

CZU: 615.322:616.379-008.64

[http://doi.org/10.59295/sum6\(166\)2023_05](http://doi.org/10.59295/sum6(166)2023_05)

IMPACTUL EXTRACTULUI APOS DIN NOSTOC HALOPHILUM HANSG. CNMN CB-17 ASUPRA FORMULEI LEUCOCITARE ÎN DIABETUL EXPERIMENTAL

*Alina TROFIM, Iurie BACALOV, Aurelia CRIVOI,
Elena CHIRIȚA, Adriana DRUȚA, Ionela ZUBCO,*

Universitatea de Stat din Moldova

Modificările hematologice survenite în diabetul zaharat sunt o problemă majoră, care necesită în permanență studierea metodelor de profilaxie a acestora. Cercetările efectuate pe baza extractului apos din *Nostoc holophilum* pun în evidență efectul bioactiv asupra formulei leucocitare în patologia dată. Avantajul utilizării biopreparatului cercetat în diabetul experimental este acțiunea blândă și lipsa efectelor adverse la respectarea dozelor recomandate. Ca urmare a rezultatelor obținute, putem afirma, că folosirea remediilor naturiste a devenit o ramură bine determinată a medicinei moderne. Folosirea extractelor din cianobacterii în profilaxia patologiilor endocrine stimulează sistemul de apărare al organismului, astfel încât, în esență, corpul luptă singur împotriva maladiei.

Cuvinte-cheie: *diabet experimental; efect imunomodulator; leucocite; cianobacterii; limfocite; granulocite; monocite; glucoză; insulină.*

THE IMPACT OF THE AQUEOUS EXTRACT OF NOSTOC HOLOPHYLUM HANSG. CNMN CB-17 ON THE LEUCOCYTE FORMULA IN EXPERIMENTAL DIABETES

The hematological changes occurring in diabetes are a major problem, which constantly requires the study of methods of their prophylaxis. The research carried out on the basis of the aqueous extract of *Nostoc holophilum*, highlights the bioactive effect on the leukocyte formula in the given pathology. The advantage of using the researched biopreparation in experimental diabetes is its mild action and lack of adverse effects when following the recommended doses. Due to the results obtained, we can say that the use of natural remedies has become a well-defined branch of modern medicine. The use of extracts from cyanobacteria in the prophylaxis of endocrine pathologies stimulates the body's defense system, so that, in essence, the body fights the disease on its own.

Keywords: *experimental diabetes; immunomodulatory effect; leukocytes; cyanobacteria; lymphocytes; granulocytes; monocytes; glucose; insulin.*

Introducere

Starea generală a oricărui organism este redată în mod direct de către indicii sanguini, care prezintă modificări evidente în cazul diabetului zaharat. Imunitatea pacientului cu diabet este modificată, reprezentând un risc mai mare de a dezvolta diverse infecții, care au o evoluție cu mult mai nefavorabilă.

Anomaliile hematologice au o importanță din ce în ce mai mare pentru evaluări diagnostice, terapeutice, controlul diabetului și pentru evaluarea tendințelor la complicații.

După cum cunoaștem, diabetul este o boală metabolică care apare din cauza inflamației într-un proces imunologic complex. Rezistența la insulină din cauza inhibării semnalizării insulinei are ca rezultat o serie de răspunsuri imune care accentuează starea inflamatorie, ceea ce duce la hiperglicemie. Atât defectele de răspuns imun înăscut (inclusiv disfuncția neutrofilelor și macrofagelor), cât și disfuncția răspunsului imun adaptiv (inclusiv celulele T) sunt considerate a fi responsabile pentru diminuarea răspunsului sistemului imunitar împotriva agenților patogeni invadatori la pacienții cu diabet[1].

Leucocitele sunt implicate în apărarea organismului, trecând ușor printre celulele epiteliale și endoteliale ale capilarelor, prin membrana bazală, deplasându-se liber prin substanța fundamentală a țesutului conjunctiv, fagocitând astfel microbi și corpurile străine.

Formula leucocitară constă din granulocite care se acumulează în țesuturile în care se cantonează agenții antigenici, favorizând vasodilatația capilarelor și venulelor din țesutul afectat. Acestea participă activ în

reacțiile de apărare împotriva proteinelor străine, în dezvoltarea reacțiilor alergice și anafilactice, la metabolismul histaminei și heparinei, care are rol important în procesul de coagulare a sângelui și permeabilitatea vaselor. De asemenea, sunt angajate în desfășurarea protecției imunologice a organismului.

Monocitele se găsesc în ficat (celule Kupffer), măduva osoasă (celule reticulate) splină și ganglionii limfatici etc. Funcția lor imunitară este strâns corelată cu funcția limfocitelor T. Macrofagele fagocitează agenții antigenici și prelucrează fracțiunile antigenice pe care le transmite limfocitelor T, activându-le. La rândul lor, limfocitele T activează macrofagele, mărindu-le capacitatea fagocitară. Limfocitele T activate vor activa și limfocitele B care se vor transforma în plasmocite, producătoare de anticorpi. Macrofagele participă, de asemenea, la hemoliza fiziologică, degradarea hemoglobinei și recuperarea fierului; participă la sinteza unor lipide (steroizi, lipide sterogene) și la fixarea și degradarea insulinei, precum și la procesul de cicatrizare a leziunilor prin eliberarea de factori care induc fibrozarea.

Limfocitele sunt elemente celulare implicate în apărarea imunologică față de diverși constituenți exogeni (bacterii, virusuri, fungi, macromolecule proteice) sau constituenți proprii, endogeni, rezultați sub acțiunea unor agenți diverși din mediul intern sau extern. Funcțiile fundamentale ale limfocitelor sunt: recunoașterea și diferențierea structurilor străine (non self) de cele proprii organismului (structuri self), precum și supraviețuirea acestuia [2].

Astfel, modelarea acestor indici prin administrarea de biopreparate bogate în substanțe bioactive reduce riscul de apariție a complicațiilor legate de sistemul imunitar în patologiile metabolismului glucidic. De asemenea, pe lângă terapia naturistă mai este necesar de urmat regimul alimentar echilibrat și regimul de activitate fizică care fac parte integrantă din abordarea actuală a acestei patologii. În unele situații este necesar tratamentul cu insulină sau cu antidiabetice orale.

Unul dintre biopreparatele ce ar putea fi utilizate în profilaxia diabetului zaharat de tip II este și extrasul apos din *N. holophilum*, care posedă proprietăți hipoglicemice și insulinotrope, precum și influențează pozitiv indicii leucocitari. Cianobacteriile conțin un număr mare de bioprotectori, biocorectori și biostimulatori, care nu se găsesc în orice alt produs de origine naturală. De aceea, scopul studiului dat a constat în evidențierea impactului extrasului apos din *N. holophilum* asupra formulei leucocitare pe fondalul diabetului experimental.

Material și metode de cercetare

Cercetările date s-au efectuat în cadrul laboratoarelor Ecofiziologie Umană și Animală și Ficobiotehnologie ale Universității de Stat din Moldova. Studiul s-a realizat pe 60 de șobolani albi de laborator, întreținuți după administrarea biopreparatului în condiții de vivariu. Ca material pentru cercetare s-a folosit: sângele și plasma sanguină. 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 - prin metoda imunofermentativă, la analizatorul Stat Fax 4700.

Biopreparatul administrat conține extras apos din tulpina de *N. holophilum* cultivată pe mediul nutritiv Drew timp de 15 zile [3]. Această tulpină a fost selectată conform principiilor active pe care le conține, presupunând un efect hipoglicemiant și imunomodulator. Obținerea extractului apos din biomasa de *Nostoc halophilum* a fost efectuată prin metoda colectării biomasei prin centrifugare. Biomasa a fost filtrată separată de mediul lichid, dublu spălată cu apă distilată și centrifugată. Concentratul obținut a fost congelat și decongelat minim de 5 ori, după care a fost omogenizat în mojar și avea următoarea concentrație chimică: proteine – 14,66%; lipide – 33,7%; glucide – 32,9%. Din concentratul dat au fost făcute diluții cu apa potabilă care apoi au fost centrifugate pentru extragerea pigmentilor, glucidelor și proteinelor. Soluțiile au fost diluate de 15 ori și administrate șobolanilor pentru 24 de ore, pe parcursul întregului experiment.

Biopreparatul conține un complex de vitamine și microelemente într-o combinație optimală pentru organism, care normalizează microflora intestinală, regenerează celulele β producătoare de insulină, majorează eliminarea din organism a substanțelor toxice și a metaboliților, normalizează activitatea sistemului nervos și endocrin.

Rezultate și discuții

În cadrul preocupărilor de descifrare a mecanismelor patogenetice ale complicațiilor ce apar în diabet, se acordă un interes major modificărilor hematologice. Toate perturbările enzimaticе, metabolice și structurale sunt invocate în realizarea unei hiperviscosității intraeritrocitare, precum și a unei creșteri a rigidității membranelor, ce au drept consecință o reducere a deformabilității și filtrabilității eritrocitare.

În prezent, unii cercetători [2, 4], relatează despre rolul imunității celulare în patogeneza diabetului zaharat. Modificările imunității celulare pot fi în relație cu anumite schimbări metabolice, ceea ce a servit ca bază pentru cercetarea statutului leucocitar al organismului. Numărul perturbat al leucocitelor prezintă unele anomalii în cursul diabetului zaharat. Astfel, se observă modificări privind adezivitatea, migrarea, chemotoxia, fagocitoza.

Creșterea numărului de leucocite reprezintă un semnal de alarmă, deoarece acest fapt indică asupra existenței unui focar de infecție în organism.

Tabelul 1. Influența extrasului apos din *Nostoc holophilum* asupra formulei leucocitare în diabetul experimental.

Indicii	Martor	Alloxan	<i>N. holophilum</i>	<i>N. holophilum</i> + Alloxan
Numărul (n)	15	15	15	15
Leucocite (*10 ⁹ /l)	6,07±0,74	8,42±0,56	6,33±0,62	7,11±0,46
Limfocite (*10 ⁹ ly/l)	3,95±0,27	5,08±0,19	4,05±0,21	4,21±0,16
Monocite (*10 ⁹ mo/l)	0,97±0,15	1,61±0,08	1,16±0,19	1,42±0,10
Granulocite(*10 ⁹ gr/l)	1,15±0,14	1,73±0,05	1,12±0,19	1,48±0,08

Studiul dat (Tabelul 1) demonstrează creșterea numărului de leucocite în lotul cu diabet alloxanic până la 8,42±0,56*10⁹ l/l, în raport cu martorul 6,07±0,74*10⁹ l/l. Însă la administrarea extractului apos din *N. holophilum* pe fondul diabetului alloxanic se observă o tendință de normalizare -7,11±0,46*10⁹ l/l. Numărul majorat de leucocite la etapele inițiale demonstrează lupta organismului pentru menținerea homeostazei în cadrul patologiei respective, iar în etapele tardive ale evoluției diabetului are loc o reducere a imunității după care urmează o micșorare a numărului de leucocite. Creșterea numărului leucocitelor coincide cu debutul disfuncțiilor vasculare diabetice. La început, disfuncția este subclinică, sau mai degrabă – nedetectabilă prin metode clinice și paraclinice, din cauza sensibilității reduse a metodelor de diagnostic. Când șobolanii diabetici sunt tratați cu extrasul apos din *N. holophilum*, aderarea leucocitară este suprimată, bariera hemoretiniană este restabilită și e prevenită lezarea endotelială.

Conform literaturii de specialitate [5], limfocitele au origine în diferite țesuturi (ganglioni limfatici, splină, amigdale, măduva osoasă roșie). Cea mai mare parte a limfocitelor intră în sânge prin vasele limfatice. O mică parte se pierde în lumenul intestinal și în plămâni, altele sunt fagocitate, iar cele mai multe, după ce vin în contact cu antigenele specifice, proliferază intens și unele din ele se transformă în celule producătoare de anticorpi, fiind răspândite în țesuturile organismului.

Cercetările realizate (Tabelul 1) au semnalizat modificări ale numărului de limfocite ce denotă consecințele influenței extrasului apos din *N. holophilum* în diabetul experimental. Astfel, în lotul alloxan numărul limfocitelor constituie valoarea - 5,08±0,19*10⁹ ly/l, iar în lotul martor - 3,95±0,27*10⁹ ly/l. Însă la lotul unde s-a administrat *N. holophilum* pe fondul diabetului acest indice constituie valoarea - 4,21±0,16*10⁹ ly/l, ceea ce demonstrează normalizarea acestui indice. Modificările care survin în decursul progresării diabetului alloxanic reprezintă motivul de bază ce duce la aprofundarea investigațiilor științifice, ținând cont de necesitatea elaborării metodelor și procedurilor de menținere dirijată a organismului bolnav.

În ceea ce privește influența diabetului zaharat asupra monocitelor, actualmente, există argumente pentru repercusiunile sale asupra numărului lor. Monocitele sunt celule mari, cu granulații foarte fine, care sunt produse în măduva osoasă și în organele limfopoietice, rămânând în circulație doar aproximativ 24 de ore, după care migrează în țesuturi, se transformă în macrofage și fagocitează intens bacteriile precum și resturi

celulare mai mari. Rezultatele cercetării (Tabelul 1), denotă o creștere a conținutului de monocite de la $0,97 \pm 0,15 * 10^9$ mo/l (martor), până la $1,61 \pm 0,08 * 10^9$ mo/l în lotul cu diabet experimental. Iar în lotul unde s-a administrat extrasul apos din *N. holophilumpe* fondalul diabetului experimental se observă o tendință de normalizare a acestui indice - $1,42 \pm 0,10 * 10^9$ mo/l, aceasta fiind o dovadă a rolului stimulator al extrasului cercetat.

Rezultatele expuse în literatura de specialitate [6], precum și investigațiile realizate în procesul experimental, ne permit să estimăm, că, paralel cu creșterea monocitelor, în diabetul alloxanic mai persistă și creșterea numărului de granulocite. Ele sunt cel mai numeros tip de leucocite, care joacă un rol major în apărarea antiinfecțioasă primară a organismului prin fagocitarea și digestia microorganismelor, iar activarea lor necorespunzătoare poate duce la lezarea țesuturilor normale ale organismului prin eliberarea de enzime și agenți patogeni.

În momentul apariției infecției sunt produși agenți chemotactici care determină migrarea neutrofilelor la locul infecției și activarea funcțiilor defensive ale acestora, cu fagocitarea agentului respectiv, urmată de eliberarea granulelor în vezicula de fagocitoză și distrugerea agentului infecțios. Acest efect este asociat cu creșterea producției și eliberării neutrofilelor din măduva osoasă [2].

Astfel, experimental (Tabelul 1), s-a observat creșterea numărului de granulocite, ce evidențiază procesul numit granulopoieză, care are loc la nivelul măduvei osoase, considerându-se că granulocitele neutrofile, eozinofile și bazofile urmează același model de proliferare, diferențiere, maturare și eliberare în sânge. În afara măduvei osoase, granulocitele neutrofile se găsesc în țesuturi, circulante la nivelul vaselor de sânge și marginale, care aderă la endoteliul vascular. Creșterea neutrofilelor circulante se datorează fie eliberării din măduva osoasă, fie mobilizării neutrofilelor marginale.

În diabetul experimental are loc creșterea numărului de granulocite – $1,73 \pm 0,05 * 10^9$ gr/l, comparativ cu lotul martor – $1,15 \pm 0,14 * 10^9$ gr/l, iar la administrarea extrasului apos din *N. holophilum* pe fondalul diabetului experimental, acest indice constituie - $1,48 \pm 0,08 * 10^9$ gr/l, astfel se pune în evidență efectul benefic al extrasului asupra indicilor leucocitari în această patologie.

Ca urmare, a rezultatelor obținute, putem afirma, că folosirea remediilor naturiste a devenit o ramură bine determinată a medicinei moderne. Folosirea de cianobacterii în profilaxia patologiilor endocrine, stimulează sistemul de apărare al organismului, astfel încât, în esență, corpul luptă singur împotriva maladiei, ceea ce reprezintă o abordare holistică. Însă, trebuie să ținem cont de faptul că nu toate organismele au aceeași capacitate de autovindecare și că nu răspund în același mod la stimulii tratamentelor naturiste. Medicina naturistă se poate dovedi insuficient de puternică în anumite afecțiuni și nu se potrivește neapărat tuturor, cu toate acestea putem menționa, în baza rezultatelor noastre, că cianobacteriile ameliorează situația persoanelor ce suferă de diabet zaharat de tip II.

Concluzie. Biopreparatul cercetat influențează biostimulator asupra celulelor pancreasului endocrin și acționează benefic în stoparea apariției complicațiilor în diabetul experimental. Cercetările realizate pe șobolani cu diabet alloxanic determină modificări evidențiabile la nivelul indicilor leucocitari, acestea fiind consecința dereglărilor metabolice din organism survenite în rezultatul evoluției patologiei. Administrarea extrasului apos din *N. holophilum* pe fondalul diabetului alloxanic a demonstrat proprietăți biostimulatoare asupra activității funcționale a indicilor leucocitari prin menținerea lor în limitele normei, astfel induc menținerea homeostazei în cadrul patologiei respective.

Referințe:

1. JELLINGER, P. S. *Metabolic consequences of hyperglycemia and insulin resistance*. In: *Clin. Cornerstone*, 2007, no. 8, Suppl. 7, p. 30-42.
2. BACALOV, Iu., DRUȚA, A., TROFIM, A. *Efectul imunomodulator al extractului apos din Calothrix marchica pe fondalul diabetului experimental*. *Studia Universitatis Moldaviae, Seria Științe Reale și ale Naturii*, 2020, Nr. 6(136), p. 8-16.
3. TROFIM, A., BOROZAN, A. *Izolarea și studiul componentei biochimice a tulpinii de cianobacterie Nostoc halophilum Hansg. CNMN-CB-17 din R. Moldova*. *Studia Universitatis Moldaviae. Seria Științe Reale și ale Naturii*, 2019, Nr 1(121), p. 58-67.

4. 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.
5. DUDNIC, E., CORLATEANU, A. *Îndrumar la hematologie*. CEP USM. Chișinău, 2010. p. 21-30.
6. HOLBAN, R. *Sângele și glandele endocrine*. Editura Academiei Populare Române, București, 2001, p. 20-29.

Notă: *Articolul a fost publicat din cadrul proiectelor:*

- *Determination of Bioactivity and Antimyeloma Properties of Various Cyanobacteria*, cifrul 22.80013.5107.2TR, conducător de proiect TROFIM Alina, doctor;

- *Identificarea, evaluarea și perfecționarea unor noi procedee de sporire a ratei de creștere a peștilor, de diminuare a impactului maladiilor și de îmbunătățire a valorificării furajelor în cadrul instalațiilor piscicole de tip închis alimentate cu apă circulantă*, cifrul 20.80009.7007.23, conducător de proiect: Vadim RUSU, doctor.

Date despre autori:

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

E-mail: alinatrofim@yahoo.com

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

E-mail: iurabacalov@mail.ru

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

E-mail: crivoi.aurelia@mail.ru

Elena CHIRIȚA, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător LCȘ „Ecofiziologie Umană și Animală”, Universitatea de Stat din Moldova.

E-mail: chiritaelena30@gmail.com

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

E-mail: druta.adriana@yahoo.com

Ionela ZUBCO, studenta anul III, Facultatea de Biologie și Geoștiințe, Universitatea de Stat din Moldova.

ORCID: 0009-0003-4172-0346

E-mail: ionela1999zubco@gmail.com

Prezentat la 06.09.2023