

DINAMICA UNOR INDICI AI METABOLISMULUI GLICOPROTEIC ÎN OSTEOPOROZA PRIMARĂ ȘI SECUNDARĂ ȘI SUB INFLUENȚA UNOR BIOREMEDII DE ORIGINE ALGALĂ

V. Gudumac, Veronica Sardari, Inna Șvet

Laboratorul Biochimie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The dynamic of glycoprotein metabolism indices in primary and secondary osteoporosis and under the influence of bioremedies of algal origin

The changes of the content of hexoses and N-acetylneuraminic acid were studied in primary and secondary experimental osteoporosis and under the influence of biological preparations of algal origin. The concentration of hexoses decreased at 3 months in primary and secondary 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 hexoses content.

Rezumat

S-a studiat modificările conținutului de hexoze sumare și acid N-acetilneuraminic în osteoporoza experimentală primară și secundară în dinamică la 1,5, 3 și 6 luni și sub influența biopreparatelor de origine algală. Conținutul de hexoze sumare s-a redus veridic în perioada de 3 luni în osteoporoza primară și cea secundară. În urma investigațiilor efectuate s-a depistat efectul osteoregenerativ al preparatelor cercetate, ceea ce se manifestă prin creșterea conținutului de hexoze sumare.

Afecțiunile sistemului osos și, în special, osteoporoza (OP) se impun în atenția specialiștilor ca o problemă de o mare actualitate, cauzată de: incidența înaltă a acestei patologii; evoluția gravă și complicațiile ei la persoanele de vârstă medie și la cele de vârstă înaintată; și prin imperfecțiunea mijloacelor terapeutice, oferite de medicina modernă. În legătură cu aceasta elaborarea noilor programe de terapie, optimizare a modificărilor metabolice caracteristice acestei patologii prezintă un mare interes [1, 2, 3, 8].

În prezent este cunoscut efectul unor biopreparate de origine algală (BP) cu diferite efecte terapeutice [5, 6].

Cercetările de ultimă oră atestă rolul important al componentelor glucidice din proteinele noncolagenice în dezvoltarea și organizarea țesuturilor mineralizate, precum și în apariția diverselor patologii. Proteinele noncolagenice ale matricei reprezintă 5% din masa acesteia. Ele sunt reprezentate de osteocalcină, osteonectină, proteoglicani, sialoproteine, lipo- și fosfoproteine. În prezent ele se studiază intens, considerându-se cei mai fideli markeri ai metabolismului osos [9].

Metodele contemporane permit dozarea glucidelor legate cu proteine în țesutul osos, fapt ce oferă noi posibilități în studierea patogeniei și evoluției OP [10].

În literatura de specialitate n-am întâlnit referințe privitor la modificările metabolismului glicoproteinelor în OP experimentală primară și secundară și sub influența biopreparatelor de origine algală. Reieșind din acestea, am considerat oportun a studia conținutul de hexoze sumare, acid N-acetilneuraminic (NANA) în țesutul osos în evoluția OP experimentale primare și secundare în dinamică la 1,5, 3 și la 6 luni și la utilizarea biopreparatelor de origine algală cu un conținut divers de Zn legat 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 reproducută la animalele de laborator – șobolanii albi, femele, fără pedigriu, prin ovariectomie – metodă clasică și acceptată de mulți cercetători [4].

Osteoporoza secundară a fost provocată la șobolanii masculi, prin injectări subcutanate bisăptămânale de prednisolon, în doză de 10 mg/kilocorp [7].

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 reproducută 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 torsionare. 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.

Dozarea hexozelor sumare și acidului N-acetilneuraminic s-a operat conform procedurii descris de Леонтьев В. К., 1978 [10].

Rezultatele obținute și analiza lor

Din datele statistice expuse în tabelul 1 relevăm, că după 1,5 luni de la momentul ovariectomiei conținutul de hexoze sumare în grupul de animale cu OP primară scade cu 13%, față de animalele din lotul-martor. La animalele cu OP secundară, în această perioadă a procesului patologic, modificările conținutului de hexoze sumare au fost neconcludente, acestea menținându-se în limitele valorilor atestate la animalele intacte. În grupurile de animale cu OP primară, supuse tratamentului cu biopreparatele BP-Zn1, BP-Zn2 și BP-R, conținutul de hexoze sumare tinde spre o restabilire, revenind practic la nivelul înregistrat la animalele intacte. La animalele cu OP secundară, în circumstanțe de utilizare a bioremediilor testate modificările conținutului de hexoze au fost neconcludente, acestea menținându-se în limitele valorilor atestate la animalele intacte.

Dinamica ulterioară a parametrului indică că în perioada de 3 luni de la inițierea procesului patologic la animalele cu OP primară și secundară se înregistrează o reducere marcantă, autentică statistic, cu 23% ($p < 0,01$) și respectiv cu 31% ($p < 0,001$) a conținutului de hexoze sumare. La animalele cu OP primară, în condiții de administrare a bioremediului BP-Zn1 se înregistrează o creștere a nivelului de hexoze sumare până la valorile identificate în lotul-martor. Medicația cu bioremediile BP-Zn2 și BP-R s-a dovedit a fi mai puțin eficientă, deoarece nivelul înregistrat de hexoze sumare continuă să persiste la valori joase, similare celor apreciate în grupul de animale cu OP primară, constituind 78% ($p < 0,05$) și respectiv, 72% ($p < 0,01$).

Astfel, datele obținute relevă modificări mai reduse în structura glicoproteinelor, în țesutul osos, la animalele cu OP primară supuse medicației cu biopreparatul BP-Zn1, datorită proprietății acestuia de a restabili conținutul de hexoze sumare.

Tabelul 1

Dinamica conținutului de hexoze sumare în țesutul osos, la animalele cu osteoporoză primară și secundară și sub influența biopreparatelor de origine algală (mM/g țesut uscat)

Grupurile de studiu	Termenele de cercetare și formele de osteoporoză					
	1,5 luni		3 luni		6 luni	
	Primară	Secundară	Primară	Secundară	Primară	Secundară
Martor	5,50±0,40 (100%)	4,64±0,60 (100%)	5,54±0,38 (100%)	5,21±0,32 (100%)	5,52±0,39 (100%)	6,03±0,72 (100%)
OP	4,81±0,11 (87%)	4,91±0,34 (106%)	4,28±0,16** (77%)	3,59±0,13*** (69%)	3,91±0,13** (71%)	5,72±0,32 (95%)
OP + BP-Zn1	5,09±0,30 (93%)	4,62±0,30 (99%)	4,97±0,19 (90%)	3,91±0,15** (75%)	4,88±0,10 (88%)	5,50±0,27 (91%)
OP + BP-Zn2	4,98±0,19 (91%)	4,39±0,20 (95%)	4,34±0,17* (78%)	3,76±0,12*** (72%)	4,58±0,12* (83%)	4,86±0,77 (81%)
OP + BP-R	5,30±0,56 (96%)	4,60±0,09 (99%)	4,01±0,14** (72%)	3,71±0,07*** (71%)	4,47±0,15* (81%)	6,89±0,24 (114%)

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

** - $p < 0,01$;

*** - $p < 0,001$.

De menționat faptul că, în această perioadă de cercetare tratamentul s-a dovedit a fi mai puțin eficient în OP secundară, deoarece în acest caz nivelul de hexoze continuă să rămână la valori reduse, similare celor înregistrate în OP secundară.

La finele perioadei de investigație (6 luni), în OP primară se decelează o reducere autentică a nivelului de hexoze sumare, cu 29% ($p < 0,01$). În același timp, la animalele cu OP secundară, conținutul de hexoze se menține practic în limitele valorilor normale. Sub influența bioremediilor testate se decelează o tendință de restabilire a nivelului de hexoze sumare în toate grupurile experimentale cu OP primară, cu excepția bioremediilor BP-Zn2 și BP-R, când nivelul lor rămâne inferior cu 17% ($p < 0,05$) și, respectiv, cu 19% ($p < 0,05$) față de valorile martorului. Totodată s-a constatat eficacitatea mai înaltă a biopreparatului BP-Zn1 care sporește conținutul de hexoze sumare cu 25% ($p < 0,001$) față de animalele cu OP. În același timp, în OP secundară, în această perioadă de investigație administrarea bioremediilor menționate practic nu condiționează modificări veridice ale conținutului de hexoze față de nivelul inițial (Tab. 1).

Generalizând cele expuse, conchidem că reducerea conținutului de hexoze sumare la animalele cu OP atestă modificări în structura glicoproteinelor, care au loc în țesutul osos, schimbările fiind mai exprimate în perioada de 3 și 6 luni în OP primară și 3 luni de la inițierea procesului patologic în OP secundară.

Astfel, creșterea de conținut al substanțelor cercetate, cu statut de componente ale glicoproteinelor, indică acțiunea stimulatorie osteoregeneratoare a BP studiate, datorită proprietăților lor de a estompa diminuarea conținutului de hexoze sumare la animalele cu OP primară și secundară în dinamica procesului patologic.

Rezultatele obținute privind dinamica acidului N-acetilneuraminic (NANA) în țesutul osos în OP primară și secundară și sub influența tratamentului cu biopreparate de origine algală, sunt expuse în tabelul 2.

Din datele expuse în tabelul 2, cantitatea de NANA în țesutul osos practic nu se modifică după 1,5 luni din momentul inducerii OP primare și secundare, precum și la medicația cu bioremediile investigate.

Tabelul 2

Dinamica conținutului de acid N-acetilneuraminic în țesutul osos la animalele cu osteoporoză primară și secundară și sub influența biopreparatelor de origine algală (mM/g. țesut uscat)

Grupurile de studiu	Termenele de cercetare și formele de osteoporoză					
	1,5 luni		3 luni		6 luni	
	Primară	Secundară	Primară	Secundară	Primară	Secundară
Martor	1,67±0,10 (100%)	1,54±0,15 (100%)	1,63±0,11 (100%)	1,56±0,19 (100%)	1,65±0,11 (100%)	1,86±0,09 (100%)
OP	1,84±0,13 (110%)	1,62±0,04 (105%)	1,72±0,03 (106%)	1,43±0,07 (92%)	2,02±0,05** (122%)	1,84±0,08 (99%)
OP + BP-Zn1	1,77±0,06 (106%)	1,70±0,07 (110%)	1,82±0,05 (112%)	1,68±0,07 (108%)	1,99±0,03* (121%)	1,56±0,09* (84%)
OP + BP-Zn2	1,77±0,05 (106%)	1,57±0,07 (102%)	1,67±0,06 (102%)	1,44±0,05 (92%)	2,0±0,06* (121%)	1,49±0,09* (80%)
OP + BP-R	1,54±0,05 (92%)	1,52±0,06 (99%)	1,76±0,09 (108%)	1,35±0,09 (87%)	2,03±0,05* (123%)	1,72±0,19 (92%)

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

** - $p < 0,01$.

Evoluția ulterioară a dinamicii parametrului indicat mai sus arată că, în perioada de 3 luni, în grupul de animale cu OP primară și cea secundară conținutul de NANA se menține practic în limitele valorilor animalelor intacte. În grupurile de animale cu OP primară și secundară, sub acțiunea biopreparatelor testate, conținutul de NANA se menține practic în limitele valorilor atestate la animalele intacte, exceptând doar BP-R care, în OP secundară, manifestă o tendință de diminuare discretă cu 13% în raport cu parametrii de referință.

De remarcat faptul că, spre finele perioadei de investigație (6 luni), în OP primară se decelează o creștere sugestivă a nivelului NANA, cu 22% ($p < 0,01$). Totodată, la animalele cu OP secundară în această perioadă a procesului patologic conținutul de NANA practic a rămas staționar în raport cu valorile inițiale. În OP primară, sub influența biopreparatelor BP-Zn1, BP-Zn2 și BP-R se decelează o creștere sugestivă a nivelului NANA în toate grupurile experimentale cu 21% - 23% ($p < 0,05$). Totodată, la animalele cu OP secundară, în perioada de 6 luni de desfășurare a procesului patologic, sub influența bioremediilor BP-Zn1 și BP-Zn2, se constată o diminuare veridică a conținutului de substanță cercetată cu 16% ($p < 0,05$) și, respectiv, cu 20% ($p < 0,05$), iar la administrarea bioremediului BP-R conținutul de NANA practic nu se modifică în raport cu valorile inițiale.

Rezumând cele expuse, putem constata că cantitatea de NANA se modifică puțin în țesutul osos în OP primară și OP secundară și sub influența tratamentului cu biopreparatele investigate în primele 3 luni de la debutul procesului patologic, cu o creștere sugestivă în OP primară, în toate loturile experimentale, și fără modificări semnificative în OP secundară, la 6 luni de la inițierea procesului patologic.

Concluzii

- În țesutul osos, în osteoporoza primară și în cea secundară, se produc modificări ale conținutului de glucide combinate cu proteinele necolagenice, caracterizate prin reducerea nivelului de hexoze sumare, schimbările fiind mai pronunțate în perioada de 3 luni, în OP primară și în OP secundară, iar cantitatea de acid N-acetilneuraminic se modifică nesemnificativ în ambele forme de OP, în primele 3 luni de la debutul maladiei, cu o creștere sugestivă în OP primară și fără modificări semnificative în OP secundară la 6 luni de la inițierea procesului patologic.
- Biopreparatele de origine algală, cu un conținut sporit de Zn organic, manifestă proprietăți osteogeneratoare datorită proprietăților de a restabili conținutul de hexoze sumare în țesutul osos, prioritar fiind biopreparatul BP-Zn1. Cercetările efectuate confirmă perspectiva

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*. Chișinău, 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].