

Bibliografie

1. Geifman-Holtzman, O; Wojtowycz M, Kosmas E, and Artal R "Female allo-immunization with antibodies known to cause hemolytic disease". *Obstetrics and Gynecology*, 1997; 89 (2): 272–275.
2. Urbaniak SJ, Greiss MA. RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. *Blood Rev.* 2000; 14: 44–61.
3. Ерицян Р.Г. «Влияние резус конфликтной беременности на функцию печени и методы коррекции». Международный симпозиум «Актуальные вопросы профилактики гестоза» Москва, 1998.

MODIFICĂRILE CONȚINUTULUI DIPEPTIDELOR HISTIDINICE ÎN ȚESUTUL MUSCULAR ÎN STRESUL OXIDATIV ȘI INFLUENȚA UNOR REMEDII DE ORIGINE ALGALĂ ȘI COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI

²V.Popa, ¹Olga Tagadiuc, ¹V.Gudumac, ²V.Rudic

¹Laborator Biochimie USMF „Nicolae Testemițanu”

²Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

Summary

The modification of histidine dipeptide content in muscular tissue in the oxidative stress and the influence of the remedies of algal origin and their combinations with coordinative compounds of copper

The changes of histidine dipeptide content in skeletal muscle tissue under the influence of coordinative compounds of copper CMT-28 and CMT 67 and BioR in oxidative stress at rats induced by CCl₄ have been studied. Research carried out showed a decrease in the level of carnosine and its derivatives in muscle tissue in the management of duration of CCl₄. BioR administration in the dose of 1 mg/kg causes a slight decrease in the content carnosine and its derivatives, doubling the dose causes a further decrease these compounds in muscular tissue. Coordinative compounds CMT-28 CMT-67, and their combinations with the remedy BioR, except compound coordinative CMT-67 to restore content that causes carnosine and its derivatives, results in a decrease of these compounds in muscle tissue.

Rezumat

S-au studiat modificările conținutului dipeptidelor histidinice în țesutul muscular scheletic sub influența compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT 67, precum și a remediei BioR la șobolani în stresul oxidativ indus prin administrarea de durată a CCl₄. Cercetările efectuate au relevat o diminuare a nivelului de carnozina și derivaților săi în țesutul muscular la administrarea de durată a CCl₄. Administrarea BioR în doza de 1 mg/kg determină o ușoară scădere a conținutului carnozinei și derivaților săi, dublarea dozei determină o scădere mai semnificativă a acestor compuși în țesutul muscular. Compușii coordinativi CMT-28, CMT-67, și combinațiile lor cu remediu BioR, cu excepția compusului coordinativ CMT-67 care determină restabilirea conținutului carnozinei și a derivaților săi, determină o scădere a acestor compuși în țesutul muscular.

Actualitatea temei

Una din preocupările ficobiotehnologiei moderne constă în elaborarea tehnologiilor de obținere a preparatelor biologice active pentru medicină și industria farmaceutică din biomasa unor cianobacterii și microalge, cea mai cercetată și valorificată biotehnologic fiind alga cianofită *Spirulina platensis* [6,7]. Printre avantajele biotehnologice demonstrate ale spirulinei putem enumera cheltuielile mici la cultivare, toleranța față de diverși factori, durata scurtă a perioadei de cultivare, productivitatea înaltă și gradul de asimilare înalt de către organismul

uman și animal [5,6,7]. Actualmente sunt valorificate o serie de procedee biotehnologice de obținere a preparatelor biologic active cu proprietăți curative pronunțate din biomasa de spirulină. Elucidarea aspectelor terapeutice ale biopreparatelor obținute din biomasa de cianobacterii și microalge, relevarea mecanismelor de influență asupra proceselor reparative sunt actuale pentru diversificarea arsenalului de remedii eficiente pentru corijarea dereglărilor ce apar în diverse patologii.

În acest sens și-a dovedit eficiența și este deja valorificat biopreparatul BioR [5]. De o mare perspectivitate pentru medicina experimentală și cea clinică este studierea biopreparatului BioR fortificat cu diferiți compuși biologic activi, fapt care ar permite obținerea remediilor direcționate pentru profilaxia și tratarea afecțiunilor de diferită etiologie.

Dipeptidele histidinice, în special carnozina (β -alanil-histidina) care sunt prezente în toate țesuturile excitabile, cea mai mare cantitate fiind identificată în țesutul muscular scheletic participă într-un șir de procese fiziologice importante. Studiile recente relevă rolul biologic al carnozinei și derivaților săi în diferite stări patologice, în special, în patologia țesutului muscular (tulburări ale inervației, distrofia musculară progresivă, poliomielită, etc.). Astfel, în miopatiile ereditare, paralel cu perturbările funcționale ale mușchilor scheletici, scade și conținutul de carnozina, constatându-se o corelație directă dintre gravitatea afecțiunii și diminuarea conținutului de carnozina în țesut [3,9]. Carnozina modulează proteinele calciu-dependente din mușchiul cardiac și, în acest fel, determină frecvența contracțiilor miocardului și funcția cardiacă în condițiile insuficienței de oxigen (stările ischemice). Există dovezi, precum că, carnozina joacă un rol important de reglator-tampon al acidității în mușchi în treningul anaerob [10].

Carnozina manifestă o proprietate biologică unică – funcția de antioxidant intracelular hidrofил, care protejează celulele de efectele nocive ale speciilor reactive ale oxigenului [1]. Tetraclorura de carbon (CCl_4) - o substanță extrem de toxică poate pătrunde în organism ca poluant al mediului înconjurător sau prin intoxicații profesionale, reacționează cu aminele sau proteinele, în urma acestui proces rezultând radicali liberi, ceea ce conduce la dezvoltarea reacției patofiziologice nespecifice – sindromul de peroxidare. Oxidarea peroxidică a lipidelor cu radicali liberi dereglează funcționarea sistemelor membranare ale celulei, provocând creșterea permeabilității și distrucția lor, fiind considerată ca un mecanism universal al leziunilor celulare la nivel membranar [2,4].

Scopul studiului a fost de a cerceta influența compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 și a bioremediului de origine algală BioR asupra modificărilor conținutului dipeptidelor histidinice în țesutul muscular scheletic în stresul oxidativ indus prin administrarea de durată a CCl_4 .

Materiale și metode

Experiențele au fost efectuate pe 60 șobolani albi fără pedigriu cu masa corporală cuprinsă între 230 și 290 g. Animalele au fost divizate în următoarele loturi de cercetare:

Lotul I – animale intacte (martorul) (6 femele și 5 masculi).

Lotul II – animale cărora li s-a administrat intraperitoneal 1 ml/kg masă corporală soluție CCl_4 50%, bisăptămânal, timp de 8 săptămâni și cărora li s-a introdus intramuscular soluție 0,9% NaCl timp de 10 zile (6 femele și 5 masculi);

Lotul III – animale care au fost tratate cu compusul coordinativ CMT-28 1 mg/kg masă corporală timp de 10 zile, după 8 săptămâni de administrare i/p a soluției de CCl_4 50% în doza 1 ml/kg masă corporală de 2 ori pe săptămână (6 femele);

Lotul IV – animale cărora li s-a administrat compusul coordinativ CMT-67 1 mg/kg masă corporală timp de 10 zile, după 8 săptămâni de administrare i/p a soluției de CCl_4 50% 1 ml/kg masă corporală (5 femele);

Lotul V – animale cărora li s-a administrat compusul coordinativ CMT-28 1 mg/kg masă corporală în combinație cu remediu de origine algală BioR 1 mg/kg masă corporală timp de 10

zile, după 8 săptămâni de administrare i/p a soluției de CCl₄ 50% 1 ml/kg masă corporală (6 femele);

Lotul VI – animale cărora li s-a administrat compusul coordinativ CMT-67 1 mg/kg masă corporală în combinație cu BioR 1 mg/kg masă corporală timp de 10 zile, după 8 săptămâni de administrare i/p a soluției de CCl₄ 50% 1 ml/kg masă corporală (6 femele);

Lotul VII – animale cărora li s-a administrat BioR 1 mg/kg masă corporală timp de 10 zile, după 8 săptămâni de administrare i/p a soluției de CCl₄ 50% 1 ml/kg masă corporală (5 masculi);

Lotul VIII – animale cărora li s-a administrat BioR 2 mg/kg masă corporală timp de 10 zile, după 8 săptămâni de administrare i/p a soluției de CCl₄ 50% 1 ml/kg masă corporală (5 masculi);

Compușii coordinativi ai cuprului – CMT-28 și CMT-67 au fost sintetizați la Catedra Chimie Anorganică și Fizică, USM (șef Catedră, membru cor. AȘ RM, dr hab chimie, prof.univ. Aurelian Gulea, iar remediul BioR a fost obținut în Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘ RM (director, academician, dr hab biol., prof. univ. Valeriu Rudic).

La 24 ore după ultima injectare animalele au fost sacrificate sub narcoză ușoară cu eter sulfuric. Țesutul muscular a fost extras din regiunea coapselor, eliberat de tendone și oase și triturate sub formă de pulbere în azot lichid.

Pentru aprecierea concentrației dipeptidelor histidinice în țesutul muscular s-a operat conform procedurii descris de Severin S.E. et al. [8].

Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului *t-Student* și a criteriului neparametric *Mann-Whitney (U)* (Statistica 6,0, Stat Soft Inc., 2002).

Rezultate și discuții

Administrarea CCl₄ se soldează cu diminuarea conținutului dipeptidelor histidinice în țesutul muscular. Din datele expuse în figura 1, putem constata că există deosebiri semnificative în conținutul dipeptidelor histidinice la administrarea CCl₄, legate de sexul animalelor. Astfel, la femele are loc o o diminuare statistic neconcludentă a valorilor indicelui menționat cu 19% ($p > 0,5$), pe când la masculi se înregistrează o diminuare pronunțată a concentrației dipeptidelor histidinice cu 46% ($p < 0,001$). Însă, la calcularea valorilor medii ale conținutului dipeptidelor histidinice, atunci când nu se ține cont de sexul animalelor, diferențele statistic veridice dintre lotul martor și lotul de animale cărora li s-a administrat CCl₄ dispar, fapt ce indică la sensibilitatea mai mare a șobolanilor de sex masculin la noxa menționată. Astfel, este necesar de a lua în considerație sexul animalului la evaluarea modificărilor nivelului de dipeptide histidinice în țesutul muscular la acțiunea diverșilor factori și în diverse stări patologice.

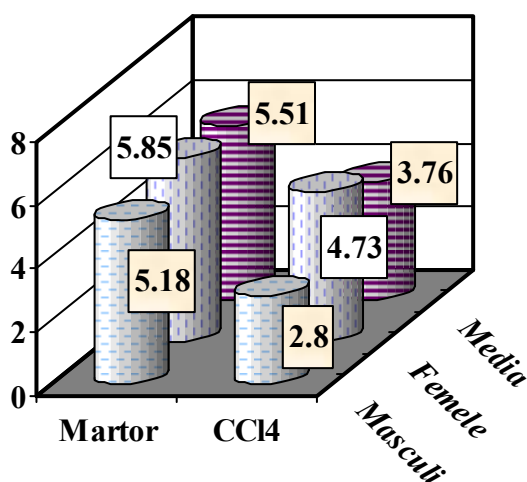


Figura 1. Conținutul dipeptidelor histidinice (nmol/g țesut) în țesutul muscular la șobolanii intacti (femele și masculi) și după administrarea CCl₄

Administrarea compușilor CMT-28, CMT-67, bioremediului BioR în diferite doze și a combinațiilor șobolanilor supuși acțiunii CCl₄ influențează diferit asupra deficitului de dipeptide histidinice în țesutul muscular. Astfel, la administrarea CMT-28 șobolanilor de sex feminin supuși intoxicației cu CCl₄ are loc o reducere statistic veridică a concentrației dipeptidelor histidinice cu 51% (p<0,001), însă la medicația animalelor de același sex cu CMT-67 depistăm o scădere nesemnificativă, valorile acestora situându-se în limite normale. Combinarea CMT-28 cu BioR s-a dovedit a fi mai eficientă, deoarece în acest caz are loc reducerea deficitului de dipeptide carnozine, nivelul acestora menținându-se cu 21% mai scăzut (p> 0,5) față de lotul martor. Dimpotrivă, medicația cu compusul CMT-67 în combinație cu BioR contribuie la menținerea nivelului redus de dipeptide histidinice care practic nu se deosebea de cel al lotului de animale supuse acțiunii CCl₄.

BioR în doză de 1 mg/kg masă corporală, administrat șobolanilor supuși stresului oxidativ, induce creșterea nivelului dipeptidelor histidinice până la valorile normale ale lotului de referință. Dublarea dozei remedii menționat nu conduce la restabilirea nivelului acestor compuși în țesutul muscular, înregistrându-se, în acest caz, o creștere cu +18% față de animalele din lotul cu CCl₄ (p<0,05), totodată, valorile indicelui menționat fiind cu 36% (p<0,01) mai inferioare în comparație cu cele de referință.

Generalizând cele expuse, conchidem că modificările nivelului dipeptidelor histidinice în țesutul muscular diferă în dependență de sexul animalelor și preparatele administrate. În așa fel CCl₄ manifestă o acțiune negativă mai pronunțată la masculi, decât la femele. Administrarea remediilor testate influențează în mod diferit asupra conținutului acestor dipeptide în țesutul muscular. Administrarea bioremediului BioR în doză de 1 mg/kg manifestă o acțiune benefică asupra țesutului muscular, însă la dublarea dozei (2mg/kg) se înregistrează o diminuare evidentă a efectului pozitiv asupra compușilor histidinici testați.

Tabel 1

Conținutul DH în țesutul muscular în intoxicația cu CCl₄ și la administrarea compușilor CMT-28, CMT-67 și a remedii de origine algală BioR în diferite doze și a combinațiilor lor ($X \pm m$).

Condițiile experienței		Sexul	n	Conținutul DH (nmol/g țesut)
Lotul I	Martor	♀	6	5,85 ± 0,42 (100%)
		♂	5	5,18 ± 0,33 (100%)
Lotul II	CCl ₄	♀	6	4,73 ± 0,34 (81%)
		♂	5	2,80 ± 0,14 *** (54%)
Lotul III	CCl ₄ +CMT-28	♀	6	2,85 ± 0,20 *** (49%)
Lotul IV	CCl ₄ +CMT-67	♀	5	5,43 ± 0,20 (93%)
Lotul V	CCl ₄ +CMT-28 + BioR	♀	6	4,65 ± 0,42 (79%)
Lotul VI	CCl ₄ +CMT-67 + BioR	♂	6	2,77 ± 0,36 ** (53%)
Lotul VII	CCl ₄ +BioR 1 mg/kg	♂	5	4,65 ± 0,20 (90%)
Lotul VIII	CCl ₄ +BioR 2 mg/kg	♂	5	3,30 ± 0,18 ** (64%)

Notă: veridicitatea statistică conform criteriului *t-Student*: ** – p < 0,01;

*** – p < 0,001; DH - dipeptidele histidinice

Concluzii

1. Stresul oxidativ indus de CCl₄ se caracterizează printr-o ușoară scădere a cantității dipeptidelor histidinice în țesutul muscular la femele, totodată înregistrându-se o scădere semnificativă la șobolanii masculi.
2. Administrarea compusului coordinativ ai cuprului CMT-67, precum și a combinației CMT-28 cu remediul BioR manifestă o acțiune pozitivă asupra stresului oxidativ provocat de administrarea tetraclorurii de carbon, fapt demonstrat prin restabilirea până la valori normale a conținutului de dipeptide histidinice în țesutul muscular.
3. BioR în doze mici (1mg/kg) manifestă o influență pozitivă caracterizată prin restabilirea nivelului fiziologic al conținutului de dipeptide histidinice, iar la dublarea dozei (2 mg/kg) se înregistrează o diminuare evidentă a efectului pozitiv asupra compușilor histidinici testați.

Bibliografie

1. Boldyrev A.A. (2003), Carnosine as Natural Antioxidant and Neuroprotector In: Free Radicals, Nitric Oxide and Inflammation - Amsterdam: IOS Press, p. 202 – 217;
2. Halliwell B., Chirico S. (1993), Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance // Am.J.Clin.Nutr., Vol.57, pp. 715 – 725;
3. Stuerenburg H.J. (2000), The Roles of Carnosine in Aging of Skeletal Muscle and Neuromuscular Diseases // Biochemistry, Moscow, 2000, No. 7, pp. 862-865;
4. Olinescu R. Radicalii liberi în fiziopatologia umană.- București: Ed. Tehnică, 1994.- p.9-94.
5. Rudic V. (2007), BioR: Studii biomedicale și clinice. Chișinău, 376 p.;
6. Rudic V. (2007), Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice. Chișinău, 365 p.;
7. Rudic V. (2006), Ficobiotehnologia – direcție științifică de perspectivă pentru Republica Moldova // Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științele vieții, Chișinău, nr.1, p.138-157;
8. Практикум по биохимии – Под ред. С.Е.Северина, Г.А.Соловьевой. Москва: Изд-во МГУ, 1989.- стр. 191-192.
9. Степанова Н.Г., Гринио Л.П. Исследование дипептидов при прогрессивной мышечной дистрофии // Вопр.мед. химии, Москва, 1968, № 2, стр. 210 – 215
10. Abe H. Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle. Biochemistry, 2000, 65(7), p.757-65

CORELAȚIA ÎNTRE MANIFESTAREA FENOTIPICĂ, TIPUL MUTAȚIEI ȘI VARIANTA ALELICĂ A GENELOR CICLULUI FOLAT LA PACIENȚII CU DISTROFIA MUSCULARĂ DUCHENNE/BECKER

Victoria Sacară¹, Victoria Florea², Elena Scvorțova^{1,3}.

Centrul de sănătate a reproducerii și genetică medicală¹

(Conducător științific– dr.biol., conf.univ. Igor Cemortan)

Catedra de genetică moleculară² USMF „N. Testemițanu

Universitatea Academiei de Științe a Moldovei³

Summary

The correlation between phenotypic manifestations, type of mutation and allelic variants of the genes of folate cycle in patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy

The frequency of different allelic variants of MTHFR gene in patients with DMD/B was estimated during this investigation. The incidence of C677T allelic variant in patients with DMD/B was 21,4%. This mutation leads to reduction of activity of MTHFR by 35-60%, and,