

CZU: 616.379-008-64:616.155.2:577.19

DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.3954001>

ACTIVITATEA BIOLOGICĂ A RESVERATROLULUI ASUPRA DISFUNCTIILOR TROMBOCITARE ÎN EVOLUȚIA DIABETULUI ALLOXANIC

Ilona POZDNEACOVA

Universitatea de Stat din Moldova

Resveratrolul (3,4',5-trihidroxistilben) este considerat unul dintre cei mai importanți compuși naturali din clasa stilbenoizilor, susceptibil de a influența în mod eficient o gamă variată de procese fiziologice. Spectrul disfuncțiilor tromboцитare în cazul diabetului zaharat este destul de complex, declanșându-se odată cu instalarea bolii și amplificându-se treptat în corelație cu stadiile de expresivitate ale acestei maladii. Din aceste considerente, investigarea activității biologice a acestui compus natural asupra disfuncțiilor plachetare apărute ca urmare a evoluției diabetului zaharat poate contribui la identificarea unei soluții optime în stoparea progresării complicațiilor vasculare asociate cu fenomenul de hipercoagulabilitate.

Cuvinte-cheie: *resveratrol, struguri roșii, diabet zaharat, disfuncții plachetare, hipercoagulabilitate.*

THE RESVERATROL BIOACTIVITY ON THROMBOCYTE DYSFUNCTION IN DIABETES EVOLUTION INDUCED BY ALLOXAN

Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) is considered one of the most important natural compounds from stilbenoid family, which has the ability to influence effectively a various palette of physiological processes. It is known that in diabetes mellitus, the spectrum of thrombocyte disorders is quite complex, starting at the same time with disease installation and gradually amplifying in correlation with expressivity stages of this malady. In this way, investigation of resveratrol bioactivity on platelet dysfunction appearing as a result of diabetes evolution, can contribute to the identification of an optimal solution in stoppage of progressively vascular complications growth, associated with the hypercoagulability phenomenon.

Keywords: *resveratrol, red grapes, diabetes mellitus, platelet dysfunction, hypercoagulability.*

Introducere

În ultimii ani, atât în Republica Moldova, cât și în întreaga lume listele bolnavilor înregistrați cu diabet zaharat și ale celor cu diagnosticul stabilit pentru prima dată se completează în mod continuu și într-un ritm cu mult mai rapid față de anii precedenți, această maladie deținând 50% din cazurile ce au tangență cu bolile sistemului endocrin și de metabolism.

Conform Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), la nivel global s-au depistat 422 milioane de pacienți bolnavi de diabet zaharat. În afară de aceasta, la 317 milioane de suferinzi din întreaga lume s-a depistat dereglarea metabolismului glucidic, adică schimbarea toleranței la glucoză. Trebuie să se țină cont de faptul că în această statistică nu s-au introdus datele de la persoanele care nici nu presupun că ar avea această dereglare endocrină, al căror număr întrece de 3-4 ori pe cei la care diagnoza este deja stabilită [1].

Actualmente, problemele majore asociate cu diabetul zaharat sunt complicațiile cronice, care pot afecta la bolnavi: ochii (retinopatia diabetică), rinichii (nefropatia diabetică), sistemul cardiovascular (ateroscleroza accelerată) și sistemul nervos periferic (neuropatia diabetică) [2]. Din cauza depistării târzii a acestei afecțiuni și a ignorării ajutorului medical, morbiditatea populației atinge cote mari.

Diabetul zaharat afectează toate categoriile de vârstă, inclusiv copiii; această maladie modifică radical viața familiei, necesită atenție deosebită, cheltuieli financiare, eforturi fizice și emotive extreme atât din partea copilului, părinților acestuia, cât și din partea instituțiilor de ocrotire a sănătății.

Mecanismele responsabile de anomaliile hematologice în diabetul zaharat sunt destul de numeroase, printre ele enumerându-se: hiperglicemia, modificarea proteinelor serice, alterarea vâscozității sanguine, afectarea transportului de oxigen, tulburarea microcirculației, a capacității de autoreglare vasculară și a permeabilității vasculare, modificările indicilor leucocitari, precum și dereglarea procesului de coagulare a sângelui. Astfel, creșterea dezordinilor hematologice tinde să se coreleze cu anomaliile metabolice proprii bolii [3].

Spectrul disfuncțiilor tromboцитare în cursul diabetului zaharat este destul de complex. În organismul uman se constată o adezivitate crescută, o mărire semnificativă a sensibilității tromboцитare la substanțele agregante:

trombină, colagen, acid arahidonic, observându-se tendința de agregare spontană. Faptul că trombocitele provenite de la pacienții cu diabet insulinodependent prezintă o sensibilitate crescută față de agenții agreganți sugerează ideea că perturbarea funcției lor ar putea juca un rol important în geneza complicațiilor vasculare la diabetici.

Disfuncțiile trombocitare se declanșează precoce, începând de la instalarea bolii, amplificându-se odată cu evoluția diabetului, în corelație cu: alterarea endotelială vasculară, anomaliile dismetabolice apărute, perturbarea factorilor de coagulare (creșterea factorului von Willebrand și a factorului VII), apariția complexelor imune circulante etc. [4].

Investigarea activității biologice a resveratrolului extras din semințele și pielea strugurilor roșii (*Vitis vinifera*) asupra disfuncțiilor trombocitare apărute ca urmare a evoluției diabetului zaharat poate deschide un spectru larg de aplicații în domeniu. El este considerat unul dintre cei mai importanți compuși naturali din clasa stilbenoizilor, susceptibil de a influența în mod benefic o gamă variată de procese fiziologice [5]. Cercetătorii din domeniu consideră că resveratrolul posedă efecte vasoprotectoare, fiind mediate de diferite mecanisme moleculare: reducerea stresului oxidativ și a procesului inflamator, prevenirea hipercoagulabilității prin inhibarea agregării plachetare împiedicând constricția vaselor sangvine, îmbunătățirea capacității metabolice în corelație cu scăderea moderată a nivelului de glucoză în sânge [6].

În acest sens, pentru prima dată în cadrul Laboratorului „Ecofiziologie Umană și Animală” al Universității de Stat din Moldova a fost utilizat resveratrolul, în scopul studierii acțiunii biologice a acestuia asupra indicilor trombocitari pe fondul diabetului experimental.

Material și metode

Pentru cercetarea dată au fost luați 40 de șobolani cu o greutate corporală cuprinsă între 125 și 180 g, de ambele sexe, care au fost ulterior împărțiți în patru loturi experimentale (n=10). Trei loturi au fost supuse experimentului, iar un lot s-a folosit ca martor (grupa de control):

- ✓ Lotul I (Martor): cu administrarea de 1 ml soluție fiziologică în regiunea intraperitoneală.
- ✓ Lotul II (Alloxan): cu administrarea de alloxan în raport de 200 mg la 1 kg de masă corporală, diluat într-un ml de soluție fiziologică, pe cale intraperitoneală.
- ✓ Lotul III (Resveratrol): cu administrarea de resveratrol extras din semințele și pielea strugurilor roșii (*Vitis vinifera*), în raport de 0,015 g per animal, diluat în 0,3 ml de apă distilată, pe cale orală.
- ✓ Lotul IV (Alloxan+Resveratrol): cu administrarea de alloxan pe cale intraperitoneală și de resveratrol din *Vitis vinifera* pe cale orală.

Modelul diabetului zaharat a fost obținut prin injectarea alloxanului sub formă de soluție de 5% (200 mg/1 kg). La lotul II, administrarea alloxanului a durat timp de 20 de zile, iar la lotul IV – timp de 10 zile, după care a urmat administrarea resveratrolului timp de 14 zile, adică după instalarea diabetului, fapt dovedit prin apariția simptomelor tipice bolii: poliurie, polidipsie și polifagie. Administrarea resveratrolului la loturile III și IV s-a produs în același timp, pe o perioadă de două săptămâni.

Sursa cea mai promițătoare de resveratrol (3,4',5-trihidroxistilben) din ramura vitivinicolă o constituie materialul vegetal secundar – semințele, care se formează ca fracție în timpul prelucrării strugurilor. Extracția resveratrolului a fost realizată și prin uscarea pielii de struguri roșii la temperatura de $60\pm 3^{\circ}\text{C}$ și măcinarea propriu-zisă cu obținerea unei materii prime vegetale sub formă de pulbere de culoare vișinie.

Pentru colectarea materialului în vederea argumentării prezenței diabetului, animalele supuse experimentului au fost ținute în condiții speciale de laborator. Determinarea volumului de apă și a cantității de hrană folosită, analiza comportamentului și a modificărilor aspectului exterior al animalelor se realizau prin observări zilnice. Ca material nativ pentru cercetare au fost preluate sângele și urina șobolanilor. La colectarea sângelui a fost utilizată heparina în calitate de anticoagulant.

Pentru prelucrarea statistică a rezultatelor obținute a fost aplicat criteriul Student. Diferența se consideră veridică dacă $p < 0,05$; iar în cazul $p > 0,05$ diferența dintre lotul martor și loturile experimentului este neveridică. Termenul „neveridic” trebuie subînțeles ca o diferență nedovedită, dar nu ca o lipsă a lui.

Rezultate și discuții

Trombocitele, denumite și plachete sangvine, sunt elemente figurate anucleate, care joacă un rol important în procesul de hemostază. Diabetul indus de alloxan a provocat la șobolanii albi de laborator un spectru larg de disfuncții trombocitare. În organismul animalelor s-a constatat o adezivitate crescută, o mărire semnificativă

a sensibilității trombocitare la substanțele agregante (trombină, colagen), observându-se tendința de agregare spontană. Astfel, în cursul evoluției acestei maladii, rata producerii plachetelor la șobolanii diabetici a devenit foarte crescută, acest proces fiind apreciat prin fenomenul de hipercoagulabilitate.

Disfuncțiile trombocitare s-au declanșat precoce, începând de la instalarea bolii, amplificându-se odată cu evoluția diabetului alloxanic, pentru ca la finalul experiențelor numărul acestor elemente figurate să crească până la $297,3 \pm 17,8 \times 10^9$ PLT/l la lotul Alloxan față de lotul Martor: $212,7 \pm 14,3 \times 10^9$ PLT/l (Fig.1). Trombocitoza poate fi corelată cu fenomenul de insulinorezistență, tipică în diabetul zaharat, care influențează creșterea reactivității plachetelor sangvine prin diminuarea acțiunii insulinei asupra acestora [4].

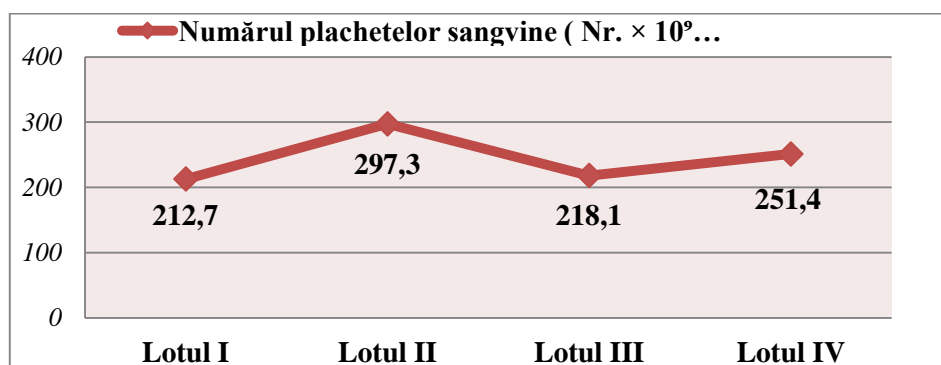


Fig.1. Numărul plachetelor sangvine ($\times 10^9$ PLT/l) la administrarea extractului de resveratrol din *Vitis vinifera* pe fondul diabetului alloxanic.

Datorită efectelor curative ale resveratrolului asupra procesului de hemostază, la lotul mixt s-a observat o scădere semnificativă a numărului de trombocite: $251,4 \pm 15,2 \times 10^9$ PLT/l în comparație cu lotul Alloxan ($p < 0,05$). Agregarea redusă a trombocitelor este atribuită influenței benefice a resveratrolului, prin acest mod scăzând riscul de ateroscleroză la animalele supuse experimentului.

Volumul trombocitar mediu (MPV) reprezintă indicele de uniformitate a mărimii populației trombocitare. În cadrul diabetului alloxanic, plachetele sangvine circulante s-au caracterizat printr-o creștere accentuată a MPV, atingând o valoare de $6,97 \pm 0,43$ fl la lotul Alloxan, fiind cu mult mai reactive și mai ușor agregabile. Astfel, la șobolanii albi de laborator din acest lot indicele MPV ridicat a provocat un risc crescut de tromboză, adică formarea de trombi în artere.

La administrarea resveratrolului extras din semințele și pielea strugurilor roșii pe fondul diabetului experimental s-a observat o micșorare relativă a volumului mediu trombocitar, cu o valoare de $6,58 \pm 0,31$ fl (Fig.2). Acest fapt se datorează acțiunii benefice a acestei substanțe biologice active asupra sistemului circulator, în special asupra fragilității și permeabilității vaselor [7]. Dacă facem o comparație între indicele MPV la lotul Resveratrol – de $6,27 \pm 0,52$ fl cu cel de la lotul Martor – de $6,31 \pm 0,25$ fl, putem afirma că resveratrolul posedă aceleași efecte ca și soluția fiziologică, cu mici diferențe între valori ($p > 0,05$).

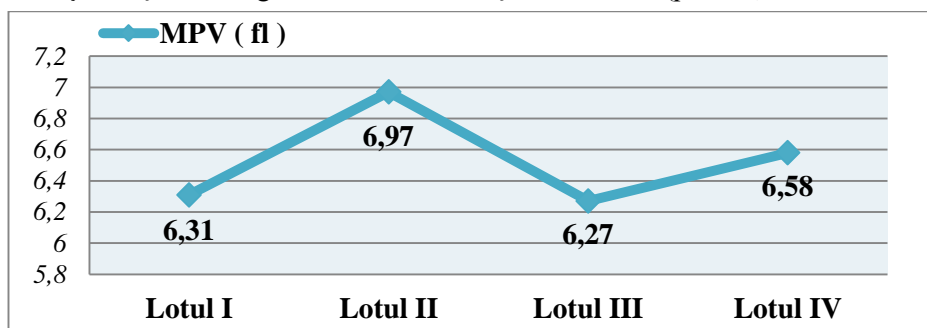


Fig.2. Volumul trombocitar mediu (fl) la administrarea extractului de resveratrol din *Vitis vinifera* pe fondul diabetului alloxanic.

Fenomenul de hipercoagulabilitate observat în cadrul diabetului alloxanic se află într-o strânsă dependență valorică cu glicemia. Un argument în acest sens este faptul că leziunea vasculară poate fi o consecință a acțiunii toxice provocate de hiperglicemie. Astfel, are loc fenomenul de hipercompensare a unui consum excesiv [3].

Evaluând cele patru loturi experimentale (Fig.3), s-a depistat o mărire accentuată a nivelului de glucoză în sângele animalelor diabetice din lotul II: de $9,28 \pm 0,43$ mmol/l față de lotul I (grupa de control): $5,09 \pm 0,19$ mmol/l. Aceasta denotă faptul că diabetul indus de alloxan a dereglat sinteza de insulină de către celulele β ale insulelor Langerhans, ceea ce a favorizat creșterea marcată a nivelului de glucoză în sânge, precum și apariția glucozei în urină la șobolanii albi de laborator.

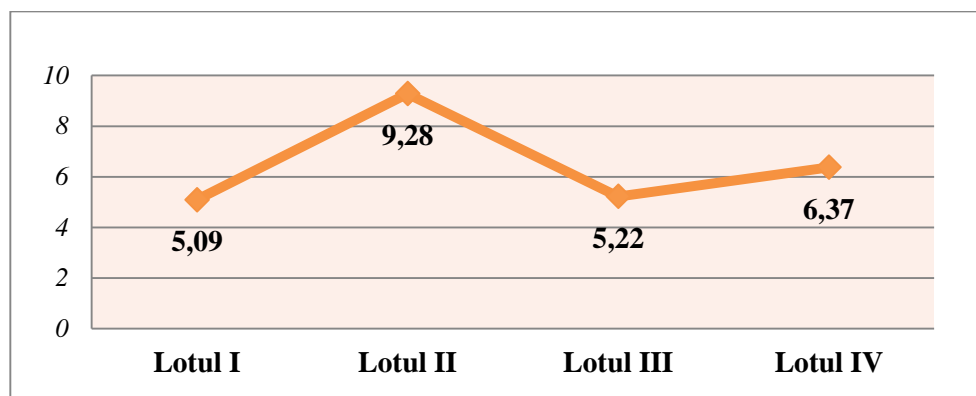


Fig.3. Nivelul de glucoză în sânge (mmol/l) la administrarea extractului de resveratrol din *Vitis vinifera* pe fondul diabetului alloxanic.

Efectele hiperglicemiei cronice asupra plachetelor animalelor diabetice se pot exercita atât prin glicozilarea neenzimatică crescută a proteinelor sângelui, care intervin în agregarea plachetelor (cum este cazul fibrinogenului și al lipoproteinelor), cât și prin glicozilarea proteinelor plachetare. Astfel, se apreciază faptul că nivelul crescut de glucoză în sânge, precum și osmolaritatea crescută ar putea determina intensificarea formării substanțelor agregante labile, produse corelate cu calea de activare a tromboxanului [3].

Însă, în urma administrării resveratrolului pe fondul diabetului experimental s-au observat anumite îmbunătățiri în starea de sănătate a șobolanilor. Datorită efectului biostimulator, acest compus natural a restaurat parțial funcția celulelor β insulare de a produce insulina, prin mărirea concentrației peptidului C – produsul clivării proinsulinei ce posedă acțiune antitrombotică, care a scăzut nivelul glicemiei în sânge de până la $6,37 \pm 0,21$ mmol/l, fapt dovedit și prin depistarea absenței glucozei în urină la șobolanii din lotul mixt (II) spre sfârșitul investigației.

Concluzii

În diabetul zaharat funcțiile trombocitelor sunt perturbate, această maladie endocrină asociindu-se cu o stare de hipercoagulabilitate. Rata producerii plachetelor la animalele diabetice este crescută, acest fenomen fiind corelat cu mărirea MPV implicat în patogenia aterosclerozei, caracterizată prin: leziuni endoteliale în zone de mare presiune, lipsa condițiilor locale necesare fluxului sangvin, precum și aderența crescută a trombocitelor cu formarea de trombi în artere.

În urma analizei datelor experimentale privind valoarea indicilor trombocitari, putem conchide că resveratrolul extras din *Vitis vinifera* manifestă calități deosebite în reglarea fluxului sangvin, datorită cărora putem stopa în mod eficient progresarea complicațiilor vasculare ale diabetului zaharat. Această substanță biologic activă influențează în mod benefic capacitatea de funcționare normală a plachetelor sangvine prin scăderea potențialului de adeziune a moleculelor de peretele vascular și susținerea elasticității arterelor.

Referințe:

1. *Diabetes: Overview*. World Health Organization, 2020. <https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab1> [Accesat: 21.04.2020].
2. TAȘCĂ, C. *Curs de morfopatologie*. USMF „Carol Davila”. București: All, 1994, p.31-32.
3. ȘERBAN, V. *Progrese în diabetologie*. Timișoara: Editura de Vest, 1991, p.129-131.
4. AMBROS, A., LÎȘÎI, L., BOBCOVA, S., MATEI, A. Coagulabilitatea sângelui în diabet zaharat tip 2. În: *Analele științifice ale USMF: „Probleme medico-biologice și farmaceutice”*. Chișinău: USMF „Nicolae Testemițanu”, 2010, vol.1, p.233-237.

5. LI, H., XIA, N., HASSELWANDER, S., DAIBER, A. Resveratrol and vascular function. In: *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol.20, no.2155. 16 p.
6. BREUSS, J.M., ATANASOV, A.G., UHRIN, P. Resveratrol and its effects on the vascular system. In: *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol.20, no.1523. 18 p.
7. DYCK, G.J., RAJ, P., ZIEROTH, S., DYCK, J.R., EZEKOWITZ, J.A. The effects of resveratrol in patients with cardiovascular disease and heart failure: a narrative review. In: *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol.20, no.904, 28 p.

Date despre autor:

Ilona POZDNEACOVA, doctorandă, Școala doctorală *Științe Biologice și Geonomice*; specialist superior în cadrul LCȘ *Ecofiziologie Umană și Animală*, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: ilona.pozdneacova@mail.ru

ORCID: 0000-0001-5708-0644

Prezentat la 11.06.2020