

utilizării remediilor studiate în calitate de mijloace eficiente de corecție a dereglărilor metabolice provocate de osteoporoză.

### **Bibliografie**

1. COMPSTON, JE. *Treatments for Osteoporosis – Looking beyond the HORIZON*. N. Engl. J. Med., 2007, vol. 356, p. 1878-1880;
2. JACKSON, RD., LACROIX, AZ., GASS, M. et al. *Calcium plus Vitamin D supplementation and the risk of fractures*. N. Engl. J. Med., 2006, vol. 354, p. 669-683;
3. NIJS, RNJ., JACOBS, JWG., LEMS, WF. et al. *Alendronate or Alfacalcidol in Glucocorticoid-Induced Osteoporosis*. N. Engl. J. Med., 2006, vol. 355, p. 675-684;
4. OMI, N., EZAWA, I. *The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats*. Bone, 1995, vol. 17, no. 4, p. 163-168;
5. RUDIC, V., GUDUMAC, V., POPOVICI, M. *Ficobiotehnologie - realizări noi în biomedicină*. Chișinău: Cuant, 1995, 195p.;
6. RUDIC, V. *BioR – Studii biomedicale și clinice*. Chisinau, 2007, 376p;
7. TKOCZ-KWIATKOWSKA, J., KACZMARCZYK-SEDLAK, I., FOLWARCZNA, J. *Effects of pamidronate on the development of changes in bone mechanical properties and bone structure caused by the administration of prednisolone in rats*. Pol. J. Pharmacol., 1998, vol. 50, p. 253–258;
8. UEBELHART, B., RIZZOLY, R. *Osteoporosis treatment*. Rev. Med. Suisse, 2007, vol. 94, no. 3, p. 150-153;
9. YOUNG, MF. *Bone matrix proteins: more than markers*. Calcif. Tissue Int., 2003, vol. 72, p. 2-4;
10. ЛЕОНТЬЕВ, ВК., ГАЙДАМАК, АН. *Методы определения белковосвязанных углеводов в минерализованных тканях*. Лабораторное дело, 1978, № 5, с. 290-293;

## **DINAMICA CONȚINUTULUI DE ARN ÎN OSTEOPOROZA PRIMARĂ ȘI SECUNDARĂ ȘI SUB INFLUENȚA UNOR BIOREMEDII DE ORIGINE ALGALĂ**

**Veronica Sardari**

Laboratorul Biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu”

### **Summary**

#### **The dynamic of the content of ARN in primary and secondary osteoporosis and under the influence of bioremedies of algal origin**

The changes of the content of ARN were studied in primary and secondary experimental osteoporosis and under the influence of biological preparations of algal origin. The concentration of ARN decreased in all periods of the experimental osteoporosis. In 1,5, 3 and 6 months after osteoporosis induction the experimental studies revealed osteoregenerative action of the preparations manifested by the increase of ARN content, the best effect had the biological preparation BP-Zn1.

### **Rezumat**

S-a studiat modificările conținutului de ARN în osteoporoză experimentală primară și secundară în dinamică la 1,5, 3 și 6 luni și sub influența biopreparatelor de origine algală. Conținutul de ARN s-a redus veridic în toate perioadele ale osteoporozei experimentale. În urma investigațiilor efectuate s-a depistat efectul osteoregenerativ al preparatelor cercetate, ceea ce se manifestă prin creșterea conținutului de ARN, prioritar fiind biopreparatul BP-Zn1.

Una dintre problemele actuale ale medicinei contemporane este, fără îndoială, osteoporoză care în ultimele decenii, a focalizat eforturile specialiștilor din centrele de cercetare, fapt dictat de: morbiditatea în ascensiune, evoluția severă și complicațiile ei, imperfecțiunea mijloacelor terapeutice, oferite de medicina modernă [1, 2, 9].

Aplicarea tehnicilor de ultimă oră în domeniul dat a avut și are un rol incontestabil în perfecționarea asistenței medicale. Cercetările din ultimii ani, realizate de o serie de autori, orientate spre studiul etiologiei, al patobiochimiei OP, au evidențiat rolul diferitelor modificări în sistemul homeostaziei țesutului osos și în evoluția bolii; s-au elaborat noi clasificări, programe diagnostice și teste în determinarea evoluției și a prognosticului bolii, au fost propuse noi programe de tratament [3, 5, 7, 10].

Calusul osos, ca și alte tipuri de țesut conjunctiv proliferativ, este destul de bogat în acizi nucleici. Nivelul acidului dezoxiribonucleic (ADN) este îndeosebi înalt în sectoarele fibroase ale calusului, unde se desfășoară multiplicarea intensă a celulelor. Conținutul acidului ribonucleic (ARN) este mai înalt în sectoarele cartilaginee și osteoide ale calusului, unde se desfășoară biosinteza intensă a colagenului și a altor componente ale matricei osoase. Nivelul elevat de ARN în celulele osoase este un indice al activității lor biosintetice și reflectă activitatea permanentă osteoblastică, îndreptată spre menținerea echilibrului metabolic al matricei osoase extracelulare. Conținutul de ADN este mai redus decât concentrația ARN. Intensificarea proceselor biosintetice în țesutul osos este legată de creșterea sintezei ARN [11].

În literatura de specialitate nu sunt prezente referințe care ar releva influența biopreparatelor de origine algală asupra metabolismului acizilor nucleici în dinamica OP experimentale primare și secundare. Având drept reper această stare de lucruri, am considerat oportun a studia conținutul de acid ribonucleic în țesutul osos în evoluția OP experimentale primare și secundare, în dinamică, la 1,5, 3 și la 6 luni precum și la administrarea biopreparatelor de origine algală cu un conținut divers de Zn organic.

#### **Materialul și metodele de investigație**

Experimentele au fost efectuate pe 78 de șobolani, femele și masculi maturi, cu masa de 160-250 g.

*Osteoporoza primară* a fost reprodusă la animalele de laborator – șobolanii albi, femele, fără pedigree, prin ovariectomie – metodă clasică și acceptată de mulți cercetători [Omi N. et al., 1995].

*Osteoporoza secundară* a fost provocată la șobolanii masculi, prin injectări subcutanate bisăptămânale de prednisolon, în doză de 10 mg/kilocorp [Tkocz-Kwiatkowska J. et al., 1998].

Animalele au fost divizate în 10 loturi (câte 7-8 în fiecare).

Animalele din *lotul 1* (lotul-martor pentru OP primară) au fost fals operate, adică supuse aceleiași intervenții chirurgicale, dar fără înlăturarea ovarelor.

*Lotul 2* (lotul-martor pentru OP secundară) a fost constituit din 7 animale intacte, cărora li s-a introdus subcutanat, bisăptămânal soluție fiziologică (8,5 g/l NaCl) – 1,0 ml/kilocorp.

*Lotul 3* a inclus animalele cărora li s-a modelat OP primară prin ovariectomie.

*Lotul 4* – OP secundară reprodusă prin injectarea prednisolonului, 10 mg/kilocorp dizolvat în soluție fiziologică.

*Loturile 5 și 6* au inclus animalele cu OP primară și, respectiv, secundară, cărora li s-a administrat biopreparatul ce conținea 10 μg/ml de zinc (OP+ BP-Zn1).

*Loturile 7 și 8* au inclus animalele cu OP primară și secundară + biopreparatul ce conținea 5 μg/ml de zinc (OP + BP-Zn2).

*Loturile 9 și 10* au reprezentat animalele cu aceleași forme de OP + biopreparatul de origine algală cu un conținut redus de Zn – 0,2 μg/ml (OP+BP-R).

Prelevarea materialului de cercetare (osul femural) a fost efectuată în dinamică pe parcursul a 1,5, 3 și 6 luni de la debutul experimentului, animalele fiind sacrificate prin decapitare sub narcoză ușoară cu eter.

Osul femural a fost extras, eliberat de țesuturile adiacente și a fost înlăturată măduva osoasă prin spălări repetate cu soluție fiziologică. Ulterior, a fost congelat în azot lichid și supus triturării, în piuliță de porțelan cu pisălog și cântărit pe balanța de torsiune. În calitate de mediu de dispersare a fost utilizată soluția de zaharoză 0,25M (pH 7,4), ce conținea 0,001M EDTA, astfel ca diluția finală a omogenatului să constituie 1:10. Pentru distrugerea completă a

membranelor celulare, omogenatul a fost prelucrat cu triton X-100, cu o concentrație finală de 0,1%, și supus ciclurilor repetate de înghețare-dezghetare.

Acidul ribonucleic s-a dozat conform procedurii descris de Пушкина Н. Н., 1963 [8].

### Rezultatele obținute și analiza lor

Rezultatele obținute, privind evoluția conținutului de ARN în țesutul osos în condițiile OP primare, secundare și sub influența biopreparatelor de origine algală sunt expuse în tabelul 1.

Studiul efectuat la 1,5 luni din momentul inițierii procesului patologic atestă o diminuare autentică, cu 25% ( $p < 0,05$ ), a conținutului de ARN în osul femural, la animalele cu OP primară și cu 26%, la animalele cu OP secundară versus valorile din lotul-martor. La animalele cu OP primară, în acest termen de cercetare, medicația cu biopreparatele BP-Zn1 și BP-Zn2 se soldează cu reduceri mai puțin pronunțate ale concentrației de ARN (86% ( $p > 0,1$ )) și, respectiv, 83% ( $p > 0,1$ ) vis-a-vis de valorile atestate în lotul martor. Administrarea remediei BP-R, în acest caz, s-a dovedit mai puțin eficientă, deoarece valorile de ARN practic nu se deosebeau de nivelul celor înregistrate în grupul de animale cu OP primară. Totodată, la animalele cu OP secundară sub acțiunea tratamentului cu biopreparatele sus-numite, cantitatea de ARN se menține scăzută, la nivelul instalat de OP, și constituie 67-79%.

**Tabelul 1**

### Dinamica conținutului de ARN, în țesutul osos, la animalele cu osteoporoză primară și secundară și sub influența biopreparatelor de origine algală (g/kg.)

Grupuri de studiu	Termenele de cercetare și formele de osteoporoză					
	1,5 luni		3 luni		6 luni	
	Primară	Secundară	Primară	Secundară	Primară	Secundară
Martor	0,680±0,06 (100%)	0,535±0,08 (100%)	0,675±0,07 (100%)	0,617±0,08 (100%)	0,673±0,07 (100%)	0,608±0,05 (100%)
OP	0,511±0,03* (75%)	0,396±0,03 (74%)	0,444±0,06* (66%)	0,543±0,18 (88%)	0,465±0,01* (69%)	0,543±0,02 (89%)
OP + BP-Zn1	0,587±0,05 (86%)	0,420±0,02 (79%)	0,581±0,05 (86%)	0,634±0,10 (103%)	0,596±0,03 (89%)	0,870±0,05** (143%)
OP + BP-Zn2	0,566±0,05 (83%)	0,394±0,03 (74%)	0,514±0,03 (76%)	0,689±0,15 (112%)	0,562±0,03 (84%)	0,684±0,08 (113%)
OP + BP-R	0,481±0,03* (71%)	0,358±0,03 (67%)	0,430±0,07* (64%)	0,600±0,17 (97%)	0,546±0,03 (81%)	0,641±0,05 (105%)

NOTĂ: \* - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor,  $p < 0,05$ ;

\*\* -  $p < 0,01$ .

Ulterior, în perioada de 3 luni de desfășurare a procesului patologic se constată o reducere pronunțată, statistic veridică a concentrației ARN în OP primară, cu 34% ( $p < 0,05$ ), și manifestă o tendință de descreștere, cu 12%, în OP secundară în raport cu parametrii de referință. În condiții de administrare a BP-R la animalele cu OP primară, cantitatea de ARN, în linii generale, s-a menținut constantă, în raport cu valorile înregistrate în lotul cu OP și a constituit 64% ( $p < 0,05$ ), pe când bioremediile BP-Zn1 și BP-Zn2 majorează conținutul de ARN cu 31% și, respectiv, cu 16%, față de valorile înregistrate la animalele cu OP. În același timp, la animalele cu OP secundară biopreparatele BP-Zn1 și BP-R sporesc discret conținutul cu 17% și cu 11%, respectiv, față de lotul de animale cu OP, și restabilesc cantitatea de ARN până la valorile atestate la animalele intacte. Cel mai evident efect de majorare a fost instituit de bioremediul BP-Zn2, care induce cu 27% ( $p > 0,1$ ) cantitatea de ARN, versus animalele cu OP secundară.

Spre finele perioadei de investigație (6 luni), modificările conținutului de ARN în OP primară și în OP secundară sunt similare celor înregistrate la etapa precedentă, constituind 69% ( $p < 0,05$ ), pentru OP primară, și 89%, pentru OP secundară, din nivelul relevat la șobolanii

sănătoși. Astfel, datele experimentale obținute indică cu certitudine reducerea intensității proceselor biosintetice în țesutul osos, în OP primară și tendința de diminuare a acestora în OP secundară, legată de scăderea sintezei ARN.

Sub influența biopreparatelor BP-Zn1 și BP-Zn2, la animalele cu OP primară semnalăm o creștere statistic autentică a conținutului de ARN cu 28% ( $p < 0,01$ ) și, respectiv, cu 21% ( $p < 0,01$ ), în raport cu animalele cu OP. Biopreparatul BP-R, de asemenea, contribuie la creșterea concentrației de ARN cu 17% ( $p < 0,05$ ), față de animalele supuse ovariectomiei.

La animalele cu OP secundară, în această perioadă de investigație, administrarea BP-Zn1 conduce la o creștere importantă a nivelului de ARN, acesta fiind net superior, cu 43% ( $p < 0,01$ ), față de cel înregistrat în lotul-martor și cu 60% ( $p < 0,001$ ) față de valorile atestate în lotul cu OP. Asistăm deci la un proces de intensificare a sintezei de ARN incitat de biopreparatul BP-Zn1. La utilizarea BP-Zn2 și a BP-R, conținutul de ARN crește cu 26% și cu 18%, față de lotul cu OP; ultimul preparat practic contribuind la normalizarea valorilor indicelui menționat.

### Concluzii

3. Conținutul de ARN scade în OP primară și în OP secundară, la toate etapele evoluției procesului patologic, fapt care denotă reducerea în intensitatea proceselor biosintetice în țesutul osos.
4. Biopreparatele de origine algală, cu un conținut sporit de Zn organic, manifestă proprietăți osteoregeneratoare pronunțate prin faptul că majorează eficient conținutul de ARN, prioritar fiind biopreparatul BP-Zn1. Cercetările efectuate confirmă perspectiva utilizării remediilor studiate în calitate de mijloace eficiente de corecție în dereglările metabolice provocate de osteoporoză.

### Bibliografie

1. MARANGELLA, M., DI STEFANO, M., CASALIS, S. et al. *Effects of potassium citrate supplementation on bone metabolism*. Calcif. Tissue Int., 2004, vol. 74, no. 4, p. 330-335;
2. MC CLUNG, MR., LEWIECKI, EM., COHEN SB. et al. *Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density*. N. Engl. J. Med., 2006, vol. 354, p. 821-831;
3. NIJS, RNJ., JACOBS, JWJ., LEMS, WF. et al. *Alendronate or Alfacalcidol in Glucocorticoid-Induced Osteoporosis*. N. Engl. J. Med., 2006, vol. 355, p. 675-684;
4. OMI, N., EZAWA, I. *The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats*. Bone, 1995, vol. 17, no. 4, p. 163-168;
5. ROUX, C., GARNERO, P., THOMAS, T. et al. *Recommendations for monitoring antiresorptive therapies in postmenopausal osteoporosis*. Joint. Bone Spine, 2005, vol. 72, no. 1, p. 26-31;
6. TKOCZ-KWIATKOWSKA, J., KACZMARCZYK-SEDLAK, I., FOLWARCZNA, J. *Effects of pamidronate on the development of changes in bone mechanical properties and bone structure caused by the administration of prednisolone in rats*. Pol. J. Pharmacol., 1998, vol. 50, p. 253-258;
7. UEBELHART, B., RIZZOLY, R. *Osteoporosis treatment*. Rev. Med. Suisse, 2007, vol. 94, no. 3, p. 150-153;
8. ПУШКИНА, НН. *Биохимические методы исследования*. Москва, 1963, с. 31-32;
9. ZHANG, G., QIN, L., SHI, Y. *Epimedium-derived phytoestrogen flavonoids exert beneficial effect on preventing bone loss in late postmenopausal women: a 24-month randomized, double-blind and placebo-controlled trial*. J. Bone Miner. Res., 2007, vol. 22, no. 7, p. 1072-1079;
10. ZHENG, YY., YANG, J., CHEN, DH., SUN, L. *Effects of the extracts of *Cajanus cajan* L. on cell functions in human osteoblast-like TE85 cells and the derivation of osteoclast-like cells*. Yao Xue Xue Bao, 2007, vol. 42, no. 4, p. 386-391;
11. ТОРБЕНКО, ВП., КАСАВИНА, БС. *Функциональная биохимия костной ткани*. М.: Медицина, 1977, 272 с.;