PT, A/G și ALB raportate la 1.200 de subiecți

Analize (v.n. – Synevo)	Media aritmetică: 1.200 subiecți
PT (v.n = 6,6-8,7 g/dL)	8,37g/dL (în v.n.)
A/G (v.n.=1,39-2,23)	1,05 (< v.n.)
ALB (v.n.=52-68%)	51,28% (< v.n.)

Conform documentelor din baza de date a AMC

VII.2.5. RAPORTUL A/G, ALBUMINA ȘI GLOBULINELE ÎN AUTOIMUNITATE

Globulinele se decelează, ca și albumina, prin electroforeza proteinelor serice. Sunt un grup de proteine glicozilate (glicoproteine), având funcții specifice. Sunt insolubile în apa pură, dar sunt solubile în soluții saline diluate și soluții acide sau bazice diluate. Pot fi coagulate la căldură.

Globulinele sunt de tipul: **α 1-globulinele - cresc** în toate reacțiile inflamatorii, putând sugera prezența alfa-fetoproteinei (AFP); **α 2-globulinele – cresc** în infecțiile acute, reumatism articular acut, arterită, sindrom nefrotic, diabet zaharat, neoplazii, dar și prin administrare de estrogeni, contraceptive orale; **β -globulinele – cresc** în anemia feriprivă, ciroza biliară, administrarea de estrogeni, de contraceptive orale; **γ -globulinele:** cuprind imunoglobulinele, cu rol de anticorpi); **scad** prin tratamentul citostatic sau imunosupresor. Imunoglobulinele, ca anticorpi, au un rol crucial în apărarea imunitară determinată de diverși agenți antigenici, atât exogeni cât și endogeni. Gamaglobulinele sunt sintetizate în ganglionii limfatici și în alte organe limfoide de

către plasmocite, care sintetizează specific anticorpi numai în prezența antigenului. Immunoglobulinele (gamaglobuline, anticorpi) sunt: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. În funcție de concentrația plasmatică, se pot instala stări de: a) hipogammaglobulinemie (congenitală sau dobândită); b) hipergammaglobulinemie (gamapatii policlonale și monoclonale).

Media calculată a globulinelor (α , β și γ) în cadrul A/G, este de 48,72%, deci cu 0,72% peste limita maximă a referințelor de laborator (32-48%), fapt care **corespunde mediei albuminelor (51,28%)**.

$$PS = 51,2\% \text{ (media albuminelor)} + 48,72\% \text{ (media globulinelor)} = 100\%$$

$$A/G = 51,2\% : 48,72\% = 1,05$$

Tabel nr. 6. Albumina, globulinele și raportul A/G în autoimunitate – 1.200 subiecți

ALBUMINA v.n. 52-68%	GLOBULINELE v.n. 48-32%	RAPORTUL A/G 1,39-2,23
707 subiecți: < 52%	>48%	< 1,08
145 subiecți: 52-53% ALB: 52%*	48 – 47% Globuline: 48%*	1,08 – 1,10 A/G: 1,05*(!!) A/G: 1,39*(?)
114subiecți: 53,1- 54%	46,9 – 46%	1,11 – 1,17
71subiecți: 54,1- 55%	45,9 – 45%	1,15 – 1,22
44 subiecți: 55,1-56%	44,9- 44%	1,22 – 1,22
34 subiecți: 56,1-57%	43,9-43%	1,27 – 1,32
29 subiecți: 57,1-58%	42,9-42%	1,33 – 1,38
22 subiecți: 58,1-59% 58,3%**	41,9-41% 41,7 ($\gamma=21,2$)**	1,38 – 1,43 A/G: 1,39**
19 subiecți: 59,1-60%	40,9-40%	1,44- 1,50
18subiecți: 61,1- 62%	38,8-38%	1,57-1,63
14subiecți: 62,1-63% 3 subiecți: 63%	37,9-37% 3 subiecți: 37%	1,63-1,70 3 subiecți: 1,70
0 subiecți: 63,5	0 subiecți: < 36,5%	0 subiecți: >1,73

(Conform documentelor medicale din baza de date a AMC)

*Valorile electroforezei proteinelor serice considerate v.n. de către Laboratoarele Synevo.

**Electroforeză din 24.09.2010 emisă de Laboratoarele Synevo.

Valoarea de marker în diagnoză a raportului A/G, ca și cea de monitorizare a tratamentului și remisiilor **nu corespunde realității fiziologice**

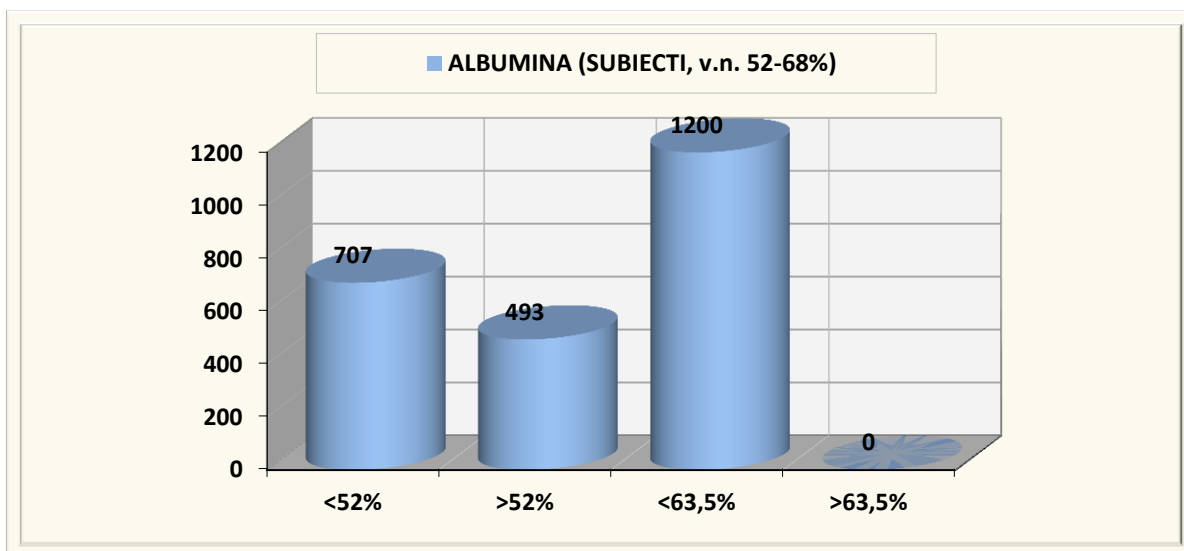
Limitele minime la care **autoimunitatea este aproape imposibilă, sunt: albumină: 63,5%; globuline: 36,5% ; raportul A/G: 1,73.**

Tabel nr. 7. Încadrarea celor 1.200 de subiecți în v.n. ale electroforezelor (Synevo).

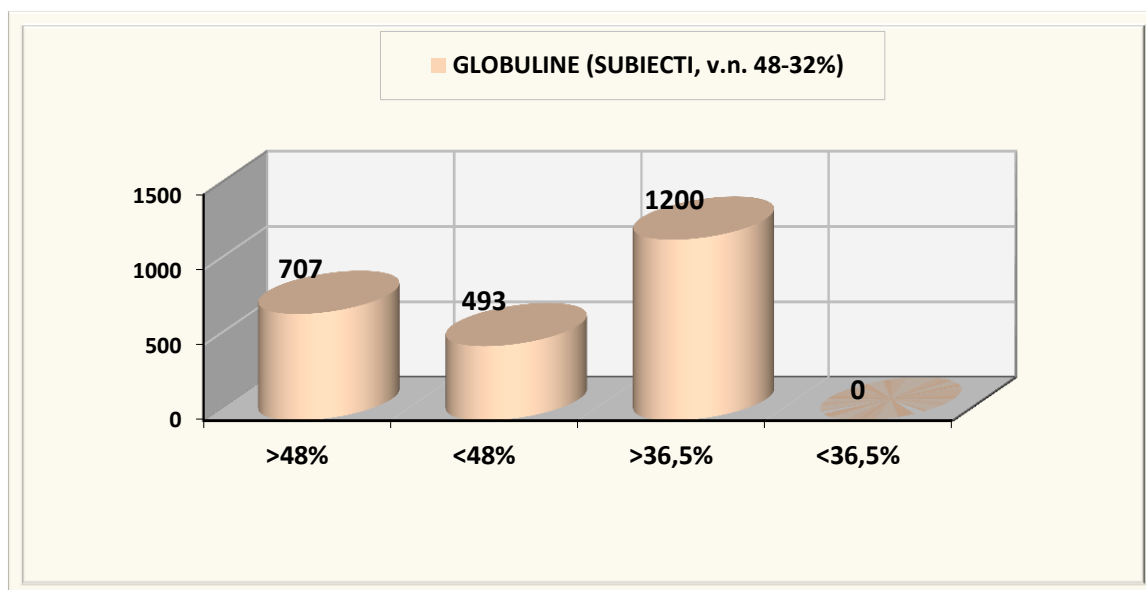
ALBUMINĂ v.n.=52-68%	GLOBULINE 48-32%	A/G 1,39-2,23(1,08-2,12)
< 52%: 707 subiecți	> 48%: 707 subiecți	< 1,05: 707 subiecți

> 52%: 493 subiecți	< 48%: 493 subiecți	< 1,39: 1137 subiecți
< 63,5%: 1.200 subiecți	> 36,5%: 1.200 subiecți	< 1,73: 1.200 subiecți
>63,5%: 0 subiecți	< 36,5%: 0 subiecți	>1,73: 0 subiecți

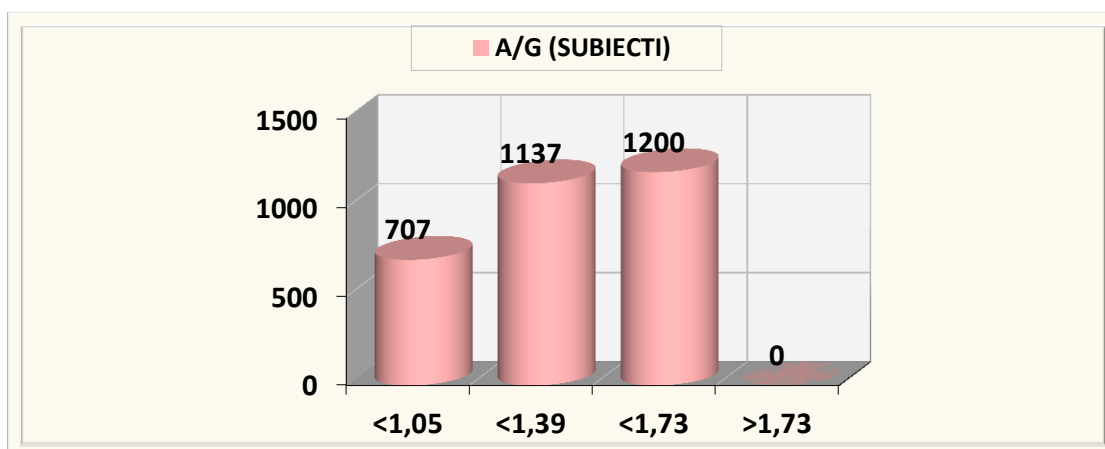
Exprimarea grafică a raportării celor 1.200 de subiecți la v.n. și ideale ale abuminei



Exprimarea grafică a raportării celor 1.200 de subiecți la v.n. și ideale ale globulinelor



Exprimarea grafică a raportării celor 1.200 de subiecți la v.n. și ideale ale A/G



Electroforeza proteinelor serice.
Valori considerate normale (Synevo) și valori normale propuse

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori considerate normale	Valori normale propuse
Albumina	52-68%	>63,5%
Alpha 1	2-5%	2-3,5%
Alpha 2	6-15%	6-9,5%
Beta	8,5-15%	8-11%
Gamma	10,7-20,3%	12-15,5%
A/G	1,39-2,23	>1,73

VII.3. CALCIUL ȘI ALBUMINA ÎN BOLILE AUTOIMUNE

Media calculată a calciului seric total este de 8,98 mg/dL, deci se înscrie în valorile considerate normale (8,6-10,2 mg/dL – Synevo):

- 127 de subiecți prezintă CaT sub limita minimă de referință (8,6mg/dL) ;
- 1073 de subiecți prezintă valori ale CaT în valori normale : > 8,6mg/dL.

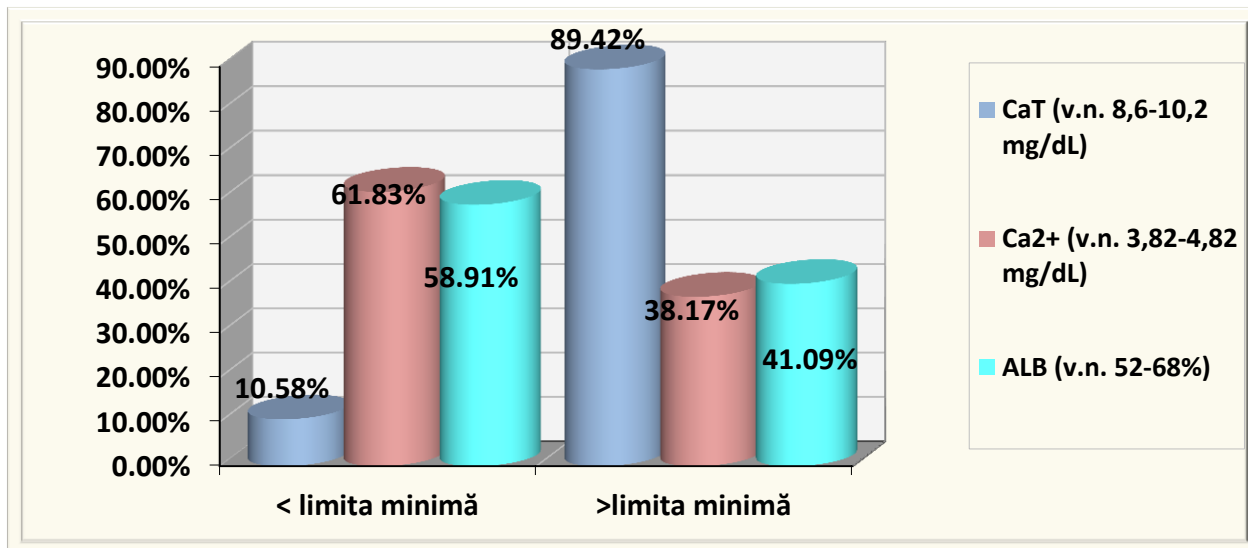
Media calculată a calciului ionic este de 3,79mg/dL, deci sub limita minimă a referințelor (3,82-4,82 mg/dl – Synevo):

- 742 prezintă hipocalcemie ionică sub limita minimă a referințelor (3,82 mg/dL);
- 458 prezintă valori ale Ca^{2+} peste 3,82mg/dL, dar foarte apropiate de minim.

Tabel nr.14. Calciul total, calciul ionic și albumina în autoimunitate

ANALIZA v.n. Synevo	MEDIA 1.200 subiecți	Numărul subiecților <limita minimă >limita minimă
Ca.T v.n. 8,6-10,2mg/dL	<u>8,98mg/dL</u>	<8,6mg/dL : 127 (11%) > 8,6mg/dL : 1.073 (89%)
Ca^{2+} v.n. 3,82-4,82mg/dL	<u>3,79mg/dL</u>	< 3,82mg/dL: 742 (72%) >3,82mg/dL: 458 (38%)
ALBUMINA v.n.: 52-68%	51,28%	<52%: 707 (59%) >52%: 493 (41%)

*Exprimarea grafică a raportării albuminei la valorile decelate ale
CaT și Ca²⁺*



Raportând ALB la valorile Ca T și Ca²⁺ pentru lotul de 1.200 de subiecți, concluzionăm:

a) **cantitatea de calciu care se ionizează depinde mai puțin de valoarea Ca T:**

- 72% prezintă hipocalcemie ionică (sub 3,82 mg/dL), dar numai 11% au Ca T < 8,6mg/dL;

b) **cantitatea de calciu ionizată depinde de nivelul albuminei serice:**

-38% prezintă hipocalcemie ionică (<3,82mg/dL), iar 41% prezintă hipoalbuminemie (<52%).

Valorile determinate ale Ca²⁺ și electroforeza PS, pot oferi clinicianului informații prețioase privind suspiciunea evoluției spre: o disproteinemie (poate institui profilaxia); instalarea unei disproteinemii (hipoproteinemie sau o hiperproteinemie); interpretarea corectă a valorilor globulinelor (α_1 , α_2 , β și γ), orientează suspiciunea tipului de proteine pozitive care se acumulează în sânge; electroforeza este primul pas în diagnosticarea agamaglobulinemiilor și imunosupresiilor.

VII.4. CAZURI CLINICE CARE ILUSTREAZĂ NECESITATEA ELECTROFOREZEI

Cazul 1.

Infertilitate feminină(30ani,1,69m,57,5kg).

(Imunosupresia nu exclude manifestările autoimune)

Electroforeză a PS:16.05.2007(Spitalul Clinic Județean Cluj-Napoca)

(Baza de date a Apitherapy Medical Center)

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	53-60%	68,4%
Alpha 1	3-5%	2,8%
Alpha 2	7-11%	9,4%
Beta	11-13%	9,1%
Gamma	15-19%	10,4%
A/G	-----	2,17

Observații

-PT: 7,5g/L

-heperalbuminemie:68,4 (> v.n.)

*estradiol:**138,1pmol/L**(<v.n.315-1828)

***hipogamaglobulinemie-oligomenoree**

***imunosupresie:anovulație; *androgenizare**

- PRL:**305 μ UI/mL** (v.n.98-456)

-Ca²⁺:**4,28 mg/dL**(v.n.:4,2-5,2mg/dL).

Cazul 1ilustrează necesitatea electroforezei proteinelor serice și a măsurării Ca²⁺: **nici un protocol și nici un agent terapeutic nu poate restabili estrogenemia normală, ovulația și fertilitatea în condiții de hipogammaglobulinemie** (implică hipoplazie endometrială, hipoestrogenemie etc.). (Clinica Obstetrică-Ginecologie I,Cluj-

Napoca, Departamentul de Reproducere Umană Asistată și Diagnostic Prenatal, din 14.12.2007; 14.05.2007, Laboratorul de Imunologie al clinicii). Interpretarea în context clinic a electroforezei PS, ar evita eșecul terapeutic al infertilității, ca și irosirea inutilă a timpului, resurselor financiare și speranțelor pacientelor.

Cazul 2.

Intoleranță la lactoză (Copil, 8 ani, 1,39 m, 26 kg): imunosupresie sincronizată autoimunității (gamma < v.n.)

Electroforeză a PS, 12.06.2009, Laboratoarele MedLife

(Baza de date a Apitherpy Medical Center) **Observații:**

FRACTIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	59-69,5%	68,7%
Alpha 1	1,4-2,9%	2,4%
Alpha 2	7-11%	10,7%
Beta	8-13%	9,5%
Gamma	10-17,5%	8,7%
A/G	-----	2,19

-PT: (fără)
-hipogammaglobulinemie
-eritrocitoză
-CRP: pozitivă
-Ca²⁺: 4,12 mg/dL (v.n.:4,2-5,2 mg/dL)
-limfocitoză ; -monocitoză
-eozinopenie
-α₂: 10,7-Colesterol total: 193mg/dL (v.n.<200 mg/dL)
-LDL: 127 mg/dL (v.n. < 130mg/dL)
-v.n. propuse pentru α₂: 7-8,5%

Dacă globulinele α₂ și β depășesc cu 50% limita minimă a referințelor de laborator, se poate suspecta o dislipidemie (globulina α₂: v.n.: 7-11%: valoarea măsurată: 10,7%, deci foarte aproape de limita maximă). Copilul, de numai 8 ani, prezintă: hipercolesterolemie LDL.

Cazul 3.

Autoimunitate severă cu imunosupresie(B, 23 ani, 1,78m, 80 kg)

Electroforeză a PS, 7.07.2010, Laboratoarele Synevo

(Baza de date a Apitherpy Medical Center)

FRACTIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	52-68%	68,2%
Alpha 1	2-5%	2,7%
Alpha 2	6,6-13,5%	10,9%
Beta	8,5-14,5%	9,8%
Gamma	11-21%	8,4%
A/G	1,39-2,23	2,14

Observații:-insuficiență renală progresivă;
-vasculită; dislipidemie mixtă
-hiperalbuminemie;
Ca²⁺: 4,5mg/dL(v.n.:3,82-4,82)
-hipogammaglobulinemie
-hipoproteinemie (PT: 6,37g/dL)
-ANCA-pozitivi
-CRP: 9,07mg/dL
-proteinurie
-colesterol total: 274mg/dL (v.n.<200)
- HDL:34mg/dL(v.n. >60)

Când globulinele alfa2 și beta depășesc cu 50% limita minimă de referință, suntem în fața unei dislipidemii: (colesterol total: 274mg/dL);HDL: 34mg/dL (< 40mg/dL indică un risc major cardiocirculatoriu). Analizele cuprind **indicatori ai stării de autoimunitate** (autoanticorpi - ANCA, CRP, proteinurie,), dar **și de imunosupresie** (globulina γ: 8,4% <sub v.n.); prezintă diagnostic de vasculită.

Cazurile 1, 2 și 3, prin electroforeza proteinelor serice, demonstrează posibilitatea existenței simultane, atât a autoimunității, cât și a imunosupresiei.

Cazul 4.

Lupus eritematos sistemic, Cushing iatrogen (F, 21 ani, 1,68m, 60 kg)

Electroforeză a PS, din 15.06.2010, Synevo

(Baza de date a Apitherapy Medical Center)

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	52-68%	50,4%
Alpha 1	2-5%	2,3
Alpha 2	6,6-13,5%	9,2
Beta	8,5-14,5%	11,3
Gamma	11-21%	26,8
A/G	1,39-2,23	1,03

Observații:**-hipoalbuminemie****-hipergamaglobulinemie****-A/G –subunitar****-Ca²⁺ : 3,78 mg/dl (v.n.: 3,82-4,82mg/dl)****-Ac. antitrombocitari: pozitiv****-Ac. anti-ADN: pozitiv****-FR: pozitiv****-CRP: pozitiv**

Bolilele autoimune sunt însoțite de dereglarea raportului A/G prin hipoalbuminemie și hipergamaglobulinemie.

Cazul 5.**Boală Crohn cronicizată (B, 22, ani, 1,80m, 78 kg)**

Electroforeza PS, din 11.10.2010, Synevo.

(Baza de date a Apitherapy Mediocal Center)

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	52-65,1%	48,2%
Alpha 1	1-3%	3,6 %
Alpha 2	14,4%	14,9%
Beta 1	6-9,8%	10,8%
Beta 2	2,6-5,8%	6,2%
Gamma	10,7-20,30%	16,3%
A/G	1,39-2,23	0,92

Observații:**-PT: 7,20g/dL****-hipoalbuminemie****-hiperglobulinemie α_1 , α_2 și β** **-globulinemie γ =normală****-proteinurie****-CRP: 86,3 (v.n.: < 5)****-Fibrinogen: 699 mg/dL (v.n.: 200-400 mg/dL)****-CaT: 9,1mg/dL (v.n.: 8,6-10,2 mg/dL)****-Ca²⁺: 3,76 mg/dL (v.n.: 3,82-4,82 mg/dL)**

În cazul acestui subiect, este evident faptul că *hipoalbuminemia poate să fie provocată și de creșterea globulinelor alfa1, alfa2, beta 1 și beta2.*

Cazul 6.**Hepatită de etiologie VHC, cu evoluție înspre cirozare (B, 50 ani, 1,83 m, 110 kg)**

Electroforeză a PS, din 22.06.2010-Laboratoire de biologie medicale, Paris, Avenue

Castiglione, 78190- Franța.

(Baza de date a Apitherapy Medical Center)

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale*	Valori decelate
Albumina	-----	46,51%
Alpha 1	-----	3,48%
Alpha 2	-----	6,85%
Beta	-----	13,74%
Gamma	-----	29,42%
A/G	-----	0,87

Observații:**-hipoalbuminemie****-hiperglobulinemie cu hipergammaglobulinemie****-A/G subunitar (0,87).****-Estimation de la fibrose: F4 (B.A**.-18.04.2010)****-Trombocite: 78/mm³ (Plaquettes, v.n. 150-400)****-Ca T: 86mg/L (v.n.:90-105mg/L)****-Alpha Foeto Prot. (AFP): 85ng/mL (v.n.:<15)****-Bilirubină totală: 21mg/L (v.n.: < 10mg/L)**

- PT și Ca²⁺ nu sunt determinate (buletine de analize, din țări ca Franța, Germania, Italia, Spania etc. existente în baza noastră de date, investigând boli care implică dezechilibre grave ale proteinelor, așa cum este această evoluție înspre cirozare secundară hepatitei, nu cuprind

electroforeza PS decât în cazuri rare, fapt care arată că nu numai în România, ci și în alte țări, nu i se acordă importanța pe care o susținem în cercetarea de față);

- **Deteriorarea raportului A/G** (0,87), este consecutivă agravării stării ficatului, care sintetizează o cantitate tot mai redusă de albumină (46,51%), corespunzător crescând însă excesiv globulinele (53,49%), o creștere apreciabilă înregistrând globulina gamma (29,42%). Această disproteinemie determină sinteza crescută a proteinelor fibrilare, gradul fibrozei hepatice ajungând **F4 ("anticamera cirozei")**. Hiperbilirubinemia – 21mg/dL (v.n. < 10 mg/dL) și creșterea fulminantă a alfa-fetoproteinei (AFP) – este o α_1 -glicoproteină – care apare în serul adulților în evoluțiile înspre cancerle hepatice primitive (crește și în hepatitele virale, ciroze, hemocromatoze).

Cazul 7.

Ciroză hepatică de etiologie VHC

Electroforeză a PS, 19.08.2010 Laborator Praxis, Gottingen, Germania.

(Baza de date a Apathery Medical Center)

Observații:

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	55,8-66,1%	42%
Alpha 1	2,9-4,9%	4%
Alpha 2	7,1-11,8	7,3%
Beta	8,4-13,1%	9,6%
Gamma	11,1-18,8	37,1
A/G	-----	0,72

-**hipoalbuminemie severă**
-hipergammaglobulinemie
-A/G-subunitar
-trombocitopenie: PLT-77000 (v.n.:150.000-450.000)
-fibroză: F 11
-CaT: 8,1mg/dL (v.n.: 8,8-10,4mg/dL)
-Bilirubină totală: 3,4mg/L (v.n.: < 1,2)

Constant, scăderea sintezei de albumină este însoțită de hiperglobulinemie – îndeosebi gamma (disproteinemie exprimată sintetizator în deprecierea raportului A/G), dar și în **accentuarea gradului de fibrozare**. Frecvent, **progresia fibrozei hepatice, prin intervenția sa în structurile ficatului, determină hiperbilirubinemie**, ale cărei efecte secundare pot conduce la apariția de colangiocarcinoame.

Cazul 8

Hepatom multicentric secundar unei ciroze hepatice de etiologie autoimună.

Electroforeză a PS, 27.10.2010, Laboratoarele Synevo.

(Baza de date a Apathery Medical Center)

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	52-68%	42,5%
Alpha 1	2-5%	5,2%
Alpha 2	6,6-13,5%	7,4%
Beta	8,5-14,5	6,8%
Gamma	11-21%	38,1%
A/G	1,39-2,23	0,74

Observații:

-PT: 6,20g/dL
-hipoalbuminemie
-hiperglobulinemie
-hipergammaglobulinemie
-A/G-subunitar
-LKM1- pozitiv(B.A. din 27.10.2010)
-hiperbilirubinemie: Bil.T.:2,89mg/dL(v.n.:<1 mg)
-AFP: 24ng/dL (v.n.: < 7)
-Ca²⁺:3,64mg/dL (v.n.: 3,82-4,82mg/dL).

În cazul de mai sus, hipoproteinemia caracteristică cirozei hepatice se remarcă prin deteriorarea severă a raportului A/G, ca și prin hipocalcemie serică ionică.

Cazul 9

Astm bronșic cu rinită alergică (F,46 ani, 1,62 m, 55 kg)

Electroforeză a PS, 29.06.2010, Laboratoarele Synevo

(Baza de date a Apytherapy Medical Center)

Observații:

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori normale	Valori decelate
Albumina	52-68%	59,7%
Alpha 1	2-5%	3,4%
Alpha 2	6,6-13,5%	11,5%
Beta	8,5-14,5%	13,6%
Gamma	11-21%	11,8%
A/G	1,39-2,23	1,48

-PT: **6,23g/dL** (v.n.: 6,6-8,7 g/dL)
 -Albumină: v.n.; A/G:v.n.
 -Globulinele α_2 și β : **> v.n. (!?)**
 -Gamaglobulina: la limita minimă a v.n.
 -IgE: **148,7 UI/mL** (v.n.: < 100 UI/mL)
 -Eozinofile: **8,1%** (v.n.: < 7%)
 -Fibrinogen: **410 mg/dL** (v.n.: 200-400 mg/dL)
 -Ca²⁺: **4,2 mg/dL** (v.n.: 3,82-4,82 mg/dL)
 -CaT: **8,9 mg/dL** (v.n.: 8,6-10,2 mg/dL)
-Dislipidemie

Creșterea IgE corespunde afecțiunilor subiectului.

VII.5. UN CAZ DE HIPOALBUMINEMIE FAMILIALĂ

Un caz de hipoalbuminemie familială, congenitală, poate fi ilustrativ pentru importanța electroforezei PS. Cazul: tată și bunic (64 de ani, 1,63 m, 62 kg), diagnosticat cu ciroză de etiologie etanolică. Boala evoluase într-un ritm mult prea rapid și în absența oricărui virus (la 3.05.2010 testul de fibroză hepatică indică F6, iar la 20.10. 2010 este F 9).

Tabel nr.9. Analize comparative în cazul de hipoalbuminemie familială (Synevo, 28.10.2010)

Grad înrudire	ALB v.n. 52- 65,1%	α_1 v.n. 1-3%	α_2 v.n. 9,5- 14,4%	β v.n. 8,6- 15,6%	γ v.n. 10,7- 20,3%	A/G v.n. 1,39- 2,23	PT v.n. 6,6-8,7 g/dL	Ca seric total v.n. 8,6-10,2 mg/dL	Ca ²⁺ v.n. 3,82-4,82 mg/dL
Tată/bunic 64 ani Ciroză Autoimună Fibroză=F11	32,8%	1,2%	8%	26,5%	31,5%	0,80	6,4g/dL	8,1mg/dL	3,6mg/dL
Fiică/mamă 37 ani Fibrom uterin	48,4%	1,6%	14%	13,4%	22,6%	0,93	7,40g/dL	10mg/dL	4mg/dL
Nepoată de fiică, 5 ani Polipi nazali Astm	47%	1,9%	14%	13%	24,1%	0,88	7,80g/dL v.n. 6-8g/dL	8,8mg/dL v.n. 8,8-10,8	4,16mg/dL v.n. 4,2-5,2
Nepoată de fiică, 8ani Fără diagnostic	54,6%	1,1%	12,8%	12,1%	19,4%	0,98	7,40	10	4,29
Fiu-32 ani Fără diagnostic	48,1%	1,8%	15,1%	13,8%	21,2%	0,94	8	10,1	4,1
Nepoată de fiu , 9 ani Fără diagnostic	52,7%	1,5%	14,4	14,4%	17%	1,11	7,30	10,2	4,42

Electroforeza PS și decelarea Ca²⁺, pot furniza informații importante care, interpretate în context clinic, pot furniza informații utile privind status-ul imunității nu numai pentru un pacient, ci și pentru familie, dacă medicul suspicionează o autoimunitate sau o imunosupresie.

VII.6. O PREMIERĂ MEDICALĂ: OROSOMUCOIDUL

Acumularea plasmatică a proteinelor patologice începe odată cu scăderea sintezei hepatice de albumină. Orosomucoidul este o proteină de fază acută: o α_1 - glicoproteină acidă. Este sintetizată la nivel hepatic. **Indicația de intervenție medicală în orosomucoid este, în toate cazurile, numai chirurgicală** (nu numai în România).

Caz clinic de orosomucoid: bărbat, 42 de ani, 1,86 m, 85 kg.

- 12.11.2010, prin rezonanță magnetică, Centrul de diagnostic imagistic Hiperdia (Cluj-Napoca), constată **prezența, la nivelul cavităților sinusale paranazale, a orosomucoidului.**
- Pacientul prezintă un buletin de analize medicale eliberat de laboratorul Synevo la 18.10.2010 (ante apiterapie), ale cărui informații biologice le comparăm cu cele oferite de buletinul de analize eliberat de către aceleași laboratoare la 15.06.2011 (post apiterapie).
- La 15.07.2011, Centrul de diagnostic imagistic Hiperdia, urmare a unei noi examinări, eliberează un nou buletin, din care cităm: **“Fără modificări la nivelul cavităților sinusale paranazale”.**

Electroforeza și orosomucoidul (ante și post apiterapie)

FRACȚIILE ELECTROFOREZEI	Valori decelate ante apiterapie	Valori decelate post apiterapie
Albumina v.n.: 52-65,1%	51,3%	54%
Alpha 1 v.n.: 1-3%	3,4%	2,1%
Alpha 2 v.n.: 9,5-14,4%	11,9%	11,7%
Beta v.n.: 8,6-15,6%	16%	15,2%
Gamma v.n.: 10,7-20,3%	17,8%	17%

Ante apiterapie: -PT= 8,1g/dL

-A/G= 1,04

-CaT= 9,7mg/dL

-Ca²⁺= 4mg/dL

Post apiterapie: -PT=7,4g/dL

-A/G= 1,17

-CaT=9,4mg/dL

-Ca²⁺= 4,3mg/dL

Cazul vine să confirme teoria noastră privind necesitatea reechilibrării PT prin reechilibrarea A/G, ca metodă de abordare a bolilor autoimune

VII.7. PROPUNERI PRIVIND VALORILE NORMALE ALE ANALIZELOR DISCUTATE

1. **Cu referire la PT**, pentru care limitele de referință fiziologice (care ar trebui să excludă boala), deci **valorile considerate normale** de către laboratoarele de analize medicale, sunt cuprinse între 6,6 și 8,7g/dL, **propunem ca v.n. 7-7,5 g/dl**; valoare ideală: 7,20- 7,40.
2. **Cu referire la ALB**, pentru care limitele de referință fiziologice, deci care ar exclude debutul autoimunității, sunt cuprinse între 52% și 68% (Synevo), propunem ca **limită minimă v.n. de 60%; valoare ideală: > 63,5%.**
3. **Cu referire la globuline**, pentru care limitele de referință fiziologice sunt cuprinse între 48 și 32% (Synevo), propunem ca **limită maximă v.n. de 40%; valoare ideală: < 36,5%.**
4. **Cu referire la raportul A/G**, pentru care limitele de referință fiziologice sunt 1,39-2,23(Synevo), propunem ca **limită minimă valoarea de 1,50; valoare ideală: > 1,73.**

Tabel nr. 10. PT, ALB, globuline și A/G: valori minime și maxime propuse raportate la 1.200 de subiecți.

PT v.n. 7-7,50g/dL	ALBUMINĂ v.n.60 – 68%	GLOBULINE 40 – 36,5%	A/G 1,50 – 2,12
-----------------------	--------------------------	-------------------------	--------------------

>7,50 941 subiecți	< 60% 1.145 subiecți	>40% 1.145 subiecți	< 1,50 1.145 subiecți
<7: 187 subiecți	>60%: 55 subiecți	<40% 55 subiecți	>1,50 55 subiecți
v.n.:7-7,50 72 subiecți	v.n.60-68% 55 subiecți	v.n.:40-36,5% 55 subiecți	v.n.1,50-2,12 55 subiecți
7,5: 2	>63,5%: 0	< 36,5% : 0	>1,73: 0

VII.8. CONCLUZII

- Deteriorarea raportului A/G se costată atât în hiperproteinemii, cât și în hipoproteinemii.
- Deteriorarea raportului A/G este însoțită, invariabil, de reducerea sintezei albuminei.
- Reducerea ori creșterea cantitativă a albuminei se produce simultan cu reducerea ori creșterea cantității de calciu ionizat (Ca^{2+}).

Cele expuse mai sus se constituie în motivații suficiente pentru:

- a) argumentarea necesității introducerii electroforezei proteinelor serice și a determinării Ca^{2+} între analizele medicale de rutină, necesare instituirii profilaxiei evoluției înspre autoimunitate, ca și pentru monitorizarea eficienței și siguranței tratamentului bolilor autoimune, pentru prevenirea recidivelor etc.;
- b) argumentarea propunerii stabilirii de noi valori ale limitelor de referință ale PT, ca și ale PS-albumină și globuline, al căror nivel determină raportul A/G.

Cap.VIII. STUDIU CLINIC CENTRALIZAT PRIVIND REECHILIBRAREA PROTEINELOR PLASMATICE PRIN REECHILIBRAREA APITERAPICĂ A RAPORTULUI A/G, METODĂ DE TRATAMENT ÎN BOLILE AUTOIMUNE

VIII.1. MATERIALUL CERCETĂRII

Metoda folosită pentru tratarea bolilor autoimune în cadrul A.M.C. este apiterapia, pacienții fiind tratați ambulatoriu. După anamneză se studiază documentele medicale de care dispun, de la debutul afecțiunii/afecțiunilor autoimune și până la data prezentării la A.M.C.

Pentru cercetarea aceasta (cap.VIII), am alcătuit un lot de 120 de subiecți, ale căror analize ante și post apiterapie au fost studiate comparativ. Criteriile de includere în lot:

- să prezinte diagnostic de boală/boli autoimune;
- să prezinte analizele medicale solicitate efectuate ant apiterapie și post apiterapie;
- să fi fost compliant pe durata urmăririi apiterapiei.

Am inclus în studiu următoarele investigații medicale: PT, PS –albumină/globuline, A/G, Ca T, Ca^{2+} , globulina gama, autoanticorpii, proteinele de fază acută pozivate, transaminazele, glicemia, colesterolul (total și fracționat în HDL, LDL, VLDL), fibrozările și calcificările.

VIII.2.IPOTEZE DE LUCRU

Ipotezele de lucru, în concordanță cu scopul cercetării sunt:

a)diagnosticarea bolilor autoimune, bazată obișnuit mai ales pe pozitivarea autoanticorpilor și a proteinelor de fază acută, nu întotdeauna întrunește precizia: aceiași autoanticorpi se pozitivează în mai multe boli autoimune; sunt și cazuri de boli autoimune în care , deși se întrunesc toate celelalte criterii de diagnostic, nu se pozitivează nici un autoanticorp;

b) bolile autoimune fiind disproteinemii, dezechilibrul PT (cantitativ și calitativ) se produce prin dezechilibrarea PS, exprimată în valoarea raportului A/G, ale cărui limite fiziologice; debutul bolilor autoimune se produce atunci când albumina și Ca^{2+} , a căror acțiune este sinergică, scad sub limitele fiziologice;

c) protocoalele terapeutice actuale, datorită faptului că agenții terapeutici actuali întrebuințați curent, chiar dacă negativează temporar unii autoanticorpi, au efecte hipoalbuminemiante și hipocalcemiante, nu-și pot propune reechilibrarea PS, iar în afara acestei reechilibrări nu se pot obține decât remisii urmate de recidive însoțite uneori și de alte boli autoimune;

d) apiterapia ca metodă și apiterapicele ca agenți terapeutici; restabilesc potențialul ficatului de a sintetiza o cantitate sporită de albumină, fapt care permite ionizarea unei cantități mai mari de calciu, reechilibrează raportul A/G, fapt care precede și determină reechilibrarea PT, înlăturând disproteinemia care a condus la debutul autoimunității.

VIII.3. OBIECTUL ȘI SCOPUL CERCETĂRII

Obiectul cercetării de față constă în studiul comparativ al analizelor ante și post apiterapie pentru un lot de 120 de subiecți. Scopul cercetării: este argumentarea potențialului apiterapiei și apiterapicelor de a fi suportul noii metode de intervenție în bolile autoimune prin reechilibrarea PT via reechilibrarea PS; reafirmarea importanței Albuminei și Ca^{2+} în imunitatea fiziologică; reiterarea importanței introducerii electroforezei PS și decelării Ca^{2+} între analizele medicale de rutină, ca și necesitatea adoptării, pentru aceste analize, la unor limite de referință reale

VIII.4. METODOLOGIA CERCETĂRII. PRELUCRAREA STATISTICĂ A REZULTATELOR

Pentru cei 120 de subiecți diagnosticați cu boli autoimune, grupați în lotul A, am alcătuit un studiu centralizat urmărind, ante apiterapie și post apiterapie, evoluția valorilor înregistrate în documentele medicale. Am aplicat metoda aritmetică și comparativă, pentru a putea urmări evoluția valorilor analizelor. Am comparat mediile aritmetice ale probelor biologice înscrise în buletinele de analize medicale ante și post apiterapie. Prelucrarea statistică a datelor s-a realizat după metodele SPSS 16 și Microsoft Office Excel 2007.

VIII.5. DISCUTAREA COMPARATIVĂ A ANALIZELOR ANTE ȘI POST APITERAPIE

Din numărul total de 120 de pacienți integrați în studiu - Lot A-, 96 prezintă diferite boli autoimune pentru care urmaseră alte tratamente, cu un număr variabil de remisii și recidive, timp de 2-8 ani. Un număr de 24 de pacienți, dintre care 12 erau diagnosticați cu hepatite de etiologie VHB, VHC și VHB cu VHD, iar 12 prezentau infecții mai mult sau mai puțin cronicizate cu HPV, evoluau înspre autoimunitate. Pacienții incluși în studiu au vârste cuprinse între 20 de ani și 85 de ani, dintre care 82 (68,3%) sunt femei și 38 (31,7%) sunt bărbați. Analizele ante apiterapie, ca și cele post piterapie au fost structurate în tabele și însumate fiecare în parte, calculându-se mediile lor. Mediile fiecărei analize ante apiterapie au fost comparate cu corespondentele lor post apiterapie

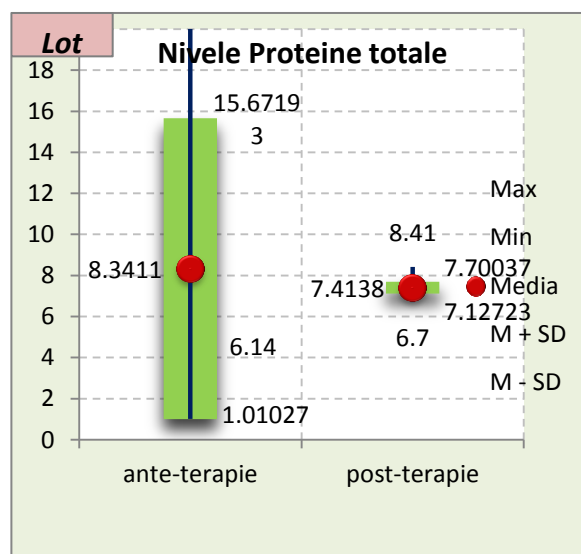
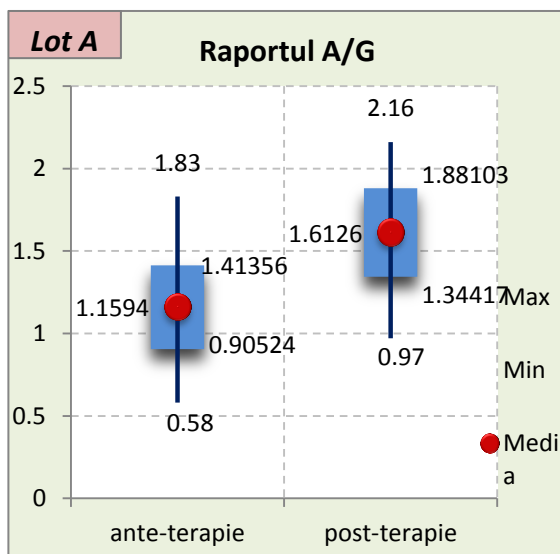
Tabel nr. 11. Lot A . Valori comparative ale mediilor analizelor ante și post apiterapie- 120 cazuri

Nr. crt.	MEDIA COMPARATIVĂ A VALORILOR OBȚINUTE 120 subiecți	PT 6,6-8,7 g/dL	A/G 1,39- 2,23	ALB 52-68%	Gama globulină 11-21%	Ca.T. v.n. 8,6- 10,2 mg/dL	Ca^{2+} V.n 3,82- 4,82 mg/dL	Dislipidemie. Colesterol total
1	Ante apiterapie	8,34g/dL	1,16	51,33%	22,72%	9,01	3,82 mg/dL	199,54/mg/dL

2	Post apiterapie	7,41g/dL	1,61	57,86%	18,79%	9,05 mg/dL	4,10 mg/dL	181,60mg/dL
	Creșteri	-----	+0,45 ----- 39,09%	+6,53 ----- 12,73%	-----	0,04 mg/dL 0,45%	0,28 mg/dL 7,20%	-----
	Scăderi	0,93g/dL 11,12%	-----	-----	-3,93 17,31%	-----	-----	17,94mg/dL 8,99%

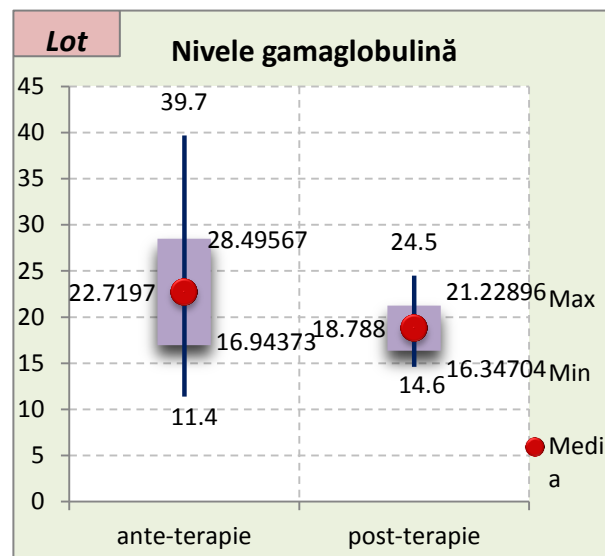
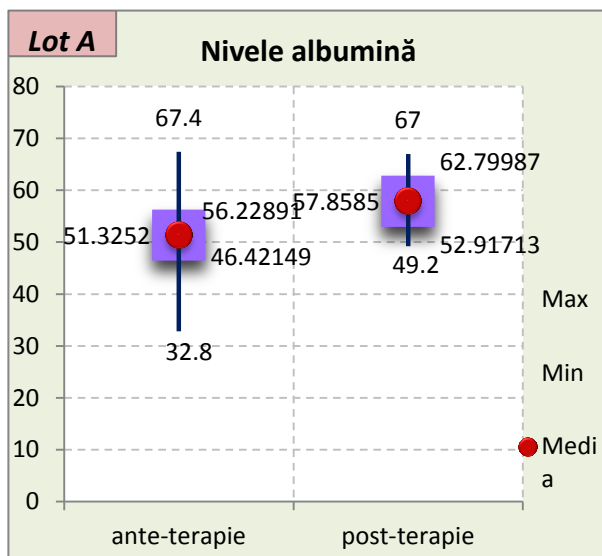
Reechilibrarea raportului A/G

Reducerea cantitativă a PT

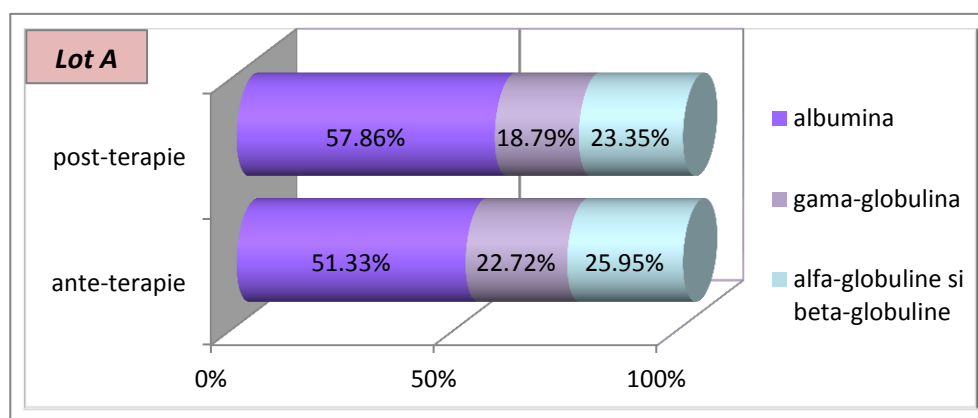


Creșterea sintezei de ALB determină

reducerea nivelului imunoglobulinei γ

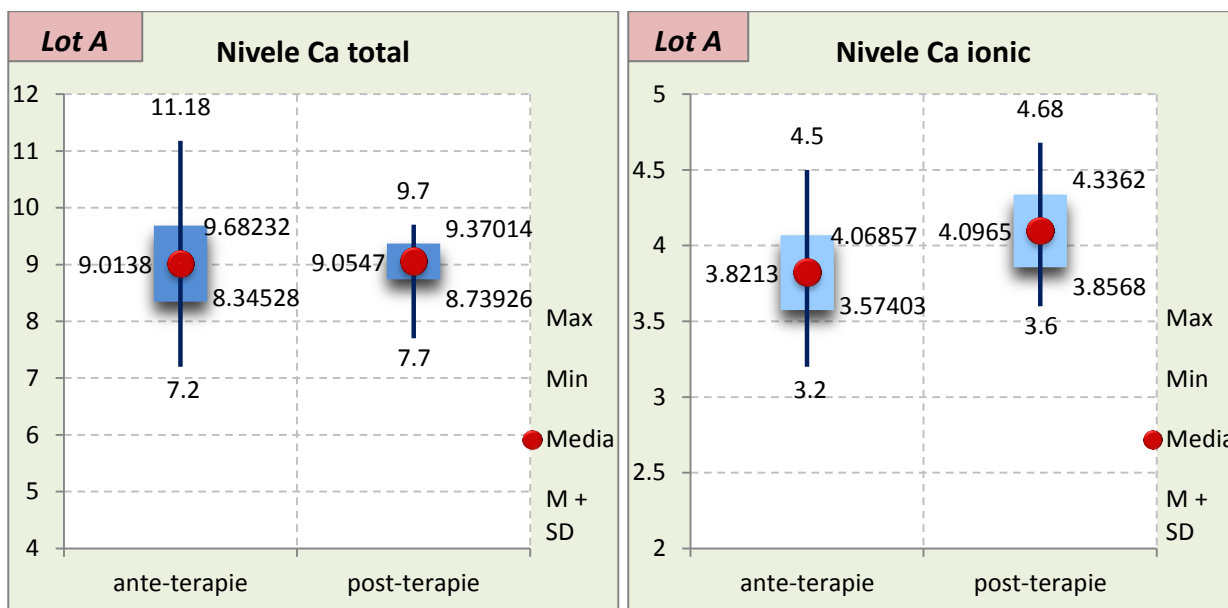


**Electroforeza proteinelor serice
ante și post apiterapie**



Opus oricăror alte metode și oricăror agenți terapeutici, a căror acțiune este hipoalbuminemiă și hipocalcemiantă, apiterapicele au potențialul de a restabili funcția fiziologică a ficatului de a sintetiza o cantitate sporită de albumină. Albumina și Ca^{2+} , devin cei mai activi agenți imunomodulatori, a căror cantitate, restabilită în limite fiziologice (a căror reevaluare o propunem în cap. VII), controlând sinteza globulinelor care, treptat, scad în limite fiziologice, restabilind raportul A/G; această reechilibrare a PS, reechilibrează PT care, simultan cu scăderea lor cantitativă, se reechilibrează și calitativ prin scăderea sintezei proteinelor patogene: autoanticorpi, proteine de fază acută, substanță fundamentală, hialină, orosomucoid, amiloid.

*Influenței apiterapiei asupra ionizării calciului (Lot A)
Comparație privind influența apiterapiei asupra CaT și Ca^{2+}*



Comparând valorile înregistrate ante apiterapie pentru cei 120 de subiecți (Lot A), cu valorile înregistrate post apiterapie, am sintetizat comparativ rezultatele obținute (Tabel nr.11.Lot A), putem susține validitatea teoriei pe care o propunem în abordarea autoimunității, ca și pe cea a eficienței apiterapiei:

-creșterea ALB cu 12,73% (ante apiterapie 51,33% vs.57,86% post apiterapie) este însoțită de o creștere cu 7,20% a Ca^{2+} (ante apiterapie 3,82 mg/dL vs. 4,10 mg/dL post apiterapie);

-creșterea sincronizată a ALB și a Ca^{2+} determină o scădere a globulinei γ cu 17,31% (ante apiterapie 22,72% vs. 18,79% post apiterapie);

-creșterea ALB și Ca^{2+} însoțită de scăderea globulinei γ (scad și globulinele α_1 , α_2 și β); determină creșterea valorică a raportului A/G cu 39,9% (ante apiterapie 1,16 vs. post apiterapie 1,61);

-reechilibrarea A/G determină reechilibrarea PT, care înregistrează o scădere cu 0,93mg/dL, deci cu 11,12% (ante apiterapie 8,34g/dL vs. 7,41g/dL post apiterapie);

-Ca T înregistrează o creștere foarte redusă, de numai 0,45% (ante apiterapie 9,01mg/dL vs. 9,05 mg/dL post apiterapie), în timp ce Ca^{2+} înregistrează o creștere mult mai însemnată, de 7,20%, fapt explicat prin capacitatea apiterapicelor de a stimula mecanismele de ionizare a calciului;

-colesterolul total scade cu o medie de 8,99% (ante apiterapie 199,54 mg/dL vs. 181,60 mg/dL post apiterapie), ca efect al apiterapiei reținând reechilibrarea lipidemiei, eficiența fiind exprimată și în reducerea valorile măsurate ale globulinelor α și β , care sunt lipoproteine (25,95% ante apiterapie, vs. 23,35% post apiterapie);

-reechilibrarea PT prin reechilibrarea A/G se reflectă inclusiv în restabilirea fiziologică a valorilor transaminazelor, în negativarea autoanticorpilor și proteinelor de fază acută, numărul acestor prezențe pozitive, calculate ca medie pentru fiecare din cei 120 de subiecți reducându-se cu 77,80% (media ante apiterapie 1,82/pacient vs. 0,40/pacient post apiterapie);

-apiterapicele, reechilibrând PT, nu numai că interzic procesele de fibrozare și de calcifiere, dar și contribuie la resorbția calcifierilor și fibrozărilor cu un procent de 57,42% (ante apiterapie 1,29 cazuri/subiect vs. 0,55 cazuri/subiect); reducerea sintezei aminoacizilor precursori ai proteinelor fibrilare, proces probabil simultan cu o reglare a acțiunilor proteazelor collagenaze, proces posibil mai ales dacă se produce și o reducere a aportului de acid ascorbic.

VIII.5.1. INFLUENȚA VÂRSTEI ȘI LIPIDEMIEI ASUPRA REECHILIBRĂRII A/G ȘI PT

Vârsta influențează procesul de reechilibrare a A/G, influențând astfel reechilibrarea PT, motivațiile fiind multiple: 1) intră în involuție metabolismul, în multe cazuri fără o diminuare a ingerării de proteine și lipide; 2) hipoestrogenemia, îndeosebi în climacterium; 3) fiziologic, ficatul reduce rata sintezei hepatice a albuminei chiar și înainte, dar mai ales după 50 de ani; 4) creșterea apelului la cele mai diverse medicamente etc.

De asemenea, o influență importantă asupra reechilibrării PT via PS, o are și dislipidemia. Chiar dacă subiectul nu prezintă hipercolesterolemie, dezechilibrul diverselor fracții ale colesterolului (HDL, LDL, VLDL), impiedică procesul de restabilire a A/G.

Pentru un studiu comparativ, am desprins din lotul A (total subiecți incluși în studiu - 120) loturile:

- Lot B: 74 de subiecți, cu vârste între 20-50 de ani, incluzând și cazurile cu dislipidemie;
- Lot C: 39 de subiecți, cu vârste între 20-50 de ani, fără cazurile cu dislipidemie;
- Lot D: 48 de subiecți cu vârste între 51 și 85 de ani (inclusiv cei cu dislipidemie).

Am calculat mediile valorilor biologice luate în studiu pentru fiecare lot (B,C,D), apoi le-am raportat la aceleași valori ale întregului lot (Lot A)

Tabel nr. 12. Valori biologice ale lotului A, comparativ cu loturile B, C și D.

MEDIA COMPARATIVĂ A VALORILOR OBTINUTE	PT 6,6-8,7 g/dL	A/G 1,39- 2,23	ALB 52-68%	GAMA globulină 11-21%	Ca.T. v.n. 8,6- 10,2 mg/dL	Ca^{2+} V.n 3,82- 4,82 mg/dL	Dislipidemie: Colect. T >190mg/dL HDL<60
---	-----------------------	----------------------	---------------	-----------------------------	-------------------------------------	---	---

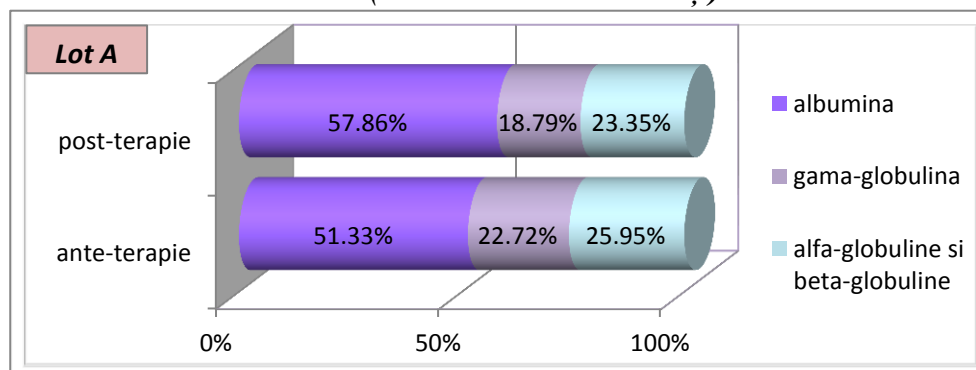
								LDL> 100 VLDL>30 Trg.>150
Ante apiterapie	Lot A-120	8,34	1,16	51,33	22,72	9,01	3,82	199,54
	Lot B-74	7,69	1,22	52,52	21,05	9,15	3,89	196,14
	Lot C- 39	7,61	1,22	53,27	21,16	9,06	3,87	169,85
	Lot D-46	8,97	1,07	49,41	25,41	8,80	3,71	205,02
Post apiterapie	Lot A-120	7,41	1,61	57,86	18,79	9,05	4,10	181,60
	Lot B-74	7,37	1,72	59,71	17,76	9,12	4,19	180,14
	Lot C-39	7,33	1,77	60,50	17,76	9,10	4,21	175,54
	Lot D-46	7,48	1,44	54,89	20,45	8,95	3,95	183,96

-Pentru subiecții de aceeași vârstă, 20-50 de ani, incluși în loturile B (cu dislipidemie) și C (fără dislipidemie, observăm: media PT ante apiterapie și post apiterapie este în favoarea lotului fără dislipidemie (Lot C, 7,61/7,33 vs. Lot B, 7,69/7,33); media albuminei (Lot C, 53,27/60,5 vs. Lot B, 52,52/59,71); media Ca^{2+} (Lot C, 3,87/4,19 vs. Lot B, 3,89/4,21); colesterolul total (Lot B, 196,14/180,14 vs. 169,5/175,4) etc.

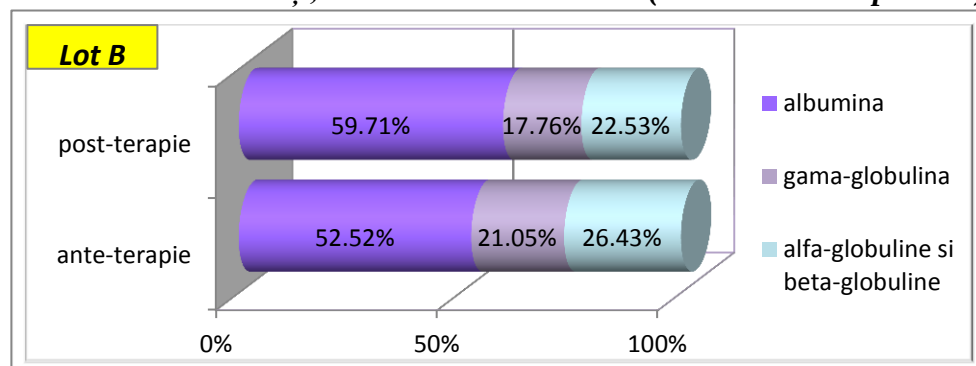
-Pentru subiecții lotului D, care include subiecții cu vârste de 50-85 de ani, inclusiv cei cu dislipidemie, dacă se raportează la lotul C, observăm: mediile PT în favoarea lotului C (Lot D, 8.97/4,48 vs. Lot C,7,61/7,33); mediile albuminei (Lot D, 49,41/54,9 vs. Lot C, 53,27/60,50) etc.

Raportare comparativă a electroforezelor loturilor A,B,C,D

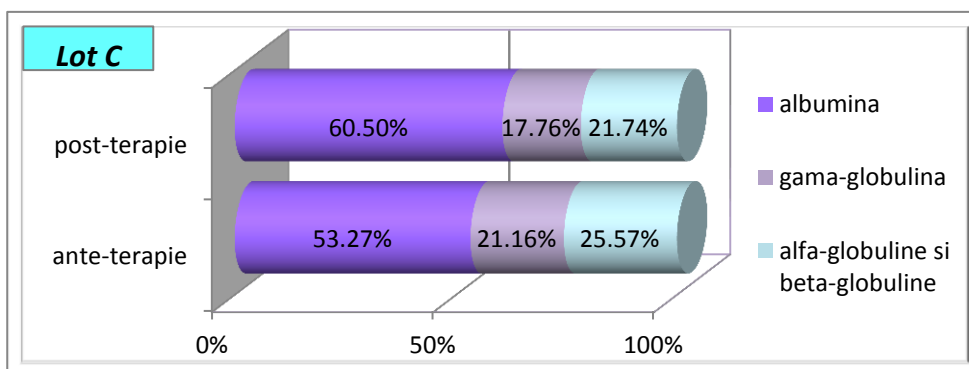
Lot A (lot total = 120 de subiecți)



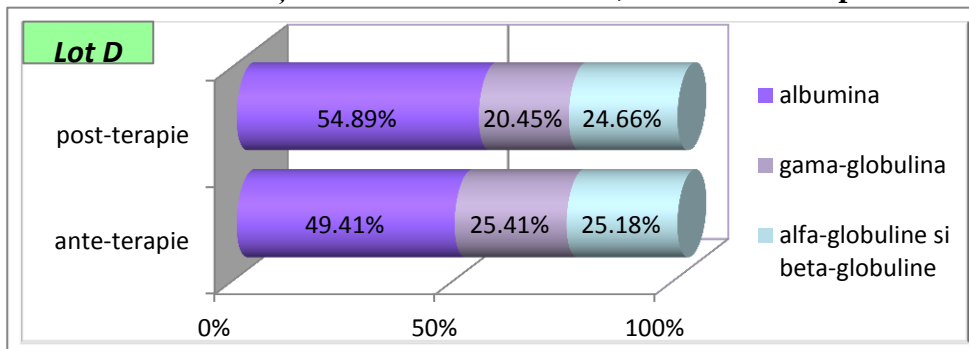
Lot B=74 de subiecți, cu vârstele 20-50 de ani (inclusiv cu dislipidemie)



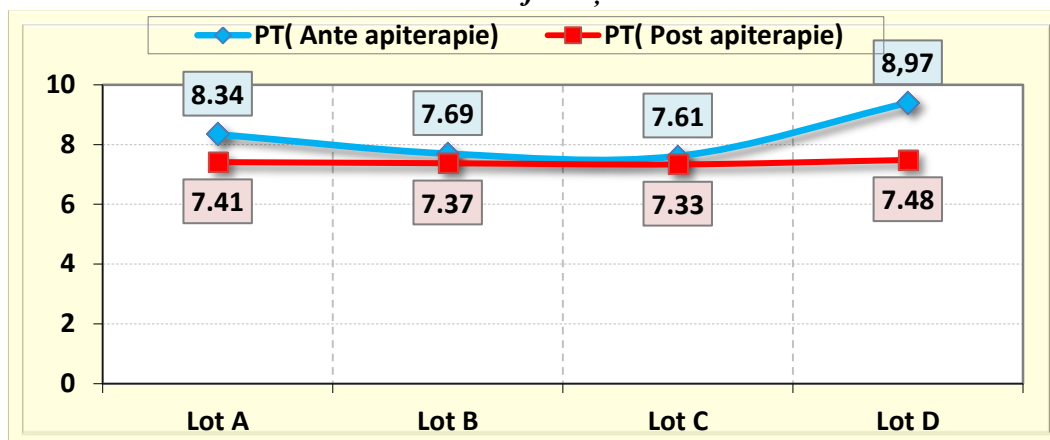
Lot C = 39 de subiecți, cu vârstele 20-50 de ani, fără dislipidemie



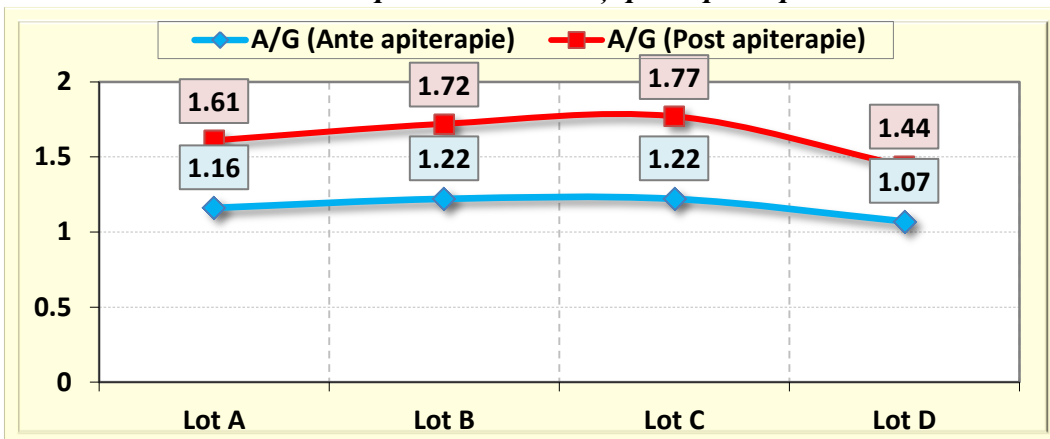
Lot D = 48 de subiecți cu vârstele 51-85 de ani, inclusiv cu dislipidemie



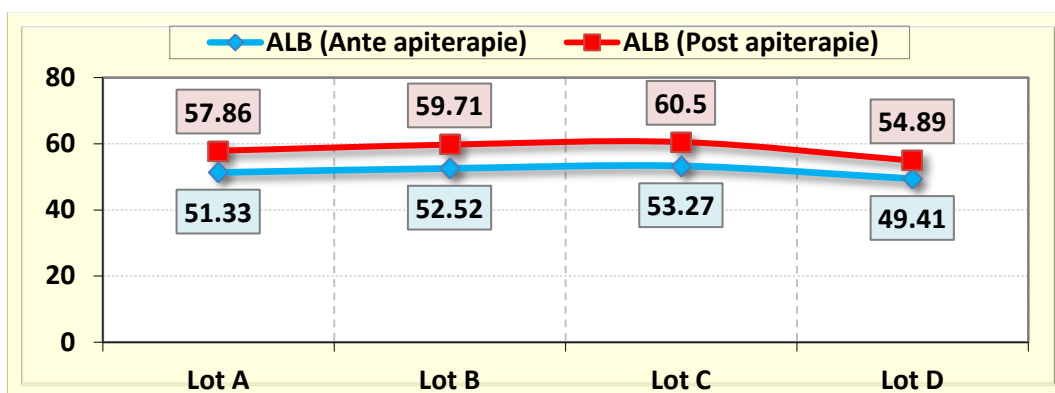
Reechilibrarea PT sub influența reechilibrării A/G



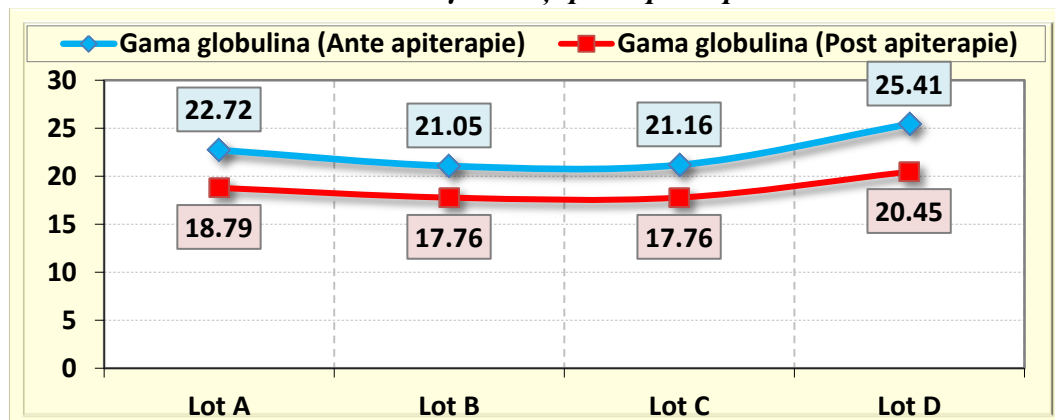
Raportul A/G ante și post apiterapie



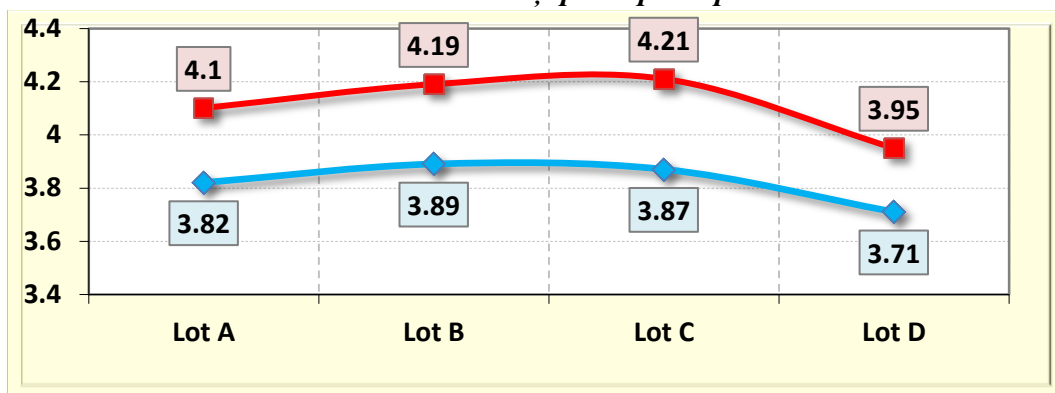
Albumina ante și post apiterapie



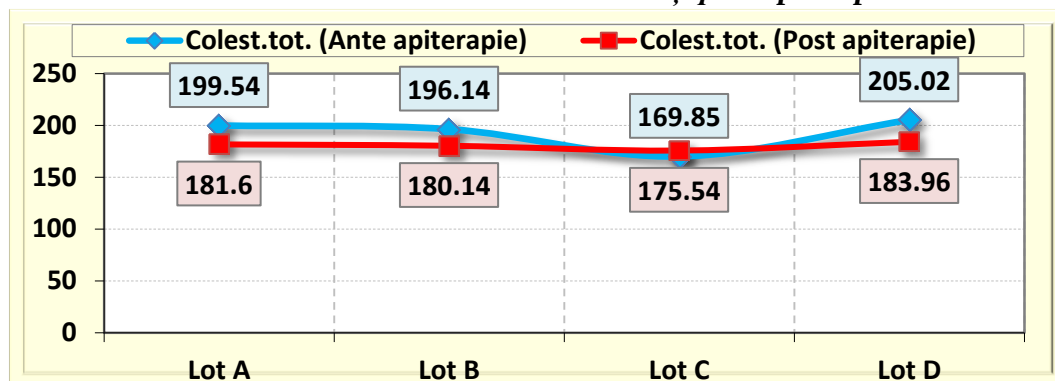
Globulina γ ante și post apiterapie



Calciul ionic ante și post apiterapie



Valorile colesterolului total ante și post apiterapie



Reechilibrarea PT *via* reechilibrarea PS, are în apiterapie o metodă de intervenție unică și suficientă. Agenții terapeutici aflați în apiterapicele produse de către Apitherapy Medical Center, a căror potență imunomodulatoare am constatat-o în practica clinică sunt, de fapt, aceiași cu cei pe care științele medicale și farmacologia îi acreditează ca având potențial de intervenție imunosupresoare în bolile autoimune: steroizi, substanțe antibiotice, antibacteriene, antifungice, antiinflamatoare, antioxidative, antivirale, antitumorale etc.

Diferențele însă, între acțiunile farmacodinamice ale tuturor imunosupresoarelor de sinteză farmacochimică și apiterapicele produse de A.M.C., sunt multiple:

a) au fost concepute pe baza metodei noastre de intervenție în autoimunitate: reechilibrarea PT *via* reechilibrarea PS;

b) creează, prin administrare, sinergia de prezență și de acțiune a substanțelor care sunt agenți investiți cu potențial imunosupresor, antiinflamator, cu substanțe care: 1) le susțin sau le limitează acțiunile; 2) interzic/limitează producerea RLO; 3) conțin substanțe cu acțiune de protecție la nivel molecular/celular; 4) conțin toate substanțele necesare construcției celulare, de la membrana bilipidică și până la nucleu, pecum și pe cele necesare homeostaziei MEC;

c) administrate corespunzător, nu induc dependență și nu prezintă contraindicații;

d) oferă organismului uman: totalitatea macronutrienților, biostimulanților și antioxidanților cunoscuți; o impresionantă diversitate de biomolecule biocompatibile.

Prin structura biochimică a hranei, colonia dezvoltă potențialul estrogenic al mătci,

Tabel nr. 19. Hrana puietului apicol: influențe asupra castelor coloniei de albine

Casta	Matcă	Albină	Trântor
Ou	3 zile	3 zile	3 zile
Larvă	5 ½ zile	6 zile	6 ½ zile
Larvă căpăcită, nimfă	7 ½ zile	12 zile	14 ½ zile
Durata evoluției de la ou la eclozare	16 zile	21 zile	24 zile
Greutatea corporală	150-280 mg	circa 100 mg	circa 230 mg
Durata vieții	5-7 ani	40-44 zile (6-9 luni albina de iernare)	circa 8 săptămâni

(Adaptare după Andrițoiu V., Apiterapia în planning-ul familial, Arad, 2006)

castrează albinele – a căror anatomie este identică cu cea a reginei, determină androgenismul trântorilor etc. În aceste evoluții intervin somathormonii și somatostatinele, identice celor umane, steroizii atât de importanți în domeniul imunității etc.

Tabel nr. 3. Steroizi apicoli – antiinflamatori în autoimunitate.

Nr.de atomi de carbon din moleculă	Hidrocarburi de bază	Compușii naturali derivați
C18	Estran	Hormoni estrogeni
C19	Androstan	Hormoni androgeni
C21	Pregnan	Hormoni gestageni Hormoni corticosteroizi
C24	Colan	Acizi biliari
C27	Colestan	Steroli

(Adaptare după Andrițoiu V., Apiterapia în planning-ul familial, Arad, 2006)

Produse apicole sunt suportul principal al producerii apiterapicelor Apitherapy Medical Center: Centaur I, II, III; Ares I, II, III; Apiregya I, II, III; Melanovit I, II, III; Apialbumină I,II;

Apidigest I, II; Apimineralia I, II; Apifertil I, II, III; Apitirozină I, II; Apizinc; ApiRin I, II; Apicitosan I, II; Apiliponorm I,II; ApiImunostim I, II; HepatoStim; Oțet Prisaca; Oțet de Polen; Vecadon; Pigmenta I, II; Hemorstop; ApiInstant I, II; Tinctură dePropolis; alte tincturi.

Pentru, producerea apiterapicelor, după metode și concepții proprii, am comparat biochimia viului uman – celular și extracelular – cu structura biochimică a produselor apicole.

Tabel nr.21. Oferta apiterapicelor pentru biostructura celulei umane.

CELULA UMANĂ STRUCTURI CELULARE MATRICEA EXTRACELULARĂ	OFERTA BIOCHIMICĂ A APITERAPICELOR
MEMBRANĂ GLICOCALIX	*lipide membranare - precursorii lor sau biomolecule de: - cholesterol -fosfolipide –fosfogliceride: colină, fosfatidilcolină, serină, inozitol -sfingolipide:sfingomielină, anglioizide,cerebrozide -glicolipide- galactocerebrozide,glicoceride etc. *proteine membranare: ca aminoacizi precursori ai proteinelor fibrilare, globulare *carbohidrați- toți precursorii -biomolecule:oligozaharide,proteoglicani,glicoproteine, glicolipide
MITOCONDRII	*biomolecule de fosfolipide pentru membrane *toate enzimele - inclusiv MAO, coenzima A, ATP-aze, SOD etc.) *coenzime - inclusiv Q₁₀ *ioni: Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺ etc. *acizi, inclusiv ADN și ARN *glucoză etc.
LIZOZOMI	*constituenți membranari - glicoproteici *hidrolaze acide – fosfolipaze, glicozidaze, proteaze, lipaze, nucleaze
PEROXIZOMI	*constituenții membranari *enzime – catalază și oxidaze
RETICULUL ENDOPLASMATIC	*fosfolipide de membrană-precursori sau biomolecule *glicoproteine *calciu ionizat *enzime: precursori și biomolecule de:NADH, ATP-aze, glucozo-6-fosfataza
COMPLEXUL GOLGI	*constituenții membranari *precursori-glucide , lipide, proteine *biomolecule de tipul celor secretate-poliozide, glicoproteine, lipoproteine
NUCLEU	*fosfolipidelor și proteinelor membranare: precursori și biomolecule de- *enzime perinucleare și Ca²⁺ *molecule de ADN și ARN *precursori ai cromatinei-biomolecule de proteine bazice și acide, lipide, ioni *receptori pentru hormonii steroidieni etc.
MATRICEA EXTRACELULARĂ	*precursori: aminoacizi, glucide *biomolecule: glicozaminoglicani, proteoglicani

Potențialul ofertei produselor apicole este binom: conțin nu numai substanțele precursoare necesare metabolismului uman, ci și un număr impresionant de biomolecule direct utilizabile, biocompatibile până la identitate.

Principiul de căpetenie al apiterapieii, ca și cel al potențialului de acțiune al apiterapicelor în imunitatea umană, este întrunirea ***sinergiei de prezență și de acțiune***. Clinicienii se confruntă frecvent cu situații în care agentul terapeutic nu-și poate atinge ținta. Cauzele pot fi multiple, dar una dintre cele mai importante este absența sau insuficiența substanțelor care să susțină sau să controleze acțiunea agentului terapeutic. Atunci când afirmăm sinergia de prezență și de acțiune a apiterapicelor, ne referim la potențialul unic al acestora de a oferi atât subsatanța sau substanțele investite ca fiind agentul/agenții care tratează o anumită afecțiune, cât și la substanțele care să le faciliteze acțiunea. Apiterapicele au un caracter binom, tridimensional și sinergic.

Tabel nr.20. Principalele caracteristici ale apiterapicelor produse de AMC

Caracteristicile apiterapicelor	Sunt/conțin/acționează
Caracter binom	Sunt simultan: - veritabile medicamente - cele mai complete alimente
Caracter tridimensional	Conțin substanțe: - pentru construcție celulară - pentru protecție celulară - biomolecule identice celor umane
Caracter sinergic	Sinergia de prezență și acțiune: - conțin agenți terapeutici multipli - conțin substanțe care le susțin acțiunile

(Adaptare sintetizatoare după Andrițoiu, 2006)

Un exemplu de eficiență al acțiunii apiterapicelor în afecțiunile autoimune, îl constituie intervenția lor în susținerea, controlul și limitarea acțiunii granulocitelor PMN. Este bine cunoscut rolul intervenției, în cadrul răspunsului imun, al PMN, în injuriile determinate de acțiunile antigenelor exogene ori endogene. Având un înalt potențial oxidativ, eliberează mari cantități de RLO, degradând nu numai antigenele, ci și epitopii. După distrugerea antigenului, în eventuala absență a antioxidanților care le pot controla, limita și opri acțiunile, PMN continuă să elibereze enzime proteolitice și RLO, putând genera grave injurii, autoagresiune, autoimunitate, îmbătrânire prematură.

Apiterapicele intervin benefic: 1) asigură substanțele care pot proteja celulele învecinate față de eventualele acțiuni agresive ale PMN, care ar acționa nelimitat; 2) oferă toate substanțele necesare pentru reconstrucția celulelor posibil distruse. Apiterapicele intervin, conținând; 3) conțin toată gama de enzime care alcătuiește bogatul și variatul echipament enzimatic proteolitic-oxidativ al PMN; 4) conțin toți antioxidanții cunoscuți în științele medicale, inclusiv toate enzimele care controlează, limitează și opresc activitatea PMN după neutralizarea antigenului, acestea având și rolul de a inactiva RLO, prevenind producerea leziunilor cu distrugerea propriilor celule (mai ales SOD și catalază) etc.

Imunologul Andrei Olinescu apreciază că, față de orice altă terapie, ***administrarea sistematică a enzimelor SOD și catalază în cazurile de autoagresiune, reprezintă “singura terapie eficientă” (Olinescu, 2005).*** SOD și catalaza sunt ubiquitare în produsele apicole. Apiterapicele conțin abundant aceste enzime, dar și Zn, Cu și Mn, necesare biosintezei lor.

CAP. IX. STUDII CLINICE MONOGRAFICE PRIVIND POTENȚIALUL PROFILACTIC ȘI TERAPEUTIC AL APITERAPICELOR ÎN BOLILE AUTOIMUNE

IX.1. MATERIAL, SCOP ȘI METODĂ

Materialul pentru realizarea studiilor clinice aparțin bazei de date acumulate în cadrul Apitherapy Medical Center și este constituit din analize medicale de laborator, bilete de externare, scrisori medicale, ecografii, teste de fibroză hepatică etc. Documentele medicale, ante și post apiterapie, se referă la 150 de subiecți cu diferite forme de boli autoimune primare, dar și cu afecțiuni secundare, provocate iatrogen, cronicizate: lupus eritematos cu manifestări de organ sau sistemic, astm, hipotiroidită Hashimoto, poliartrită reumatoidă, hepatită autoimună etc. Cu puține excepții, pacienții urmaseră, ante apiterapie, uneori un număr însemnat de ani, alte tratamente imunosupresoare, cu una sau mai multe remisii și recidive

Scopul studiului este evidențierea potențialului apiterapiei și apiterapicelor de a interveni în autoimunitate, nu numai simptomatic și pentru negativarea autoanticorpilor pozitiviți, ci și pentru înlăturarea urmărilor secundare determinate iatrogen sau prin cronicizare. Ne referim la fibrozări, calcificări, dislipidemii, proteine de fază acută etc. În general, am inclus între manifestările secundare debutului autoimunității, acele afecțiuni care nu au existat la prima diagnosticare.

Am recurs la aceleași metode de lucru- cea aritmetică și cea comparativă. Mediile aritmetice ale valorilor biologice înscrise în buletinele de analize ante apiterapie, sunt comparate cu mediile aceluiași determinări post apiterapie. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute prin apiterapie se face comparativ, ante și post apiterapie, prin metoda Microsoft Office Excel 2007 și programul SPSS 16.

IX.2. COMUN ÎN AUTOIMUNITATE

Oricare ar fi afecțiunea autoimună pusă în discuție, aceasta prezintă unele trăsături comune cu orice altă boală autoimună. Cea mai importantă caracteristică comună a bolilor autoimune este hiperstimularea sistemului imun până la un grad în care ajunge să autoagreseze propriile celule și țesuturi

Pentru a evidenția efectele apiterapiei în bolile autoimune, ca și probitatea metodei noastre de abordare a acestor afecțiuni, întreprindem mai întâi un studiu clinic care include 14 boli autoimune diagnosticate pentru un lot de 20 de subiecți: LES, endometrioza, poliartrită reumatoidă (PR), uveită fibrinoplastică, astm bronșic, hipotiroidită Hashimoto, Boala Wilson, sindrom antifosfolipidic, Helicobacter Pylori, cataractă, ateromatoză cu calcificări (însoțită de neoangiogeneza), fibrom uterin, sindrom Sjogren, rinită alergică.

Mediile valorilor biologice, măsurate ante și post apiterapie, sunt analizate comparativ, astfel încât să putem concluziona asupra potențialului apiterapicelor de a interveni benefic într-un spectru larg de boli autoimune (vezi Tabel nr. 27).

IX.3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

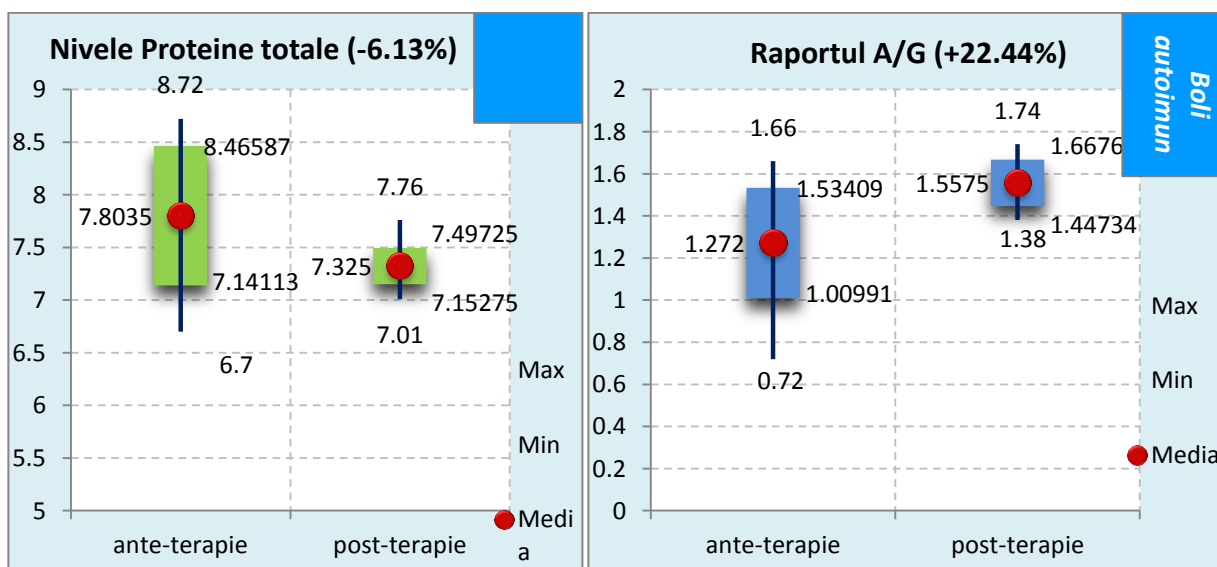
Creșterea mediei nivelului seric al ALB cu 7,39% (ante apiterapie 54,67% vs. 58,71% post apiterapie), coincide cu o creștere medie a Ca^{2+} cu 9,20% (ante apiterapie 3,87 mg/dL vs. 4,22 mg/dL post apiterapie). Creșterea nivelului seric al ALB și Ca^{2+} determină reducerea gamaglobulinei cu o medie de 15,67% (ante apiterapie 19,86% vs. 16,75% post apiterapie), A/G crescând cu o medie de 22,44% (ante apiterapie 1,27 vs. 1,56 post apiterapie) și determinând reechilibrarea cantitativă a PT, care scade cu o medie de 6,13% (ante apiterapie 7,80 g/dL vs. 7,33 g/dL post apiterapie). Acestea determină schimbări la nivelul glicemiei și trombocitemiei. Glicemia crește cu 1,39% (ante apiterapie 90,35 mg/dL vs. 91,60 mg/dL post apiterapie).

Trombocitele cresc cu o medie de 1,78% (ante apiterapie 233.000/ μ L vs, 237,15 000/ μ L post apiterapie. La nivelul lipidemiei, fibrozărilor, calcifierilor, titrului autoanticorpilor și proteinelor de fază acută, media/subiect se reduce cu un procent de 80,90% (ante apiterapie 89 vs. post apiterapie 17).

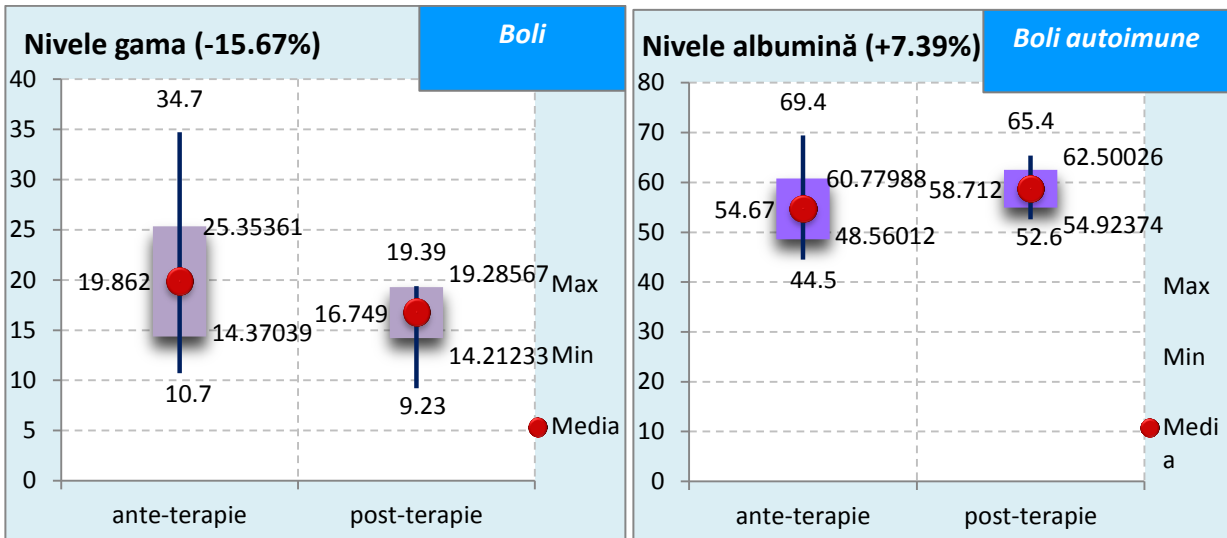
Tabel nr. 27. Mediile comparative ale analizelor ante și post apiterapie (20 de subiecți, 14 afecțiuni autoimune).

Subiecți MEDIA valorilor analizelor: ante-post-apiterapie	PT v.n. 6.6-8.7 g/dL	A/G v.n. 1.39-2.23	ALB v.n. 52-68%	γ globulină v.n. 11-21%	Glicemie v.n. 60-110 mg/dL	PLT v.n. 150-450000 μ /L	Ca seric total v.n. 8.6-10.2 mg/dL	Ca ²⁺ v.n. 3.82-4.82 mg/dL	1.Dislipide-Mie 2.Fibroză 3.Calcifieri 4.Auto-Ac 5.Proteine de fază acută
ANTE									
APITERAPIE	7,80	1,27	54,67	19,86	90,34	233,00	9,24	3,87	89
POST									
APITERAPIE	7,33	1,56	58,71	16,75	91,60	237,15	8,94	4,22	17
CREȘTERI		22,44%	7,39%		1,39%	1,78%		9,20%	
SCĂDERI	6,13%			15,67%			3,22%		-80,90%

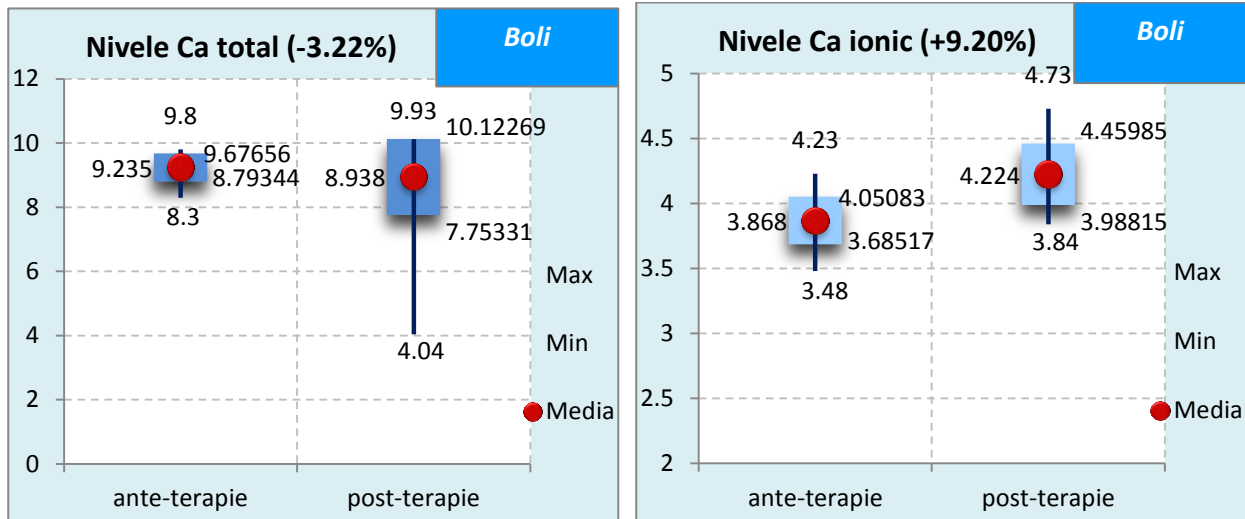
Influența raportului A/G asupra PT ante și post apiterapie



Creșterea albuminei determină reducerea imunoglobulinei γ



Calciu total și Ca^{2+} ante și post terapie



IX.4. CAZURI CLINICE DE BOLI AUTOIMUNE

IX.4.1. PROFILAXIA ASTMULUI BRONȘIC INFANTIL

Albuminei și calciului seric ionic li se poate atribui rolul de a negativa sau, după caz, de a sechestra antigenul: au o certă acțiune imunomodulatoare. Prima afecțiune autoimună care ne-a orientat cercetarea este astmul alergic debutat la copiii cu varste cuprinse între 6 luni și 4 ani.

Tabel nr. 28. Hipoalbuminemia și hipocalcemia maternă: cauză a afețiunii

30 de copii: astm bronșic alergic, rinite alergice, polipoză nazală	30 de mame indemne autoimun
-hipocalcemie ionică congenitală -hipoalbuminemie -creșterea titrului IgE -eozinofilie -anemie (frecvent)	-hipocalcemie ionică în sarcină și alăptare; -hipoalbuminemie în sarcină și alăptare; -A/G –subunitar sau la limita minimă; -anemie (frecvent)

Concluzionăm:

- hipoalbuminemia și hipocalcemia ionică “desechestreaza” antigenul;

- Ca^{2+} în v.n. ar putea interfera acțiunea genei HRB¹, sechestrând antigenul;
- copiii “preiau”, materno-fetal și prin alăptare status-ul biochimic al organismului mamelor;
- hialinizarea nazală – precede polipoza nazală.

Profilaxia astmului bronșic infantil, rinitei alergice și polipozei nazale se tratează ante sarcină sau, deși cu întârziere, în timpul sarcinii și alăptării. Aici ar trebui să intervină consilierea de către medicul de familie, pe baza electroforezei PS și măsurării Ca^{2+} .

Caz de astm bronșic infantil: fetiță, 3 ani, diagnosticată cu astm la vârsta de 7 luni.

Prin apiterapie, am restabilit nivelele fiziologice ale albuminei și calciului ionic.

Tabel nr. 30. Valori ante și post apiterapie

Ante apiterapie	Post apiterapie
ALB 54,7	59.60
Ca seric total 8,9 mg/dL	9,05 mg/dL
Ca^{2+} 3,72 mg/dL	4,30 mg/dL
IgE (v.n.<15) 52	11

IX.4.2. SINDROMUL ANTICORPILOR ANTIFOSFOLIPIDICI

În imunologie, sindromul anticorpilor antifosfolipidici a fost inclus în mai largă familie a bolilor autoimune, anume în aceea a bolilor mixte de țesut conjunctiv (BMȚC). Se caracterizează prin producerea de tromboze repetate, arteriale și venoase, sarcini pierdute recurent prin oprirea în evoluție, trombocitopenie, **asociat ori nu** cu prezența anticorpilor anticardiolipinici, a anticoagulantului lupic, sau a anticorpilor anti- $\beta 2$ glicoproteină.

Propunem, alături de electroforeza proteinelor serice și de determinarea calciului seric ionic, să se orienteze diagnosticarea în funcție de un parametru ușor de obținut: timpul de sângerare/timpul de coagulare. Creșterea albuminei controlează sinteza proteinelor de fază acută cu efect coagulant, iar Ca^{2+} este un factor implicat în controlul coagulării. ***Dacă nu se procedează astfel, alternativa este administrarea de anticoagulante în sarcină, ori oprirea sa în evoluție.***

Studiu de caz: femeie în vârstă de 30 de ani, 1,62m, 58 kg. O sarcină oprită anterior în evoluție.

Tabel nr. 31. Valori ante și post apiterapie. B.A. Synevo: 24.9.2008 și 4.01.2009

Determinări	Ante apiterapie	Valori normale	Post apiterapie
PT	7,80g/dL	6.6 – 8.7 g/dL	7.6g/dL
Albumină	52.9%	52 – 68 %	64,5%
Gamma	21.1%	11 – 21 %	15,8%
A/G	0,98	1,39-2,23	1,54
Ca total	8,32mg/dL	8.4 -10.2 mg/dl	9.4mg/dL
Ca^{2+}	3.61mg/dL	3.8 2– 4.82 mg/dl	4,25mg/dL
Ac.ANA	Pozitiv	Negativ	Negativ
Ac.anti-cardiolipinici IgG	Pozitiv	Negativ	Negativ
CRP	Pozitiv	Negativ	Negativ
FR	Pozitiv	Negativ	Pozitiv

IX.4.3. LES ȘI HEPATITĂ AUTOIMUNĂ IATROGENĂ

Pacientă : 26 ani, 169m, 73kg

La 4.07. 2002 – diagnostic: LES.

1.Gena HRB, care guvernează hiperreactivitatea bronșică, este situată pe cromozomul 5q, în vecinătatea locusurilor care reglează sinteza IgE. **IgM, atunci când titrul său crește, are și rolul de anticorp anti-albumină.**

10.01.2008: post terapie cu corticosteroide, antiinflamatoare, diagnostic: LES și hepatită autoimună (baza de date, cod A.H.14.4). Urmează apiterapia 1.02.2008- 14.05.2008.

Tabel nr. 32. Valori ante și post apiterapie (Laboratoarele Synevo)

Determinări	Ante apiterapie	Valori normale	Post apiterapie
PT	8,10g/dL	6,6 – 87 g/dL	7.52g/dL
Albumină	48,6%	52 - 68 %	59.7%
Alfa 1	5.2%	1-3 %	2.4%
Alfa2	12.7%	9,5-14,4 %	10.3%
Beta	13.2%	8.9 - 15.6 %	11.2%
Gamma	22.3%	11 - 21 %	16,4%
A/G	0.89	1.39 – 2.23	1.48
TGP	50 U/L	< 37 U/L	32 U/L
TGO	88 U/L	< 40 U/L	29 U/L
Ca total	9.1mg/dL	8.6 – 10.2 mg/dl	9.5mg/dL
Ca ²⁺	3.7mg/dL	3.82– 4.82 mg/dl	4.20mg/dL
CRP	Pozitiv	Negativ	Negativ
Ac.ANA	Pozitiv	Negativ	Nedecis
Ac LKM1	Pozitiv	Negativ	Negativ

Hepatita autoimună este secundară LES cutanat (formă ușoară de boală autoimună), urmare a terapiei cu corticosteroizi de sinteză, antiinflamatoare nesteroidiene și imunosupresoare

De reținut sunt valorile CaT, care cresc aproape nesemnificativ prin apiterapie (de la 9,1mg/dL la 9,5 mg), în timp ce Ca²⁺ crește de la 3,7mg/dL ante apiterapie, la 4,2mg/dL. Creșterea sintezei hepatice de albumină (48,6% vs 59,7%) se află într-o relație directă cu creșterea cantității de Ca²⁺.

Reechilibrarea raportului A/G determină reechilibrarea PT: 1) cantitativ, acestea înregistrează o reducere de la 8,10g/dL , la 7,52g/Dl; 2) calitativ-structural, are loc o reducere a sintezei de autoanticorpi (se reduce sinteza globulinei gamma), proteine de fază acută (CRP), precum și sinteza de proteine fibrilare.

Studiu de caz: LES și artrită psoriazică

Pacientă: 33, 155, 53

La 6. 08. 2001, diagnostice: lupus anticoagulant anticoagulant și poliartrită reumatoidă

Tabel nr. 33.Valori ante și post apiterapie. Urmează apiterapia 25.2. 2008 – 30.04. 2008.

Determinări	Ante-apiterapie	Valori normale	Post apiterapie
PT	7.90g/dL	6.6 – 8.7 g/l	7.45g/dL
Albumină	51.9%	52 – 68 %	63.9%
Gamma	22,45%	11-21 %	16.6%
A/G	1.2	1,39-2,23	2.02
Ca total	9mg/dL	8.4 10.2 mg/dl	9.1mg/dL
Ca ²⁺	3.71/dL	3.8 2– 4.82 mg/dL	4.31mg/dL
Ac.anti-ANA	Pozitiv	Negativ	Negativ
Ac.anti-cardiolipinici	Pozitiv	Negativ	Negativ
CRP	Negativ	Negativ	Negativ
FR	Pozitiv	Negativ	Indecis pozitiv

IX.5. PREMIERĂ MEDICALĂ: NEGATIVAREA INFECȚIILOR CU HPV

IX.5.1. MATERIAL ȘI METODĂ.

Materialul studiului îl constituie buletinele de analize medicale, ante și post apiterapie, prezentate de 20 de subiecți incluși în studiu – 18 femei și 2 bărbați. Condiția includerii în studiu: prezentarea buletinelor tipajelor virale. Rezultatele, obținute aritmetic și comparativ, sunt exprimate atât procentual, cât și grafic, prin metoda Microsoft Office Excel 2007 și SPSS 16.

IX.5.2. OBIECTIVE ȘI SCOP.

Atragerea atenției asupra riscurilor prezentate de vaccinarea persoanelor cu predispoziție autoimună sau/și autoimunitate congenitală ori dobândită deja produsă. Indicarea analizelor minime care pot preveni hiperstimularea sistemului imun, pentru a preveni eventualele episoade autoimune cu efecte greu de prevăzut. Realizarea unei comparații între vaccinarea ipotetic protectoare față de o eventuală infectare cu 4 dintre cele circa 100 de tulpini și potențialul antiviral al apiterapicelor produse de Apitherapy Medical Center.

Profilactic, menținerea unui raport A/G fiziologic prin apiterapie, poate preveni remanența virală, atât prin efectul de protecție la nivel celular, cât și prin acțiunea antivirală.

IX.5.3. INFECTAREA CU HUMAN PAPILLOMA VIRUS

Human Papilloma Virus (HPV) este cunoscut încă din antichitate. Face parte din familia papovavirusurilor cu ADN recombinant, cu peste 100 de tulpini diferite, dintre care circa 45 pot determina afecțiuni benigne ori pot fi detectate în leziunile maligne umane (circa 20 de tulpini sunt suspectate a avea potențial oncogen în diferite grade: înalt, mediu și redus) (Cernescu, 2003). De multe ori acestea necesită intervenția medicală: aplicații locale, electrocauterizare, crioterapie, chirurgie (Aggeoulou et al., 1999). Manifestările maligne (cancere de col uterin, vulvă, vagin, anus) apar numai la zeci de ani de la contactul infectant (se vorbește de o minimă de 15 și o maximă de 30 de ani) și numai dacă acțiunea tulpinilor este precedată și însoțită de alți factori carcinogeni (Ammatuna et al., 2001). Infectarea cu HPV este urmată de răspunsul imun al organismului: virusul este negativat în circa 90% din cazuri.

IX.5.4.. PROFILAXIA PRIN VACCINUL SILGARD. RISC ȘI BENEFICIU

Prospectul vaccinului Silgard susține faptul că: "HPV tipurile 16 și 18 sunt responsabile de aproximativ 70% din cancerul de col". Este o exagerare. Apreciat de producătorii și de susținătorii săi ca fiind unul din marii pași înainte pe care îi face umanitatea, prin aceea că ar reduce cu 70% riscul cancerului de col uterin, în realitate, vaccinul **ar putea preveni infectarea cu patru din tulpinile HPV: 6, 11, 16 și 18; nu vindecă persoanele deja infectate**; nu se știe dacă nu mărește agresivitatea celorlalte tulpini cu care persoanele vaccinate ar putea fi deja, sau s-ar putea infecta într-un viitor oarecare; nu se cunoaște compatibilitatea sau incompatibilitatea cu alte medicamente și vaccinuri; cu certitudine, este contraindicat în tratamentele pentru imunosupresie; nu se cunoaște perioada pentru care oferă protecție: se estimează cifre între 2,5 și 6 ani (a se raporta la vârsta fetițelor -12 ani- și la cei circa 15-30 de ani, când tulpinile ar putea fi implicate într-un ipotetic cancer etc.

Analizele care pot diminua riscurile vaccinării: o hemoleucogramă cu ionogramă, un test de coagulare sanguină, o electroforeză a proteinelor serice (ar putea indica o autoimunitate deja instalată sau o evoluție în acest sens), un test alergologic (hipersensibilitate la substanțele din vaccin) și, desigur, o anchetă familială privind eventualele boli familiale ereditare, inclusiv autoimune. O fișă medicală personală alcătuită de către medicul de familie ar trebui să însoțească orice persoană care acceptă vaccinul.

IX.5.5. CELE MAI FRECVENTE TULPINI ALE HPV DETECTATE ÎN INFECȚII

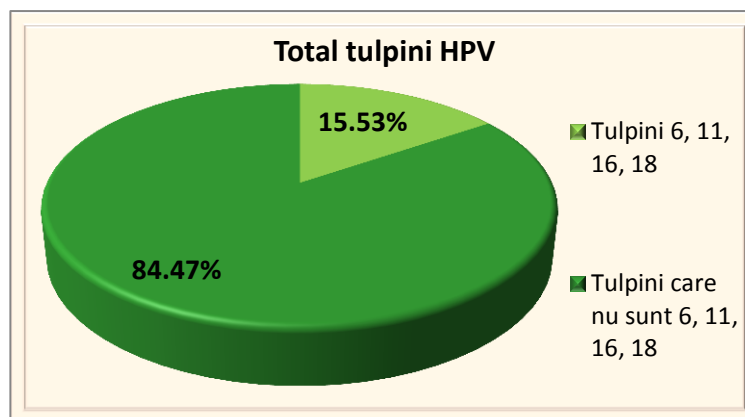
Administrarea diferențiată a apiterapicelor se face în funcție de vârstă, cronicizare, rezultatele tipajului viral HPV, existența ori inexistența celulelor canceroase, starea imunității. ***Durata apiterapiei în infecțiile cu tulpini ale HPV este de 2,5-3 luni***, în funcție este sincronă timpului necesar pentru restabilirea echilibrului fiziologic al raportului A/G.

Tabel nr.34. Frecvența tulpinilor în infecțiile cu HPV.

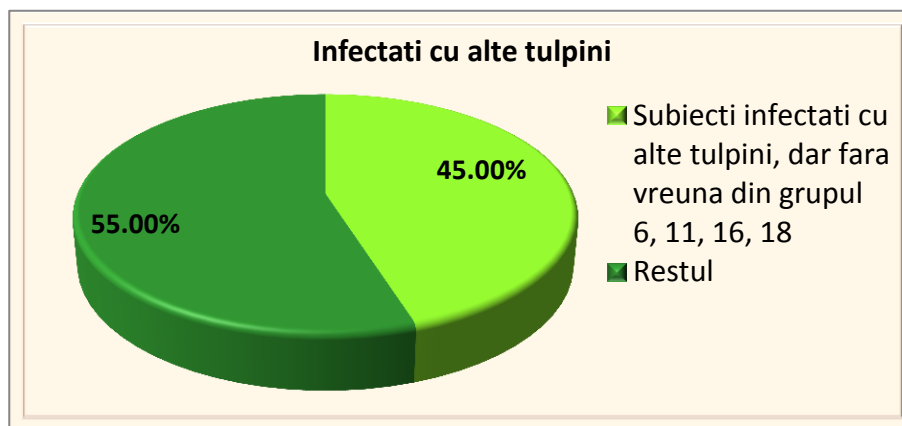
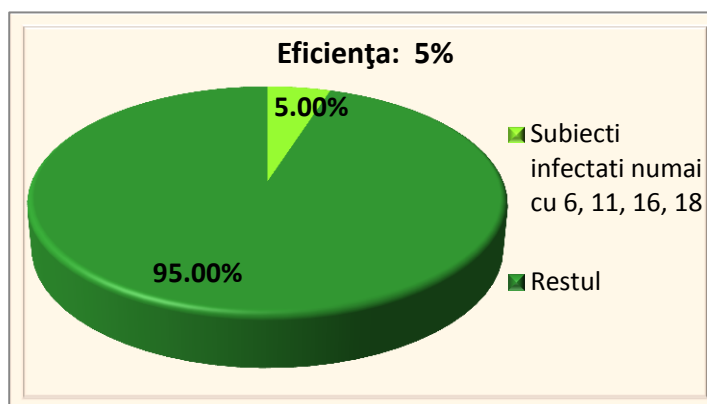
Cod pacient, baza documentară A.M.C	Vârstă pacient	Tulpini HPV de risc scăzut	Tulpini HPV de risc crescut	A/G v.n. 1,39- 2,23	Calciu total v.n. 8,6- 10,2mg/dL	Calciu ionic v.n. 3,82- 4,82mg/dL	Tulpini pozitive post apiterapie
1.HPV.R08.8.15	37	70	18	1,42 1,71	9,45mg/dL 9,38	3,88mg/dL 4,58	-----
2.HPV.R08.15.16	42	-----	16,18,35,39,45 51,52,59,68	1,24 1,42	9,20mg/dL 8,90	3,72mg/dL 3,98	51
3.HPV.R09.25.08	33	62	53	1,40 1,54	8,90mg/dL 9,24	3,94mg/dL 4,20	-----
4.HPV.R09.11.10	34	6	16	1,46 1,80	9,40mg/dL 9,42	4,10mg/dL 4,24	-----
5.HPV.R09.18.6	20	-----	16,18,31,39,45 51,52,56,58,68	1,32 1,46	9,22mg/dL 9,10	3,80mg/dL 3,96	51,58
6.HPV.R09.13.6	35	-----	31	1,44 1,68	9,10mg/dL 9,24	4,20mg/dL 4,52	-----
7.HPV.R09.11.14	29	-----	16,18,33,35,39,45, 51,52,56	1,30 1,82	8,50mg/dL 9,43	3,70mg/dL 4,53	-----
8.HPV.R09.11.4	42	62	-----	1,52 1,64	9,54mg/dL 9,22	4,22mg/dL 4,36	-----
9.HPV.R09.21.5	30	54	16,31,33,42,56,58,59	1,38 1,52	8,82mg/dL 9,12	3,90mg/dL 4,08	-----
10.HPV.R08.28.1	32	-----	31,45,51,68	1,30 1,53	8,40mg/dL 9,31	3,82mg/dL 4,10	-----
11.HPV.R09.15.3	34	-----	52,53,62,66,84	1,41 1,52	8,96mg/dL 8,98	3,94mg/dL 3,97	62
12.HPV.R.10.27.12	38	-----	18,33,35,45	1,46 1,68	9,20mg/dL 9,15	3,88mg/dL 4,32	-----
13.HPV.R10.22.4	42	-----	33,35,39,51,52	1,52 1,69	8,98mg/dL 9,30	3,94mg/dL 4,26	-----
14.HPV.R.10.19.1	30	-----	31,33,39,59,68	1,32 1,44	8,54mg/dL 8,98	3,70mg/dL 4,15	-----
15.HPV.R.10.11.11 Soție	33	-----	33	2,30 1,53	9,01 9,26	4,45 4,16	6
16.HPV.R.10.11.11 Soț	40	6	33	1,37 1,48	9,52 9,31	3,80 4,10	-----
17.HPV.R08.15.3	16	11	31,33,39,66,68,73	1,42 1,74	8,96mg/dL 9,34	3,98mg/dL 4,46	-----
18.HPV.R08.1.12	33	-----	16,31,39,45,51,52, 56,58	1,22 1,71	8,56mg/dL 9,24	3,78mg/dL 4,32	16
19.HPV.R08.15.10	26	-----	16,18,33,35,45,51, 52,56,58,68	1,34 1,43	8,76mg/dL 9,10	3,88mg/dL 3,92	51
20.HPV.R08.20.11	34	-----	31,33,35,39,45, 56,58	1,28 1,53	9,32mg/dL 9,21	3,80mg/dL 4,15	-----

Din 20 de subiecți ai studiului: unul singur este infectat numai cu tulpini pentru care ar fi avut protecție dacă ar fi fost vaccinați (subiectul nr. 4, tulpinile fiind 6 și 16), iar ceilalți 19 s-ar fi infectat cu alte, sau și cu alte tulpini HPV. Din totalul tulpinilor (103), 87 sunt tulpini pentru care nu s-a creat un vaccin.

Exprimarea procentuală a frecvenței tulpinilor în infecțiile cu HPV



Vaccinarea poate oferi protecție profilactică pentru 5% din subiecții studiului (1 din 20)



45% din subiecți nu prezintă nici o tulpină din grupul 6,11,16,18

5% din subiecți prezintă infecție numai cu tulpini din grupul 6,11,16 și 18

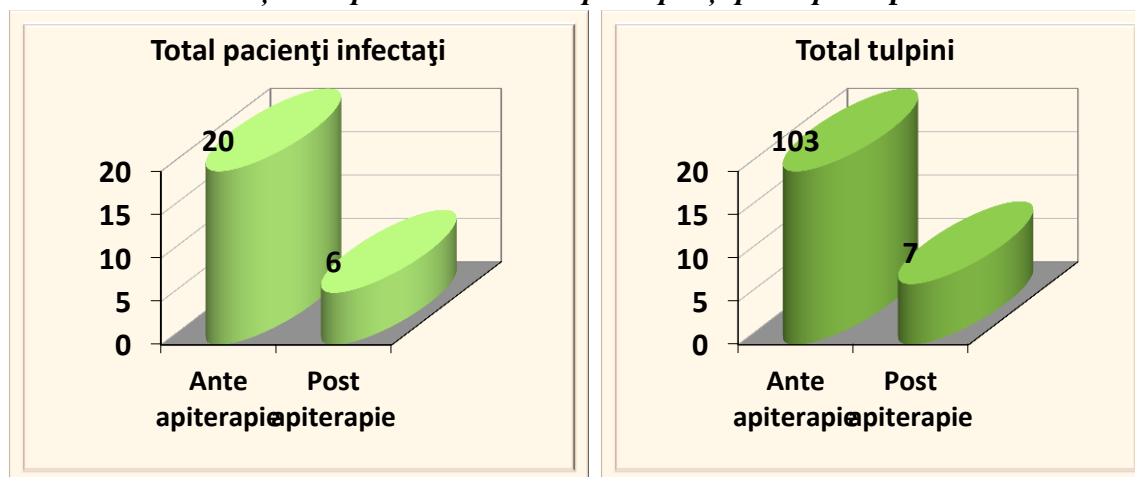
50% din subiecți prezintă infecții cu alte tulpini, dar și cu tulpini din grupul 6,11,16,18

IX.5.6. DISCUTAREA REZULTATELOR INTERVENȚIEI APITERAPICELOR

Eficiența apiterapicelor în tratarea infecțiilor cu tulpini ale HPV este unică. Din cei 20 de subiecți, post apiterapie 14 devin seronegativi după 2,5-3 luni de urmare a apiterapiei. Dintre cei 6 subiecți rămași seropozitivi, unul singur rămâne infectat cu două tulpini, iar ceilalți 5 rămân infectați numai cu câte o tulpină. Interesant este faptul că dintre cei 6 subiecți rămași seropozitivi,

3 sunt purtători ai tulpinii virale 51. Se pare că această tulpină este mai dificil de negativat decât oricare dintre tulpini (ante apiterapie, tulpina 51 este pozitivă la 7 subiecți). Dintre cei 20 de subiecți ai studiului, 2 sunt bărbați și 18 femei. Dintre cele 18 femei, 11 prezintă un istoric TBS.

Pacienți si tulpini HPV : ante apiterapie și post apiterapie

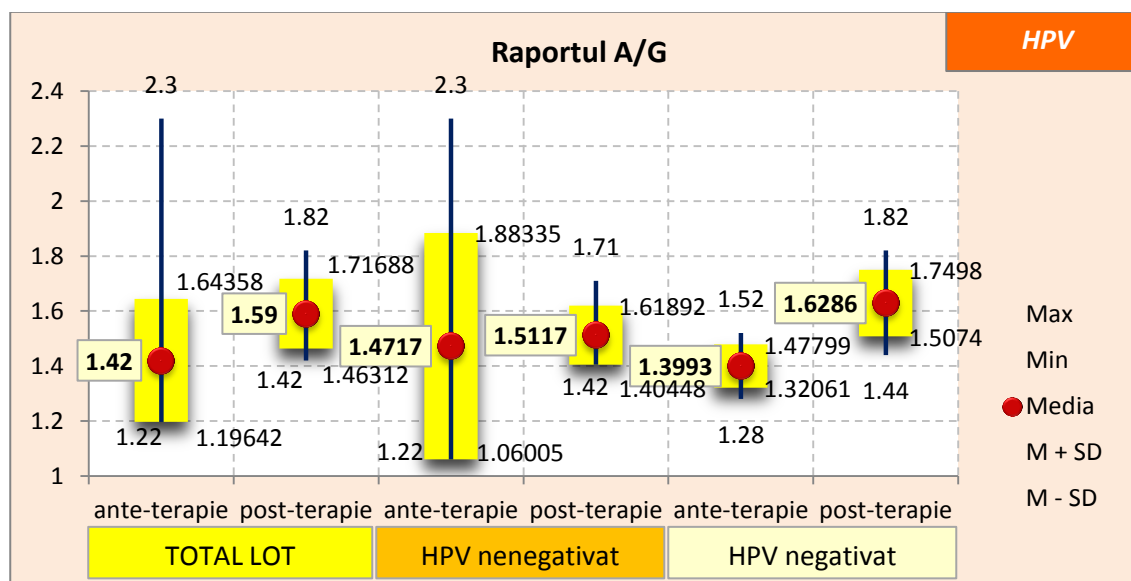


Subiecți infectați ante apiterapie = 20
Subiecți infectați post apiterapie = 6

Total tulpini HPV ante apiterapie = 103
Total tulpini HPV post apiterapie = 7

Creșterea albuminei și a Ca^{2+} determină creșterea A/G cu 12,4% post apiterapie. CaT, crește cu numai 2,16%, în timp ce Ca^{2+} crește cu 12,14% post apiterapie. Creșterile A/G și Ca^{2+} sunt mai reduse în cazul persoanelor rămase seropozitive.

Evoluția raportului A/G ante și post apiterapie



IX.5.7. CAZURI CLINICE DE APITERAPIE A INFECȚIILOR CU HPV

Cazul I. Adolescentă, 16 ani, 1,60m, 54kg.

Afirmativ: infectată cu HPV în aprilie 2007 (la 15 ani și patru luni). După 6 luni apare un condilom care “denunță” infecția. Buletinele de diagnostic citologic din 9.11.2007 și 2.01.2008 (Laboratoarele MedLife) diagnostichează evoluția de la un frotiu C II Babeș - Papanicolau

inflamator, cu BTS (*Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *bacilli Dderline*), cu frecvente PMN, dar negativ pentru leziune intraepitelială malignă, la un frotiu C III, cu celule ASC-US. Buletinul de analize din 19.02.2008 (MedLife), consemnează: “ Proba AND HPV pozitivă. Conține tipurile HPV cu risc crescut 66,68; tipul HPV cu risc scăzut 11.”Urmează diverse tratamente până la 1 aprilie 2008, când apelează la apiterapie. La 7.05.2008 face un nou tipaj viral (Laboratoarele Medlife), care detectează prezența tulpinilor HPV 66 și 68, dar tulpina 11 nu mai este detectată (după 35 de zile de apiterapie).Continuă apiterapia, și se înregistrează o creștere a ALB de la 54,3% la 58,2%, însoțită de o creștere a Ca^{2+} de la 3,86 la 4,2mg/dL, cu o scădere a gamaglobulinei de la 19,8 la 16,5% (Laboratoarele Synevo, Buletin de analize din 29.05.2008). La 15.08.2008, Buletinul de examen histopatologic (Nr. 2680, S.C.M. RADUSIAN) consemnează faptul că proba analizată este “ fără elemente maligne.” **Buletinul de analize din 4.11.2008 (Laboratoarele MedLife, Nr. 1490350) consemnează: “Nu s-a evidențiat prezența HPV.”** Pentru această adolescentă *istoria se repetă*. Un nou buletin de analize, din 11.02.2009 (Laboratoarele MedLife, cu Nr. 1568357), consemnează: “Genotip HPV determinat: 73,39 cu risc oncogen”. Din nou apelează la apiterapie. De această dată imunocompetența restabilită prin apiterapie își spune cuvântul: după mai puțin de două luni ambele tulpini cu risc oncogen sunt negativate: buletinele de analize din 30.03.2009, cu nr. 50962 și din 10.04.2009, cu nr. 50982 (emise de Institutul de Virusologie “Ștefan Nicolau”), consemnează: **“ADN-HPV nedetectabil (negativ)”**. Rezultatul – negativarea tulpinilor oncogene 73 și 39 -, este reconfirmat prin buletinul de analize din 11.08.2009 (Laboratoarele MedLife, nr. 1781611).

Cazul II.Bărbat, 30 de ani, 1,72m, 69 kg.

Infectat cu tulpinile HPV 33 și 39. Afirmativ: “nu mă afectează pe mine cu nimic, însă a afectat-o pe partenera mea”. Buletinul de analize cu nr. 50198 emis la data de 11.03.2008 de către Institutul de Virusologie “Ștefan S. Nicolau” consemnează **ADN- HPV detectabil, genotipurile 33, 39**. Subiectul a urmat mai multe tratamente, dar în cele din urmă a apelat ala apiterapie: 1 octombrie 2009 – 10 ianuarie 2010. La 19.01.2010 repetă tipajul viral, buletinul de analize cu această dată, emis de același institut de virusologie, cu nr. 51.323, consemnează: **“Rezultat: ADN – HPV – nedetectabil (negativ).”** Pentru protecția față de infectarea cu tulpini ale HPV a bărbaților, nu s-a pus la punct nici un vaccin până în prezent. Nu există cazuri raportate de tulpini HPV negativate prin vreun alt tratament, infectările cu tulpinile acestui virus fiind considerate infecții pe viață. Credem că *singurele cazuri de infectare cu tulpini ale HPV ne aparțin* și sunt rezultatul apiterapiei, considerată în dublul înțeles al acestei noțiuni

IX.6. APITERAPIA HEPATITELOR ȘI CIROZELOR

IX.6.1. MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul studiului clinic privind apiterapia hepatitelor și cirozelor ne este oferit de baza documentară a Apitherapy Medical Center. Criteriul de includere în studiu: diagnosticul de hepatită cu evoluție înspre autoimunitate. Am inclus în studiu 33 de subiecți, din care 15 bărbați și 18 femei, cu vârsta medie de $45,62 \pm 15,406$ ani. 9 subiecți sunt diagnosticați cu ciroză hepatică de etiologie VHB și VHC, 22 prezintă hepatite de etiologie VHB, VHC, VHB + VHD, autoimune, steatozice. Din lotul de 33 de subiecți, 14 sunt post interferon (non responder).

IX.6.2. OBIECTIVE ȘI SCOP

Evidențierea potențialului apiterapicelor de a interveni în hepatite, unicitatea lor constând în faptul că pot realiza sinergia de prezență și de acțiune atât a substanțelor terapeutice, cât și a unei multitudini de substanțe care le sprijină sau le facilitează acțiunile. Reafirmarea metodei noastre de intervenție în bolile ficatului prin reechilibrarea PS - reechilibrare exprimată în valorile A/G – reechilibrând PT, beneficiind de acțiunea antigenică sinergică a ALB și Ca^{2+} .

IX.6.3. AUTOIMUNITATEA ÎN HEPATITELE VIRALE

Infecția cronică cu virusurile hepatitice B, C, D se poate însoți de apariția unor manifestări extrahepatice. Acestea au un spectru variabil de exprimare, începând cu manifestări serologice, care constau în apariția unor autoanticorpi circulanți și sunt adeseori asimptomatice clinic și terminând cu boli organice extrahepatice ce pot avea un caracter sistemic

Rolul principal revine, probabil, mecanismelor imunologice, infecția virală cronică având capacitatea de a declanșa și întreține o reacție de tip autoimun. Toate tipurile de hepatită virală se pot însoți de prezența unor titruri semnificative de autoanticorpi. Apariția autoanticorpilor poate fi consecința unui mimetism molecular între antigenele virale și unele antigene tisulare „criptice”, a căror eliberare este posibilă mai ales în condițiile unei infecții prelungite

În hepatitele cronice de etiologie virală C, incidența autoanticorpilor este de trei ori mai mare decât incidența manifestărilor clinice corespunzătoare. Acești autoanticorpi se împart în două categorii: 1) asociați unor manifestări sistemice- crioglobuline (incidență 40-90%), factor reumatoid (70%), anticardiolipinici, anti-tiroidieni, anti-antigen nuclear de proliferare celulară (anti-PCNA); 2) asociați unei hepatite antivirale, autoimune secundare sau concomitente: anti-LKM1, anti-GOR, anti-citosol (LC1), antinucleari, antimușchi neted, pANCA, anti CD69. Anticorpii anti-LKM₁ au constituit un model de manifestare extrahepatică serologică de tip autoimun a infecției cu VHC. În ficat, epitopul îl reprezintă o monooxigenază din citocromul P₄₅₀-CYP₄₅₀ 2D6, prezentă la 90% din populație și implicată în mod fiziologic în metabolizarea unor medicamente (antidepresive, antiaritmice, betablocante).

Oricare ar fi tipul hepatitelor – virală sau de alte etiologii - , prin cronicizare devin și hepatite autoimune. Cronicizarea se poate produce în timp. Dar: **interferonii de sinteză, dacă sunt administrați când ALB și Ca^{2+} scad sub un anumit nivel, au efectul cronicizării**, dar apare o “cronicizare rapidă”: nivelele serice ale ALB și Ca^{2+} se reduc în câteva luni mai mult decât s-ar reduce în câțiva ani de evoluție fără administrarea lor. Iar când ALB și Ca^{2+} se apropie de- sau scad sub limita minimă de referință a laboratoarelor de analize medicale: 1) apar autoanticorpii; 2) crește rapid sinteza proteinelor fibrilare, începe fibrozarea hepatică și evoluția înspre cirozare. **Dezechilibrarea raportului A/G, în mod clar, determină disproteinemia la nivelul PT.**

IX.6.4. INTERVENȚIA APITERAPICELOR ÎN TRATAREA HEPATITELOR

Este demonstrat faptul că organismul uman produce propriul interferon: IFN- α , IFN- β și IFN- γ , care acționează pentru inhibarea multiplicării virale prin blocarea sintezei acidului nucleic al virusului. Imunologul Andrei Olinescu atrage atenția asupra beneficiului de a lăsa/ajuta organismul uman să sintetizeze propriul interferon (Olinescu, 2004). Relația între A/G și Ca^{2+} pe de o parte și potențialul organismului uman de a sintetiza propriul interferon în limite care să negativeze infecțiile virale, ar putea fi o temă a cercetării științifice. Pentru a pune în discuție potențialul antiviral și imunomodulator al apiterapicelor, am comparat mediile valorilor analizelor de laborator, ante și post apiterapie.

Tabel nr. 37. Valori comparative ale analizelor ante și post apiterapie (33 de subiecți)

MEDIA valorilor analizelor: ante- post- apiterapie	PT v.n. 6.6-8.7 g/dL	A/G v.n. 1.39- 2.23	ALB v.n. 52- 68%	γ 11- 21%	TGP v.n. F<31 B<41 U/L	TGO v.n. F<32 B<38 U/L	GGT v.n. F<36 B<61 U/L	Glice- mie v.n. 60-110 mg/dL	PLT v.n. 150- 450.00 0 μ /L	Ca seric total v.n. 8.6- 10.2 mg/d L	Ca2 + v.n. 3,82- 10,2 mg/d L	1.Disli- pidemie 2.Fibroză 3.Calcifieri 4.Auto-Ac 5.Ascită 6.Proteine de fază acută
ANTE apiterapie	7,80	1,05	50,03	24,76	90,34	71,01	76,16	101,96	145,09	9,06	3,77	4,24/ Subiect
POST apiterapie	7,42	1,49	56,25	18,55	39,56	31,79	30,49	84,95	174,15	9,11	4,14	1,3/ Subiect
CREȘTERI	-----	0,45 42,54 %	6,22 12,44 %	-----	-----	-----	-----	-----	29,06 20,03%	0,06 0,61 %	0,37 9,89 %	-----
SCĂDERI	0,38 4,88%	-----	-----	6,21 25,10 %	50,77 56,20 %	39,22 55,23 %	45,66 59,96%	17,01 16,68%	-----	-----	-----	2,94/ Subiect 69,34%

IX.6.5. REZULTATE ȘI DISCUȚII

Creșterea mediei nivelului seric al ALB cu 12,44% (media ante apiterapie 50,3% vs. 56,25% post apiterapie), este însoțită de creșterea nivelului seric al Ca^{2+} 9,89% (media ante apiterapie 3,77 mg/dL vs. 4,14 mg/dL post apiterapie), ca și de scăderea procentuală a globulinei gama cu 25,10% (media ante apiterapie 24,76% vs. 18,55% post apiterapie). Urmare a acestor evoluții, A/G creștete cu 42,54% (media ante apiterapie 1,05 vs. 1,49 post apiterapie).

Reechilibrarea raportului A/G determină reechilibrarea PT, nu numai calitativ, ci și cantitativ, acestea înregistrând o reducere medie de 4,88% (media ante apiterapie 7,80g/dL vs. 7,42g/dL post apiterapie).

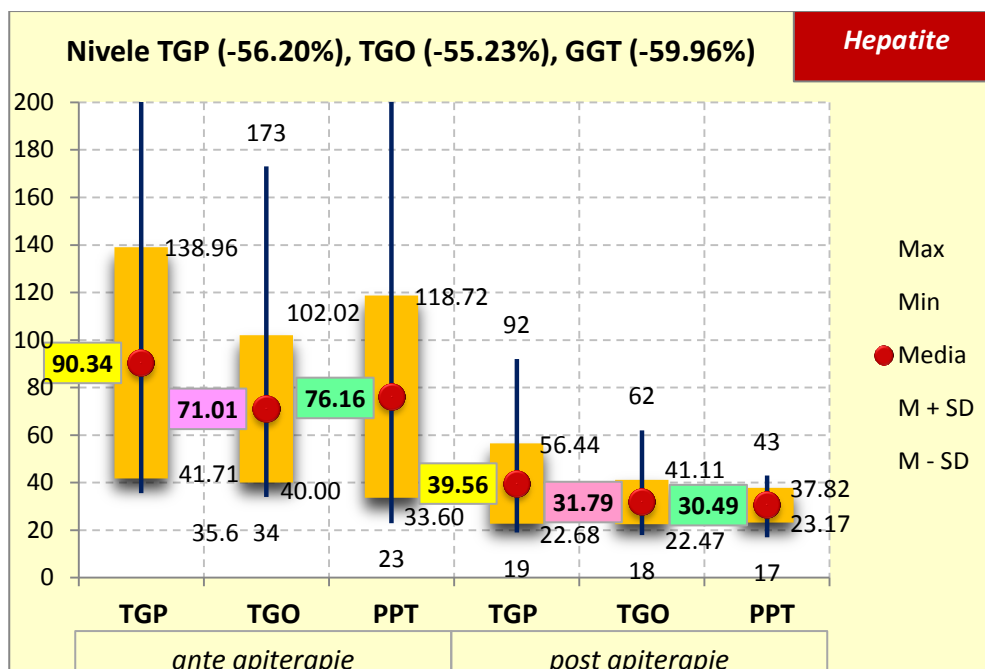
Aceste evoluții determină schimbări ale glicemiei și trombocitemiei. Media glicemiei înregistrează o reducere cu 16,68% (media ante apiterapie 101,96 mg/dL vs. 84,95 mg/dL post apiterapie; media trombocitelor creștere procentual cu 20,3% (media ante apiterapie 145,09 μ /dL vs. 174,15 μ /dL).

Aceste evoluții determină importante reduceri ale mediilor TGP, TGO și GGT. Astfel, TGP înregistrează o reducere medie de 56,20% (media ante apiterapie 90,34 U/L vs. 39,56 U/L post apiterapie. TGO prezintă o reducere medie cu 55,23% (media ante apiterapie 71,01 U/L vs. 31,79 U/L post apiterapie). GGT înregistrează o reducere de 59.96% (media ante apiterapie 76,16 U/L vs. 30,49 U/L post apiterapie).

Efectul reechilibrării valorilor biologice de mai sus, determină reechilibrări la nivelul mediilor valorilor lipidemiei, fibrozărilor, calcifierilor, titrurilor autoanticorpilor, ascitelor și proteinelor de fază acută, acestea înregistrând o reducere procentuală de 69,43% (media/subiect ante apiterapie fiind 4,24 vs. 1,3/subiect post apiterapie).

Interesantă este concluzia care se impune privind relația ALB- Ca^{2+} și relația ALB-calcium seric total: creșterea procentuală a ALB cu 12,44%, este însoțită de o creștere procentuală a ionizării calciului de 9,89%, în timp ce calciul seric total înregistrează o creștere procentuală de numai 0,61% (media ante apiterapie 9,6 mg/dL vs. 9,11mg/dL post apiterapie).

Un criteriu al eficienței apiterapicelor în hepatite îl constituie potențialul acestora de a limita/elimina procesul de hepatocitoliză, valorile măsurate ale transaminazelor TGP și TGO.

Exprimarea grafică a influenței apiterapiei asupra transaminazelor

Una dintre probleme în tratarea apiterapică a hepatitelor și cirozelor, îl constituie glicemia. Apiterapie în condiții de hiperglicemie! Glicemia este crescută mai ales în cazul subiecților a căror proteinemie și al căror colesterol sunt crescute la sau peste limitele superioare ale referințelor de laborator, unii dintre ei fiind diagnosticați cu DZ II. Trebuie să se ia în calcul: căile alternative ale metabolismului glucidelor, când excesul de proteine și de lipide pot fi convertite în glucoză; instalarea rezistenței la insulină, însoțită de hipozincemie, de deficitul în glucozo 6-fosfatază etc.

Condiția principală a debutului hepatitelor autoimune, ca și a instalării autoimunității în hepatitele virale, o constituie hipoalbuminemia însoțită de hipocalcemia ionică; prin pierderea toleranței imunologice, antigenele endogene nu mai pot fi sechestrate și începe sinteza de autoanticorpi.

IX.6.6. CAZURI CLINICE. HEPATITE ȘI CIROZE**CAZUL I – un ficat care nu mai trebuie transplatnat**

Pacient : B, 35 ani, 172 m, 83kg

- 9.06. 2006 diagnosticat cu ciroză hepatică autoimună; urmează tratamente cu hepatoprotectoare.
- 15.08. 2009, Inst. Cl. de Boli Digestive și Transplant Hepatic Fundeni: este propus pentru transplant hepatic.
- 2.09. 2009, Apitherapy Medical Center stabilește protocolul apiterapeutic.
- 21.01.2010, Inst. Cl. Fundeni apreciază că se poate renunța la transplantul hepatic propus.

Tabel nr. 38. Evoluția probelor biologice: 15.10.2009 -14.01.2010

Determinări	Ante apiterapie	Valori normale	Post apiterapie
PT	7,8	62 – 82g/dL	7.20
TGO	68	0 – 41U/L	32
TGP	107	0 – 38U/L	71

GGT	413	0 – 55U/L	131
Albumină	37.1	52-68%	58.2
Gamma	43.8	11 – 21%	22,3
A/G	0.59	1,39-2,23	1.4
Ca total	7.8	8.6 – 10.2mg/dL	8.21
Ca ²⁺	3.5	3.82 – 4.82mg/dL	3.9
HDL	24	> 40mg/dL	65
Fe	170	40 – 168	82
Glucoză	122	70 – 115mg/dL	98
RBC	2.94	4.5 – 6.2mil/μL	3.61
HGB	10.1	13 – 18g/dL	11.7
HCT	29.1	40 – 54%	33.1
PLT	47	150- 450 mii/μL	108
Ac.anti-ADNdc	Pozitiv	Negativ	Negativ
Ac.anti-AAN	Pozitiv	Negativ	Pozitiv
Ac. LKM1	Pozitiv	Negativ	Negativ

CAZUL II-hepatită și tuberculoză pulmonară

Pacient :F, 56 de ani, 1,75 m, 73 kg.

Diagnostiche: hepatită de etiologie virală C, tuberculoză pulmonară, polichisturi corticale, fiere atonă locuită, hipercolesterolemie, hipocalcemie, osteoporoză, osteofite calcaneene, hernie hiatală, meteorism abdominal.

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Constanța, prin F.O. 10760 din 2.06.2004, o diagnostichează ca fiind „ purtătoare de virus C”. La 17.09.2004, Spitalul Fundeni, Clinica de Gastroenterologie, prin Buletin de analize medicale nr. 603, concluzionează ca are hepatită cronică virală C. Prin buletin de investigații paraclinice nr 5 - 40917ID0, din 20.09.2004, detectează: încărcătură virală HCV – 1.980.691

Urmează apiterapia în perioada 10 decembrie 2004 – 10 mai 2005.

În Buletin de rezultate al Medicover Rombel SRL din 6.06.2005, cod de bare 80032291, scrie: **ARN viral hepatita C (cantitativ) – nedetectabil.**

Din Buletin de analize datat 8.07.2005, cod de bare: 8003794, emis de laboratorul Medicover Rombel SRL, Constanța

- GPT = 13,1; GOT = 18,1; Leucocite = 4,97; Hb = 14; Ht = 41,8;
- VSH = 37 (VN = < 30); ASLO < 200 (VN ≤ 200); Factor reumatoid: 8 (VN < 8);

Repetate în 19.12.2005 la Medical Analysis, rezultatele analizelor rămân în continuare bune (Buletin analize nr. 50869).

Negativarea virusului C este însoțită de negativarea bacilului Koch.

Este un caz unic, o premieră medicală – nici o altă metodă de abordare și de tratament nu a reușit, simultan, negativarea virusului și bacilului.

Cazul IV. Ciroză hepatică de etiologie VHB + VHD

Pacient: B, 37 ani, 1,74m înălțime, 82 kg.

-Internat în nov.2004 în Clinica de Gastroenterologie și Hepatologie din Timișoara, este externat cu F.O. nr. 46860, cu următoarele diagnostice: ciroză hepatică virală HBV activă compensată clasa Child-PughA(5P); varice esofagiene Gr.II; gastropatie portal hipertensivă;

Analize: ALT= 146 U/L; AST= 78 U/L; GTP= 331 U/L; Ag HBs (+), Ag HBe (-); Anticorpi anti HBe (+), Anticorpi antidelta (în lucru); glicemie= 153. Buletinul de analize Nr. 04110304003 din 3.11.2004, efectuat în laboratoarele Bioclinica, confirmă infectarea cu VHD.

Analizele sunt repetate curând (25.11.2004) în Germania (Arztliche Laborgenaschaft Kurpfalz din Huttenheim); rezultatele obținute în România sunt confirmate milimetric. S-au confirmat și printr-un buletin de analize cu nr. 20833106, eliberat la Szeged, în Ungaria, la 26.10.2004 de către Belgyógyszorzatiklinike. Înainte de apiterapie, s-a tratat cu LIV 52, Propanolol și Silimarit. **Urmează apiterapia timp de 3,5 luni**, pentru ciroză hepatică virală activă de etiologie HBV și HDV, varice esofagiene Gr. II și gastropatie portal hipertensivă.

Rezultate:

- **negativarea virusului hepatitei B:** conform Buletin de analize nr. 05090504001, din 05.09.2005, eliberat de Laboratoarele Bioclinica (Timișoara) și confirmat printr-un Buletin de analize cu nr. 026.346022, de către Labor Dr. Simbach&Kollegen, Heidelberg, la 13.09.2005.

IX.6.7. CONCLUZII PRIVIND RELAȚIA PT-PS ÎN HEPATITE

- Oricare ar fi boala autoimună și oricare ar fi etiologia acesteia, autoimunitatea debutează atunci când Ca^{2+} și albumina scad sub un nivel valoric care dereglează raportul A/G;
- Deteriorarea raportului A/G în favoarea globulinelor – îndeosebi a globulinei gamma, dar și alfa sau beta – determină debutul autoimunității, indiferent dacă agentul patogen este exogen sau endogen (prin desechestrarea antigenului), determinând dezechilibrul cantitativ și calitativ al PT.
- Prin mecanismele sale imunitare, inclusiv prin propria sinteză de interferoni – $IFN\alpha$, $IFN\beta$, $IFN\gamma$ – organismul uman are capacitatea de a elimina infecțiile virale prin acțiunea lor, dar în condițiile unui raport A/G fiziologic (ideal > 1,73). Din investigațiile noastre, în cazul familiilor, dacă unul dintre soți este infectat cu VHB, VHC sau HPV, dacă albumina și Ca^{2+} sunt în limite fiziologice, organismul, prin mecanismele sale de protecție imunitară elimină infecția virală; la fel stau lucrurile și cu alți agenți patogeni exogeni.

CONCLUZII FINALE

1. Numărul bolilor autoimune este în creștere, nu pentru faptul că apar boli autoimune care nu au existat, ci pentru că, în măsura în care mecanismul fiziopatologic al debutului și manifestărilor lor este tot mai bine cunoscut, afecțiuni cu alte clasificări anterioare sunt recunoscute ca fiind din domeniul autoimunității.
2. Autoimunitatea, înțeleasă ca fiind o hiperstimulare a funcțiilor imunității, nu exclude imunosupresia, existând situații clinice în care aceste două aspecte ale patologiei umane putând coexista.
3. Considerăm ca manifestări ale autoimunității nu numai biosinteza autoanticorpilor și creșterea peste pragul fiziologic a cantității unei/unor proteine de fază acută pozitive, ci și creșterea sintezei proteinelor fibrilare, ori dereglarea metabolismului lor și proliferarea care debutează cu inițierea sintezei substanței hialine, amiloidului sau orosomucoidului.
4. Cauza majoră a bolilor autoimune trebuie căutată mai ales în alimentația hiperproteică și hiperlipidică. Dietele “moderne” sunt hipoalbuminemiante și hipocalcemiante: **hipoalbuminemia și hipocalcemia ionică, cu excepția unor cazuri clinice izolate, sunt omniprezente în autoimunitate.**

5. Propunerea ca, între investigațiile necesare diagnosticării să se includă electroforeza PS și determinarea Ca^{2+} (nu numai a calciului seric total), se întemeiază pe experiența clinică și pe studiul comparativ al unui număr însemnat de analize de laborator, care ne-au condus la concluziile:
 - hipoalbuminemia și hipocalcemia ionică, cu excepția unor cazuri clinice izolate, sunt condiții omniprezente în debutul autoimunității, oricare ar fi cauza producerii acestor stări;
 - nici o boală autoimună nu poate fi remisă, oricare ar fi protocolul terapeutic adoptat, dacă albumina și Ca^{2+} nu cresc dincolo de limita minimă fiziologică (limitele acestora le-am pus în discuție în cuprinsul tezei) (vezi cap. VII, VIII și IX);
 - oricare ar fi autoanticorpii sau autoanticorpii care ar putea fi negativi prin administrarea AIS, AINS, agenților biologici etc., remisia obținută este temporară, iar recidivele sunt de multe ori însoțite de pozitivarea și a altor autoanticorpi, de debutul și al altor boli autoimune cu cauzalitate iatrogenă, de apariția sau extinderea hialinizării, de accentuarea proceselor de fibrozare etc., dacă se menține starea de hipoalbuminemie și de hipocalcemie;
 - cauza fundamentală a efectelor limitate, uneori cu grave urmări secundare, a oricărei terapii cu medicații convenționale, o constituie efectele lor hipoalbuminemiante și hipocalcemiante, în condițiile în care este absolut imposibilă remisia durabilă a autoimunității atâta timp cât se menține hipoalbuminemia și hipocalcemia ionică.
 - ar trebui reținut faptul că, **în condițiile în care nu se realizează o creștere a cantității albuminei, nici un tratament al deficitului de calciu, oricare ar fi acesta, nu poate fi eficient.**
6. **Propunem nu numai o nouă metodă de abordare a bolilor autoimune, ci și o nouă metodă de tratament, ca și noi mijloace terapeutice:**
 - metoda pe care o propunem în tratarea bolilor autoimune este restabilirea echilibrului PT via reechilibrarea PS;
 - albumina și calciul ionic sunt substanțele cu cel mai înalt potențial antigenic: restabilirea lor în limite fiziologice este așa de eficientă, încât nu numai că suplinesc multitudinea de medicamente care urmăresc negativarea unuia sau altuia dintre autoanticorpi, dar pot nega orice autoanticorp, pot interzice nu numai sinteza de proteine de fază acută, hialinizarea, fibrozările etc., ci pot interzice însuși debutul bolilor autoimune;
 - ca parte indispensabilă a metodei de abordare a bolilor autoimune, reechilibrarea raportului A/G are efectul de a reechilibra PT atât cantitativ, cât și calitativ (structural).
7. Afecțiunile autoimune, indiferent de caracterul lor, provocate de antigene exogene sau endogene, cu manifestare de organ sau sistemice, au în apiterapie, pe care o propunem, cea mai nouă și eficientă metodă de profilaxie și de tratare a lor.
8. **Apiterapicele produse și folosite în cadrul Apiterapy Medical Center** sunt mai mult decât un adjuvant al oricărei alte terapii în domeniul bolilor autoimune. Aceste apiterapice sunt superioare oricăror altor mijloace de intervenție în tratarea bolilor autoimune pentru că: nu prezintă contraindicații; nu induc dependență; nu au efecte adverse ori secundare; conțin, în proporții echilibrate, atât substanțele recunoscute de științele medicale ca fiind agenți terapeutici – steroizi, interferoni, antioxidanți etc.; sunt unice prin faptul că pot crea, în organismul uman, sinergia de prezență și de acțiune nu numai a substanțelor terapeutice, a celor necesare susținerii acțiunilor acestora, ci și substanțele necesare protecției la nivel celular, ca și toate substanțele necesare construcției celulare, de la membrane bilipidice, până la ADN și ARN.
9. Cronicizarea bolilor autoimune este un fenomen constant în condițiile în care mijloacele terapeutice actuale au ca țintă probabil posibilă numai producerea remisiilor, spațierea acestora și combaterea simptomelor pentru a nu altera prea accentuat calitatea vieții.

10. Studiile clinice generale cuprinse în lucrarea de față, ca și cele câteva studii clinice monografice privind efectele apiterapicelor în unele afecțiuni autoimune, reprezintă rezultatul justificării științifice privind nu numai eficiența apiterapicelor în tratarea bolilor autoimune, ci și de a face cunoscută noua metodă de abordare a terapiei acestor boli.
11. **Apiterapia este superioară corticoterapiei:** contribuie la restabilirea raportului albumine-globuline (corticoterapia interferează funcția proteoformatoare hepatică inclusiv pentru albumină); restabilește homeostazia Ca^{2+} care are un rol în homeostazia albuminei (corticoterapia produce, ca efect secundar depleția calciului); restabilind nivelul homeostazic al Ca^{2+} , acesta poate acționa pentru sechestrarea antigenului (corticoterapia nu sechestrăază antigenul, acțiunea sa fiind simptomatologică).
12. Studiile clinice centralizate, studiile monografice și cazurile clinice pe care le supunem atenției, au menirea de a fi argument în sprijinul noilor metode de abordare și de tratare a bolilor autoimune
13. **Potențialul profilactic al apiterapiei în domeniul autoimunității** are la bază menținerea raportului A/G în limite homeostazice, prin menținerea albuminemiei și calciului seric ionic în limite homeostazice, condiție în care are loc: **a) prevenirea manifestărilor autoimune ale nou-născuților** ca , spre exemplu, astmul bronșic alergic; **b) prevenirea împotriva infecțiilor, inclusiv virale;** **c) profilaxia hepatitelor autoimune, de fapt profilaxia tuturor bolilor autoimune** etc.
14. **Electroforeza proteinelor serice trebuie să devină indicatorul stabilirii protocolului terapeutic cu interferoni de sinteză.** Administrarea IFN- γ spre exemplu, în hipoalbuminemii, deteriorează rapid raportul A/G, grăbește fibrozarea etc
15. Dincolo de orice alte aprecieri, concluzionăm:
 - electroforeza proteinelor serice oferă indicii indispensabile privind profilului proteic și profilul lipidic al subiectului investigat, putând sugera inclusiv profilul glucidic (prin valorile globulinelor lipoproteine);
 - nici o boală autoimună nu debutează decât atunci când albumina și calciul ionic coboară sub un prag care face posibil: sinteza autoanticorpilor, creșterea proteinelor plasmatice totale peste un anumit prag (fapt care implică apariția ori creșterea sintezei proteinelor de fază acută pozitive, hialinizarea, dereglarea metabolismului proteinelor fibrilare însoțită de o hiperactivitate a fibroblastelor etc.);
 - nici o boală autoimună nu poate fi remisă durabil, oricâți autoanticorpi ar negative temporar medicația clasică, dacă nu se restabilește raportul A/G;
 - atâta timp cât IgM este crescută (pozitivată), creșterea cantitativă a albuminei și a Ca^{2+} nu este posibilă, prin urmare nici raportul A/G în limite homeostazice nu poate fi restabilit, deci nici PT nu pot fi reechilibrate;
 - apiterapicele sunt superioare oricărei altei medicații prin faptul că, oferind o multitudine de agenți terapeutici, oferă sinergia de acțiune a unei multitudini de substanțe care să le susțină acțiunile; restabilesc raportul A/G și normalizează ionizarea calciului, acțiunile lor nefiind hipoalbuminemiante și hipocalcemiante.

ASPECTE ALE ORIGINALITĂȚII TEZEI

- Propunerea unei noi metode de abordare a bolilor autoimune, atât din punct de vedere al investigațiilor, cât și de intervenție terapeutică: realizarea imunomodulării prin reechilibrarea PT, *via* reechilibrarea PS, condiționată de valoarea raportului A/G.

- Propunerea – argumentată - ca electroforeza proteinelor serice să fie introdusă în rândul analizelor medicale de rutină, fiind un important marker de apreciere a stării imunității.
- Propunerea – argumentată - ca decelarea calciului să nu se mai limiteze numai la calciul total, ci să includă și Ca^{2+} , acesta fiind cel care influențează și este influențat de albumină.
- Propunerea de orientare înspre abordarea profilactică a autoimunității este o premieră, iar aceasta este posibilă numai prin metoda de abordare a bolilor autoimune pe care o propunem.
- Propunerea de revizuire și reevaluare a limitelor de referință ale analizelor de laborator pentru mai mulți indicatori biologici: PT, PS, A/G, ALB, globuline serice, Ca^{2+} , colesterol. Justificarea importanței acestei reevaluări prin studii clinice.
- Aplicarea, în premieră, a apiterapiei ca metodă de tratare a bolilor autoimune, cu justificarea superiorității acesteia față de orice altă metodă terapeutică actuală.
- Folosirea apiterapicelor de concepție și producție proprie, cu explicarea potențialului lor imunomodulator în tratarea bolilor autoimune.
- Raportarea unor premiere medicale obținute prin apiterapie: negativarea infecțiilor virale – VHB, VHC, HPV; resorbția orosomucoidului; negativarea autoanticorpilor și a proteinelor de fază acută în bolile autoimune; remisia fibrozărilor și calcificărilor.
- Afirmarea posibilității existenței autoimunității în condițiile imunosupresiei.
- Propuneri pentru cercetarea fundamentală și clinică.

BIBLIOGRAFIE

1. ***Propolis, Editura Apimondia, București, 1979
2. Aggepoulou E., Skarlo D., Papadimitriou C., et al., Human papilloma Virus DNA detection in oral lesions in the Greek population. *Anticancer Research* 1999; 19:1391-1396.
3. Alles P.T., Alles G.K., Activitatea fiziologică a componentelor lăptișorului de matcă în timpul conservării sale, în Harnaj V. (editor), *Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, 20-24.
4. Almaraz-Abarca N, Campos MG, Avila-Reyes JA, Naranjo-Jinenez N, Herrera-Corral J, Gonzalez-Valdez LS, Variability of antioxidant activity among honey-bee-collected pollen of diferent botanical origin, *Intercienia*, 2004, 29, 574-578.
5. Almaraz-Abarca N, Delgado-Alvarado A, Avila-Reyes JA, Naranjo-Jimenez N, Herrera-Corral J, Actividad Antioxidante de Extractos de Polen de Abeja Monoespecifico de Mezquite (*Prosopis* sp.), en X Congreso Internacional de Actualizacion Apicola, Tlaxcala, Tlax, Mexico, 2003, 43-49.
6. Alper C.A., Plasma protein measurements as a diagnostic aid, *N Engl Med*, 1974, 287-293.
7. Alphandery R., Minunatul univers al mierii, în Harnaj V (editor), *Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, București, 1989, p. 7-16.
8. Alvarez F., Berg P.A., Bianchi F.B. et al, International Autoimmune Hepatitis Group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis, *J Hepatol*, 1999, 31, p. 929-938.
9. Ammatuna P., Campisi G., Giovanelli L. et al., Presence of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and human papilloma virus in normal oral mucosa of HIV-infected and renal transplant patients. *Oral Disease* 2001; p. 34-40.
10. Andreoli TE, Carpenter CCJ, Bennett JC, Plum F, Cecil Esențialul în medicină, Editura M.A.S.T., București, 1999, 612-613.

11. Andrițoiu C. V., Andrițoiu V., Teze și ipoteze în apiterapie, Casa de Editură Venus, Iași, 2010, p. 13-70.
12. Andrițoiu C.V., A medical premiere: the apitherapeutical healing of hepatitis of diverse etiologies, în *Apicultura de la știință la agribusiness și apiterapie*, Editura AcademicPres, Cluj Napoca, 2007, 115-124.
13. Andrițoiu C.V., Apiterapia hepatitelor și cirozelor virale, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2006, 453-460.
14. Andrițoiu C.V., Efectele produselor apiterapice ale Cabinetului Apiregya Imunostim în *Ciroza toxică indusă cu CCl₄*, în *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2008.
15. Andrițoiu C.V., Biosimularea organismului cu produse naturale și tehnici de terapie complementară, în *Compendiu*, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2005, 328-356.
16. Andrițoiu C.V., Stimularea imunității prin tratamentul complementar al cirozelor hepatice, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2003, 139-145.
17. Andrițoiu V., 209 Rețete apiterapeutice, Editura Nipexim, Târgu-Jiu, 1999, p. 3-12.
18. Andrițoiu V., ABC-ul apiterapiei, Editura Punct, Târgu-Jiu, 1995, p. 6-10.
19. Andrițoiu V., Andrițoiu C.V., Apiterapia, biomedicina viitorului, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2007, 771-812.
20. Andrițoiu V., Andrițoiu C.V., Cazuri și studii clinice în apiterapie, Casa de Editură Venus, Iași, 2010, p. 12- 18.
21. Andrițoiu V., Apiterapia bolilor aparatului respirator, în *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2002.
22. Andrițoiu V., Apiterapia chistelor ovariene, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2006, 460-471.
23. Andrițoiu V., Apiterapia complexă în anemii și leucemii, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2001, 303-306.
24. Andrițoiu V., Pruncii din stup. Argument pentru apiterapia infertilității, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2005, 490-502.
25. Andrițoiu V., Autoimunitatea în teoria și practica Centrului Medical de Apiterapie „Apiregya Imunostim”, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2008, 717-733.
26. Andrițoiu V., Compoziția biochimică a produselor apicole, suport inestimabil în terapia bolilor imunodepresive și autoimune, în *Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2004, 133-138.
27. Andrițoiu V., Factori antioxidanți, antivirali și antitumorali existenți în produsele apicole, referat prezentat la a doua Conferință Internațională de Biologie Moleculară și Celulară, Iași, 7-10 iunie 2006.
28. Andrițoiu V., Păstura, un aliment și un medicament superior polenului, în *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2002, 181-186.
29. Andrițoiu V., Polenul, în cap VI. Produsele apicole, *Apiterapia în planningul familial*, teză de disertație, Arad, 2006, 171-173.
30. Andrițoiu V., Scurtă călătorie în universul miraculos al mierii, *Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare*, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2002, 566-571.

31. Andritoiu V., teză de disertație, Apiterapia în planning-ul familial, Arad, 2006, 151-181.
32. Andrițoiu V., Vaccinarea preventivă împotriva infectării cu Human Papilloma Virus, Compendiul Lucrărilor Conferinței Internaționale de Terapii Complementare, Tiparul Publiștirea Express, Arad, 2009, 49-74.
33. Anjana Jadon, Monika Bhadauria, Sangeeta Shukla, Protective effect of *Terminalia belerica* Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats, *Journal of Ethnopharmacology* 109 (2007) 214–218.
34. Anup Srivastava, T. Shivanandappa, Hepatoprotective effect of the root extract of *Decalepis hamiltonii* against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats, *Food Chemistry* 118 (2010) 411–417.
35. Aramă Ștefan Sorin, Fiziopatologie, Editura Cermes, București, 1999, p. 77-88.
36. Aramă, Ștefan Sorin, Explorări funcționale, Editura Cermaprint, București, 2006, 56-57.
37. Arnold D.J., Sice J., Biology availability and therapeutical equivalence, *J Clin Pharmacol*, 1976, 546-549.
38. Arnold G., Nouvelles donnees sur l'equipeement enzymatique des glandes salivares de l'ouvriere d-Apis mellifera, *Annales Scientifique Naturalles*, 1978, nr. 20, pp. 401-422.
39. Artemov M.N., The physiological proofs of apitherapy. Bee venom acts as a cholinolytic agent, in the XVII-Th. International Apicultural Congress, 1958, Rome, Italy.
40. Atanasiu Valeriu, Biochimie medicală, Editura Universitară “ Carol Davila”, București, 2005, p. 53-55, 55-60.
41. Atkinson J., Complement System, în Kelley s Textbook or Rheumatology, E. Harris et al., Editors, Esevier Saunders: Philadelphia, 2005,p. 342-355.
42. Ayres R.C., Neuberger J.M., Shan J., Joplin R., Adams D.H., Intercellular adhesion molecule-1 and MHC antigens on human intrahepatic bile duct cells: effect of proinflammatory cytokines, *Gut*, 1993, 34, p. 1245-1249.
43. Azeem A.K., Molly Mathew, Chandramohan Nair, Dilip C., Hepatoprotective effect of *Averrhoa carambola* fruit extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2010)610-613.
44. Bădescu Magda, Roșca Mariana, Bohotin Cătălina, Fiziopatologie generală, Ediția II, Editura Cantes, Iași, 2000, p. 50-56, 249-266, 271-273.
45. Bae-Jin Lee, Mahinda Senevirathne, Jin-Soo Kim, Young-Mog Kim, Myung-Suk Lee, Min-Ho Jeong, Young Mi Kang, Jung Il Kim, Byung-Hyouk Nam, Chang-Bum Ahn, Jae-Young Je, Protective effect of fermented sea tangle against ethanol and carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Sprague–Dawley rats, *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 1123–1128.
46. Bailley L., Ball BV, Honeybee patologie, Academie Press Limited, Londra, 1991.
47. Bălănescu Andra, Poliartrita reumatoidă, Editura Medicală ALMATEA, București, 2007, p. 23-26, 53-86, 159.
48. Bankova V, Kuleva L, Phenolic compounds of propolis from different region of Bulgaria, *Animal Sciences*, 1989, 26, p. 94-98.
49. Bankova V., Dyulderov A. et al, Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: Phenolic composition and plant origin, *Apidologic*, 1992, p. 23, 79-85.
50. Bankova V., Popova M. et al, Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results, *Z Naturforsch*, 2002, 57c,5/6, p. 530-533.
51. Banskota H.A., Tezuka Y., Kadata S., Recent progress in pharmacological research of propolis, *Phytotherapy Res.*, 13 (2001), pp. 561-571.
52. Barbu R., Explorări funcționale, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1979;
53. Barbu Romel, Fiziopatologie, Ediția a II-a, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1980, p. 63-66, 66-70.

54. Battagliani Marcela, Bosi,G., Ricciardelli d'Albore, On the sterols contained in twenty pollens gathered by bees, in the XXII-Nd. Apimondia Congress, München, 1969, Germany, p. 375-78.
55. Bayness J., Dominiczak M.H., Medical Biochemistry, Mosby, 1999.
56. Biachi E.M., Determinarea fotocolorimetrică a proteinelor totale din miere, în Harnaj V (editor), Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe, Editura Apimondia, București, 1989, p. 25-27.
57. Boch R., Queen substances pheromone produced by immature queen honeybees, J. Apic. Res., 1979, pp. 17-24.
58. Bogdanov S, Matzke A, Propolis-ein natürliches Antibiotikum, in Matzke A, Bogdanov S (eds) Der Schweizerische Bienenvater, Bienprodukte und Apitherapie, Fachschriftenverlag VDRB; Winikon, Switzerland, 2003, p. 65-72.
59. Bonaga G., Giumanini,A.G., Composition chimique du miel. Methodes de separation de la fraction aromatique et identification de ses composantes par chromatographie en phase gazeuse et spectrometrie de masse, in the XXIX-Th. Apimondia Congress, 1983, Budapest, Hungary, p.83.
60. Bontaș E, Khamashata MA, Bartoș D, Noile criterii de clasificare pentru sindromul antifosfolipidic Hughers, în Viața medicală, 7-6, 2006.
61. Bosi G, Ricciardelli d'Albore,G., Quantitative determination of amino acids in some bee collected pollens, in the XXV-Th. Apimondia Congress, Grenoble, 1975, France, p.4594-65.
62. Brangi G.P., Pavan,M.,Propriétés bactéricides du miel, de la propolis, de la gélée royale et du venin d'*Apis mellifica*, in *Mem. Soc. Ent. Ital.*,1954, 33, p.19-32.
63. Bratter P., Forth W., Fresenius W., Holtmeier H.J., Hoyer S., Krese-Jarres J.D., Liesen H., Mohn L., Negretti de Bratter V., Reichlmaier – Lais A.M., Sitzler G., Tolg G., Mineralstoffe und Spurenelemente- Leitfaden für die ärztliche Praxis, Verlag Bertelsmann Stiftung, Gütersloh, 1992, 53-59.
64. Brudașcă I, Cucuianu M, Metabolismul calciului, fosforului și magneziului, în Biochimie clinică.
65. Buligescu Lucian, Tratat de hepatogastroenterologie, vol. 2, Editura Medicală, București, 1999, p. 123-129.
66. Caillas A., Abeilles et Fleurs, 1973, pp. 401-402.
67. Caillas A., Polenul, Editura Apimondia, București, 1975.
68. Campos M.G., Caracterizacao do polen apicola pelo seu perfil em compostos fenolicos e prequisa de algumas actividades biologicas, Tesis de doutoramento, Universidade de Coimbra, Portugal, 1997, 317.
69. Campos M.G., Markham K.R., Proenca da Cunha A., Quality assessment of bee-pollens using flavonoid/phenolic profiles. Polyphenol Communications, 1997, 96, 53-54.
70. Campos M.G., Mitchel K, Cunha A, Markham K, A systematic approach to the characterisation of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles, *Phytochemical Analyses*, 1997, 8, p. 181-185.
71. Canini Antonella, Picichero Elena, Alesiani Daniela, Canauti Lorena, Leonardi Donatella, Chemopreventive properties of italian honeys, în Apicultura de la știință la agribusiness și apiterapie, Editura ACADEMICPRES, Cluj Napoca, 2007, pp. 108-114.
72. Capolongo Francesca, Baggio Alessandra, Zoletto Barbara, Mutinelli,Franco , Antimicrobial activity of honey, in the XXXV-Th. Apimondia Congress, 1997, Antwerpen, Belgium.
73. Cernescu C., Virusologie medicală, Ediția a II-a, Editura Medicală, București 2003.
74. Chandan B.K., Saxena A.K., Sangeeta Shukla, Neelam Sharma, Gupta D.K., Suri K.A., Jyotsna Suri, Bhadauria M., Singh B., Hepatoprotective potential of *Aloe barbadensis* Mill.

- against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity, *Journal of Ethnopharmacology* 111, 2007, 560–566.
75. Chandan B.K., Saxena A.K., Sangeeta Shukla, Sharma N., Gupta D.K., Singh K., Jyotsna Suri, Bhadauria M., Qazi G.N., Hepatoprotective activity of *Woodfordia fruticosa* Kurz flowers against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity, *Journal of Ethnopharmacology* 119 (2008) 218–224.
76. Chang F., Syrjaneen S., Kellokoski J. et al., Human papillomavirus (HPV) infections and their associations With oral disease .J. Oral Pathol Med, 1991; 20, p.305-317.
77. Chi J, Xue B, The chemical constituents of flavonoids from Liaoxi propolis, *Zhangguo Yaoxue Zazhi*, 1996, 31, p. 264-266.
78. Chia-Fang Tsai, Yu-Wen Hsu, Wen-Kang Chen, Wen-Huei Chang, Cheng-Chieh Yen, Yung Chyuan Ho, Fung-Jou Lu, Hepatoprotective effect of electrolyzed reduced water against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice, *Food and Chemical Toxicology* 47 (2009) 2031–2036.
79. Chiotan Mircea, Boli infecțioase, Editura Național, București, 2006, 12-30.
80. Chiriță Gh., Chiriță M., *Tratat de biomolecule*, vol. I-II, Editura Sedcom Libris, Iași, 2009, p. 5-15, 238-242.
81. Ciaceri G., Attaguile,G.,Influenza della luteolina, dell’apigenina e dell’acacetina sull’ulcera gastrica sperimentale (Influence of luteolin, apigenin and acacetin on experimental gastric ulcer) (Italian), in *Minerva med.* 63(29), 1972, p.1665-68.
82. Ciplea Al, Drăgulescu N, Perspective imediate de utilizare a apilarnilului în terapie, în Ilieșiu N.V. (editor), *Apilarnil*, Editura Apimondia, București, 1991, p.140-148.
83. Cirilli G., Papagheorghe A., Savigni G., Les caractéristiques chimiques et nutritionnelles du miel, in *Industrie Alimentari* 12(4), 1973, p.74-76.55/76.
84. Ciucă Traian, Boli transmisibile pe cale sexuală, Editura științifică, București, 1993, p.59, 66.
85. Cojocaru D.C., *Biochimia vitaminelor*, Editura GAMMA, Iași, 1996.
86. Cojocaru D.C., Oltenu Zenovia, Ciornea Elena, Oprică Lăcrămioara, Cojocaru Sabina-Ioana, *Enzimologie generală*,Editura Tehnopress, Iași, 2007.
87. Colev Luca Veronica, Bădescu Magda, Mocanu Veronica, Manuela Ciocoiu, Editura „Gr.T. Popa”, U.M.F. Iași, 2006, p. 19-26, 39, 59-72.
88. Cotrutz Constantin, Cotrutz Carmen Elena., Bazele celulare și moleculare ale embriogenezei, Editura SEDCOM LIBRIS, Iași, 2009, p. 39-44.
89. Cotrutz C.E., Cotrutz C., Petreuş T., Bădescu L., Neamțu M., Ionescu C.R., *Biologie celulară și moleculară*, Editura Sedcom Libris, 2011.
90. Covic Maria, Ungureanu G, Covic A, Tulburările acidobazice și hidroelectrolitice, în *Terapeutica Medicală*, 2000.
91. Crane Eva, *Mierea-un studiu cuprinzător*, Editura Apimondia, București, 1979, pp. 153-202.
92. Crâșnic Ion, *Biochimie medicală*, Editura University Press “Vasile Goldiș”, Arad, 2001, p. 386-433.
93. Cristea Aurelia Nicoleta et.al., *Tratat de farmacologie*, Ediția I., Editura Medicală, Bucuresti, 2009, pp. 617-718, 723-751, 839-864, 875-916.
94. Cucuianu M., Rus Gh., Niculescu D., Vonica A., *Biochimie. Aplicații clinice*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1991.
95. Czaja A, Natural history, clinical features, and treatment of autoimmune hepatitis, *Semin Liver Dis*, 1984, 4, p. 1-8.
96. Czaja A.J, Autoimmune hepatitis: evolving concepts and treatment strategies, *Dig Dis Sci*, 1995, 40, p.435-456.

97. Czaja A.J., Freese D.K., Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis (AASLD Practice Guidelines), *Hepatology*, 2002, 36, p.479-497.
98. Czaja AJ, Autoimmune hepatitis, in Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (eds), *Sleisenger&Fordtran's Gastrointestinal and liver disease*, Philadelphia: WB Saunders Co, 2002: 1462-1473.
99. Czaja AJ, Dos Santos RM, Porto A et al. Immune phenotype of chronic liver disease, *Dig Dis Sci* 1998, 43, p2149-2155.
100. Daghie M, Nicolau N, Orientări în metodologia cercetării proprietăților biologice ale unor produse apicole folosite în alimentație, cu referire specială la polen, păstură și apilarnil, în Ilieșiu NV (editor), *Apilarnil*, Editura Apimondia, 1991, 169-187.
101. Daghie V, Nicolau N et al, Efectele nutritive și biostimulente ale noului produs apicol natural Apilarnil, în terapie, în Ilieșiu NV (editor), *Apilarnil*, Editura Apimondia, 1991, p. 127-139.
102. Daghie V., Nicolau N. et al, Efectele nutritive și biostimulente ale noului produs apicol natural Apilarnil, în terapie, în Ilieșiu NV (editor), *Apilarnil*, Editura Apimondia, 1991, 127-139.
103. Daih-Huang Kuo, Wen-Hsing Kang, Po-Chuen Shieh, Fu-An Chen, Ching-Dong Chang, Mei-Ling Tsai, An-Chin Cheng, Chi-Tang Ho, Min-Hsiung Pan, Protective effect of *Pracparatum mungo* extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *Food Chemistry* 123 (2010) 1007–1012.
104. Desmet V, Gerber MA, Hoofnagle JH et al, Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading, staging, *Hepatology* 1994, 9 : 1513-1520.
105. Desmet V, Gerber MA, Hoofnagle JH et al, Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading, staging, *Hepatology* 1994, 9 : 1513-1520.
106. Di Maggio G., Ciaceri,G., Il potere istamiopessico della quercetina (Italian), in *Archo. Ital. Sci. farmac.*, 11, 1961, p.191-200.
107. Dickerson R.E., Drew H.R., Fratini A.V., Kopka M.L., The anatomy of A-, B- and- Z-DNA, *Science*, 1982, 475- 485.
108. Didem Deliorman Orhan, Nil"ufer Orhan, Ender Ergun, Fatma Ergun, Hepatoprotective effect of *Vitis vinifera* L. leaves on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 112 (2007) 145–151.
109. Dimofte G. și colaboratorii, TNF α and IL-6 in surgical trauma I. serum cytokines dynamics, în *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*, 2001, p. 307-312
110. Djeica D, Explorarea imunologică a bolilor hepatice, în Grigorescu M et al (ed), *Tratat de hepatologie*, București, Editura Medicală Națională, 2004, p. 1099-1109.
111. Djeica D., Grigorescu M., Djeica V., Radu C., Neculoiu D., Serum levels of soluble intercellular-1 and vascular cell-1 adhesion molecules in chronic hepatitis C and the influence of interferon- α + ribavirin therapy, *Rom J gastroenterol*, 2002, 11, p. 277-283.
112. Djeica D., Treichel U., Pár A., Chira O., Meyer zum Büschenfelde K.H., Anti asialoglycoprotein receptor antibodies and soluble interleukin-2 receptor levels as markers for inflammation in autoimmune hepatitis, *Ger J Gastroenterol*, 1997, 35, p. 15-21.
113. Domnișoru D Leonard, *Medicină internă*, Editura Gr.T.Popa, UMF, Iași, 2006, 386-392, 605-658, 698-699.
114. Duca Eugenia, Duca M., Furtunescu G., *Microbiologie medicală*, Ediția a II-a, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1979, p. 225-238, 241-246, 249-266, Evans C, Robins P, Gene therapy of arthritis, *Intern Med*, 1999, 38, 3, 233-239.
115. Dumitrașcu N., *Biomateriale si biocompatibilitate*, Editura Universității "Al. I.Cuza", Iasi, 2007.

116. Falaschini A., Considerations on the auxinic action of royal jelly on cattle and chickens, in the XX-Th. Apimondia Congress, 1965, Bucharest, Romania, p.572-575.
117. Feltkamp Tew, Arden L.A., Lucas C.J., Genetic risk for autoimmune diseases, *Immunol Today*, 20, 1999, 10-12; Kamradt T, Mitchinson NA, Tolerance and autoimmunity. *N Engl J Med*, 344 (9), 2003; 655-664.
118. Filipic M., Valoarea terapeutică a lăptișorului de matcă și a propolisului în infecțiile virotice, în Harnaj V (editor), *Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, p.70-73.
119. Forbes R.M., Erdman J.W., Bioavailability of trace mineral element, *Annual review of nutrition*, 1983, 213-231.
120. Franco,F., Apitherapy in orthopedic diseases, in the International Conference on Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy, Tel - Aviv, Israel, May 26-30, 1996.
121. Pleșca Manea L., Cucuianu M., Crâșnic I., Brudașcă I., *Biochimie clinică-Fundamentare fiziopatologică*, Ediția A 3-a, Editura Argonaut, 2003, pp 317-379.
122. Garban Zeno, *Biochimie,Tratat comprehensiv*, vol. I, Ediția a 2-a, Editura Didactică și Pedagogică, București, 2002, p. 27, 369-371.
123. Garban Zeno, *Biochimie. Tratat comprehensiv*, Vol. I, Ediția a 2-a, Editura Didactica și Pedagogică, R.A., București, 1999, 27, 572-57.
124. Gheorghe M., *Fiziologie clinică*, Editura CNI Coresi, 2005, p. 18-44, 67-74, 186-206, 222-228, 263-278, 293-318.
125. Gheorhe Liana, Gheorghe Cristian, Boli hepatice prin mecanism imunologic. Hepatitele autoimune, în Grigorescu M, *Tratat de hepatologie*, Editura Medicală Națională, 2004, p. 537-553.
126. Gherasim L, *Medicină internă*, vol I, Editura Medicală, București, 2000, 695-701.
127. Ghidul Serviciilor Medicale al Laboratoarelor Synevo, Ediția 2007-2008, 238-241.
128. Giurgea Rodica, *Corelații endocrino-imunitare*, Imprimeria "ARDEALUL", Cluj, 1994, p. 27-49, 70-74, 77-78, 92-102, 142-153, 142-153
129. Giuseppe M. Campo, Angela Avenoso, Salvatore Campo, Alida M. Ferlazzo, Carmelo Micali, Laura Zanghì, Alberto Calatroni, Hyaluronic acid and chondroitin-4-sulphate treatment reduces damage in carbon tetrachloride-induced acute rat liver injury, *Life Sciences* 74 (2004) 1289–1305.
130. Gluhovschi Gh., *Actualități în imunologia clinică*, Edirura Helicon, Timișoara, 1994, p. 11-29, 99-135, 195-202, 242-251; 254-264, 483-511.
131. Gonnet M, Factori antibiotici naturali prezenți în miere, în Harnaj V (editor), *Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, p. 34-38.
132. Gonnet M, Vache G., Tehnica de degustare a mierilor și punerea la punct a unui sistem de notație și clasificare obiectivă pentru a aprecia calitatea lor prin analiza organoleptică, în Harnaj V (editor), *Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, p. 27-33
133. Gonnet M., Factori antibiotici naturali prezenți în miere, în Harnaj V (editor), *Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, 34-38.
134. Greceanu A., Enciu V., Observații asupra efectului antibiotic al propolisului, polenului și mierii, în Harnaj V (editor), *Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, 38-41.
135. Grecu I., Neamțu Maria, Ennescu L., *Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice*, Editura Junimea, Iași, 1982, 34-36.
136. Guijuan Fan, Jiang Jiang Tang, Monika Bhadauria, Satendra Kumar Nirala, Fang Dai, Bo Zhou, Yang Li, Zhong Li Liu, Resveratrol ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28 (2009) 350–356.

137. Guo H., Ekusa A., Iwai K., Yonekura M., Takahata Y., Morimatsu F., Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidation in vitro and in vivo, *J Nutr Sci Vitaminol*, 2008, 54, p. 191-195.
138. Guo H., Kouzuma Y., Yonekura M., Isolation and properties of antioxidative peptides from water-soluble royal jelly protein hydrolyzate, *Food Sci Tehnol Res*, 2005, 11, p. 222-230.
139. Guo H., Saiga M., Miyazawa I., Shibata M., Takahata Y., Morimatsu F., Royal jelly supplementation improves lipoprotein metabolism in human, *J Nurt Sci Vitaminol*, 2007, 53, p. 345-348.
140. Guyton C. Arthur, *Fiziologie*, Ediția a 5-a, Editura Medicală ALMATEA, București, 1997, p. 27-46, 298-425, 496-523.
141. Hachulla E., Les dix regles d'or de la corticoterapie par voie generale, *NPN Medicine*, 1992, 186, 410-414.
142. Hammerl H., Pichler O., Zur Therapie mit Apifortyl, *Medsche Klin*, 1960, 45, p. 2015-2021.
143. Harnaj V., Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe, Editura Apimondia, București, 1989.
144. Harris EN, Khamasha MA, Hughes GR.V, în McCarty DJ, *Arthritis of Allied Condition*, Ediția a 12-a, Philadelphia, Lea Febiger, 1993, 1201-1212.
145. Harrison, *Principiile medicinei interne*, vol. I, Editura Teora, București, 2003, 2402-2414.
146. Harrison. *Principiile medicinei interne*, vol. I și II, Ediția a II-a, Editura Teora, 2003, București, p. p. 833-847, 1181-1185, 1993, 1213-1215.
147. Hattori N., Nomoto H., Fukumitsu H., Mishima S., Furukuwa S., Royal jelly and its unique fatty acid, 10-hydroxy-2-decenoic acid, promote neurogenesis by neural stem/progenitor cells in vitro, *Biomed Res*, 2007, 28, p. 261-266.
148. Hattori N., Nomoto H., Mishima S., Inagaki S., Goto M., Sako M., Furukawa S., Identification of AMP N1 oxide in royal jelly as a neurotrophic component for cultured rat pheochromocytoma PC12 cells, *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70, p. 897-906.
149. Haulică I., *Fiziologie umană*, Ediția a III-a, revizuită și adăugită, Editura Medicală. București, 2009, p. 186-187, 211-216, 217-220, 220-221, 222-224, 631-729.
150. Hsun-Lang Fang, Jinn-Tsyy Lai, Wen-Chuan Lin, Inhibitory effect of olive oil on fibrosis induced by carbon tetrachloride in rat liver, *Clinical Nutrition* (2008) 27, 900-907.
151. Hyeung Sik Lee, Hong Hui Kim, Sae Kwang Ku, Hepatoprotective effects of *Artemisia Capillaris Herba* and *Picrorrhiza Rhizoma* combinations on carbon tetrachloride-induced subacute liver damage in rats, *Nutrition Research* 28 (2008) 270-277.
152. Ialomițeanu Mircea, Polenul – aliment și medicament. Valoarea biostimulentă și terapeutică, Editura Apimondia, București, p. 23.
153. Ialomițeanu M., Daghe V., Nicolau N., Rîndulescu M., Contribuții la interpretarea rezultatelor clinice și de laborator ale tratamentului hepatitelor cronice cu polen și păstură, „Cercetări noi de Apiterapie”, Ed. Apimondia, 1976.
154. Ilieșiu N.V., *Apilarnil*, Editura Apimondia, București, 1991, p. 50-51.
155. Jacob F., Monod J., Genetic Regulatory mechanism in the synthesis of proteins, *J. Mol. Biol.*, 1961, 318-356.
156. Jinn-Tsyy Lai, Wen-Tsong Hsieh, Hsun-Lang Fang, Wen-Chuan Lin, The protective effects of a fermented substance from *Saccharomyces cerevisiae* on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats, *Clinical Nutrition* 28 (2009) 338-345.
157. Ji-Young Shim, Mi-Hyoung Kim, Hyung-Doo Kim, Ji-Yeon Ahn, Yeon-Sook Yun, Jie-Young Song, Protective action of the immunomodulator ginsan against carbon tetrachloride-induced liver injury via control of oxidative stress and the inflammatory response, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 242, 2010, 318-325.

158. Johnson P.J., McFarlane I.G., Alvarez F. et al, Meeting Report: International Autoimmune Hepatitis Group, Hepatology, 1993, 18, p. 998-1005.
159. Jorge A.D., Leuchner U, Primary biliary cirrhosis, 3rd Ed, Freiburg, Falk Foundation, 1996, p. 16-17. Al-Wabel A., Al-Zanadi M., Raziuddin S., Cytokine profile of viral and autoimmune chronic active hepatitis, *Jallergy Clin Immunol*, 1993, 92, p. 902-908.
160. Juncu V., Gîdoiu T., Babii R., Paloș E., Cercetări privind acțiunea propolisului și păsturii în infecția gripală experimentală, în Harnaj V (editor), Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe, Editura Apimondia, 1989, p. 59-62.
161. Kakzor M., Koltec A., Matuszewski J., The effect of royal jelly on blood lipids in atheromatic patients, *Polski Tygod Lek*, 1962, 17, p. 140-144.
162. Kim Y., DiSilvestro R., and Clinton S., Effects of Lycopene-beadlet or tomato-powder feeding on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *Phytomedicine* 11: 152–156, 2004.
163. Kimm C.M., BeeVenom and Bee accupuncture, Editura Calgaris, 1992.
164. Kimura M, Kimura Y, Tsumura K, Okihara K, Sugimoto H, Yamada H, Yonekura M, 350-kDa royal jelly glycoprotein (apisin), which stimulates proliferation of human monocytes, bears the beta 1-3galactosylated N-glycan: analysis of the N-glycosilation site. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2003, 67, p. 2055-2058.
165. Klain U., Massimo L., Résultats cliniques sur l'importance du lait et du miel dans la nutrition infantile, in *Minerva Pediatr.* 21 (39), 1969, p.1821-1825.
166. Kohno K., Royal Jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages, *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68, 138- 145.
167. Kohno K., Okamoto I., Sano O., Arai N., Iwaki K., Ikeda M., Kurimoto M., Royal Jelly Inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages, *Biosci Biotech Biochem*, 2004, 68, p. 138-145.
168. Kruh J, 1987, *Biochimie-Etudes Medicales et Biologiques*, Vol. I, Herman, Paris, 1987.
169. Kruh J., 1987, *Biochimie-Etudes Medicales et Biologiques*, Vol. I, Herman, Paris, 1987.
170. Kyung Jin Lee, Eun-Rhan Woo, Chul Yung Choi, Dong Weon Shin, Dong Gun Lee, Ho Jin Youa, Hye Gwang Jeong, Protective Effect of Acteoside on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity, *Life Sciences*, 74, 2004, 1051-1064.
171. Kyung Jin Lee, Jae Ho Choi, Hyung Gyun Kim, Eun Hee Han, Yong Pil Hwang, Young Chun Lee, Young Chul Chung, Hye Gwang Jeong, Protective effect of saponins derived from the roots of *Platycodon grandiflorum* against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice, *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 1778–1785.
172. Kyung Jin Lee, Jea Ho Choi, Hye Gwang Jeong, Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbon tetrachloride-induced liver damage in mice, *Food and Chemical Toxicology* 45 (2007) 2118–2125.
173. Laboratory Corporation of America. Directory of Services and Interpretative Guide. Anticardiolipin Antibodies (ACA), IgG. www.labcorp.com, 2003.
174. Lambda N.M.K., Woodhouse K.A., Cooper S.L., Polyurethanes in biomedical applications, CRC Press, 1998.
175. Lamberti J.R., Cornejo L.G., Prezența gamaglobulinei în lăptișorul de matcă injectabil și utilizarea sa farmacologică în procesele de revitalizare, în Harnaj V (editor), Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe, Editura Apimondia, 1989, p.62-64.
176. Lelah M., Cooper S., Poliuretanos in medicine, Boca Raton, CRC, Press, 1986
177. Leon M.P., Bassendine M.F., Gibbs P., Thick M., Kirby J.A., immunogenicity with lymphocytes, *Gastroenterology*, 1997, 112, p. 968-977.

178. Lercker G., Vecchi Maria Adelaide, Sabatini Ana Gloria, Nanetti A., La fraction glucidique de la g  lee royale, in the XXIX-Th. Apimondia Congress, Budapest, Hungary, 1983, p.140-141.
179. Lercker G.P., Capella L., Conte S., Ruini F., Giordani G, Components of royal jelly. I. Identification of the organic acids, *Lipids*, 1981, 16, p. 912-9.
180. Lishu Wang, Dongyan Cheng, Haisheng Wang, Lin Di, Xuefeng Zhou, Tunhai Xu, Xianwen Yang, Yonghong Liu, The hepatoprotective and antifibrotic effects of *Saururus chinensis* against carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 126 (2009) 487–491.
181. Lotreanu V., Analize medicale: biochimice-hematologice- imunologice, Edi  ia a III-a, Editura C.N.I. “Coresi” S. A., Bucuresti, 2002.
182. Luca Colev V., B  descu M., Mocanu V., Ciocoiu M., Elemente de fiziopatologie practic  , Editura “Gr. T. Popa”, U.M.F. Ia  i, 2008, 158-169.
183. Lwoff A, L’ordre biologique, Editura Robert Lafont, Paris, 1969, 72.
184. MacKay I.R., Taft CO, Cowling DS, Lupoid hepatitis, *Lancet* 1956, 2, p. 1323-1326.
185. Madar J., Maly E., Neubauer E., Moscovic F., Einfluss des Bienenmuttervrees (g  lee royale) auf den Cholesterol-Spiegel auf die Toallipide im Serum und auf die fibrinolitische Aktivitat des Plasmas der an Atherosklerose Leidenden Alteren Menschem, *Z Altersforsch*, 1965, 18, p. 103-108.
186. Makarova V.G., The effect of course-wise administration of diffrent doses of Apilak upon some lipid metabolism indices, *Farmak Toks*, 1969, 32, p. 63-65.
187. Manns M, Autoimmune hepatitis, in Bacon BR, Di Biscegle AM (eds), *Liver disease: diagnosis and management*, New York: Churchill Livingstone, 2000: 107-118).
188. Manns M, Autoimmune hepatitis, in Schiff ER, Sorell MF, Maddrey WC (eds), *Schiff’s disease of the liver*, Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999:919-935.
189. Manns M.P., Obermayer-Straub P, Viral induction of autoimmunity: mechanism and examples in hepatology, *J Viral Hepat*, 1997, 4 Suppl 2, p. 42-47.
190. Manoj R. Bhandarkar, Aqueel Khan, Antihepatotoxic effect of *Nymphaea stellata* willd., against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in albino rats, *Journal of Ethnopharmacology* 91 (2004) 61–64.
191. Manole Gh, Galetescu E. M., Mateescu M., Analize de laborator, Edi  ia a II-a, Editura CNI Coresi, Bucure  ti, 2005, p. 77-80, 152-155, 223-225.
192. Manolescu Nicolae, Aspecte de patologie comparat  , vol. I, Editura CERES, Bucure  ti, 1997, p. 168-175.
193. Mao-chuan Zhen, Qian Wang, Xiao-hui Huang, Liang-qi Cao, Xi-ling Chen, Kai Sun, Yun-jian Liu, Wen Li, Long-juan Zhang, Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits oxidative damage and preventive effects on carbon tetrachloride–induced hepatic fibrosis, *Journal of Nutritional Biochemistry* 18 (2007) 795–805.
194. Mărghitaș L.A., Apicultura de la   tiin  , agribusiness   i apiterapie, Editura Academic Pres, Cluj Napoca, 2007.
195. Mărghitaș L.A., Albinele   i produsele lor, Editura Ceres, București, 1997.
196. Mărghitaș L.A., Polenul,   n Albinele   i produsele lor, Editura Ceres, București, 2005, 344-356
197. Mărghitaș, L.A., *Albinele   i produsele lor*, Editura Ceres, București, 1999.
198. Marin M., Popa Al., Popescu N.,   erban M.,   uteanu A., Valoarea alimentar  , dietetic     i terapeutic   a produselor apicole, Editura Agro-Silvic  , Bucure  ti, 1966, pp.112-160.
199. Marletto F., Caracteristiques de la propolis en fonction de son origine florale et de son utilisation par les abeilles, in the XXIX-Th. Apimondia Congress, Budapest, Hungary, 1983.

200. Mason AL., Xu L., Guo L. et al, Retroviruses in autoimmune liver disease: genetic or enviromental agents? *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1999, 47, p. 289-297.
201. Masui T. et al.,Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive activity, *Journal of nutritional Biochemistry* 13, 80-86.
202. Mateescu Cristina, Apiterapia sau cum să folosim produsele stupului pentru sănătate, Editura Fiat Lux, București, 2005, p.36-40.
203. Mateescu Cristina, The adjuvant role of apitherapy in the prophylaxis and treatement of certain severe, în *Apicultura –de la știință la agribussines și apiterapie*, Editura ACADEMICPRES, Cluj Napoca, 2007, pp 95-102.
204. Matuszewski J., Kaczor E, Koltek A, Acțiunea imunodepresoare a lăptișorului de matcă, în Harnaj V (editor), *Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, 128-130.
205. Mehal W.Z., Azzaroli F., Crispe I.N., Immunology of the healthy liver: old questions and new insight, *Gastroenterology*, 2001, 120, p. 250-260.
206. Mihaescu Grigore, *Imunologie și imunochimie*, Editura Universitatea București, 2003, p. 2-3.
207. Mihele Denisa, *Biochimie clinică*, Editia A II-A, Editura Medicală, București, 2006, p. 43-44, 44-47, 167-168.
208. Mirel S., Neag F., Neag M., Cercetări privind polimeri sintetici tradiționali utilizați ca biomateriale , *Clujul Medical, Revistă de Medicină si Farmacie*, vol. LXXXI, 2008, p. 133-137.
209. Mladenov S., *Mierea și terapia cu miere*, Editura Ceres, București, 1972.
210. Mladenov S., Probleme actuale ale terapiei cu miere, în Harnaj V, *Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, p. 130-132.
211. Mladenov S., Studiu experimental al acțiunii sensibilizatoare și desensibilizatoare (hiposensibilizatoare) a mierii de albine, în Harnaj V (editor), *Produsele Stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, p. 65-67.
212. Mòdy Eugen, Funduc Ileana, Alexandrescu Ruxandra, Dobreanu Minodora, *Biochimie clinică*, Editura ALL EDUCATIONAL, Timișoara, 2000, 243-261,312-313, 325-328 ; 409-412, 413-416, 416-423, 428-440.
213. Mogoș Gh., Sitcai N., *Toxicologie clinic. Fiziopatologie, diagnostic, tratament*, vol. I, Editura Medicală, București, 1990, pp. 345-374.
214. Moldoveanu Elena, Neagu Monica, Popescu LM, *Dicționar de biochimie*, Edirura Medicală, București, 2001, 26.
215. Monterde A.O., Pajuelo A.G., Studiu fundamental al principiilor imunoserologice din polen (extracte hidrosolubile și liposolubile), în Harnaj V (editor), *Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, p16-20.
216. Monterde A.O., Studiul farmaceutic al polenului. Tehnologie farmaceutică, în Harnaj V (editor), *Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe*, Editura Apimondia, 1989, 51-58.
217. Muniyappan Dhanasekaran, Savarimuthu Ignacimuthu, Paul Agastian, Potential hepatoprotective activity of ononitol monohydrate isolated from *Cassia tora* L. on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in wistar rats, *Phytomedicine* 16 (2009) 891–895.
218. Nagai T., Inou R., Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly, *Food Chem*, 2004, 84, p.181-186.
219. Nagy E., Lapay V. et al., Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and Populigemma by GC/MS method. *Studies in Organic Chemistry*, Amsterdam, 1986, 23, p. 223-232.

220. Nakajin S., Okiyama K., Yamashita S., Akiyama Y., Shinoda M., Effect of royal jelly on experimental hypercholesterolemia in rabbits, *Shoyakugaku Zasshi*, 1982, 36, p. 65-69.
221. Nandita Singh, Vasudeva Kamath, K. Narasimhamurthy, P.S. Rajini, Protective effect of potato peel extract against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26 (2008) 241–246.
222. Nanu Andrei, *Corticoterapia în practica medicală*, Editura Medicala Almatea, București, 2003, 45-66, 186-234, 311-349.
223. Neacșu C., *Compendiu de apiterapie*, Editura Tehnică, București, 2002.
224. Nouri-Aria K.T., Koskinas J., Tibbs C.J., Portmann BC, Williams R, Serum intercellular adhesion molecule-1 levels in chronic C: association with disease activity and response to interferon α , *Gut*, 1995, 36, p. 599-603.
225. Oka H., Emori Y., Kobeyanshi N., Hayashi Y. and Nomoto K., Suppresion of allergic reaction by royal jelly in association with the restoration of macrophage function and the improvement of Th1/Th2 cell responses, *Int Immunopharmacol*, 2001, 1, p. 521-532.
226. Okamoto I, Taniguchi Y, Kunikata T, Kohno K, Ikeda M, Kurimoto M, Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo, *Life Sci*, 2003, 73, 2029-2045.
227. Okamoto N., Yotsuyanagi H., Ooka S. et al, Autoantibodies to CD69 in patients with chronic hepatitis type C: a candidate marker for predicting the response to interferon therapy, *Intervirology* 2003, 46, p. 56-65.
228. Okuda T, Antioxidant in herbs: polyphenols, in Packer L, Midori H, Toshikazu Y, (Eds), *Antioxidant Food Supplements in Human Healt*, Academic Press, USA, 1999, p. 393-410.
229. Olinescu Andrei, Panait Mircea, *Introducere în imunologie*, Editura Medica, București, 2004, p. 3-15, 23-66, 105-121, 126, 128-359, 243-290, 342-348.
230. Olinescu R, *Radicali liberi în fiziopatologia umană*, Editura Tehnică, București, 1994, p. 85-101
231. Omolola A. Adesanoye, Ebenezer O. Farombi, Hepatoprotective effects of *Vernonia amygdalina* (astereaceae) in rats treated with carbon tetrachloride, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62, 2010, 197-206.
232. Orth G., General features: Infectionsof the anogenital tract, în *Encyclopedia of Virology*, 1994, p. 1014-1026.
233. Oxford, *Dicționar de Medicină*, Ediția a 6-a, Editura BIC ALL, București, 2005.
234. Paloș Elena, *Propolisul*, Editura Apimondia, București, 1990
235. Păun R., *Terapeutică medicală*, vol. I, II, III, Editura Medicală, București, 1982, p. 164-170.
236. Păunescu T, Maftai I, Hossu T, Moșteanu T, cap.1 Principalele componente ale medicamentelor apifitoterapice, în *Apifitoterapia*, Editura Apimondia, 1988, p.12-31.
237. Peng S., Craft J., Antinuclear Antiboides, în *Kellie s Textbook of Rheumatology*, E. Harris et al., Editors, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005, p. 311-331.
238. Popescu N., Meica S., *Produsele apicole și analiza lor chimică*, Editura Diacon Coresi, București, 1997.
239. Popescu V., Abordarea pacienților cu probleme imunologice în cadrul maladiilor genetice de metabolism, în *Viața Medicală*, 6, februarie 2003.
240. Popesu I, Noile metode de estimare a severității bolii cronice de ficat, în *Viața Medicală*, 1, ianuarie 2003.
241. Popravko S.A., Chemical composition of propolis, its origin and standardization, în *A Remarcable Hive Product: PROPOLIS*, Apimondia Publ.House, Bucharest, 1978, p. 15-18.
242. Prandota J., Possible pathomechanism of autoimmune hepatitis, *Am J Ther* 2003, 10, p. 51-57.

243. Carpenter H.A., Czaja A.J., The role of histologic evaluation in the diagnosis and management of autoimmune hepatitis, *Clin Liver Dis*, 2002, 6, p. 685-707.
244. Purice S, Aspecte imunologice în lupusul eritematos diseminat, Spitalul, 1973, 193.
245. Pușchița Maria, Ciacli Camelia, Imunologie clinică și alergologie, vol. I, Editura Mirton, Timișoara, 2004, p. 25-31, 32-37, 43-46; 51-54.
246. Radu C., Djeica D., Grigorescu M., Zaharie T., Neculoiu D., Correlation of sICAM-1 and sVCAM-1 level with biochemical, histological and viral findings in chronic hepatitis C after interferon- α + ribavirin therapy, *Rom J gastroenterol*, 2003, 12, p. 91-95.
247. Rajesh Bhattacharjee, Parames C. Sil, Protein isolate from the herb, *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae), plays hepatoprotective role against carbon tetrachloride induced liver damage via its antioxidant properties, *Food and Chemical Toxicology* 45 (2007) 817–826.
248. Ramadori G., Christ B., Cytokines and the hepatic acute-phase response, *Semin Liver Dis*, 1999, 19, p. 141-153.
249. Ranert O.M., Chan W.Y., Metabolism of Trace Metals, Vol.I, *Press Inc*, 1981, 215-236.
250. Răzuș M.T., Rezultatele testărilor preclinice ale apilarnilului. Considerații asupra unor studii experimentale clinice și biologice privind efectele apilarnilului, în Ilieșiu NV (editor), *Apilarnil*, Editura Apimondia, București, 1991, p. 241-252.
251. Ricciardelli D'Albore C.G., D'Ambrosio M. ,Aminoacids composition variations of pollens gathered by honeybees during one year of activity, in the XXVII-Th. Apimondia Congress, Athens, 1979, Greece, p.498.
252. Riviș I.A., Urgențe medicale, Editura Mirton, Timișoara, 1997, pp. 141-156.
253. Robert Domitrović, Hrvoje Jakovac, Jelena Tomac, Ivana Šain, Liver fibrosis in mice induced by carbon tetrachloride and its reversion by luteolin, *Toxicology and Applied Pharmacology* 241 (2009) 311–321.
254. Robert Domitrović, Hrvoje Jakovac, Željko Romić, Dario Rahelić, Žarko Tadić, Antifibrotic activity of *Taraxacum officinale* root in carbon tetrachloride-induced liver damage in mice, *Journal of Ethnopharmacology* 130 (2010) 569–577.
255. Robert S, Therneau T, Czaja A, Prognosis of histologic criteria in type I autoimmune hepatitis, *Gastroenterology*, 1996; 110: 848-853.
256. Roșca M., Produse Tehnico-medicale, Editura UMF Cluj, 2000.
257. Roubey Ras, Antiphospholipid antibodies: Immunological aspects, 2004, 127-128, în Ghidul Serviciilor Medicale ale Laboratoarelor Synevo, Ediția 2007-2008, 474.
258. Rudnicki M., Silveira, Pereira T.V.. Oliviera M.R., Reginatto F.H., Dal-Piyyol F., Moreira J.C.F., Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2007, 656-661.
259. Rusu Valeriu, Dicționar medical, Editura Medicală, Ediția a III-a revizuită și adăugită, București, 2007, p. 174, 225.
260. S. Raja, K.F.H. Nazeer Ahamed, V. Kumar, Kakali Mukherjee, A. Bandyopadhyay, Pulok K. Mukherjee, Antioxidant effect of *Cytisus scoparius* against carbon tetrachloride treated liver injury in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 109 (2007) 41–47.
261. Sălăjan Gh., Polenul de porumb biostimulator, Editura Ceres, București, 1984.
262. Santierre J. P., Labrow R. S., The effect of hard segment size on hydrolytic stability of poliether-urea-urethanes when exposed to cholesterol esterase, *J. Biomed. Mat. Research*, 1997, 36, 223-232.
263. Saragea M. și colaboratorii, Fiziopatologie, vol. II, Editura Academiei RSR, Bucutrești, 1982, p. 138-146, 184-208.

264. Sathesh Kumar S., Ravi Kumar B., Krishna Mohan G., Hepatoprotective effect of *Trichosanthes cucumerina* Var *cucumerina* L. on carbon tetrachloride induced liver damage in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 123 (2009) 347–350.
265. Schmidt J.O., Biochemistry of insect venom, *Ann. Rev. Entom.* 27, 1982, 339-368.
266. Șerban Dragomir Nicolae, Șerban Ionela Lăcrămioara, Bild Walther, Fiziologie umană. Celula și mediul intern, Editura Pim, Iași, 2008, p. 159-161, 190-192, 197-203, 208-217.
267. Șerban Viorel, Babeș PA, Clinică medicală. Teorie și practică, Editura de Vest, Timișoara, 1991, 265-267.
268. Șerban Viorel, Clinică Medicală, Editura de Vest, Timișoara, 1999, 207-221, 237-255, 285-284.
269. Șerban Viorel, Clinică Medicală, Editura de Vest, Timișoara, 1999, 207-221, 237-255, 285-284.
270. Shih C.C., Wu Y.W, Lin W.C., Aqueous extract of *Anoectochilus formosanus* attenuate hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats, *Phytomedicine* 12 (2005) 453–460.
271. Simon Z., Schneider F., Aspecte actuale de biologie și fiziologie moleculară, Editura “Viața Medicală Românească”, București, 1998, p. 59-75, 113-132.
272. Snowdon J.A., Cliver DO, Microorganism in honey, *Internat J Food Microbiol*, 1996, 31, p.1-26.
273. Snowdon J.A., The microbiology of honey-Meeting your buyers specification (Why they do what they do), *American Bee Journal*, p. 1999, 139, p.51-60.
274. Soresi M., Cervello M., Lipani G. et al., Circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with hepatocellular carcinoma, *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997, 9, p. 805-809.
275. Șorodoc L., Lionte Cătălina, Petriș Rusalim Ovidiu, Șorodoc Victorița, Toxicologie clinică de urgență, Editura Junimea, Iași, 2009, pp.100-103.
276. Sreelatha S., Padma P.R., Umadevi M., Protective effects of *Coriandrum sativum* extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *Food and Chemical Toxicology* 47, 2009, 702-728.
277. Ștefan Bogdanov, The contaminants of the bee colony, in Mărghitaș Al L, Dezmirean D, Apiculture-from science to agribusiness and apitherapy, Editura AcademicPres, Cluj-Napoca, 2007, p.20-29.
278. Stroescu, Valentin, Farmacologie, Ediția a VIII-a, Editura BIC ALL, București, 2005, p. 2.
279. Suja S.R., Latha P.G., Pushpangadan P., Rajasekharan S., Evaluation of hepatoprotective effects of *Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook against carbon tetrachloride-induced liver damage in Wistar rats, *Journal of Ethnopharmacology* 92 (2004) 61–66.
280. Sver L., Orsolic N., Tadic Z., Njari B., Valpotic I., Basic I.A., A royall jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 1996, 19, p. 31-38.
281. Svoboda I., Mahova M., Bacilek I., Determinarea cantității și calității lăptișorului de matcă în miere, în Harnaj V (editor), Produsele stupului, hrană, sănătate, frumusețe, Editura Apimondia, 1989, p.48-49.
282. Tănăsescu C, Micu D, Codreanu C et al, HBs-Ag positive secondary autoimmune active chronic hepatitis. Immunogenetic aspects, *Rom J Intern Med*, 1988, 26: 53-66.
283. Tănăsescu C., Micu D., Codreanu C. et al, HBs-Ag positive secondary autoimmune active chronic hepatitis. Immunogenetic aspects, *Rom J Intern Med*, 1988, 26, p. 53-66.
284. Tănăsescu Coman, Manifestări extrahepatice în hepatitele cronice virale, în Grigorescu M (editor), Tratat de hepatologie, Editura Medicală Națională, 2004, p. 475-496.

285. Tănăsescu Coman, Manifestări extrahepatice în hepatitele cronice virale, în Grigorescu M (editor), *Tratat de hepatologie*, Editura Medicală Națională, 2004, 475-496.
286. Taniguchi Y., Kohno K., Inoue S., Koya-Miyata S., Okamoto I., Arai N., Iwaki K., Ikeda M., Kurimoto M., Oral administration of royal jelly inhibits the development of atopic dermatitis-like skin lesion in NC/Nga mice, *Int Immunopharmacol*, 2003, 3, p. 1313-1324.
287. Tao Wang, Ning-Ling Sun, Wei-Dong Zhang, Hui-Liang Li, Guo-Cai Lu, Bo-Jun Yuan, Hua Jiang, Jia-Hong She, Chuan Zhang, Protective effects of dehydrocavidine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 117 (2008) 300–308.
288. Teodorescu-Exarcu I., Badiu G., *Fiziologie*, Editura Medicală, București, 1993.
289. Terao J, Dietary flavonoids as plasma antioxidants on lipid peroxidation: significance of metabolic conversion, in Packer L, Midori H, Toshikazu Y (Eds), *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Academic Press, USA, 1999, p. 255-267.
290. Thomas E. Andreoli, Carpenter CJ Charles, Bennett J. Claude, Plum Fred, Editura M.A.S.T., *Cecil Esentialul în medicină*, București, 1999, 555-556.
291. Thomson AW, Saton S, Nüssler AK et al, Circulating intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in autoimmune liver disease and evidence for the production of ICAM-1 by cytokine-stimulated human hepatocytes, *Clin Exp Immunol*, 1994, 95, p. 83-90.
292. Tierney M. Laurence et al, *Diagnostic și tratament în practica medicală*, Editura Științelor Medicale, Cluj-Napoca, 2005, 676-698.
293. Tierney M. Lawrence, Papadakis A. Maxine, McPhee J. Stephen, *Diagnostic și tratament în*
294. Tig H., The role of cytokines in the pathophysiology of chronic liver diseases, *Int J Clin Lab Res*, 1993, 23, p. 179-185.
295. Ting-ting Guo, Hong-li Xu, Lu-xi Zhang, Jian-peng Zhang, Yi-feng Guo, Jia-wen Gu, Pei-min He, In vivo protective effect of *Porphyra yezoensis* polysaccharide against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 49 (2007) 101–106.
296. Toda Christa Gross, *Îndrularul Federației Organizațiilor Ortodoxe Provita din România*, Editura Renașterea, Cluj, 2008, p. 331-335.
297. Tokunga K.H., Yoshida C., Suzuki K.M., Maruyama H., Futamura Y., Araki Y., Mishima S., Antihypertensive effect of peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats, *Biol Phar Bull*, 2004, 27, p.189-192.
298. Tomomi Sugiyama, Jun-ichi Nagata, Azumi Yamagishi, Kaori Endoh, Morio Saito, Kazuhiko Yamada, Shizuo Yamada, Keizo Umegaki, Selective protection of curcumin against carbon tetrachloride-induced inactivation of hepatic cytochrome P450 isozymes in rats, *Life Sciences* 78 (2006) 2188 – 2193.
299. Townsend G.F., Brown W.H., Felauer E.E., Hazlet B., Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids, IV. The esters of acids closely related to 10-hydroxi-2-decenoic acids from royal jelly against transplantable mouse leukemia, *Can J Biochem Physiol*, 1961, 39, p. 1765-1770.
300. Towsend G.F., Morgan J.F., Hazlett B., Activity of 10-hydroxydecenoic acid from royal jelly against experimental leuaemia and ascitic tumours, *Nature*, 1959, 183, p. 1270-1271.
301. Tudor Genoveva, *Bolile homosexualilor – un documentar medical la zi*, Editura Christiana, București, 2005, p. 102-103.
302. Tyang B.S., Chen T.Y., Hsu T.C. et al, Presentation of autoantibody to proliferating cell nuclear antigen in patiens with chronic hepatitis B and C virus interferon, *Ann Rheum Dis*, 1999, 58, p. 630-634.

303. Uzbekova D., Chugunova L., Makarova V., Ryabkov A., Mirgorodskaya L., Efficacy of royal jelly and lactulose on thyroxin-induced liver damage in rats, *Hepatology*, 2006, 28, p. 157.
304. Vaida Teodor, Cristea Victor, Elemente de imunologie, Editura Vasile Goldiș, Arad, 1999, p. 9-15, 28-33, 33-38, 45-60; 61-74, 97-122, 124-140; 148-154, 175-178, 196-207
305. Valcheva-Kuzmanova S., Borisova P., Galunska B., Krasnaliev I., Belcheva A., Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats, *Experimental and Toxicologic Pathology* 56 (2004) 195–201.
306. Vecchi M.A., Zambonelli, C., Research on the microbial content of honey, in *Apicolt. Ital.*, 36 (5), 1969, p.103-08.
307. Waldenström J Leber, Blutproteine und Nahrungseiweiss, *Dtsch Z Verdau Stoffwchselkr*, 1950, 2 : 113-119).
308. Wills P.J., Asha V.V., Preventive and curative effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. on carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 2006, 7-11.
309. Wills P.J., Asha V.V., Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. extract against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 108 (2006) 320–326.
310. Wills P.J., Asha V.V., Protective mechanism of *Lygodium flexuosum* extract in treating and preventing carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis in rats, *Chemico-Biological Interactions* 165 (2007) 76–85.
311. Wilson K, Walker J.M., *Practical Biochemistry*, Fourth Edition, Cambridge University Press, 1994.
312. Wiston L.M., *La biologie de l'abeille*, Frison-Roche, Paris, 1993, p. 282.
313. Wyllie A.H., Morris, R.G., Smith A.L., Dunlop D., Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis, *J. Pathol*, 142, 1984, pp. 67-77.
314. Xingshen Ye, Yibin Feng, Yao Tong, Kwan-Ming Ng, SaiWah Tsao, George K.K. Lau, Chowling Sze, Yanbo Zhang, Jun Tang, Jiangang Shen, Seiichi Kobayashi, Hepatoprotective effects of *Coptidis rhizoma* aqueous extract on carbon tetrachloride-induced acute liver hepatotoxicity in rats, *Journal of Ethnopharmacology* 124 (2009) 130–136.
315. Yi-Hang Wua, Xiao-Meng Zhang, Ming-Hui Hu, Xiu-Mei Wu, Yu Zhao, Effect of *Laggera alata* on hepatocyte damage induced by carbon tetrachloride in vitro and in vivo, *Journal of Ethnopharmacology* 126 (2009) 50–56.
316. Yong Pil Hwang, Jae Ho Choi, Hye Gwang Jeong, Protective effect of the *Aralia continentalis* root extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice, *Food and Chemical Toxicology* 47 (2009) 75–81.
317. Yu-Tang Tung, Jyh-Horng Wub, Chi-Chang Huang, Hsiang-Chi Peng, Ya-Ling Chen, Suh-Ching Yang, Shang-Tzen Chang, Protective effect of *Acacia confusa* bark extract and its active compound gallic acid against carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2009, 1385-1392.
318. Yu-Wen Hsu, Chia-Fang Tsai, Wen-Huei Chang, Yung-Chyuan Ho, Wen-Kang Chen, Fung-Jou Lu, Protective effect of *Dunaliella salina* – A carotenoids-rich alga, against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2008, 3311-3317.

319. Yu-Wen Hsu, Chia-Fang Tsai, Wen-Kang Chen, Fung-Jou Lu, Protective effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice, Food and Chemical Toxicology 47 (2009) 2281–2288.