

CZU: 615.322:616.379-008.64

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7442204>

VARIAȚIILE INDICILOR ERITROCITARI LA ȘOBOLANUL ALB DE LABORATOR ÎN DIABETUL EXPERIMENTAL PE FONDALUL ADMINISTRĂRII EXTRACTULUI APOS DIN *NOSTOC HALOPHYLUM*

Alina TROFIM, Aurelia CRIVOI, Adriana DRUȚA, Iurie BACALOV

Universitatea de Stat din Moldova

Cianobacteriile pot fi utilizate în diferite ramuri ale biotehnologiei, la obținerea substanțelor biologice active pentru industria farmaceutică, cosmetologie, zootehnie și fitotehnie. Materialul cercetărilor noastre prezintă tulpina de cianobacterie *Nostoc halophilum*, care face parte din colecția LCS „Ficobiotehnologie” și este inclusă în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie.

Prezenta cercetare completează datele experimentale privind utilizarea extractului apos din *Nostoc holophyllum* pentru ameliorarea stării generale a organismului ca urmare a normalizării indicilor hematologici în dereglările metabolismului glucidic. Avantajul utilizării extractului apos din cianobacterii în diabetul experimental este acțiunea blândă și lipsa efectelor adverse la respectarea dozelor recomandate. Administrarea extractului cercetat a evidențiat efectul hipoglicemiant și a influențat nivelul insulinei, numărul eritrocitelor, nivelul hemoglobinei și al hematocritului în complicațiile acestei patologii.

Cuvinte-cheie: *insulină, diabet zaharat, alloxan, glucoză, eritrocite, hemoglobină, hematocrit, cianobacterii.*

VARIATIONS OF ERYTHROCYTIC INDICES IN THE WHITE LABORATORY RAT IN EXPERIMENTAL DIABETES ON THE BACKGROUND OF ADMINISTRATION AQUEOUS EXTRACT OF *NOSTOC HALOPHYLUM*

Cyanobacteria can be used in different branches of biotechnology, to obtain biologically active substances for the pharmaceutical industry, cosmetology, animal husbandry and plant engineering. The material of our research presents the *Nostoc halophilum* cyanobacterium strain, which is part of the LCS "Phycobiotechnology" collection and is included in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms of the Institute of Microbiology and Biotechnology.

The present research completes the experimental data regarding the use of the aqueous extract of *Nostoc holophyllum*, to improve the general condition of the body as a result of the normalization of the hematological indices in disorders of carbohydrate metabolism. The advantage of using the aqueous extract of cyanobacteria in experimental diabetes is the mild action and the lack of adverse effects when following the recommended doses. The administration of the researched extract highlighted the hypoglycemic effect and influenced the insulin level, the number of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit in the complications of this pathology.

Keywords: *insulin, diabetes, alloxan, glucose, erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, cyanobacteria.*

Introducere

Glandele endocrine participă activ în reglarea metabolismului glucidic, iar schimbările patologice apărute în ele duc la evoluția diferitor forme de diabet zaharat. Astfel, diabetul determină apariția unor complicații cronice, care reduc durata de viață a pacienților și calitatea acesteia, fiind prima cauză a amputațiilor, în multe cazuri și a decesului prin infarct miocardic la care aceasta se asociază [1].

În ultimii ani se face tot mai accentuată cercetarea mecanismelor-cheie ale etiologiei și patogenezei diabetului zaharat. Ca maladie metabolică, diabetul reprezintă o patologie generală care afectează întreg organismul, inclusiv sângele. Anomaliile hematologice au o importanță din ce în ce mai mare pentru evaluări diagnostice, terapeutice, controlul diabetului și pentru evaluarea tendințelor la complicații [2].

Astfel, modificările elementelor figurate ale sângelui în diabet pot fi readuse și menținute la limitele normelor pe o perioadă mai îndelungată, dacă pe lângă tratamentul de bază se utilizează și preparatele de origine vegetală.

Biopreparatele reproduc efectele terapiei chimice, îmbunătățesc absorbția glucozei de către țesuturi, modifică procesul de aprovizionare a țesuturilor cu oxigen, elimină surplusul de glucoză și săruri din organism cu urina și mențin imunitatea organismului. Experimental a fost demonstrată capacitatea unor preparate de origine vegetală ce conțin microelemente (zinc și crom) de a regenera celulele β producătoare de insulină și

de a contribui la normalizarea interacțiunii cu receptorii țesuturilor. De obicei, aceste biopreparate au acțiune polivalentă, ceea ce permite în același timp de a rezolva unele probleme cu un risc minim al complicațiilor cu caracter toxic și alergic [3].

Scopul cercetărilor respective a constat în evidențierea impactului extractului apos din *Nostoc holophyllum* asupra indicilor hematologici pe fondalul diabetului experimental.

Material și metode

Cercetările au fost realizate în cadrul LCȘ „Ecofiziologie Umană și Animală” și „Ficobiotehnologie” ale Universității de Stat din Moldova. Studiul s-a efectuat pe șobolani albi de laborator de ambele sexe, cu masa corporală 180-200 g, împărțiți în grupe: una de control (martor) și experimentale (trei), în decurs de 30 de zile.

Veridicitatea rezultatelor obținute a fost demonstrată prin analize clinice și de laborator: analiza indicilor hematologici s-a realizat la analizatorul hematologic Erma PCE 210; testarea glucozei în sânge – la glucometrul „On Call Plus”; testarea hormonilor – la analizatorul imunofermentativ StatFax4700. La obținerea extractului s-a utilizat tulpina de *Nostoc hallophyllum* cultivată pe mediul nutritiv drew și, respectiv, pe mediul BG11 timp de 15 zile. Biomasa a fost filtrată separat de mediul lichid, dublu spălată cu apă distilată și centrifugată.

Concentratul obținut a fost congelat și decongelat minim de 5 ori, apoi a fost omogenizat în mojar. Soluțiile administrate au fost diluate de 15 ori și administrate șobolanilor la fiecare 24 de ore, pe parcursul întregului experiment.

Rezultate și discuții

Glandele cu secreție internă (hipofiza, glanda tiroidă, suprarenalele, gonadele) joacă un rol important în reglarea metabolismului glucidic, însă în dereglările patologice ale acestor glande se dezvoltă numeroase forme clinice ale diabetului zaharat. La apariția și evoluția diabetului în glandele cu secreție internă au loc schimbări legate de diferite dereglări funcționale.

În evoluția bolilor endocrine se observă un șir de particularități, legate de modificările clinice, consecința fiind tratamentul medicamentos. Deseori, se observă asocierea diabetului zaharat cu alte patologii, dar mai ales predomină cele legate de sistemul hipotalamo-hipofizar. Astfel, au fost descrise cazuri ale evoluției sindroamelor Șiena și Ciari-Frommelea pe fondul deja a existenței diabetului zaharat [1].

Pe parcursul cercetărilor noastre s-a observat o creștere considerabilă a glicemiei în lotul cu diabet experimental în raport cu norma. Această creștere este cauzată de lipsa insulinei, hormon ce mărește permeabilitatea membranei celulare pentru glucoză și accelerează trecerea acesteia din lichidul intercelular în celulă. În mediul lipsit de insulină viteza de trecere a glucozei în interiorul celulei este de 20 de ori mai mică decât în nucleul care conține o cantitate suficientă de insulină.

Intensificarea transportului de glucoză prin membranele fibrelor musculare și prin celulele ficatului sub acțiunea insulinei favorizează sinteza glicogenului și acumularea lui în celulele ficatului și ale mușchilor. După administrarea unor doze mai mari de insulină o cantitate considerabilă de glucoză trece prin plasma sangvină în interiorul celulelor musculaturii scheletice, în mușchiul cardiac, mușchii netezi etc., din care cauză scade nivelul glucozei în sânge și aportul de glucoză în celulele sistemului nervos, asupra permeabilității cărora insulina nu acționează. În rezultat, encefalul și măduva spinării percep insuficiență acută de glucoză, care constituie sursa necesară pentru activitatea tuturor celulelor și organelor [4].

Tabelul 1

Nivelul glicemiei (mmol/l) la administrarea extractului apos din *Nostoc halophyllum* pe fondalul diabetului experimental

Indicii	Martor	Alloxan	<i>Nostoc halophyllum</i>	<i>Nostoc haophyllum</i> + Alloxan
Numărul	6	6	6	6
Glucoza (mmol/l)	5,5±0,62	16,9±1,75	5,3±0,71	10,5±1,88

În rezultatul cercetărilor s-a constatat că glicemia în normă este de 5,5±0,62 mmol/l, iar în lotul cu diabet experimental – de 16,9±1,75 mmol/l. Un aspect important se observă în lotul unde s-a administrat *Nostoc halophyllum* pe fondalul diabetului alloxanic ce evidențiază o reducere a nivelului de glucoză până la 10,5±1,88 mmol/l.

Insulele Langerhans ale pancreasului endocrin produc, în afară de insulină, și glucagon, care are un efect de creștere a nivelului glucozei în sânge. Însă scopul insulinei este de a menține nivelul glucozei din sânge în limite normale. Un deficit al acestui hormon produce diabetul, boală ce poate fi tratată cu injecții de insulină

animală sau sintetică. Dacă nivelul glucozei din sânge începe să crească dincolo de anumite limite, insulele Langerhans răspund prin eliberare de insulină în circulație. Insulina acționează apoi contracarând efectul altor hormoni, cum ar fi cortizonul și adrenalina, care cresc nivelul glucozei în sânge [5].

Insulina își exercită efectul permițând glucozei să treacă din circulație în interiorul celulelor pentru a fi utilizată drept sursă de energie. Însă dacă insulina este absentă în sistem, mecanismul de reglare a nivelului glucozei sanguine este absent, deoarece glucoza din sânge nu poate fi convertită în surse de energie pentru celule, având drept rezultat diabetul [6].

Tabelul 2

Conținutul insulinei (pmol/l) în plasma sangvină la administrarea extractului apos din *Nostoc halophyllum* pe fondalul diabetului experimental

Indicii	Martor	Alloxan	<i>Nostoc halophyllum</i>	<i>Nostoc halophyllum</i> + Alloxan
Numărul	6	6	6	6
Insulină (pmol/l)	3,59±0,41	1,62±0,25	3,64±0,49	2,77±0,33

Analizând nivelul insulinei plasmatice s-a observat o reducere în lotul cu diabet experimental până la 1,62±0,25 pmol/l în comparație cu lotul martor – 3,59±0,41 pmol/l. Interes a prezentat lotul unde pe fondalul diabetului s-a administrat extractul apos din *Nostoc halophyllum* – 2,77±0,33 pmol/l, ceea ce a permis evidențierea efectului insulinotrop la acest lot.

Diabetul zaharat apare odată cu distrugerea β-celulelor producătoare de insulină. Astfel, se observă o scădere a nivelului de insulină în plasmă, care se află în dependență de expresivitatea schimbărilor degenerativ-necrotice în celulele-β ale pancreasului endocrin. Acest hormon are funcția de a permite pătrunderea glucozei din sânge în celulele corpului, iar ca urmare glicemia rămânând normală. Odată ce ea și-a îndeplinit rolul, este distrusă, de aceea este nevoie de producerea unei cantități noi de insulină [7].

Insuficiența insulinică în diabet mărește descompunerea proteinelor din țesuturi, intensifică pătrunderea în sânge a aminoacizilor, se mărește cantitatea azotului general și a amoniacului în urină. Aceste schimbări se află în dependență de gradul insuficienței insulince. În diabet micșorarea conținutului sau a eficacității de insulină duce la inactivarea hexachinazei și a glucochinazei, chemată de represiunea fermenților. La animale cu diabet experimental, activitatea glucochinazei brusc s-a micșorat până la dispariția totală în ficat și s-a restabilit doar peste 1,5 zile după introducerea insulinei.

La diabet, în țesuturile insulinosensibile, în afară de hexachinază și glucochinază se micșorează și activitatea altor fermenți-cheie ai glicolizei și, de asemenea, a fermenților ciclului pentozofosfatic, lipogenezei, sintezei glicogenului și crește activitatea fermenților-cheie ai gluconeogenezei și a fermenților glicogenezei și lipazei. Toate aceste schimbări sunt urmările scăderii primare a vitezei reacției hexachinazei și glucochinazei [8].

În rezultatul deficitului de insulină în diabetul experimental are loc sporirea procesului de descompunere a proteinelor din țesuturi și intensificarea procesului de pătrundere în fluxul sangvin a aminoacizilor care, în rezultat, duce la creșterea cantității de amoniac și azot în urină. Aceste modificări sunt în corelație cu gradul insuficienței insulince. Astfel, are loc intensificarea sintezei fermenților-cheie ai gluconeogenezei, ceea ce duce la creșterea producerii de glucoză. În acest sens, putem menționa că în diabetul experimental nivelul glucozei sangvine crește pe măsură ce conținutul de insulină se micșorează, deoarece în organism are loc reducerea capacității țesuturilor de a asimila glucoza, aceasta fiind consecința diminuării insulinei în plasma sangvină [9].

Putem menționa ca biopreparatul din cianobacterii posedă o particularitate specifică de acțiune biostimulatoare asupra insulelor pancreatice, prezintă efect hipoglicemiant, ceea ce este important pentru profilaxia diabetului la etapele inițiale.

În ceea ce privește influența diabetului alloxanic asupra eritrocitelor, în prezent există argumente privind repercusiunile sale asupra numărului de eritrocite. Au fost descrise alterări ale structurii membranei eritrocitare, cu modificarea raportului colesterol/fosfolipide intramembranal, precum și o glicozilare și fosforilare excesivă a proteinelor din membrana eritrocitară, inclusiv a spectrinei. Toate aceste perturbări enzimatice, metabolice și structurale sunt invocate în realizarea unei hipovâscozități intraeritrocitare, precum și a unei creșteri a rigidității membranelor, ce au drept consecință o reducere a deformabilității și filtrabilității eritrocitare. În aceste condiții, agregabilitatea eritrocitară crește, antrenând, în cerc vicios, o hipervâscozitate sangvină cu semnificație patologică. Concomitent, are loc și glicozilarea hemoglobinei ca un fenomen ce afectează eliberarea

tisulară a oxigenului. Astfel, la diabetici se dezvoltă atât complicații microvasculare (retinopatie, nefropatie și neuropatie), cât și complicații macrovasculare (boala coronariană, boli cerebrovasculare etc.) [9].

Reducerea numărului de eritrocite în lotul alloxanic este consecința hiperglicemiei care declanșează apariția hiper- și hipovolemiei în urma administrării alloxanului. Scăderea conținutului de eritrocite se exprimă și prin micșorarea nivelului de hemoglobină [10].

Analizând rezultatele obținute, observăm la etapele inițiale modificări neesențiale ale numărului de eritrocite în lotul alloxan, numărul lor fiind de $5,16 (*10^{12}e/l)$ față de martor $6,05 (*10^{12}e/l)$, pe când în lotul unde s-a administrat extractul din *Nostoc halophyllum* pe fondalul diabetului alloxanic numărul de eritrocite se menține în limitele normei: $5,85 \pm 0,33 (*10^{12}e/l)$. Fapt ce denotă efectul bioactiv al extractului din cianobacterii în dereglările hematologice ce apar ca urmare a evoluției diabetului experimental.

Tabelul 3

Influența extractului din *Nostoc halophyllum* asupra indicilor eritrocitari în diabetul experimental

Indicii	Martor	Alloxan	<i>Nostoc halophyllum</i>	<i>Nostoc halophyllum</i> + Alloxan
Numărul	6	6	6	6
Eritrocite (* $10^{12} e/l$)	$6,05 \pm 0,31$	$5,16 \pm 0,4$	$6,00 \pm 0,25$	$5,85 \pm 0,33$
Hemoglobină (g/l)	$132,7 \pm 5,4$	$114,1 \pm 6,8$	$132,8 \pm 4,7$	$127,2 \pm 5,6$
Concentrația hemoglobinei în eritrocite (g/dl)	$47,19 \pm 2,7$	$40,54 \pm 2,9$	$46,73 \pm 2,6$	$43,67 \pm 1,9$
Hematocritul (%)	$36,22 \pm 1,31$	$30,78 \pm 1,49$	$35,62 \pm 1,28$	$33,04 \pm 1,36$

Un rol important în cercetarea diabetului au și modificările hemoglobinei. Iar menținerea hemoglobinei în limitele normei are un rol important în prevenirea complicațiilor ce pot apărea în diabet [11]. În normă, la șobolani hemoglobina constituie $132,7 g/l$, iar în lotul cu diabet experimental nivelul ei se reduce atingând cifra de $114,1 g/l$. Sub acțiunea extractului din *Nostoc halophyllum* pe fondalul diabetului alloxanic se observă o normalizare a acestui indice, valorile fiind de $127,2 \pm 5,6 g/l$. Reieșind din aceste date se poate vorbi despre acțiunea bioactivă a extractului din cianobacterii asupra complicațiilor vasculare primare și asupra anemiei, ce pot să apară în diabetul zaharat necompensat.

Un alt indice studiat este concentrația medie a hemoglobinei eritrocitare. Ea măsoară concentrația medie de hemoglobină dintr-un volum dat de eritrocite.

În normă, valoarea medie de concentrație a hemoglobinei în eritrocit constituie $47,19 \pm 2,7 g/dl$, însă la lotul cu diabet experimental nivelul ei se reduce până la $40,54 \pm 2,9 g/dl$. Prezintă interes lotul unde s-a administrat extractul din *Nostoc halophyllum* pe fondalul diabetului alloxanic, în el acest indice fiind de $43,67 \pm 1,9 g/dl$. Deci, sub acțiunea extractului din cianobacterii în diabetul alloxanic are loc o normalizare a concentrației hemoglobinei în eritrocit, probabil, datorită substanțelor biologice active din componența lor. Efect ce nu este determinat la administrarea în aceleași condiții a unor fitopreparate autohtone.

De asemenea, a fost cercetat și hematocritul care măsoară procentajul de globule roșii din sânge. Hematocritul este o modalitate foarte convenabilă pentru a determina dacă numărul de celule roșii din sânge este prea mare, prea mic sau normal. Nivelurile anormale pot prezenta semne de diferite boli sau afecțiuni medicale. Hematocritul, alături de dozarea hemoglobinei și de determinarea globulelor roșii, ajută la stabilirea unui diagnostic mai precis de anemie, boală ce poate apărea în diferite afecțiuni umane [12].

Cercetând acest indice în experiențele noastre am înregistrat o reducere până la $30,78 \pm 1,49\%$ în diabetul experimental comparativ cu norma – $36,22 \pm 1,31\%$, ceea ce demonstrează apariția dereglărilor hematologice și începutul instalării bolii.

Studiul modificărilor ce pot să apară în această patologie la administrarea extractului din cianobacterii ar determina includerea lor, sau nu, în lista preparatelor utilizate în tratamentul complicațiilor vasculare ale diabetului zaharat. Astfel, la administrarea lor pe fondalul diabetului alloxanic se observă o tendință de normalizare a hematocritului: $33,04 \pm 1,36\%$.

Concluzii

Rezultatele investigațiilor denotă că extractul din cianobacterii posedă proprietăți hipoglicemice și insulinotrope, având deci un rol important în menținerea glicemiei și, respectiv, în stoparea apariției complicațiilor în diabetul experimental. Cercetările experimentale realizate determină modificări evidențiabile la nivelul indicilor eritrocitari în diabetul experimental, acestea fiind consecința dereglărilor metabolice din organism survenite în rezultatul evoluției patologiei. Administrarea extractului din cianobacterii pe fondalul diabetului alloxanic a demonstrat proprietăți biostimulatoare asupra activității funcționale a indicilor eritrocitari prin menținerea lor în limitele normei, aceasta având deci un rol important în stoparea complicațiilor vasculare primare ce apar în dereglările metabolismului glucidic.

Referințe:

1. WALLACH, J. Afecțiuni endocrine. În: *Interpretarea testelor de diagnostic*. Editura Științelor Medicale, România, 2001, p.760-763.
2. STRATULAT, S., LĂȘÎ, L., AMBROS, A. Unele interrelații metabolice ale eritrocitului în diabet. În: *Buletin de perinatologie. Revistă științifico-practică*, 2000, nr.1, p.46-49.
3. BACALOV, Iu., DRUȚA, A., TROFIM, A. Efectul imunomodulator al extractului apos din *Calothrix marchica* pe fondalul diabetului experimental. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2020, nr.6(136), p.8-16.
4. CRIVOI, A., BACALOV, Iu., CHIRIȚA, E., ILIEȘ, A., POZDNEACOVA, I., DRUȚA, A., PARA, Iu., CIOCÎRLAN, V. Modularea răspunsului imun în dereglările metabolismului glucidic la administrarea tincturii de propolis. In: *Studia Universitatis Moldaviae*, 2019, nr.1(121), p.48-57.
5. JIA, W., GAO, W., TANG, L. Antidiabetic herbal drugs officially approved in China. In: *Phytother Res.*, 2003, 17(10): 1127-34, p.1-2. Review. PMID: 14669243
6. JELLINGER, P.S. Metabolic consequences of hyperglycemia and insulin resistance. In: *Clin. Cornerstone*, 2007, no.8, Suppl. 7, p.S30-42.
7. ANESTIADI, Z. *Noi posibilități de compensare a diabetului zaharat tip I, tip II, insulino-necesitant și prevenirea complicațiilor diabetice vasculare*. Chișinău, 2003, p.54.
8. HÂNCU, N., VEREȘIU, I.A. *Diabetul zaharat. Nutriția. Bolile metabolice*. Cluj-Napoca: Național, 1999, p.3,29,136, 218,243.
9. BACALOV, Iu. *Influența extraselor din ARCTIUM IV asupra stării funcționale a unor glande endocrine pe fondul diabetului alloxanic: Autoreferat al tezei de doctor în științe biologice*. USM, Chișinău, 2003, p.9,18.
10. BACALOV, Iu., CRIVOI, A., ENACHI, T. *Diabetul alloxanic (experimental)*. Îndrumar instructiv-metodic. Chișinău, 2007, p.22-25.
11. PERCIUN, R., DUMITRESCU, C. *Diagnosticul diabetului zaharat*. Ghid practic. București: Saeculum I.O, 2002, p.25-30.
12. FULGA, C., FULGA, I. Viscozitatea hematiilor. Laborator clinico-tehnic medical. În: *Revista societății române de laborator clinic* (București), 1996, nr.2, p.22-23.

Notă: Articolul a fost elaborat în cadrul proiectului *Determination of Bioactivity and Antimyeloma Properties of Various Cyanobacteria*, cu cifrul 22.80013.5107.2TR

Date despre autori:

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

E-mail: alinatrofim@yahoo.com

ORCID: 0000-0003-4557-9602

Aurelia CRIVOI, doctor habilitat, profesor universitar, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: crivoi.aurelia@mail.ru

ORCID: 0000-0002-1917-1278

Adriana DRUȚA, master în științe biologice, cercetător științific în LCȘ „Ecofiziologie Umană și Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: druta.adriana@mail.ru

ORCID: 0000-0002-5961-6518

Iurie BACALOV, doctor în științe biologice, conferențiar universitar, șef LCȘ „Ecofiziologie Umană și Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: iurabacalov@mail.ru

ORCID: 0000-0002-1651-9056

Prezentat 13.10.2022