

COMITETUL DE REDACTIE

Director:

Academician MIHAI BĂCESCU

Redactor șef:

PETRE MIHAI BĂNĂRESCU, membru corespondent

Membri:

Academician NICOLAE BOTNARIUC; academician OLGA NECRASOV; prof. dr. GRIGORE STRUNGARU; prof. dr. IRINA TEODORESCU; dr. NICOLAE TOMESCU; prof. dr. RADU MEŞTER – secretar de redacție

Revista apare de două ori pe an

În țară, abonamentele se primesc la oficile poștale. Comenzile din străinătate se primesc la RODIPET S.A., Piața Presei Libere nr. 1, P.O. Box 33-57, București, România, ORION SRL, Splaiul Independenței nr. 202A, P.O. Box 74-19 București, România, Tx 11939 CBTxR, Fax (40) 13122425 și la AMCO PRESS SRL, Bd. Nicolae Grigorescu nr. 29, ap. 66, Sector 3, București, C.P. 57-88, Fax 13124569.

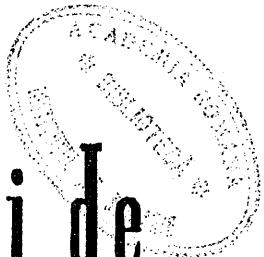
Manuscrisele se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție al revistei, iar cărțile și revistele pentru schimb pe adresa Institutului de biologie, 79651 București, Splaiul Independenței nr. 296.

EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE  
Calea 13 Septembrie nr. 13  
R-76117 București, C.P. 5-42  
telefon 410 38 46

ADRESA REDACȚIEI  
Calea 13 Septembrie nr. 13  
R-76117 București, C.P. 5-42  
telefon 410 38 46

PI 1695

BOL. INV. 33



# Studii și cercetări de BIOLOGIE

## SERIA BIOLOGIE ANIMALĂ

TOMUL 47, NR. 1

ianuarie – iunie 1995

### SUMAR

ALEXANDRINA NEGREA, Contribuții la cunoașterea gasteropodelor terestre din Carpații Meridionali (Sectorul Olt-Cerna) .....	3
D. GEORGESCU, FLORICA ENĂCHESCU, S.NICOLAU, MARIA ȘERBĂNESCU, MELANIA ZAHIU, Aspecte citomorfologice ale osteosarcomului osteolitic la copil .....	15
A.SĂFTOIU, Punji anatomice intergonadice la Baetidae (Ephemeroptera, Insecta) .....	23
R. MEŞTER, MARINA TAMARA NECHIFOR, Efectul ionilor de mercur asupra aminoacidelor din creier și intestin de caras ( <i>Carassius auratus gibelio</i> ) .....	31
ANA GEORGESCU, IOANA TRANDABURU, Modificări ale activității fosfatazei acide în pancreasul endocrin al șoareciilor cu diabet aloxanic .....	37
MARTA GABOS, RODICA GIURGEA, IOANA ROMAN, Reacția ficatului la administrarea de tiroxină și de tiouracil la șobolan .....	43
VICTORIA-DOINA SANDU, MARIA BORȘA, M.A.RUSU, Aspecte histochimice ale atherosclerozei experimentale la nivelul aortei toracice de șobolan .....	47
VICTORIA-DOINA SANDU, RODICA GIURGEA, IOANA ROMAN, Efectele seleniului și ale seleniului + vitamina E asupra histologiei intestinului subțire și asupra unor parametri biochimici sanguini la puii de găină, în diferite etape ale dezvoltării ontogenetice .....	53
IOANA ROMAN, RODICA GIURGEA, Acțiunea tiroxinei și a tioureei asupra capacității anticorpoformatoare și asupra unor parametri biochimici sanguini la puiul de găină .....	61
St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 47, nr. 1, p. 1 – 82, București, 1995	

CAMELIA GUŞ, RODICA GIURGEA, IOANA ROMAN, Activitatea transaminazelor (GOT și GPT) și consumul de oxigen al mușchiului striat la cal în dezvoltarea ontogenetică .....	65
ILEANA HURGHISIU, AL.G. MARINESCU, Inaniția și nutriția excesivă, factori determinanți în metabolismul substanțelor organice și minerale la <i>Carassius auratus gibelio</i> Bloch și <i>Cyprinus carpio</i> L .....	69
LAURA TEODORESCU, V. ZINEVICI, Caracteristici structurale ale zooplantonului în lacuri de acumulare de pe râul Argeș, în condițiile anului 1994 .....	77

**CONTRIBUȚII LA CUNOAŞTEREA GASTEROPODELOR TERESTRE DIN CARPAȚII MERIDIONALI (SECTORUL OLT-CERNA)**

ALEXANDRINA NEGREA

The author presents 37 species of *Gastropoda Pulmonata* collected from 32 places from Oltenia (south-western Romania) during the period 1957-1993. The paper is finished with some faunistic, biogeographic and ecologic considerations.

În perioada 1957-1993 am alcătuit o colecție de gasteropode endogee și cavernicole pe baza materialelor colectate de cercetătorii Institutului de Speologie „Emil Racoviță” din zonele carstice ale Carpaților Meridionali cuprinși între Olt și Cerna. În timp ce materialul colectat din peșteri a fost valorificat în întregime în diferite lucrări, cel din mediile endogee n-a fost publicat decât sporadic (5, 6, 7 și 8).

În nota de față prezentăm cei 37 taxoni proveniți din 32 stațiuni situate în Munții Căpățânei, Parângului, Vâlcanului și Mehedinți și în Podișul Mehedinți. Materialul determinat a fost colectat din mediile edafice (în special cel hemiedafic), din anexele directe ale solului (îndeosebi litiera pădurilor de fag și în amestec cu alte esențe), din mediul lapidic și cel litoclasic. Cele mai multe dintre stațiuni se află în apropierea peșterilor și la baza versanților calcaroși.

Prima parte a lucrării cuprinde stațiunile cercetate în ordine geografică, pe bazin hidrografice. Partea a doua este consacrată prezentării speciilor și subspeciilor în ordine sistematică, iar partea a treia, liste de taxoni menționati de Al.V.Grossu în lucrările sale monografice (1, 2, 3 și 4), în dorința de a avea o imagine de ansamblu asupra faunei de gasteropode terestre din Carpații Meridionali (sectorul Olt-Cerna). Lucrarea se încheie cu unele considerații faunistice, biogeografice și ecologice.

**STAȚIUNILE CERCETATE**

La fiecare stațiune (localitate) prezentăm numele acesteia, biotopii și taxoni identificați.

**BAZINUL CHEIA (MUNȚII CĂPĂȚÂNII)**

1. Masivul Stogu-Vânturarița, lângă cabana Stogu, litieră: *Agardhiella parreyssi*, *Vitreola diaphana*, *Aegopinella minor*, *Oxychilus glaber striarius*.

St. cerc.biol., seria biol. anim., t. 47, nr. 1, p. 3 – 14, București, 1995.

## BAZINUL GALBENULUI (MUNȚII PARÂNGULUI)

2. Lângă Peștera Muierilor (Baia de Fier), litieră: *Chondrina clienta*.

## BAZINUL SOHODOL (MUNȚII VÂLCANULUI)

3. Lângă Peștera Gârla Vacii, litieră: *Carychium minimum*.

## BAZINUL TISMANEI (MUNȚII VÂLCANULUI)

4. Pădure lângă Mânăstirea Tismana, litieră: *Carychium minimum*, *Sphyradium doliolum*, *Agardhiella angustistoma*, *Spelaeodiscus triaria trinodis*, *Vertigo pusilla*, *Ruthenica filograna*, *Laciniaria plicata costata*, *Vitrea diaphana*, *Aegopinella minor*, *Bradybaena fruticum*, *Perforatella bidentata*, *Acicula banatica*.

5. Cheile Râmeț (Mânăstirea Tismana), litieră: *Carychium minimum*.

6. Valea Runcului în chei, litieră: *Aegopinella minor*, *Perforatella bidentata*.

7. Valea Runcului, litieră: *Bulgarica cana*.

## BAZINUL MOTRULUI MARE (MUNȚII MEHEDINȚI)

8. Lângă Peștera Cloșani, litieră: *Cochlicopa lubrica*, *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Granaria frumentum*, *Cochlodina laminata*, *Bulgarica rugicollis pagana*, *Zonitoides nitidus*, *Vitrea diaphana*, *Aegopinella pura*, *Perforatella bidentata*, *Campylaea trizona*, *Pomatias rivulare*.

9. Valea Calului la Cloșani, litieră: *Chondrina clienta*, *Cochlodina laminata*, *Ruthenica filograna*, *Laciniaria plicata*, *Vitrea diaphana*, *Helicella obvia*, *Monacha cartusiana*, *Pomatias rivulare*.

10. Valea Izvorălelor la Cloșani, litieră: *Chondrina clienta*, *Cochlodina laminata*, *Ruthenica filograna*, *Bulgarica vetusta*, *Troglovitrea argintarui*, *Aegopinella minor*, *Perforatella bidentata*.

11. Lângă Peștera Vacilor de la Cloșani, litieră: *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Vitrea diaphana*, *Aegopinella pura*.

12. Valea Motrului „La dinamită”, litieră: *Granaria frumentum*, *Laciniaria plicata*, *Pomatias rivulare*, *Acicula banatica*.

13. Valea Motrului, în Pădurea Neguroasă, litieră și lapidic: *Spelaeodiscus triaria trinodis*, *Cochlodina laminata*, *Bulgarica vetusta*, *Bulgarica rugicollis pagana*, *Pomatias rivulare*.

## BAZINUL MOTRULUI SEC (MUNȚII MEHEDINȚI)

14. Vârtoape, litieră și lapidic: *Carychium minimum*, *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Granaria frumentum*, *Bulgarica vetusta*, *Bulgarica cana*, *Zonitoides nitidus*, *Vitrea transylvanica*, *Vitrea diaphana*, *Aegopinella pura*, *Oxychilus glaber striarius*, *Helicigona banatica*, *Acicula banatica*.

15. Vârtoape „La Jgheab”, litieră: *Agardhiella angustistoma*.

16. Vârtoape, în dolina Crovul Mare din Fața Radului, litieră: *Carychium minimum*, *Vitrea subcarinata*, *Vitrea crystallina*, *Helicigona banatica*.

17. Vârtoape, în dolina Crovul cu Gheăță de la Căzărmi, litieră: *Carychium minimum*, *Vitrea transylvanica*, *Vitrea diaphana*, *Vitrea subcarinata*, *Vitrea crystallina*, *Aegopinella minor*, *Aegopinella pura*, *Acicula banatica*.

18. Valea Motrului la Cloșani, litieră: *Carychium minimum*, *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Granaria frumentum*, *Cochlodina laminata*, *Laciniaria plicata*, *Ruthenica filograna*, *Bulgarica rugicollis pagana*, *Vitrea diaphana*, *Pomatias rivulare*, *Acicula banatica*.

19. Valea Motrului în amonte de Cloșani, litieră: *Cochlodina laminata*, *Bulgarica rugicollis pagana*.

20. Valea Motrului Sec la Steiul Roșu, litieră: *Cochlodina laminata*, *Laciniaria plicata*, *Bulgarica rugicollis pagana*, *Helicella obvia*.

21. În preajma Avenului de sub Plaiul Gorganului, lapidic: *Agardhiella angustistoma*.

22. Valea Sohodoalelor Mici, litieră: *Carychium minimum*, *Chondrina clienta*, *Vitrea diaphana*, *Troglovitrea argintarui*.

23. Lângă Peștera-aven nr.2 din Sohodoalele Mici, litieră: *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Ruthenica filograna*.

## BAZINUL LUPȘEI (MUNȚII MEHEDINȚI)

24. Valea Lupșei, litieră și lapidic: *Carychium minimum*, *Acanthinula aculeata*, *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Vitrea transylvanica*, *Vitrea subcarinata*, *Vitrea contracta*, *Aegopinella pura*, *Euconulus fulvus*, *Perforatella bidentata*.

25. Lângă Peștera nr. 1 din Valea Lupșei, litieră și lapidic: *Chondrina clienta*.

26. Lângă Peștera nr. 6 din Valea Lupșei, litieră: *Spelaeodiscus triaria triaria*.

27. Lângă Peștera nr. 12 Ogașul Morii, litieră: *Spelaeodiscus triaria triaria*.

## CALCARELE DIN STEIUL ORZEȘTILOR (MUNȚII MEHEDINȚI)

28. Lângă Peștera din Fața Pietrii Mari, litieră: *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Vitrea crystallina*, *Aegopinella minor*.

29. Lângă Peștera din Steiul Orzeștilor, litoclasic: *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Bulgarica rugicollis pagana*.

## CALCARELE DINTRE VĂILE CUSACU MIC ȘI CEREMOSNIC (PODIȘUL MEHEDINȚI)

30. Valea Topolniței, lapidic: *Carychium minimum*, *Euconulus fulvus*.

31. Lângă Peștera Topolniță, litieră: *Troglovitrea argintarui*.

32. Lângă Peștera de la Cireșu-Topolniță, litieră: *Granaria frumentum*.

## TAXONII DETERMINAȚI

Pentru fiecare taxon dăm: repartitia geografică, biotopii, stațiunile și datele de colectare.

## SUBCLASA PULMONATA

Fam. *Ellobiidae*

1. *Carychium minimum* O.F. Müller 1774. Euro-siberiană. Litieră, pietre înfundate în sol, lemnă putrede și sub scoarță. St.3: 30.3.1970; St.4: 8.10.1965, 5.5.1967, 25.2.1973; St.5: 27.8.1970; St.14: 24.7.1962; St.16: 24.7.1962; St.17: 25.7.1962, 1.8.1962, 28.10.1975; St.18: 5.5.1967; St.22: 23.6.1976, 15.9.1977; St.24: 3.5.1967; St.30: 11.7.1972, 18.5.1992.

Fam. *Cochlicopidae*

2. *Cochlicopa lubrica* (O.F. Müller 1774). Holarctică, litieră. St.8: 2.10.1960, 28.8.1963, 23.6.1976, 15.8.1989.

Fam. *Orculidae*

3. *Sphyradium doliolum* (Bruguère 1792). Sud-est și sud europeană, Iran. Litieră. St.4: 5.5.1967.

4. *Agardhiella parreyssi parreyssi* (L.Pfeiffer 1821). Endemică (Carpații Meridionali între Olt și Cerna). Litieră. St.1: 10.7.1966.

5. *Agardhiella angustistoma* (Grossu și Negrea 1968). Endemică (Munții Vâlcan și Mehedinți). Litieră și lapidicol. St.4: 5.5.1967; St.15: 24.7.1962; St.21: 30.7.1967.

Fam. *Valloniidae*

6. *Acanthinula aculeata* (O.F.Muller 1774). Euro-siberiană, nordul Africii. Litieră, pietre înfundate în sol și lemnă putrede. St.24: 5.5.1967.

Fam. *Spelaeodiscidae*

7. *Spelaeodiscus triaria triaria* Rossmässler 1839. Endemică (Carpații Meridionali). Păduri de fag și frasin, în litieră, sub pietre și lemnă putrede. St.5: 7.8.1970; St.8: 2.10.1960; St.11: 19.6.1966; St.13: 22.6.1966, 1.8.1968, 28.6.1969; St.14: 2.8.1962; St.18: 5.5.1967; St.23: 14.11.1964; St.24: 29.6.1961, 19.6.1968; St.26: 5.8.1963; St.27: 21.8.1965; St.28: 29.5.1975; St.29: 11.6.1965, 1.7.1986, 24.5.1992.

8. *Spelaeodiscus triaria trinodis* Kimakowicz 1883. Endemică (Munții Apuseni, Masivul Retezat și Munții Vâlcan). Litieră. St.4: 20.6.1973, 2.6.1990.

Fam. *Vertigenidae*

9. *Vertigo pusilla* O.F.Müller 1774. Europeană (comună în lanțul alpino-carpatic). Litieră. St.4: 5.5.1967, 1.5.1989.

Fam. *Chondrinidae*

10. *Granaria frumentum* (Draparnaud 1801). Alpino-carpatică și mediteraneană. Litieră, sub scoarță de frasin, sub pietre și lemnă putrede. St.8: 2.10.1960; St.12: 8.6.1978; St.14: 2.8.1962; St.18: 5.5.1962; St.32: 9.6.1969, 18.7.1993.

11. *Chondrina clienta* (Westerlund 1883) Ehrmann. Central, est și nord europeană. Litieră de fag, sub pietre înfundate și lemnă putrede. St. 2: 26.3.1958; St.9: 23.7.1969; St.10: 19.7.1969; St. 22: 23.6.1976; St. 25: 6.6.1967, 18.6.1986.

Fam. *Clausiliidae*

12. *Cochlodina laminata* (Montagu 1803). Europeană. Litieră și lapidic. St.8: 20.7.1969; St.9: 23.7.1969; St.10: 19.7.1969; St.12: 8.6.1978, 17.7.1978; St.13: 1.8.1968; St.18: 20.7.1969; St.19: 20.7.1969; St.20: 21.7.1969, 18.8.1985.

13. *Ruthenica filograna* (Rossmässler 1836). Europeană (comună în zona centrală). Litieră de fag. St.4: 5.5.1967; St.9: 23.7.1969, 11.9.1975; St.10: 2.9.1975; St.18: 5.5.1967; St.23: 14.11.1964.

14. *Laciniaria plicata plicata* (Draparnaud 1805). Europeană (comună în zona centrală). Litieră. St.9: 23.7.1969; St.12: 17.7.1978, 5.7.1981.

15. *Laciniaria plicata costata* (Kimakowitz 1883). Endemică (Munții Perșani, Bucegi, Sireu și Vâlcan). Litieră. St.4: 20.6.1975.

16. *Bulgarica vetusta* (Rossmässler 1836). Endemică (Carpații românești, Ucraina subcarpatică și nordul Ungariei). Litieră, sub scoarță de frasin, sub pietre și lemnă putrede. St.10: 19.7.1969, 2.7.1991; St.13: 1.8.1968, 28.6.1969, 2.6.1990; St.14: 2.8.1962.

17. *Bulgarica cana* (Held, 1836). Central și est europeană. Litieră, sub scoarță de frasin, sub pietre și lemnă putrede. St.7: 22.7.1978; St.14: 2.8.1962.

18. *Bulgarica rugicollis pagana* (Rossmässler 1842). Endemică (Munții Banatului, Munții Mehedinți și nord-vestul Bulgariei). Litieră, lemnă putrede, sub pietre. St.8: 2.10. 1960, 28.8.1963; St.13: 22.6.1966, 1.8.1968; St.18: 20.7.1969, 18.7.1989, 15.6.1993; St.19: 20.7.1969; St.20: 21.7.1969.

Fam. *Zonitidae*

19. *Zonitoides nitidus* (O.F. Müller 1774). Holarctică. Litieră, sub scoarță, sub pietre înfundate în sol și lemnă putrede. St.8: 20.8.1963; St.14: 24.7.1962, 12.8.1962, 18.8.1992.

20. *Vitre a transsylvania* (Clessin 1877). Endemică (Carpații românești). Litieră, sub scoarță, sub pietre și lemnă putrede. St.14: 24.7.1962, 2.8.1962, 28.10.1975, 2.7.1990; St.17: 25.7.1962, 1.8.1962, 28.10.1975; St.24: 3.2.1967, 5.7.1982, 16.10.1991.

21. *Vitre a diaphana* (Studer 1820). Alpino-carpatică și nord balcanică. Litieră, sub scoarță, sub pietre și lemnă putrede. St.1: 10.7.1960; St.4: 20.6.1973; St.8: 28.5.1975; St.9: 11.9.1975; St.11: 19.6.1966; St.14: 24.7.1962, 2.8.1962, 28.10.1975, 6.7.1989; St.17: 1.8.1962, 4.8.1962, 28.10.1975; St.18: 5.5.1967, 18.5.1989, 2.10.1992.

22. *Vitrea subcarinata* (Clessin 1877). Endemică (Carpații Meridionali). Litieră, sub pietre înfundate în sol și bușteni putrezi. St.16: 24.7.1962; St.17: 1.8.1962, 4.8.1962; St.24: 5.5.1967.

23. *Vitrea contracta* (Westerlund 1871). Europeană (cu centru de răspândire în vest). Litieră, lemnă putrede și sub pietre. St.24: 5.5.1967.

24. *Vitrea crystallina* (O.F.Müller 1774). Europeană, nord vestul Africii. Litieră. St.16: 24.7.1962; St.17: 25.7.1962, 1.8.1962; St.28: 29.5.1975.

25. *Troglavitrea argintarui* Negrea și Riedel 1968. Endemică (Munții Mehedinți, Podișul Mehedinți și Valea Cernei). Litieră de fag. St.10: 19.7.1969; St.22: 23.6.1976, 15.9.1977; St.31: 31.9.1971.

26. *Aegopinella minor* (Stabile 1864). Central și sud-est europeană. Litieră. St.1: 10.7.1960; St.4: 5.5.1967, 20.6.1973; St.6: 26.6.1969; St.10: 25.10.1978, 2.6.1993; St.17: 25.7.1962, 1.8.1962, 4.8.1962; St.28: 29.5.1975.

27. *Aegopinella pura* (Alder 1830). Europeană. Litieră, sub scoarță de fag, pietre înfundate în sol și lemnă putrede. St.8: 2.10.1960; St.11: 19.6.1966; St.14: 24.7.1962; St.17: 28.10.1975; St.24: 3.5.1967, 5.5.1967.

28. *Oxychilus glaber striarius* (Westérlund 1881). Central și sud-est europeană. Litieră, sub scoarță, sub pietre înfundate în sol și sub lemnă putrede. St.1: 10.7.1960; St.14: 2.8.1962; 20.7.1993.

#### Fam. Euconulidae

29. *Euconulus fulvus* (O.F. Müller 1774). Holarctică. Litieră, sub pietre înfundate în sol și lemnă putrede. St.24: 19.6.1968, 15.6.1993; St.30: 11.7.1972, 2.7.1989.

#### Fam. Bradybaenidae

30. *Bradybaena fruticum* (O.F. Müller 1774). Euro-siberiană. Litieră. St.4: 5.5.1967, 8.5.1986.

#### Fam. Helicidae

31. *Helicella obvia* (Menke 1828). Central și sud-est europeană. Litieră de fag. St.9: 23.7.1969; St.20: 21.VII.1969.

32. *Monacha cartusiana* (O.F. Müller 1774). Sud-est, sud și vest europeană, Asia Mică. Litieră de fag. St.9: 23.7.1969, 8.7.1992.

33. *Perforatella bidentata* (Gmelin 1788). Central, est și nord europeană. Litieră, sub pietre înfundate în sol și lemnă putrede. St.4: 5.5.1967; St.6: 26.6.1969; St.8: 23.6.1976; St.10: 19.7.1969, 2.10.1975, 16.6.1988; St.24: 12.9.1975.

34. *Helicigona banatica* (Rossmässler 1838). Endemică (Carpați, din Slovacia până în Banat, inclusiv Munții Apuseni). Litieră, sub scoarță, sub pietre înfundate în sol și lemnă putrede. St.14: 24.7.1962; St.16: 24.8.1962.

35. *Campylaea trizona* (Rossmässler 1837). Endemică (Carpații Meridionali). Litieră. St.8: 28.8.1963.

#### SUBCLASA PROSOBRANCHIA

##### Fam. Pomatiidae

36. *Pomatias rivulare* (Einchward 1829). Sud-est europeană, Asia Mică. Litieră de fag și arin, sub pietre. St.8: 7.8.1959, 13.8.1986; St.9: 23.7.1969; St.12: 8.6.1978, 17.7.1978; St.13: 1.8.1968, 28.6.1969; St.18: 20.7.1969, 6.7.1981; St.19: 20.7.1969.

37. *Acicula banatica* (Rossmaßler 1838). Endemică (Carpații Meridionali, inclusiv Munții Banatului). Litieră, sub scoarță, lemnă putrede și sub pietre. St.4: 4.5.1962, 20.6.1973, 8.7.1990; St.12: 17.7.1978; St.14: 2.7.1962, 8.7.1992; St.17: 25.7.1962, 1.8.1962, 4.8.1962.

#### TAXONI CITAȚI PÂNĂ ÎN PREZENT DIN CARPAȚII MERIDIONALI (SECTORUL OLT - CERNA)

(după Grossu, 1981, 1983, 1987, 1993)

Speciile notate cu asterix nu au apărut în stațiunile cercetate de noi; la cele găsite și de noi dăm numai localitățile în plus. Nu am luat în considerație speciile citate în mod general (fără localități).

\* *Carychium (Saraphia) tridentatum* Risso: Tismana.

\* *Cochlicopa lubricella* (Porro): Baia de Aramă.

*Sphyradium doliolum* (Bruguère): Valea Lotrului la Rudăreasa.

*Agardhiella parreyssi parreyssi* (C. Pfeiffer): lângă Peștera Cornetul Vârcanilor.

\* *Agardhiella parreyssi caesia* (Westerlund): în preajma Peșterii Cloșani.

\* *Agardhiella reinhardti* (Zilch): Tismana.

*Agardhiella angustistoma* (Grossu și Negrea): Valea Seacă (Munții Mehedinți).

*Acanthinula aculeata* (O.F.M.): Valea Lotrului.

*Speaeodiscus triaria triaria* (Rossmässler): Cheile Sohodol-Runcu, Gornenț.

\* *Truncatellina cylindrica* (Fér.): Gornenț.

*Granaria frumentum* (Drap.): Cheile Sohodol-Runcu, Tismana.

*Chondrina clienta* (West.): Cheile Sohodol-Runcu, Valea râului Motru, Baia de Aramă.

\* *Ena montana* (Drap.): Valea Lotrului la Rudăreasa.

\* *Merdigera obscura* (O.F.M.): Valea Lotrului la Ciungetu, Valea Latoriței.

\* *Alopia (A.) subcosticollis* (Schmidt): Valea Lotrului, Cheile Sohodol-Runcu.

\* *Alopia (A.) subcosticollis grossuana* Hordsieck: Cheile Sohodol-Runcu.

\* *Alopia (A.) subcosticollis riesei* (Kim.): Valea Lotrului la Ciungetu.

\* *Alopia (A.) subcosticollis peregrina* (Kim.): Valea Lotrului la Ciungetu.

\* *Alopia (A.) hildegardae* Kim.: dealurile calcaroase dintre Horezu și Tismana.

\* *Alopia (A.) hildegardae soosi* Brandt.: Cheile Oltețului la Polovragi.

\* *Cochlodina (P.) marisi* (Schmidt): Cheile Sohodol-Runcu, Runcu, Tismana.

- \* *Clausilia (C.) dubia* cf. *ingenua* Hudec și Brabenic: Valea Lotrului la Rudăreasa.  
 \* *Clausilia (C.) dubia gratiosa* Sajo: Cheile Sohodol-Runcu.  
 \* *Balea (Alinda) bispinosa* (Montagu): Tismana, Valea Lotrului la Rudăreasa, Podeni-Mehedinți.  
 \* *Balea (Pseudalinda) viridana* (Rossm.): Valea Lotrului la Rudăreasa.  
*Bulgarica (Strigilecula) vetusta* (Rossm.): Valea Lotrului la Rudăreasa, Gornenț.  
*Bulgarica (S.) cana* (Held.): Valea Lotrului la Rudăreasa.  
 \* *Bulgarica (B.) rugicollis* (Rossm.): Valea Motrului Sec.  
 \* *Bulgarica (B.) rugicollis rugicollis* (Rossm.): Valea Lotrului la Rudăreasa.  
 \* *Bulgarica (B.) rugicollis grossui* Nords.: Cheile Sohodol-Runcu, Tismana, Cloșani, Valea Cernișoarei.  
 \* *Discus (D.) ruderatus* (Fér.): Valea Lotrului la Rudăreasa.  
 \* *Phenacolimax (Gallandia) annularis* Studer: Valea Sohodol-Runcu, Cloșani.  
*Zonitoides (Z.) nitidus* (O.F.M.): Tismana, Podeni-Mehedinți.  
*Vitrea (V.) transsylvania* (Clessin): Cloșani.  
*Oxychilus (Morlina) glaber* (Rossm.): Cloșani, Baia de Aramă.  
 \* *Oxychilus (Riedelius) depressus* (Sterki): Cloșani.  
 \* *Lehmania (L.) nyctelia* Bourg.: Cheile Sohodol-Runcu, Cloșani, Podeni-Mehedinți.  
 \* *Deroferas (D.) laeve* (O.F.M.): Podeni-Mehedinți.  
 \* *Deroferas (Agriolimax) reticulatum* (O.F.M.): Lainici pe Valea Jiului.  
 \* *Deroferas (A.) absoloni* Simroth: Baia de Aramă și lângă Peștera Zăton.  
 \* *Deroferas (A.) wiktori* Grossu: Podeni-Mehedinți, Cheile Topolniței.  
 \* *Perforatella dibothryon* (Kim.): Cheile Sohodol-Runcu.  
 \* *Euomphalia (E.) strigella* (Drap.): Tismana.  
 \* *Soósia diodonta* (Mühl.): Valea Motrului la Cloșani.  
*Pomatias rivulare* (Eich.): Cheile Sohodol-Runcu, Tismana.  
*Acicula banatica* (Rossm.): Valea Lotrului, Târgu Jiu.

#### CONSIDERAȚII FAUNISTICE, BIOGEOGRAFICE ȘI ECOLOGICE

1. Din punct de vedere faunistic, în sectorul Olt-Cerna al Carpaților Meridionali am identificat 37 specii și subspecii de gasteropode terestre, majoritatea aparținând ordinului Stylommatophora (tab. 1). Acești taxoni sunt repartizați neuniform în arealul studiat, după cum urmează: 4 specii (10,8%) în Munții Căpățânii, din care 1 numai aici (*Agardhiella parreyssi parreyssi*); 1 specie (2,7%) în Munții Parângului (*Chondrina clienta*); 14 specii (37,8%) în Munții Vâlcanului, din care 5 numai aici (*Sphyradium doliolum*, *Spelaeodiscus triaria trinodis*, *Vertigo pusilla*, *Laciniaria plicata costata*, *Bradybaena fruticum*); 30 specii (81,1%) în Munții Mehedinți dintre care 18 numai în acești munți (*Cochlicopa lubrica*, *Acanthinula aculeata*, *Cochlodina laminata*, *Laciniaria plicata plicata*, *Bulgarica vetusta*, *Bulgarica rugicollis pagana*, *Zonitoides nitidus*, *Vitrea transsylvania*, *Vitrea diaphana*, *Vitrea subcarinata*, *Vitrea contracta*, *Vitrea crystallina*, *Troglovitrea argintarui*, *Aegopinella minor*, *Aegopinella pura*, *Oxychilus glaber striarius*, *Euconulus fulvus*, *Bradybaena fruticum*, *Helicella obvia*, *Monacha cartusiana*, *Perforatella bidentata*, *Helicigona banatica*, *Campylaea trizona*, *Pomatias rivulare*, *Acicula banatica*).

Tabelul 1

Prezență/absență (+/-) speciilor și subspeciilor de gasteropode în interitoriul arealului cercetat

TAXONI	Munții				Podișul Mehedinți
	Căpățânii	Parâng	Vâlcan	Mehedinți	
1. <i>Carychium minimum</i>	-	-	+	-	+
2. <i>Cochlicopa lubrica</i>	-	-	-	+	-
3. <i>Sphyradium doliolum</i>	-	-	+	-	-
4. <i>Agardhiella parreyssi parreyssi</i>	+	-	-	-	-
5. <i>Agardhiella angustistoma</i>	-	-	+	+	-
6. <i>Acanthinula aculeata</i>	-	-	-	+	-
7. <i>Spelaeodiscus triaria triaria</i>	-	-	+	+	-
8. <i>Spelaeodiscus triaria trinodis</i>	-	-	+	-	-
9. <i>Vertigo pusilla</i>	-	-	+	-	-
10. <i>Granaria frumentum</i>	-	-	-	+	+
11. <i>Chondrina clienta</i>	-	+	-	+	-
12. <i>Cochlodina laminata</i>	-	-	-	+	-
13. <i>Ruthenica filograna</i>	-	-	+	+	-
14. <i>Laciniaria plicata plicata</i>	-	-	-	+	-
15. <i>Laciniaria plicata costata</i>	-	-	+	-	-
16. <i>Bulgarica vetusta</i>	-	-	+	-	-
17. <i>Bulgarica cana</i>	-	-	+	+	-
18. <i>Bulgarica rugicollis pagana</i>	-	-	-	+	-
19. <i>Zonitoides nitidus</i>	-	-	-	+	-
20. <i>Vitrea transsylvania</i>	-	-	-	+	-
21. <i>Vitrea diaphana</i>	+	-	+	+	-
22. <i>Vitrea subcarinata</i>	-	-	-	+	-
23. <i>Vitrea contracta</i>	-	-	-	+	-
24. <i>Vitrea crystallina</i>	-	-	-	+	-
25. <i>Troglovitrea argintarui</i>	-	-	-	+	+
26. <i>Aegopinella minor</i>	+	-	+	+	-
27. <i>Aegopinella pura</i>	-	-	-	+	-
28. <i>Oxychilus glaber striarius</i>	+	-	-	+	-
29. <i>Euconulus fulvus</i>	-	-	-	+	+
30. <i>Bradybaena fruticum</i>	-	-	+	-	-
31. <i>Helicella obvia</i>	-	-	-	+	-
32. <i>Monacha cartusiana</i>	-	-	-	+	-
33. <i>Perforatella bidentata</i>	-	-	+	+	-
34. <i>Helicigona banatica</i>	-	-	-	+	-
35. <i>Campylaea trizona</i>	-	-	-	+	-
36. <i>Pomatias rivulare</i>	-	-	-	+	-
37. <i>Acicula banatica</i>	-	-	+	+	-
Total 37	4 (10,8%)	1 (2,7%)	14 (37,8%)	30 (81,1%)	4 (10,8%)

*Campylaea trizona* și *Pomatias rivulare*; 4 specii (10,8%) în Podișul Mehedinți (*Carychium minimum*, *Granaria frumentum*, *Troglovitrea argintarui* și *Euconulus fulvus*).

2. Din punct de vedere biogeografic (tab. 2) populațiile de gasteropode terestre din Carpații Meridionali (sectorul Olt-Cerna) reprezintă un amestec de trei elemente holarcice, 3 euro-siberiene, 7 europene *sensu lato* (cu sau fără nord-vestul Africii), 8 europene pro parte, 3 europene pro parte plus zone adiacente din continentele

Tabelul 2  
Repartiția pe categorii biogeografice a gasteropodelor din zona cercetată  
(n = numărul de specii și subspecii)

Categorie biogeografică	Munții						Podișul Mehedinți	
	Căpățâni		Parâng		Vâlcan		Mehedinți	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Holarctice	0	0	0	0	0	0	3	10,0
Euro-siberiene	0	0	0	0	2	14,3	1	3,3
Europene, nord-vestul Africii	0	0	0	0	0	0	1	25,0
Europene	0	0	0	0	2	14,3	5	16,7
Central, est și nord europene	0	0	1	100,0	1	7,1	2	6,6
Central și est europene	0	0	0	0	1	7,1	1	3,3
Central și sud-est europene	2	50,0	0	0	1	7,1	3	10,0
Alpino-carpatici și nord balcanice	1	25,0	0	0	1	7,1	1	3,3
Alpino-carpatici și mediteraneene	0	0	0	0	0	0	1	25,0
Sud-est europene, Asia Mică	0	0	0	0	0	0	1	3,3
Sud-est și sud europene, Iran	0	0	0	0	1	7,1	0	0
Sud-est, sud și vest europene, Asia Mică	0	0	0	0	0	0	1	3,3
Endemice	1	25,0	0	0	5	35,7	10	33,3
Total	4	100	1	100	14	100	30	100
							4	100

limitrofe și 13 endemice carpatici. Acestea sunt următoarele: elemente holarctice: *Cochlicopa lubrica*, *Zonitoides nitidus* și *Euconulus fulvus*; euro-siberiene: *Carychium minimum*, *Acanthinula aculeata* și *Bradybaena fruticum*; europene plus nord-vestul Africii: *Vitre a crystallina*; europene sensu lato: *Vitre a contracta*, *Aegopinella pura*, *Cochlodina laminata*, *Ruthenica filograna*, *Laciniaria plicata plicata* și *Vertigo pusilla*; central, est și nord-europene: *Chondrina clienta*, *Perforatella bidentata*; central și est-europene: *Bulgarica cana*; central și sud-est europene: *Aegopinella minor*, *Oxychilus glaber striarius* și *Helicella obvia*; alpino-carpatici și nord balcanice: *Vitre a diaphana*; alpino-carpatici și mediteraneene: *Granaria frumentum*; sud-est europene plus Asia Mică: *Pomatias rivulare*; sud-est și sud europene plus Iran: *Sphyradium doliolum*; sud-est și vest europene plus Asia Mică: *Monacha cartusiana*; endemice în Carpații românești, Ucraina subcarpatică și nordul Ungariei: *Bulgarica vetusta*; endemice în Carpați din Slovacia până în Banat, inclusiv în Munții Apuseni: *Helicigona banatica*; endemice în Carpații românești: *Vitre a transylvanica*; endemice în Munții Perșani, Bucegi, Siriu și Vâlcan: *Laciniaria plicata costata*; endemice în Munții Apuseni, Retezat și Vâlcan: *Spelaeodiscus triaria trinodis*; endemice în Carpații Meridionali, inclusiv în Munții Banatului: *Spelaeodiscus triaria triaria*, *Vitre a subcarinata*, *Carychium minimum* și *Acicula banatica*; endemice în Carpații Meridionali între Olt și Cerna: *Agardhiella parreyssi parreyssi*; endemice în Munții Vâlcanului și Mehedinți: *Agardhiella angustistoma*; endemice în Munții Mehedinți, Podișul Mehedinți și Valea Cernei: *Troglovitrea argintarui*; endemice în Munții Banatului și Mehedinți și nord-vestul Bulgariei: *Bulgarica rugicollis pagana*.

Din succinta analiză biogeografică prezentată rezultă că fauna de gasteropode terestre din arealul studiat se caracterizează prin prezența masivă a elementelor ce nu depășesc limitele Europei sau le depășesc cu puțin, majoritatea având aria de răspândire restrânsă la zona centrală, sud-estică și sudică a continentului (18 taxoni = 48,7%) și prin numeroasele endemisme carpatici cu areal mic sau foarte mic (13 taxoni = 35,1%).

Repartiția elementelor europene – majoritatea de coloratură meridională – și a celor endemice carpatici pe categorii biogeografice (tab. 2) arată că acestea sunt cel mai bine reprezentate în Munții Mehedinți (16 taxoni = 43,3%, respectiv 10 taxoni = 27,0%) și în Munții Vâlcanului (7 taxoni = 18,9%, respectiv 5 taxoni = 13,5%). La polul opus se află Munții Parângului cu o singură specie central, est și nord europeană (*Chondrina clienta*) și nici una endemică; este posibil ca această situație să se datoreze lipsei de cercetare malacologică.

3. Din punct de vedere ecologic gasteropodele pulmonate, fiind multianuale și higrofile, preferă mediile umede, cu precădere cel hemiedafic. Când condițiile climatice sunt nefavorabile (secetă, iarnă), cele mai multe dintre ele se refugiază în sol sau în peșterile din zonă. Cele mai frecvente specii din Carpații Meridionali (sectorul Olt-Cerna) sunt: *Spelaeodiscus triaria triaria* (12 stațiuni), *Carychium minimum* (10), *Cochlodina laminata* (8), *Vitre a diaphana* (8), *Bulgarica rugicollis pagana* (6), *Aegopinella minor* (6), *Granaria frumentum* (5), *Chondrina clienta* (5), *Ruthenica filograna* (5), *Aegopinella pura* (5), *Perforatella bidentata* (5), *Pomatias rivulare* (5) și *Acicula banatica* (5). Restul speciilor sunt mai puțin frecvente, ajungând până la o singură stațiune.

Asociațiile de gasteropode din zona montană studiată conțin, de regulă, mai mult de trei specii, cele mai bogate fiind în pădurile de fag sau de amestec cu alte esențe. Astfel, *Vitre a diaphana* coabitează cu 33 din cele 37 specii din acest sector al Munților Meridionali, *Perforatella bidentata* cu 28, *Acicula banatica* cu 26, *Spelaeodiscus triaria triaria* cu 25, *Aegopinella pura* cu 23, *Ruthenica filograna* și *Aegopinella minor* cu 22, *Cochlodina laminata* cu 20, *Granaria frumentum* și *Bulgarica vetusta* cu 19, *Vitre a transylvanica* cu 18, *Zonitoides nitidus* și *Pomatias rivulare* cu 17, *Laciniaria plicata* și *Bulgarica rugicollis pagana* cu 16, *Vitre a subcarinata*, *Oxychilus glaber striarius* și *Helicigona banatica* cu 13, *Chondrina clienta* cu 12, *Carychium minimum*, *Sphyradium doliolum*, *Agardhiella angustistoma*, *Spelaeodiscus triaria trinodis*, *Vertigo pusilla*, *Laciniaria plicata costata*, *Bulgarica cana* și *Bradybaena fruticum* cu 11, *Cochlicopa lubrica* și *Campylaea trizona* cu 10. Restul speciilor au fost găsite coabitând cu mai puțin de 10 specii din totalul de 37 specii identificate.

Dintre speciile determinate, unele sunt amatoare de zone calcaroase descoperite și însoțite (*Granaria frumentum*, *Chondrina clienta*, *Spelaeodiscus triaria* și *Campylaea trizona*). Alte specii au nevoie de vegetație care să le confere condiții optime de umiditate și hrana (*Zonitoides nitidus*, *Vitre a diaphana*, *Vitre a transylvanica*, *Vitre a subcarinata*, *Oxychilus glaber striarius*, *Euconulus fulvus* și *Acicula banatica*).

## BIBLIOGRAFIE

1. GROSSU AL.V., *Gastropoda Romaniae*, vol.2, Edit. Litera, Bucureşti, 443 p., 1987.
2. GROSSU AL.V., *Gastropoda Romaniae*, vol.3, Tipogr.Univ.Bucureşti, 269 p., 1981.
3. GROSSU AL.V., *Gastropoda Romaniae*, vol.4, Edit. Litera, Bucureşti, 564 p., 1983.
4. GROSSU AL.V., *Gastropodele din România*, compendiu, Bucureşti, 412p., 1993.
5. NEGREA A., Com.Acad.R.P.R., XIII, nr.9, p.835-842, 1963.
6. NEGREA A., Lucr.Inst.Speleol. „E. Racoviță”, t.IV, p.245-250, 1965.
7. NEGREA A., Int.J.Speleol., vol.6, nr.4, p.303-324, 1974/75.
8. NEGREA A., Trav.Inst.Speol. „E. Racoviță”, t.XVIII, p.7-32, 1979.

Primit în redacție  
la 12 septembrie 1994

*Institutul de Speologie „E. Racoviță”*  
Bucureşti, str. Frumoasă, nr.11

ASPECTE CITOMORFOLOGICE ALE OSTEOSARCOMULUI  
OSTEOLITIC LA COPIL

D. GEORGESCU \*, FLORICA ENĂCHESCU \*\*, S.NICOLAU \*\*,  
MARIA ERBĂNESCU \*\*\*, MELANIA ZAHIU \*

Several cases of osteosarcomas with different locations were studied histopathological. The study revealed also the presence of some osteolytic type osteosarcomas located at the distal end of the femur and the proximal end of the tibia. The typical cytological element is the malign modified osteoclast together with other normal cell types. Important destructions are exhibited at the cortical metaphysar and in the structure of the spongy bone. In a more advanced phase the progressive osteolysis that causes bone cavities of varying dimensions can be observed.

## INTRODUCERE

O treime din tumorile osoase sunt primare și apar frecvent în primele decenii de viață și două treimi sunt secundare și se întâlnesc începând cu al treilea deceniu de viață (24). Majoritatea tumorilor osoase primare au sediul metafizar cu localizare în femur și tibie (26), dar nu sunt excluse și alte localizări (coloana vertebrală, oasele coxale, maxila, mandibula etc.) (8). Tumorile osoase secundare sunt mult mai frecvente decât cele primare, ele reprezentând cel mai adesea metastaze de carcinoame. Metastazele osoase interesează predominant oasele iliace, coloana vertebrală, coastele, craniul (29).

Cea mai studiată tumoră primară, fiind totodată și cea mai agresivă, este osteosarcomul, acesta însemnând 22-25% din tumorile osoase primare (16), (35). El apare cu precădere în perioada de creștere la copii (deceniul al doilea de viață), cu o frecvență mai mare la băieți decât la fete (17). Osteosarcomul apare mai ales în zona metafizară a oaselor lungi (17), maxilă și mandibulă (35) și rar prezintă o localizare extraosoasă (uter, sân, cord, fesă) (15), (36).

Pentru boala localizată factorii de prognostic nefavorabili sunt: sexul masculin, vîrstă sub zece ani, tumoră în oase proximale; simptomatologie mai veche de șase luni, tumoră de dimensiuni mari (8). Bolnavii care nu fac metastaze și sunt supuși intervențiilor chirurgicale cu asociere de citostatice și cobaltoterapie ajung să supraviețuască peste cinci ani (38).

\* Facultatea de Biologie.

\*\* Institutul Oncologic București, Secția Oncopediatrie.

\*\*\* Spitalul Clinic Fundeni, Anatomie Patologică.

Varietatea cea mai agresivă a osteosarcomului clasic este reprezentată de osteosarcomul sclerozant multicentric, care apare la vârste tinere (până la 15 ani), interesează metafiza oaselor lungi și prezintă un prognostic grav (4), (2). De reținut este faptul că în afară de localizarea la nivelul osului a osteosarcomului, acesta prezintă și localizări extraosooase (mamar, cardiac, uterin, fesier etc.) (15), (36). Originea acestor tumori este explicată printr-o osteogeneză heterotipică malignizantă pe focare de miozită osificantă sau din celule pluripotente restante (6).

#### MATERIAL ȘI METODE

Fragmente de țesut osos, rezultate în urma biopsiilor la nivelul femurului distal și tibiei proximale, de la mai multe cazuri suspectate de osteosarcom, au fost prelevate conform tehnicii histologice. Lamele obținute au fost colorate cu hematoxilină-eozină și van Gison și apoi studiate și fotografiate la un microscop optic de tip DOCUVAL.

Cazurile provin din secția de Oncopediatrie a Institutului Oncologic București.

#### REZULTATE

Aspectele histopatologice relevă structuri neoplazice de tip osteoclastic. Elementul citologic caracteristic este osteoclastul alături de alte tipuri celulare (Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Imaginiile arată un polimorfism celular accentuat. Sunt prezente celule gigantice (osteoclaste) (Fig. 1, 2, 3, 5 – o singură săgeată), cu grad de malignitate ridicat, ai căror nuclei voluminoși prezintă o cromatină grunjoasă, dispusă neuniform și cu grad variat de hipercromazie (Fig. 1, 2, 3, 5). Uneori nuclei apar multilobați, cu un contur neregulat (Fig. 2, 3, 5). Sunt prezente și celule mai mici de tip osteoclastic (Fig. 4 – asterisc) ai căror nuclei prezintă o cromatină de asemenea grunjoasă, repartizată neuniform. Nucleoli tuturor celulelor descrise sunt evidenți (Fig. 1, 2, 3, 4, 5). Se pot observa celule intrate într-o diviziune anormală (Fig. 7 – săgeată); celule de tip fibroblastic (Fig. 1 – dublă săgeată); histiocite, plasmocite, limfocite, hematii (Fig. 1, 2, 3, 4, 6, 7). Din loc în loc se observă resturi de țesut osos (Fig. 6 – triunghi) și spații lacunare mari ce relevă o distrucție tisulară masivă (Fig. 6 – steluță).

#### DISCUȚII

Observațiile noastre s-au oprit asupra osteosarcomului osteolitic caracterizat prin apariția unei distrucții importante metafizare, precum și a structurii osului spongios.

Faptul că există un polimorfism celular accentuat s-ar explica prin aceea că, din punct de vedere histogenetic, osteosarcomul derivă din celulele conjunctive din endost și periost precursoare osteoblastelor. Acestea se pot diferenția ca elemente sarcoamatoase osteoblastice, osteoclastice, cartilaginoase, sau pot să rămână

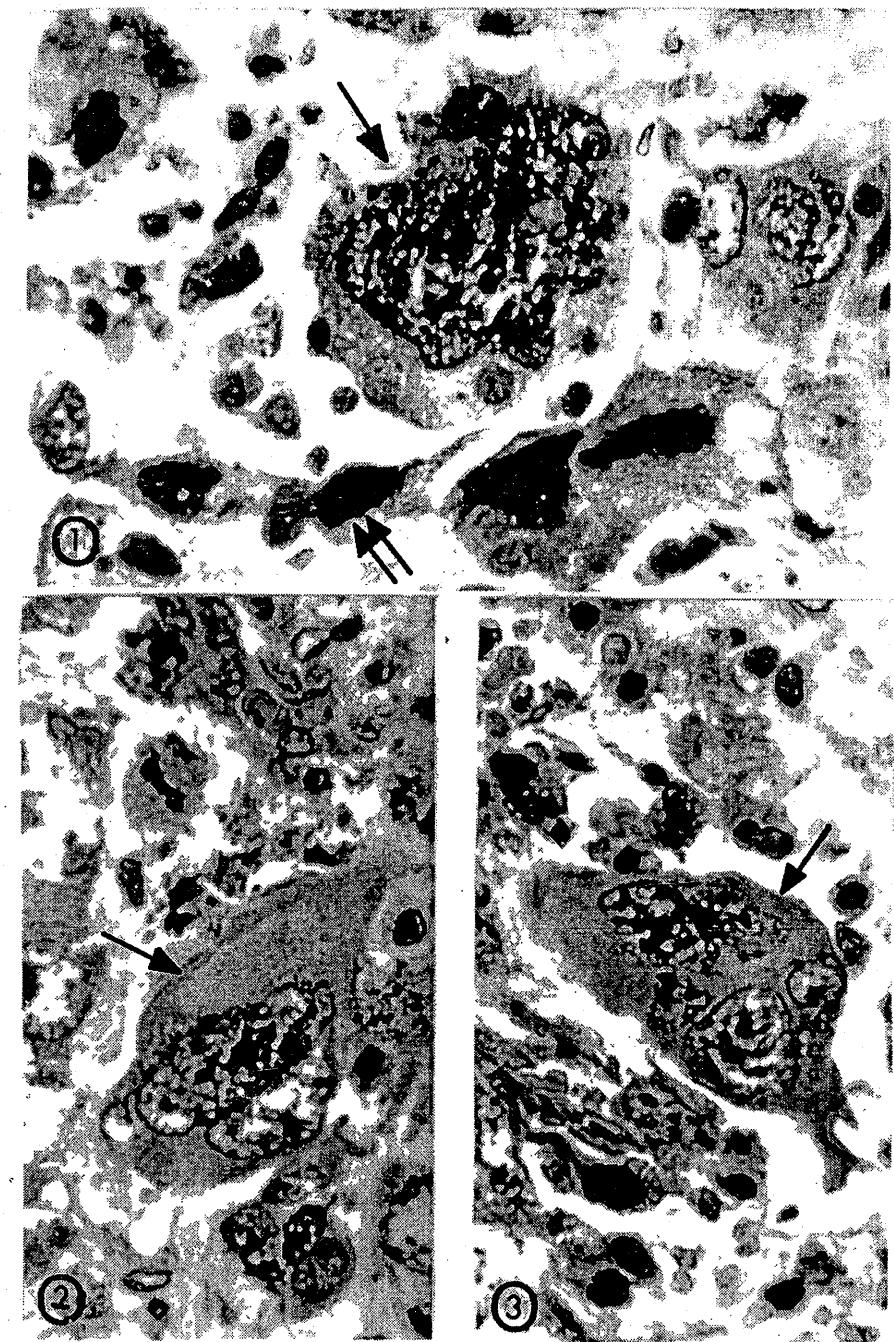


Fig. 1. Osteoclast malignizat, cu nucleu gigantic, cromatină grunjoasă, neuniformă repartizată (o săgeată). Celule de tip fibroblastic (două săgeți); plasmocite, histocite, limfocite, granulocite, hematii (x 1800). Fig. 2 Celulă malignă osteoclastică (sägeată) cu nucleu multilobat, cromatină grunjoasă, neuniformă repartizată, nucleoli evidenți, citoplasma omogenă; plasmocite, histocite, limfocite, granulocite, hematii (x 1800). Fig. 3. Celulă osteoclastică modificată malign (sägeată) cu nuclei mulți a căror cromatină este neuniformă repartizată. Nucleoli evidenți. Plasmocite, histocite, limfocite, granulocite, hematii (x 1800).

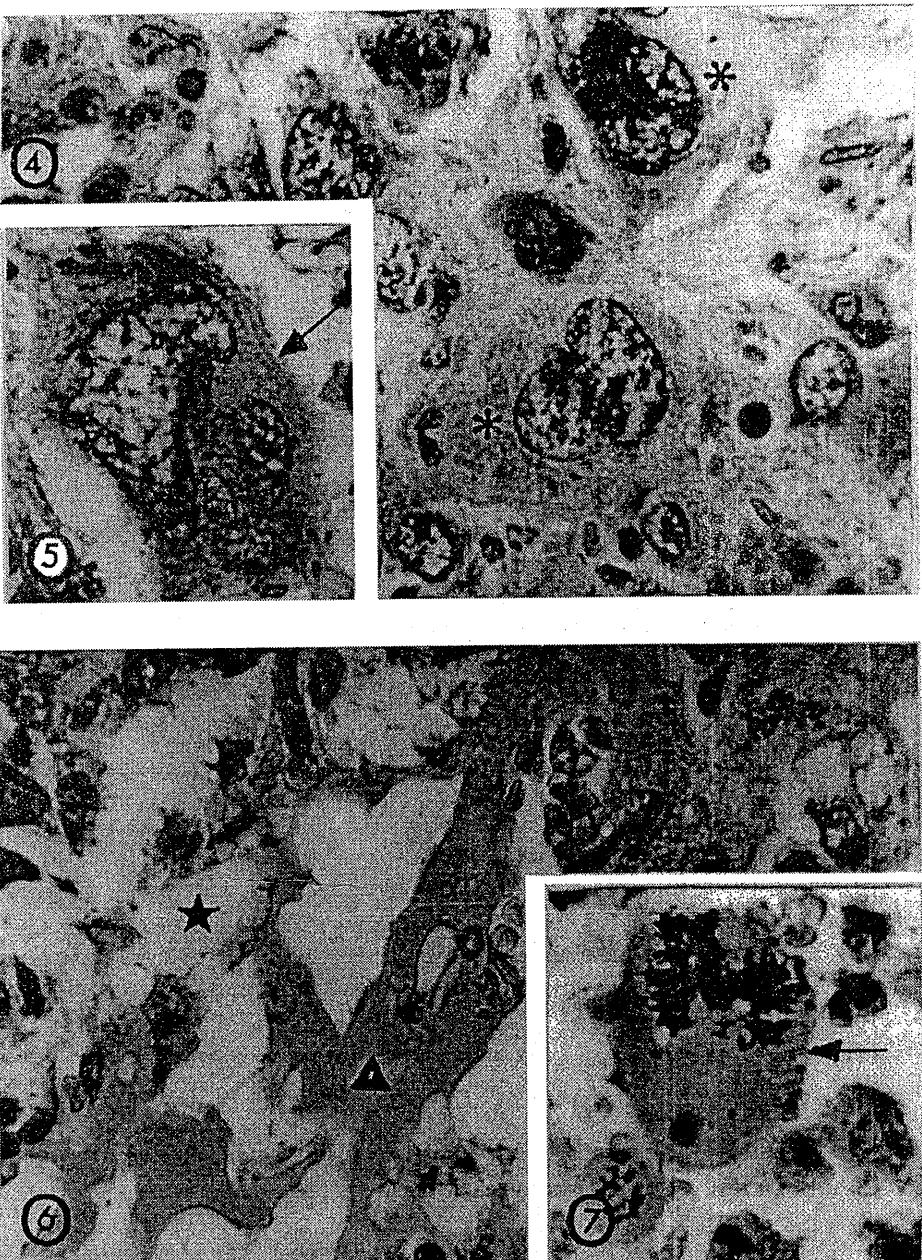


Fig. 4. Celule osteoclastice modificate malign cu nuclei a căror cromatină grunjoasă este neuniform repartizată (asterisc). Nucleoli evidenți ( $\times 1800$ ).

Fig. 5. Celulă malignă osteoclastică (sägeată) ( $\times 1800$ ).

Fig. 6. Resturi osoase (triunghi) și lacune osoase mari (stea) ( $\times 1800$ ).

Fig. 7. Celulă în diviziune anormală (sägeată) ( $\times 1800$ ).

nediferențiate (29). La nivelul tumorii, zone cu grad mai mic de malignitate sunt dispuse central, iar cele cu grad ridicat, cel mai adesea, spre periferia tumorii. Astfel, cercetătorii propun trei grade în funcție de numărul mitozelor, indicele mitotic fiind cel mai important factor de prognostic.

Este cunoscut faptul că în formarea osteosarcoamelor sunt implicați factori hormonali, genetici, fizici și traumatici. O explicație în acest sens se bazează pe apariția osteosarcoamelor la indivizi cu antecedente de boala "Paget" (afecțiune caracterizată printr-o activitate osteoblastică crescută și în acest fel s-ar argumenta apariția osteosarcomului în segmentele de maximă creștere și dezvoltare și modul în care ar fi implicat factorul hormonal de creștere) (17), (15). De asemenea un rol favorizant al genezei osteosarcomului este expunerea la radiații ionizante în antecedente și chiar a traumatismelor, deși această ultimă relație cauzală este discutabilă (17). Cât privește diviziunile anormale, observate și de noi, confirmă relația, deosebit de interesantă, dintre osteosarcom și factorii genetici. Astfel s-a constatat o frecvență mai mare a osteosarcoamelor în familiile de gemeni, la bolnavii cu retinoblastom (15), displazia osoasă congenitală, displazia fibroasă poliostotică (sindromul Albright) și miozita fibroasă (2), (3). Utilizându-se tehnici de inginerie genetică s-a găsit că 11 din 60 (18%) osteosarcoame aveau alterată structura genei p53 și că 6 din acestea aveau pierdută cealaltă alelă p53 (28). În contrast, gena p53 nealterată a fost detectată în 50 exemplare de alte tipuri de sarcoame (28). S-a constatat, că 50% din liniile celulare de osteosarcom aveau rearanjamente evidente pe una din alele p53 și pierderea celei de-a doua alele și a ARN-ului mesager (28). Liniile celulare de osteosarcom la care nu s-a detectat alterarea genei p53 conține ARN-mesager din abundență (28). Aceste date sugerează autorilor că osteosarcomul uman poate avea rearanjări ale genei p53, ce pot cauza pierderea capacitatii de creștere normală a celulelor. Gena p53 a fost cartată pe cromozomul 17(27), iar transfecția genei p53 normale în celulele RAT-1 scade potențialul transformativ al RAS și MYC activate, p53 mutantă și a E,A a adenovirusului (12), (11). S-a observat, de asemenea, că alterările brațului 17p sunt asociate cu multe cancere, găsindu-se în cel puțin 60 din tumorile colonului (22), sănului (23), plămânilui (40), creierului (18), (19), cervixului (1), cortexului adrenal (39) ca și în osteosarcom (37). Deci, osteosarcomul se poate dezvolta prin pierderea capacitatii supresive a genei p53 normale, confirmată de pierderea alelei de pe brațul scurt al cromozomului 17 (17p) (37), unde se află localizată gena p53 (27), (37). În plus, cercetările sugerează că proteina menționată p53 poate concura cu proteina p53 normală, împiedicând creșterea normală prin supresarea efectelor lui p53 (12), (11).

P53 este o proteină nucleară cu greutate moleculară de 53000 Dal., care leagă ADN-mono și dublu catenar (36). Ea, de asemenea, leagă proteine virale ca: antigenul T al SV-40 (7) și E, B a adenovirusului (32). P53 concurează cu ADN-polimeraza α pentru legarea antigenului T (14). Cu toate că o funcție specifică pentru p 53 este neclară, datele sugerează că ea poate fi implicată în reglarea replicării ADN (5).

S-a constatat că la oameni, osteosarcoamele se întâlnesc cu o incidență mai crescută la pacienții cu retinoblastom (10). Studiile genetice au arătat că celulele

osteosarcomului conțin defecte la locusul Rb (pe cromozomul 13q 14) (13). De asemenea, s-au observat rearanjamente ale genei p 53 în osteosarcomul uman (25). Astfel, Rb ca și celelalte gene supresoare tumorale sunt implicate în patogenia osteosarcomului (31), (34), (21).

Din punct de vedere experimental s-a constatat că osteosarcomul este expresia unei gene hibride a  $\alpha$ -amilazei - SV40T - antigen la șoareci transgenici. SV-40-T antigen poate funcționa în aceeași manieră în linia transgenică de șoareci 501, deoarece el se leagă de produsele genelor p 53 și Rb (9) și poate astfel împiedica funcționarea normală în celule a acestor produse.

Descoperirea osteosarcomului primar la șoareci transgenici relevă interrelațiile dintre oncogenele endogene și genele supresoare ale tumorii. Deci, osteosarcomul este una din multele tumorii produse prin supresie genică.

#### BIBLIOGRAFIE

1. ATKIN N. B. and BAKER M. C. , 1989, Cancer Genet. Cytogenes, 37, 229-233.
2. BECK D., 1985, Chir. Pediatr., 26, 4, 203-206.
3. BECK D., 1985, Chir. Pediatr., 26, 4, 213-215.
4. BELUFEI G., PAZZAGLIA U., MORA R., 1983, Pediatr. Radiol., 13 292-293.
5. BRAITH WAITE A.W., STURZBECHER H.W., ADDISON C., PALMER C., RUDGE K., JENKINS J.R., 1987, Nature (Lond), 329, 458-460.
6. BROOKS S., STARKIE C.M., CLARKE M.M.P., 1985, Arch. Orthop. Traum. Surg., 104, 100-105.
7. CARROLL R.B. and GURNEY E.G., 1982, J. Virol. 44, 565-573.
8. CHIRICUTA I., 1988, Cancerologie clinică, vol II, Ed. Medicală.
9. DE CAPRIO J.A., LUDLOW J.W., FIGGE J., SHEW J.Y., HUANG C.M., LEF W. H., MARSILIO E., PAUCHA E. , LIVNGSTON D.M. , 1988, Cell, 54, 275-283.
10. DERKINDEREN D.J., KOTEN J.W., NAGELKERKE N.J.D., TAN K.E.W.P., BEEMER F.A., den OTTER W., 1988, Int. J. cancer, 41, 499-504.
11. ELIYAHU D., MICHALOVITZ D., ELIYAHU S., PINHASI - KIM H.I., OREN M., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 8763-8767.
12. FINLAY C.A., HINDS P.W., LEVINE A.J., 1989, Cell, 57, 1083 - 1093.
13. FRIEND S.H., BERNARDS R., ROGEL J.S., WEINBERG R.A., RAPOPORT J.M., ALBERRT D.M., DRYJA T.P., 1986, Nature, 323, 643-646.
14. GANNON J.V. and LANE D.P., 1987, Nature (Lond), 329, 456-458.
15. GOORIN A. , ABELSON H. , 1985, New England Journal of medicine, 313, 1637-1643.
16. HARVEY S., SOLHEIM O., 1981, Cancer, 48, 8, 1719-1723.
17. HASKEL CH.M., 1980, W.B. Saunders Comp., 655-662.
18. JAMES C.D., CARLHOM E., NORDENSKJOLD M., COLLINS V.P., CAVENEE W.K., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 86, 2858-2862.
19. JAMES C.D., CARLBOM E., DUMANSKI J.P., HANSEN M., NORDENSKJOLD M., COLLINS V.P., CAVENEE W.K., 1988, Cancer Res., 48, 5546-5551.
20. KNOWLES B. BARBARA, Mc CARRICK J., FOX N., SOLTER D., DAMJANOV I., Aug. 1990, Am. J. of Pathology 137, 2, 259-262.
21. LAVIGUEUR A., MALTBY V., MOCK D., ROSSANT J., PAWSON T., BERNSTEIN A., 1989, Mol. Cell. Biol., 9, 3982-3991.
22. LOTHE R.A., NAKAMURA J., WOODWARS S., GEDDE-DAHT T., Jr., WHITE R., 1988, Cytogenet. celc. Genet., 48, 167-169.
23. MACKAY J., STEEL C.M., ELDER P.A., FORREST A.P., EVANS H.J., 1988, Lancet., 2, 1384-1385.
24. MAEYAMA I., 1984, Clinical Orthopaedics, 184, 65-70.

25. MASUDA N.C., MILLER H., KOEFFLER P., BATTIFORA H., CLINE M.J., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7716-7719.
26. MAZUR J. M. , STAVFFER E. S. , 1981, The J. of Form Pract ice, 12, 2, 333-341.
27. MILLER C., MOHANDAS T., WOLF D., PROKOCIMER M., ROTTER V., KOEFFLER H.P., 1986, Nature (Lond.), 319, 723-784.
28. MILLER W.C., ALSO ABDULKARIM, TSAY CASSIDY, SLAMON DENNIS, ISHIZAKI KANJI, TOGUCHIDA JUNYA, YAMAMURO TAKAO, LAMPKIN BEATRICE, KOEFFLER H.P., 1990, Cancer Research, 50, 7950-7954.
29. MORARU I., 1980, Anatomie patologică 404-408, Ed. Medicală, București.
30. MUREAN E., GABOREANU M., BOGDAN A.T., BABA A.I., 1974, Tehnici de histologie normală și patologică. Ed. Ceres, București.
31. SAGER R., 1989, Science, 246, 1406-1412.
32. SARNOW P., HO Y.S., WILLIAMS J., LEVINE A.J., 1982, Cell., 28, 387-394.
33. SCHNEIDERMAN H., FORDHAM E.W., GORENC C., Mc CALL A.R., ROSENBERG M.S., ROZEK S., 1984, Conc Journ For Clinicians, 34, 2, 10-117
34. SCHON A., MICHIELS L., JANOWSKI M., MERREGAERT J., ERFLE V., 1986, Int. J. Cancer, 38, 67-74.
35. SLOOTWEG P.J., MULLER N., 1985, J. Max. Fac. Surg., 134, 158-166.
36. STEINMAYER K., DEPPERT W., 1988, Oncogene, 3, 501-505.
37. TOGUCHIDA J., ISHIZAKI K., NAKAMURA Y., SASAKI M.S., IKENAGA M., KATO M., SUGIMOTO M., KOTOURA Y., YAMAMURO T., 1989, Cancer Res., 49, 6247-6251.
38. VARNA AL., 1982, Bolile osoase ale copilului. Ed. Medicală, București.
39. YANO T., LINEHAN M., ANGLARD P., LERMAN M.I., DANIEL L.N., STEIN C.A., ROBERTSON C.N., La ROCCA R., ZABAR B., 1989, J. Natl. Cancer Inst., 81, 518-523.
40. YOKOTA J., WADA M., SHIMOSATO Y., TERADA M., SUGIMURA T., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 9252-9256.

Primit în redacție la 19.IX.1994

Facultatea de Biologie București

## PUNȚI ANATOMICE INTERGONADICE LA BAËTIDAE (EPHEMEROPTERA, INSECTA)

ATANASIE SAFTOIU

According to classic description for both sexes, at Ephemeropteres the gonads are in pairs, clearly separated all over the body (glands, tubes, genital orifices).

Previous authors (J. A. Palmen, R. Codreanu) noted the existence of only one type of terminal anastomosis between deferent bonds at *Polymitarcis virgo* and *Rhithrogena semicolorata*. In the present work, anatomical communicating intergonad bridges at some species of Baëtidae are described.

Such intertesticular bridges are found in gonad abdominal zones, they have 25-100  $\mu$  and the gonads epithelium has anatomical-histological continuity at the ends of cleft communikheeting.

At Baëtidae ♀♂ (*Cloëon dipterum*) the medial-intern bridges between the two ovaries which are localized in the first third of the abdomen, had been particularly met at imago during the aerial stage.

A special alteration of the medio-dorsal ovary epithelium from abdominal region is met at some imago *Cloëon dipterum* females unfecundated, experimentaly, independent of or coexisting with such inter ovarian bunchg. The epitelium cells grow very much, the apical terminal pole develop lobular protuberance, citoplasm becomes more dense and the nuclea grow this activation may be attributed to a possible reabsortion of the vitellin material in the stagnant involute oocysts.

La ambele sexe, gonada Ephemeropterelor, prezintă o dispunere pereche în întreaga porțiune constitutivă: glande, conducte și orificii genitale. Ovarele conțin ovariole de tip panoistic.

J. A. Palmen (5) în 1884, semnalează pentru prima dată, o anastomoză ventrală, transversă, a canalelor deferente la *Polymitarcis virgo* (Subord. Ephemeroidea).

Radu Codreanu (1) în 1939 face descrierii anatomici similare, tot ale unor anastomoze între canalele deferente, la *Rhithrogena semicolorata* (Subord. Heptagenoidea), atât la nimfe normale, cât și la nimfe ectoparazitate de *Symbiocladius rhithrogenae* (Chironomidae). Acest ectoparazit poate produce castrație la Ephemeropterele gazdă, care începe prin reducerea taliei gonadelor. Însă anastomozarea canalelor deferente nu pare a fi tot efect al parazitării, ci, mai degrabă, o structură normală, mai des întâlnită la această specie.

Același autor a descris la ♀♂ de *Rhithrogena semicolorata* și o anastomoză a oviductelor terminale, care duce la formarea unei fante comune, homoloage unui receptacul seminal, situată înaintea orificiilor genitale externe.

Deci descrierile existente se referă numai la anastomoze ale căilor conducătoare terminale (canale deferente și oviducte) de la două specii din subordine, considerate mai primitive.

În lucrarea de față vor fi descrise punți intergonadice de la ambele sexe, precum și modificări ale epitelului dorso-median al tecii ovariene de la Baëtidae, considerate efemere superioare.

#### MATERIAL ȘI METODE

Ca material biologic am folosit larvonimfe, nimfe și stadii aeriene (subimago și imago) de: *Baëtis rhodani*, *B. vernus*, *B. carpaticus* și *Cloëon dipterum*. Unele din ♀ imago au fost surprinse în natură, în situații accidentale de izolare totală și deci în imposibilitate de a se înălța pentru zborul de roire, rămânând virgine. Alte ♀ imago, în special de *Cloëon dipterum* au fost ținute experimental în captivitate, separate de ♂. La astfel de ♀ imago au fost observate modificări histologice ale epitelului ovarian.

Fixările s-au făcut în Bouin (cu formol neutru) și Zenker, piesele au fost incluse în parafină, secționate la 5-8 μ grosime, iar colorările au fost: Hematoxilină-eritrozină, Bleu-Alcian, Paraldehidă-Fuxină.

#### REZULTATE

1-Punți anatomici intertesticulare au fost observate la unele larvonimfe și nimfe de Baëtidae torrenticole (*Baëtis rhodani*, *B. vernus* și *B. carpaticus*). Fantele sunt constituite din porțiuni comunicante, ale fețelor interne ale celor două gonade și au dimensiuni cuprinse între 25-100 μ (antero-posterior) și 20-30 μ (dorso-ventral). Prin ele, elementele seminale (spermatocite sau pachete de spermatozoizi maturi) trec dintr-o parte în cealaltă (fig. 1-4). Punțile sunt situate în prima treime a

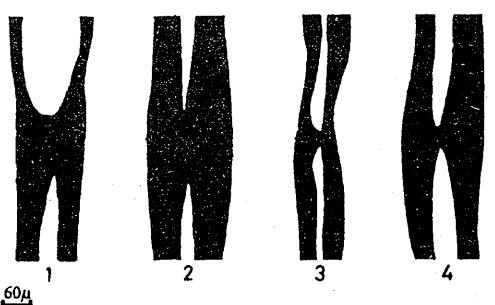


Fig. 1-Schema tipurilor de punți intertesticulare de la larvonimfe de Baëtidae.  
1-Nimfă incipientă de *Baëtis vernus*; 2-de *Baëtis rhodani*; 3-de *Baëtis carpaticus*, 4-Nimfă avansată de *Baëtis rhodani*.

traiectelor gonadice abdominale și nu sunt însotite și de alte anastomozări, în alte regiuni. Este exclusă posibilitatea unei anastomozări forțate prin alipire mecanică, gonadele fiind, în toate cazurile, suficient de distanțate între ele și nesupuse acum, unor presiuni.

Punțile intertesticulare sunt reprezentate deci de jonctiuni ale suprafețelor epiteliale interne ale gonadelor abdominale, realizate deplin din punct de vedere anatomo-histologic și se întâlnesc la un procent mic de larvonimfe de Baëtidae torrenticole, ele fiind mai degrabă excepții de la structura tipică.

2-Punți interovariene. La Ephemeroptere, o dată cu maturarea oocitelor, gonadele capătă o extensie considerabilă, la sfârșitul ultimului stadiu nimfal, devenind două voluminoase pachete alungite, coalescente pe fețele interne (R. Codreanu).

În torace, datorită acestor presiuni oocitare și a spațiului mic rămas printre mușchii alari, cele două ovare se juxtapun (fig. 5), ocupând astfel singura regiune

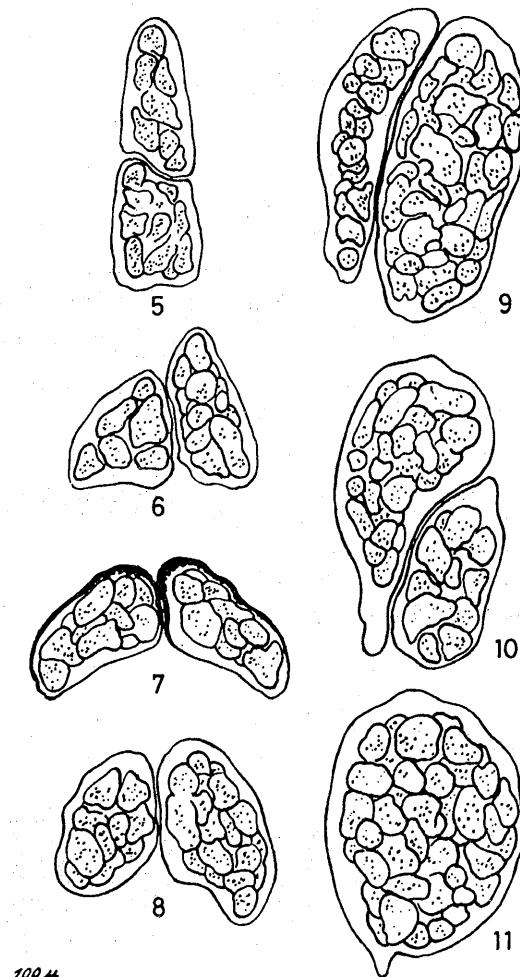


Fig. 2-Pozitia celor două ovare la imago ♀ de *Cloëon dipterum* la 10 zile de viață aeriанă.  
5-așezare juxtapusă din torace; 6, 7, 8,-așezare laterală simetrică în abdomenul inițial și mediu; 9, 10, 11-dispunere asimetrică în urma dilatarii unuia din cele două ovare, în abdomenul terminal.

restrânsă și disponibilă. În metatorace, sacii ovarieni tind să ocupe treptat o așezare simetrică, laterală, care se și realizează în cele din urmă în abdomen (fig. 6,7,8), rămânând în această dispunere pe un parcurs destul de întins. Apoi, în abdomenul terminal, unul din ovare, mult mărit, va ocupa treptat spațiul necesar, în defavoarea celuilalt (fig. 9,10,11).

Acste dispernări suprapuse și fluctuații volumetrice, ca și alipirea foarte strânsă pe planul median intern a celor două ovare, se datorează unor cauze pur mecanice: pe de o parte, presiunea ovariană, internă, crescândă, provocată de maturarea ovariană, iar pe de altă parte, o presiune externă, exercitată de dezvoltarea musculaturii alare și de volumul de aer intestinal, cu rol aerostatic (la stadiile aeriene).

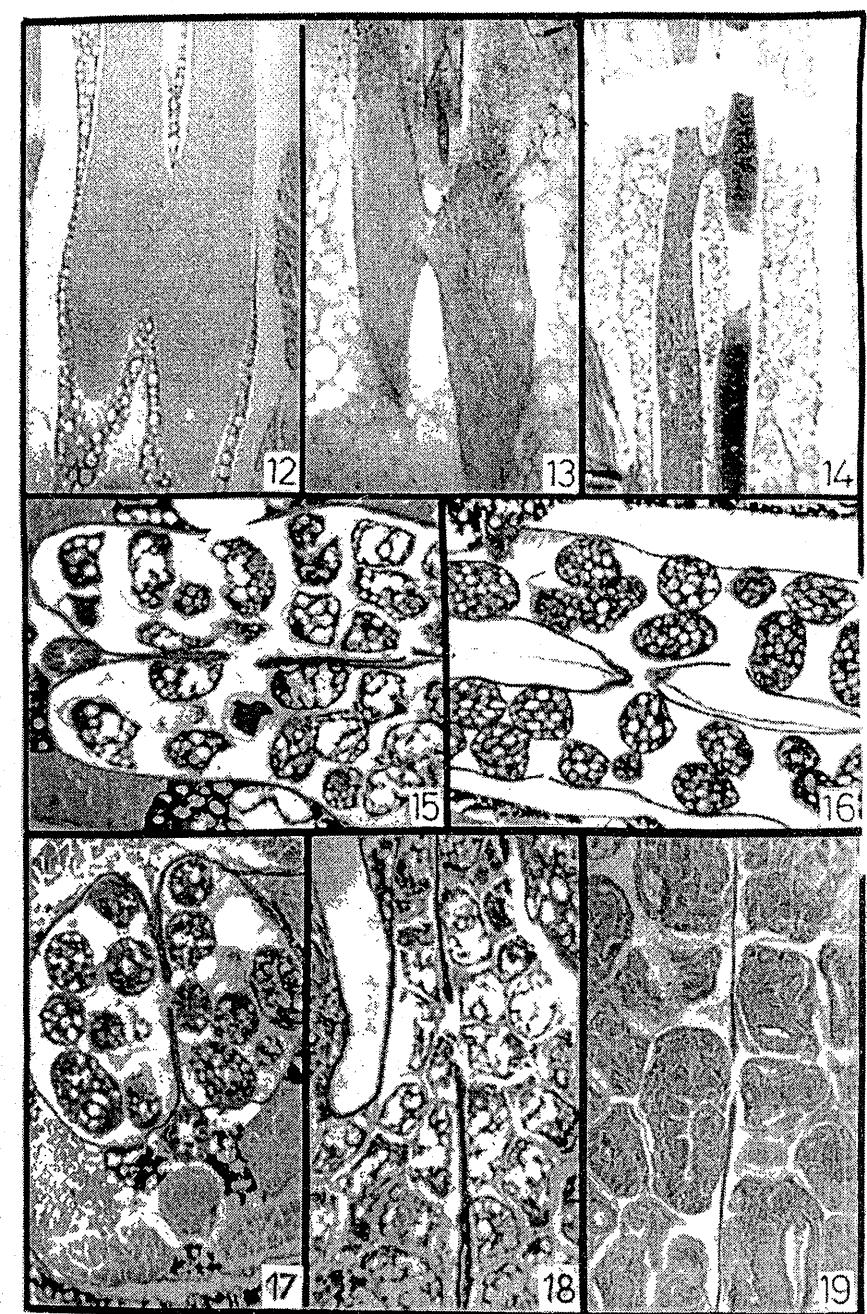
Pe acest fond al evoluțiilor ovariene, au fost observate la *Cloeon dipterum*, punțile de legătură între cele două gonade care, ca și la ♂, nu sunt suduri sau ruperi accidentale, ci deschideri comunicante veritabile, constituite deplin anatomo-histologic, care în unele cazuri, capătă complexări histologice aparte (fig. 7). Ele sunt fante alungite de dimensiuni mici (câteva zeci de microni), localizate în zonele mediane interne ale fețelor epitelialui ovarian din prima treime abdominală. Au fost întâlnite într-un număr mai mare decât punțile intertesticulare, la imago în diverse ipostaze, corelate strâns cu ciclul reproducător: imago recent eclozat, imago izolată și nefecundată, imago la începutul formării embrionilor în camerele incubatoare, sau cu embrionii deplin formați, aproape de depunere, la finele celor 21 de zile de viață aeriă.

Structura lor prezintă în toate cazurile, marginile epitelialilor ovarelor, reunite și cu continuitate anatomică netă (fig. 15, 18), iar în unele cazuri se pot observa oocite mature sau embrioni care ocupă lumenul fantei, traversând-o (fig. 15, 19).

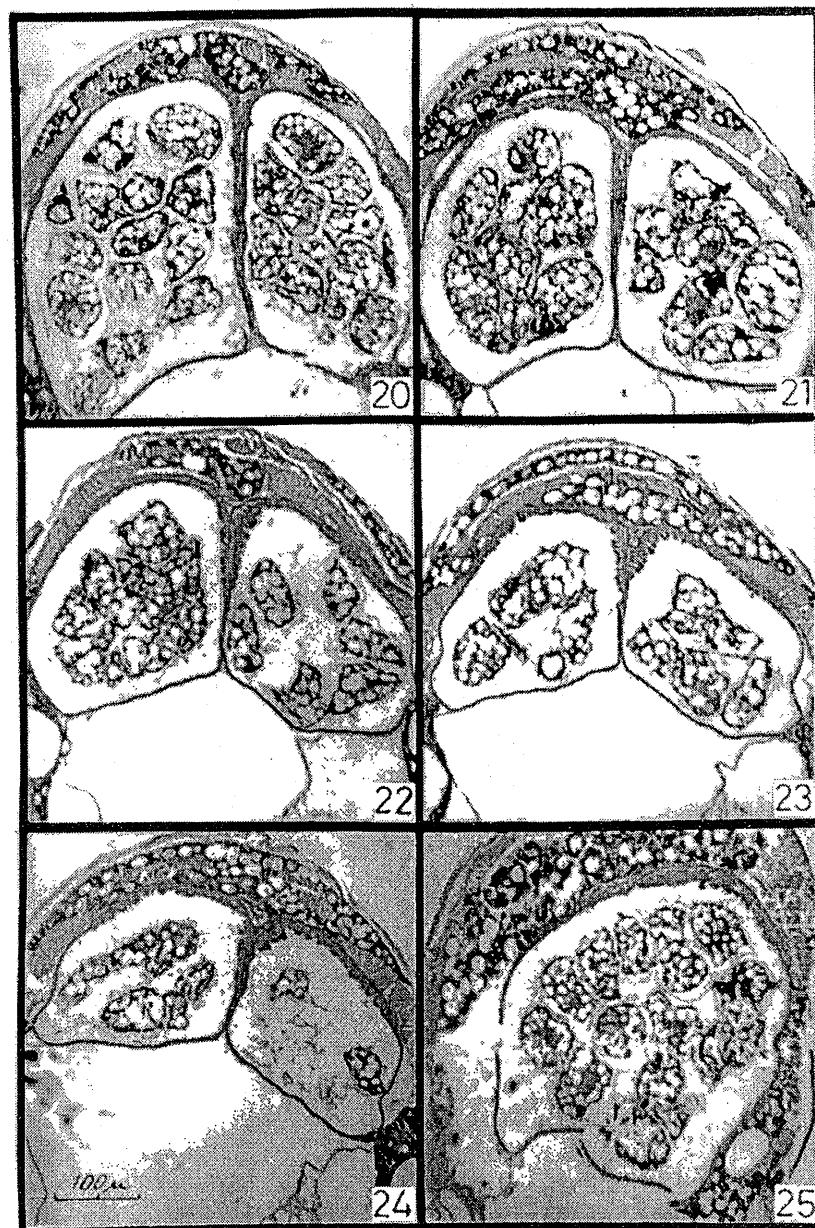
**3-Modificări ale epitelialului ovarian.** La femelele imago de *Cloeon dipterum* ținute în captivitate fără ♂, s-a observat o structurare aparte a epitelialului dorsal și median al ambelor ovare, pe toată întinderea lor abdominală. Se produce în aceste cazuri, o îngroșare netă a stratului epitelial, datorită măririi volumului celulelor, care însă nu se pluristratifică, ci, mai degrabă constituie o masă sincițială, pereții celulelor fiind greu de distins (fig. 20-25). Polul apical al celulelor tecii ovariene formează protuberanțe alungite, care ating o înălțime considerabilă ( $5-6 \mu$ ) în regiunile mediane, la contactul celor două ovare, scăzând ca înălțime spre partea ventrală (fig. 22, 23, 24). Aceste celule epiteliale, în situații normale, la femelele fecundate, formează un epiteliu extrem de subțire, rolul lui reducându-se doar la acela de perete de protecție pentru ovocitele maturate sau pentru larvulele ajunse la momentul depunerii (fig. 18, 19).

Nucleii celulelor epitelialului ovarian sunt mari, refringenti și migrează spre polul apical, iar citoplasma este fin granulară și uniformă ca structură.

Simultan cu această modificare a epitelialului are loc o vacuolizare pronunțată a oocitelor mature și de partea cealaltă a epitelialului, o încărcare a țesutului gras, cu material glicoproteic cu afinități pentru Bleu-Alcian (fig. 20, 21, 24, 25.).



PL. (Fig.12-19) - Punți anatomici intergonadice la Baetidae 12, 13, 14 - legături intertesticulare de la larvonimfe de Baetis, 15, 16, 17, 18-diferite legături interovariene de la imago de *Cloeon dipterum*; 19-aceeași structură la imago în apropierea momentului depunerii larvulelor.



Pl.II (Fig. 20-25)-Desvoltarea epitelului ovarian la imago de *Cloeon dipterum* după 10 zile de la ecloziune, nefecundată (ținută experimental în captivitate) 20-21-îngroșare epitelială în zonele dorsale și mediană a celor două ovare din abdomenul anterior; 22, 23, 24-îngroșare masivă a epitelului dorso-median din abdomenul mediu; 25-continuitatea păturii epiteliale modificate, în ovarul asimetric din abdomenul terminal. Pentru toate secțiunile, fixările au fost făcute în Bouin colorările cu Bleu-Alcian, Paraldehidă-Fuxină. X 10/6, 3x.

## DISCUȚII

Punțile intergonadice semnalate în lucrare reprezintă structuri pe deplin formate anatomo-histologic, cu o frecvență însă destul de mică, față de tipul general de gonade duble, individualizate. Singura lor semnificație filogenetică nu poate fi decât reamintirea unor legături scalariforme, metamerice, dintre cele două gonade, ale unor grupe de Nevertebrate mai primitive.

În general, pe plan structural, Baetidae prezintă multe caractere evoluției, de tip Neopter și puține caracteristici de certă primitivitate. Punțile intergonadice descrise, capătă în acest context, o semnificație deosebită.

În ceea ce privește modificarea epitelului ovarian unistratificat, la ♀ de *Cloeon dipterum* nefecundate, singura explicație posibilă ar fi că aceste insecte au posibilitatea de a folosi prin reabsorbție, materialul vitelin din oocitele maturate, dar nefecundate și în acest fel își pot realimenta țesutul gras, cu rezerve necesare consumurilor energetice. Aceste posibilități histo-fiziologice anticipă mecanismele de la Neopterele cu viață aeriană lungă, cu alimentare activă și cu debutul unui nou ciclu de reproducere.

Pare deci paradoxal că la Baetidae poate fi semnalat, alături de un caracter de certă primitivitate: punțile anatomici intergonadice și fenomenul de reactivare a epitelului ovarian, dorso-median, simultan cu transferul materialului vitelin în țesutul gras, în încercarea de a prelungi viața imaginală.

## BIBLIOGRAFIE

1. CODREANU R., Arch. de zool. exp. et gen. Paris, T 81., Fasc. 1, p. 1-283, 1939.
2. DEGRANGE CH., Thèse, Grenoble, p. 1-113, 1960.
3. GRANDI M., Bull. Inst. Entomol. Bologna, vol. XXVII, p. 77-117, 1965.
4. GRANDI M., Bull. Inst. Entomol. Bologna, vol. XXVII, p. 119-125, 1965.
5. PALMEN T. A., "Über paarige ausführungsgänge der geschlechtsorgane bei insecten", Leipzig, Engelmann, p. 108, 1884.
6. SOLDAN T., Int. Conf. on Ephemeroptera, Poland, p. 23-28, 1975.

Primit în redacție la 6 iunie 1994

*Institutul de biologie  
al Academiei Române  
Splaiul Independenței 296*

EFFECTUL IONILOR DE MERCUR ASUPRA AMINOPEPTIDAZELOR  
DIN CREIER ȘI INTESTIN DE CARAS  
(*Carassius auratus gibelio*)

RADU MEŞTER, MARINA TAMARA NECHIFOR  
Facultatea de Biologie, Universitatea Bucureşti

This work is focusing on the biochemical study of alanine aminopeptidase (AAP) and leucine aminopeptidase (LAP) in the crucian carp brain and intestine. The electrophoretic patterns of AAP and LAP are identical and reveal the existence of three molecular forms in intestine and five molecular forms in brain. The determination of the aminopeptidases activities in the tissues exposed to a sublethal  $HgCl_2$  dose demonstrates the AAP and LAP inactivation both in brain and intestine.

**INTRODUCERE**

Aminopeptidazele ( $\alpha$  - aminoacil-peptid hidrolaze, EC 3.4.11) reprezintă o clasă de exopeptidaze care degradează substratele peptidice prin îndepărțarea secvențială a resturilor de aminoacizi de la capătul  $NH_2$ -terminal. Se cunosc mai multe tipuri de aminopeptidaze ce se deosebesc prin specificitatea cu care recunosc aminoacidul  $NH_2$ -terminal (Ala-, Arg-, Glu-, Leu-, Met-, Pro-aminopeptidaze). Aminopeptidazele au o distribuție largă, atât în țesuturile animale cât și vegetale, având o localizare celulară multiplă: în citosol, la nivelul unor organite (lizozomi, nuclei, mitocondrii) sau atașate de membrana plasmatică (1). Majoritatea aminopeptidazelor sunt zinc metalopeptidaze și sunt implicate în procese celulare importante, îndeplinind funcții de degradare și funcții reglatorii: maturarea proteinelor (2), digestia și degradarea intracelulară a proteinelor (3), reglarea nivelului hormonilor de natură peptidică (1), controlul acțiunii neurotransmițătorilor peptidici (4), determinarea stabilității și a timpului de viață a proteinelor (5).

În ultimii ani au fost intens investigate aminopeptidazele sistemului nervos, corelat cu rolul lor fiziologic. Aceste enzime realizează inactivarea neuropeptidelor eliberate la nivelul sinapselor (4,6,7). Din acest punct de vedere se consideră că neuropeptidazele acționează într-o manieră similară acetilcolinesterazei, la nivelul sinapselor colinergice (4). De asemenea, aminopeptidazele sunt implicate în dezvoltarea și regenerarea axonilor (8).

Lucrarea de față urmărește studiul electroforetic al alanin aminopeptidazei (AAP) și leucin aminopeptidazei (LAP) din creier și intestin de caras (*Carassius*

*auratus gibello*). De asemenea sunt prezentate rezultatele unui studiu *in vivo*, privind efectul ionilor de mercur asupra activității AAP și LAP, pornind de la următoarele aspecte:

Metalele grele sunt cei mai bine cunoscuți agenți poluanți ai mediului acvatic (9). Ele au tendința de a se acumula în ţesuturile peștilor, exercitând o puternică acțiune neurotoxică (10). Astfel, mercurul poate exista în mediul acvatic sub forma a trei stări de oxidare:  $Hg^0$ ,  $Hg^{+1}$  și  $Hg^{+2}$ . Compușii anorganici cu mercur pot genera compuși organici prin procese de metilare microbiană. Astfel, clorura mercurică formează compuși de metil mercur ( $CH_3\text{-Hg-R}$ ). Acești compuși traversează bariera hemato-encefalică și din cauza caracterului lipofil tend să se acumuleze în ţesutul nervos, acționând ca neurotoxine.

#### MATERIALE ȘI METODE

**Materialul biologic.** Experimentele au fost realizate pe creier și intestin de caras (*Carassius auratus gibello*), material procurat de la Stațiunea piscicolă Nucet, județul Dâmbovița.

**Condițiile de toxicare.** Carașii vii au fost cantonați timp de 8 zile într-un acvariu cu o capacitate de 30 l, în prezența unei doze subletale de  $HgCl_2$  ( $1\mu\text{g/l}$ ).

**Obținerea omogenatelor de creier și intestin.** Omogenatele au fost realizate cu omogenizatorul Potter, utilizând un raport ţesut/mediu de omogenizare 1:10 (g/v). Ca mediu de omogenizare s-a folosit o soluție tampon fosfat de sodiu 0,025M,  $pH=7,2$ , în prezența de Triton X-100 0,1 %. După o extracție la  $4^\circ\text{C}$  timp de o oră, omogenatele au fost centrifugate 15 min la 8.000xg. Supernatantul rezultat a fost utilizat pentru studiul electroforetic și în vederea determinării activităților enzimatici.

**Dozarea activității enzimatici.** Activitatea enzimatică a LAP a fost determinată prin tehnica descrisă de Lee și colab. (1971) (11), utilizând ca substrat L-leucil-β-naftilamida. Într-o cuvă spectrofotometrică se pipetează 0,9 ml tampon fosfat de sodiu 0,025M,  $pH = 7,2$  conținând 0,2-2,5 μmol L-leucil-β-naftilamidă. Cuvă se echilibrează la  $25^\circ\text{C}$ . La timpul 0 se adaugă 0,2 ml preparat enzimatic. Se înregistrează modificarea densității optice la 340 nm pe parcursul a 5 minute. O unitate de activitate enzimatică eliberează 1 nmol β-naftilamină/min/ml preparat enzimatic ( $\epsilon = 1,78 \times 10^3$ ). Pentru dozarea activității AAP s-a folosit aceeași metodă utilizând ca substrat L-alanil-β-naftilamida.

**Determinarea concentrației proteice.** Concentrația proteică a fost determinată prin metoda Lowry și colab. (1951) (12), folosind ca standard albumina serică bovină.

**Studiul electroforetic.** S-a utilizat metoda disc electroforezei în gel de poliacrilamidă 7,5%, la o intensitate a curentului de 3 mA/tub. Evidențierea benzilor proteice s-a realizat prin colorare cu Amido black 10B 0,5%, preparat într-un amestec acid acetic:metanol:apă distilată (1:5:5). Evidențierea benzilor cu activitate enzimatică s-a realizat prin incubarea gelurilor timp de 3 ore la  $37^\circ\text{C}$ , în următorul mediu de reacție: 10 mg substrat (L-leucil-β-naftilamidă, respectiv L-alanil-β-naftilamidă), 50 mg  $MgCl_2$ , 20 mg Fast Blue BB, 15 ml apă distilată, 15 ml soluție tampon fosfat de sodiu 0,025M,  $pH = 7,2$ .

#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

##### I STUDIUL ELECTROFORETIC

În extractul de intestin, analiza electroforetică a evidențiat 8 benzi proteice, dintre care 3, cu migrare lentă, prezintă activitate LAP și AAP (Fig. 1). De subliniat este faptul că există o suprapunere perfectă a modelelor electroforetice ale LAP și AAP în intestin atât în ceea ce privește poziția, cât și intensitatea benzilor cu activitate enzimatică: 2 benzi cu activitate enzimatică foarte intensă și o bandă cu poziție intermediară cu activitate enzimatică slabă (AAP) și foarte slabă (LAP). Această suprapunere a modelelor electroforetice poate fi determinată de faptul că atât LAP, cât și AAP nu acționează numai asupra substratelor specifice, ci pot cliva și alți aminoacizi din poziție  $NH_2$  terminală.

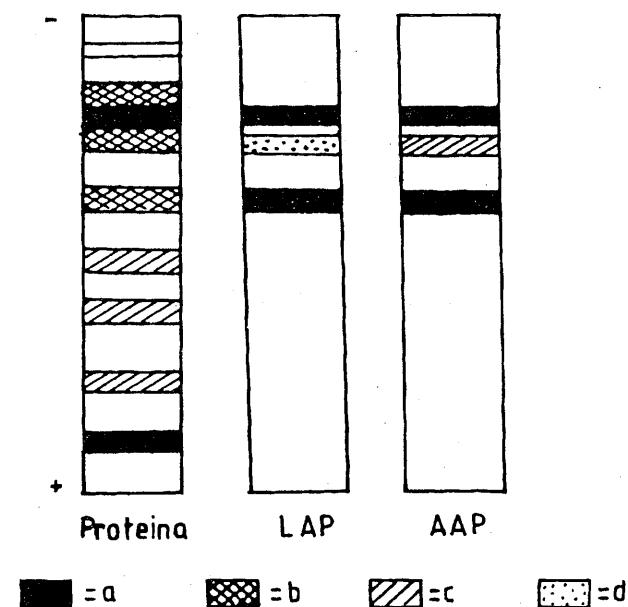


Fig. 1 - Modelul electroforetic al LAP și AAP din intestin de caras; Legendă: a - foarte intens, b - intens, c - mediu, d - slab.

În cazul extractului de creier au fost evidențiate 5 benzi proteice. În creier, de asemenea, modelele electroforetice ale LAP și AAP sunt identice, evidențindu-se 5 benzi cu activitate enzimatică: 2 benzi cu activitate intensă și migrare lentă și 3 benzi cu activitate medie, dintre care una cu migrare foarte rapidă (Fig. 2). Numărul mare de forme moleculare cu funcție aminopeptidasică din creier este în acord cu datele din literatură (4,6,13,14) și poate fi corelat cu complexitatea proceselor în care intervin neuropeptidele: inactivarea prin degradarea unei mari

varietăți de neuropeptide eliberate la nivelul sinapselor, rol de protecție în membrana celulelor Schwann, precum și dezvoltarea și regenerarea axonilor.

Pentru a evita posibilitatea apariției unor artefacte determinate de diazotarea unor resturi de aminoacizi aromatici din structurile proteice în cursul procesului de evidențiere a benzilor cu activitate enzimatică, am efectuat probe martor în care gelurile au fost incubate într-un mediu conținând sarea de diazoniu, dar în absența substratului. În gelurile utilizate ca martor nu a fost evidențiată nici o bandă electroforetică.

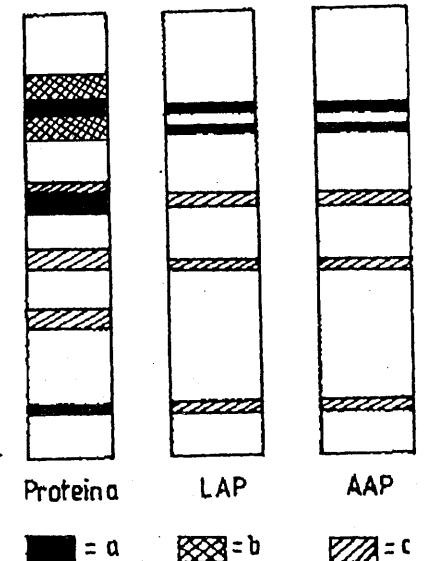


Fig. 2 - Modelul electroforetic al LAP și AAP din creier de caras; Legendă: a - foarte intens, b - intens, c - mediu.

## II. STUDIUL IN VIVO AL EFECTULUI IONILOR DE MERCUR ASUPRA ACTIVITĂȚII LAP ȘI AAP

Efectul ionilor de mercur asupra activității AAP și LAP din creier și intestin s-a realizat pe țesuturi prelevate de la carașii vii, intoxicați cu o doză subletală de clorură mercurică conform modului prezentat anterior.

Rezultatele redate în tabelul 1 relevă inactivarea aminopeptidazelor atât în creier, cât și în intestin. Astfel, în creier se constată o inactivare marcantă a AAP și LAP. Comparativ cu determinările efectuate pe un lot martor, la pești intoxicați a fost regăsită o activitate LAP de 3,52 ori mai mică (activitate enzimatică remanentă 28,44%) și o activitate AAP de 2,11 ori mai mică (activitate enzimatică remanentă 47,45%). Activitatea aminopeptidazelor din intestin este de asemenea modificată, dar într-o măsură mai mică, factorul de inactivare pentru LAP fiind 1,21 (activitate enzimatică remanentă 82,57%), iar pentru AAP de 1,13 (activitate enzimatică remanentă 88,46%).

**Tabelul 1**  
Modificarea activității enzimaticce a LAP și AAP sub influența ionilor de mercur

	Lot martor AS <sup>a</sup>	Lot intoxicație AS <sup>a</sup>	Factor de inactivare	AE remanentă <sup>b</sup>
Creier				
LAP	6,24	1,77	3,52	28,44
AAP	9,36	4,44	2,11	47,45
Intestin				
LAP	5,90	4,87	1,21	82,57
AAP	2,05	1,81	1,13	88,46

<sup>a)</sup> Activitatea enzimatică specifică exprimată în nmoli β naftilamină/min/mg proteină.

<sup>b)</sup> Activitatea enzimatică remanentă exprimată în procente.

Efectele toxice ale mercurului și derivaților săi constau în interacții puternice cu grupările R-SH și R-S-S-R. Legarea mercurului la grupările fosfat, cisteinil, histidinil produce modificări structurale ale proteinelor și inactivarea enzimelor prin blocarea grupărilor sulfhidril sau îndepărțarea zincului. În concentrații subletale mercurul determină leziuni structurale, fiziologice și biochimice ale sistemului nervos. Studii *in vivo* au demonstrat că HgCl<sub>2</sub> modifică activitatea pompei Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> cu activitate ATP-azică la *Notopterus notopterus* (16).

Rezultatele noastre sunt în acord cu cele din literatură. Astfel, van Wart și Lin (1981) (15) au demonstrat că substituirea Zn<sup>2+</sup> din structura LAP din rinichi de porc cu Hg<sup>2+</sup> determină inactivarea enzimei. Rezultatele noastre corelate cu alterările morfologice profunde ale sistemului nervos induse de scăderea activității acestor enzime sugerează implicarea aminopeptidazelor din creier în transferul informației în celule și în stabilirea unor interacții cu matricea extracelulară.

## BIBLIOGRAFIE

1. Taylor A. (1993) Aminopeptidases: structure and function. *FASEB J.* **296**, 290-298.
2. Moerschell R.P., Hosokawa Y., Tsunawa S., Sherman F. (1990) The specificities of yeast methionine aminopeptidase and acetylation of amino-terminal methionine *in vivo*. *J.Biol.Chem.* **265**, 19638-19643.
3. Botbol V., Scomik O.A. (1991) Measurement of instant rates of protein degradation in the livers of intact mice by the accumulation of bestatin-induced peptides. *J.Biol.Chem.* **266**, 2151-2157.
4. Turner A.J. (1993) Membrane peptidases of the nervous and immune systems. *Advances in Neuroimmunology* **3**, 163-170.
5. Bachmair A., Finley D., Varshavsky A. (1986) *In vivo* half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* **234**, 179-186.
6. Schnabel R., Bernstein H.-G., Lappa H., Lojda Z., Barth A. (1992) Aminopeptidase in the circumventricular organs of the mouse brain: A histochemical study. *Neuroscience* **47**, 431-438.

7. Yokosawa H. (1993) Membrane-bound proteases involved in neuropeptide degradation in brain. *Yakugaku Zasshi* **113**, 504-514.
8. Kenny A.J., Bourne A. (1991) Cellular reorganization of membrane peptidase in Wallerian degeneration of pig peripheral nerve. *J.Neurocytol.* **20**, 875-885.
9. Bryan G.W. (1984) Pollution due to heavy metals and their compounds. In: *Marine Ecology* vol.5, pp.1289-1431, John Wiley and Sons, New York.
10. Clarkson T.W. (1986) Effects—general principles underlying the toxic action of metals. In: *Handbook on the Toxicology of Metals* vol.1, pp.128-148, Elsevier, Amsterdam.
11. Lee H.-J., LaRue J.N., Wilson I.B. (1971) A simple spectrophotometric assay for Amino Acyl Arylamidases (Naphthylamidases, Aminopeptidases). *Anal. Biochem.* **41**, 307-401.
12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol.Chem.* **193**, 265-275.
13. Hersh L.B. (1981) Solubilization and characterization of two rat brain membrane-bound aminopeptidases active on Met-enkephalin. *Biochemistry* **20**, 2345-2349.
14. Mantle D. (1992) Comparison of soluble aminopeptidases in human cerebral cortex, skeletal muscle and kidney tissue. *Clin.Chim.Acta* **207**, 107-118.
15. van Wart H.E., Lin S.H. (1981) Metal binding stoichiometry and mechanism of metal ion modulation of the activity of porcine kidney leucine aminopeptidase. *Biochemistry* **20**, 5682-5689.
16. Verma S.R., Jain M., Tonk I.P. (1983) *In vivo* effects of mercuric chloride on tissue ATP-ases of *Notopterus notopterus*. *Toxicol.Lett* **16**, 303-309.

Primit în redacție la 4.X.1994

Universitatea din București  
Facultatea de Biologie

## MODIFICĂRI ALE ACTIVITĂȚII FOSFATAZEI ACIDE ÎN PANCREASUL ENDOCRIN AL ȘOARECILOR CU DIABET ALOXANIC

ANA GEORGESCU și IOANA TRANDABURU

Histochemical studies were performed in mice after treatment with single dose of alloxatin (100 mg alloxatin /kg weight) and correlated with level of blood glucose as well as with blood acid phosphatase activity and with acid phosphatase activity in homogenates of mouse pancreas.

Alloxatin administration recorded marked blood glucose elevations (202.3 glucose mg %) and moderate increase of AcPase activity in the blood (19.5%), 72 h after injection. Alloxatin produced 44.7 per cent inhibition of AcPase activity in homogenates of pancreas. By light microscopical observations reaction product was found in the area corespond to the B-cells.

Histochemical, alloxatin treatment led to a significant decrease of acPase activity in mouse islet tissue.

Nenumărate investigații citologice au evidențiat o activitate fosfatazică acidă în membranele și corpurile intracelulare implicate în procesele de sinteză ori de secreție (2), (23), (29).

Astfel, cercetările citochimice privind distribuția enzimei (4), (21), (24), cât și determinările biochimice din fracțiunile celulare (20), (22) au identificat fosfataza acidă în lizozomi, complexul Golgi și granulele secretoare ale diferitelor țesuturi (1), (6) și organe cum sunt: rinichi (15), ficat (7), (17), (18) intestin (18), plămâni (23), inimă (28), (29), pancreas (2), (21), (24). Potrivit acestor studii, fosfataza acidă participă atât la apărarea celulei – fiind considerată un marker lizozomal (21), (23), cât și degradarea glucidelor în compuși intermediari datorită capacitații de a schimba molecula substratului glucidic (6).

Relativ puțin studiată în pancreasul endocrin, activitatea fosfatazei acide suferă modificări care au fost evidențiate prin metode citochimice sau biochimice atât la animalele fiziologic normale cât și la animalele supuse unor tratamente cu diferenți agenți chimici (6), (8), (23). Totuși, până în prezent, aceste variații ale activității enzimei din insulele Langerhans ale animalelor normale sau cu disfuncții metabolice și diverse boli nu au fost analizate prin metode citochimice simultan cu cele biochimice.

Lucrarea de față își propune să studieze modificările activității fosfatazei acide din pancreasul endocrin al șoarecilor diabetici, prin corelarea datelor citochimice și biochimice.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 47, nr. 1, p. 37 – 42, București, 1995

### MATERIAL ȘI METODĂ

Experimentul a fost efectuat pe două loturi de șoareci din rasa B-2, adulți de ambele sexe, în greutate medie de  $23g \pm 0.3$  g, proveniți din biobaza Institutului de Biologie - București.

Inducerea diabetului s-a realizat la un număr de 23 indivizi prin injectarea intraperitoneală a dozei unice de 100mg aloxatin pH = 4.5 (Serva - Feinbiochemica - GmbH Co)/kg greutate corporală. Lotul format din 13 indivizi injectați cu 1 ml ser salin 9%/individ a fost considerat ca martor. Animalele nu au avut acces la hrană cu 20 ore înainte de tratament, iar la 2 ore după injectare și pe toată durata experimentului au primit hrană și apă *ad libitum*.

Instalarea diabetului s-a stabilit prin dozarea glucozei din sângele total – metoda cu ortotoluidină (9) – recoltat prin decapitarea animalelor după 72 ore de la începerea experimentului. Valorile glicemiei au fost exprimate în mg glucoză/100 ml sânge total.

Pentru determinarea biochimică a activității fosfatazei acide s-au prelevat fragmente de pancreas în 0.2 M tampon Tris – HCl pH = 7.4, în proporție de 1:1. Omogenizarea s-a efectuat la rece, în timp de 20 minute, la 7000 rot./min. Atât extractul de pancreas cât și probele de sânge au fost utilizate pentru dozarea enzimei – metoda Bodansky modificată (3), folosind ca substrat de incubare la o temperatură de 35°, timp de o oră, β - glicerofosfatul de sodiu 1% în tampon citrat pH = 5.9. Evaluarea rezultatelor în banda de 720 nm a fost exprimată în μmoli Pi/min./gr. proteină - pentru omogenat și μmoli Pi/min./litru - pentru sânge.

Activitatea histochemicală a activității fosfatazei acide (Ac-Pasă) s-a evidențiat cu ajutorul metodei Gomori (10). Fragmente de pancreas, fixate 1 oră în formol-calciu la 4°C și apoi congelate la -20°C, au fost secționate la 12 μ cu ajutorul unui criotom Slee. După colodinare secțiunile au fost incubate 20 ore, la temperatura de 37°C, într-un mediu de incubare (10), conținând ca substrat β - glicerofosfatul de sodiu 3%. Evidențierea activității enzimei a fost posibilă după tratarea secțiunilor cu sulfură de amoniu 2%.

### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Administrarea i. p. a aloxantinului a indus la un interval de 72 ore modificări evidente atât asupra glucozei din sânge (Fig. 1) cât și asupra activității fosfatazei acide din pancreasul endocrin (Fig. 2). Astfel, comparativ cu lotul martor (Fig. 1-I), glicemia șoareciilor care au primit o doză unică de aloxantin este semnificativ crescută ( $p < 0.01$ ) (Fig. 1-II), ceea ce indică instalarea diabetului aloxanic.

În aceste condiții, activitatea Ac-Pasei din sângele animalelor diabetice a înregistrat o creștere de 19.5% (Fig. 2BII), comparativ cu martorul (Fig. 2BI), valoare comparabilă cu cele obținute (22%-31%) de o serie de cercetători (1), (19), (26). Potrivit opiniei acestora modificările activității enzimei din serumul șobolanilor și al iepurilor cu diabet streptozotocinic ar putea fi expresia activării lizozomilor

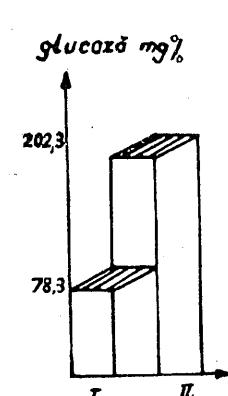


Fig. 1

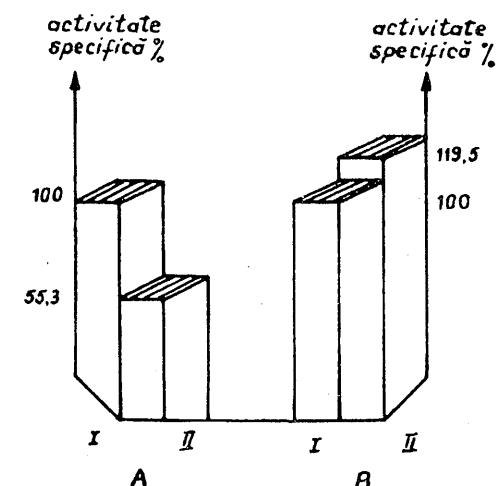


Fig. 2

Fig. 1 Valorile medii ale glicemiei:

I - lot martor

II - șoareci tratați cu doză unică de 100mg aloxantin/kg gr. corp.

Fig. 2 Fosfataza acidă - Valorile medii ale activității specifice din omogenatul pancreatic (Fig. 2A) și din sânge (Fig. 2B)

I - lot martor

II - șoareci tratați cu doză unică de 100mg aloxantin/kg gr. corp.

din celulele hepatice, renale, pancreaticice. Acestea conduc la o creștere a activității Ac-Pasei lizozomale implicată în apărarea celulară, cu posibilitatea eliberării parțiale a enzimei în sânge.

Rezultate asemănătoare au fost semnalate și în alte condiții experimentale la păsări cu hipervitaminoză D (14), la iepuri cu ateroscleroză (13), microangiopatie diabetică (13) și hipertensiune (27), cât și la șobolani cu diabet viral (5) și au fost interpretate tot ca manifestări ale Ac-Pasei lizozomale.

Spre deosebire de activitatea fosfatazei acide din sânge, în omogenatul pancreatic al șoareciilor aloxanizați s-a constatat o reducere a activității enzimei exprimată printr-un grad de inhibiție de 44.7% (Fig. 2AII), comparativ cu martorul (Fig. 2AI).

Biochimic, activitatea acid fosfatazei din omogenatul pancreatic a fost învestigată de un număr redus de cercetători. Gössner W. (11) și Hellman B.C. (12) au raportat scăderi ale activității enzimei cuprinse între 15-30% la un interval de 60 minute după administrarea intraperitoneală a dozei unice de 200 mg aloxan/kg greutate corporală, la șoareci de 7 zile și la șobolani adulți. Autorii sugerează că influența directă a aloxanului asupra enzimei este în primul rând de blocaj enzimatic, prin inactivare.

Rezultatele noastre sunt totuși comparabile cu datele menționate mai sus, dacă avem în vedere atât timpii diferiți de determinare a activității Ac-Pasei cât și doza administrată. Totodată, aceste rezultate pot fi corelate cu prezentele observații histochemicalice.

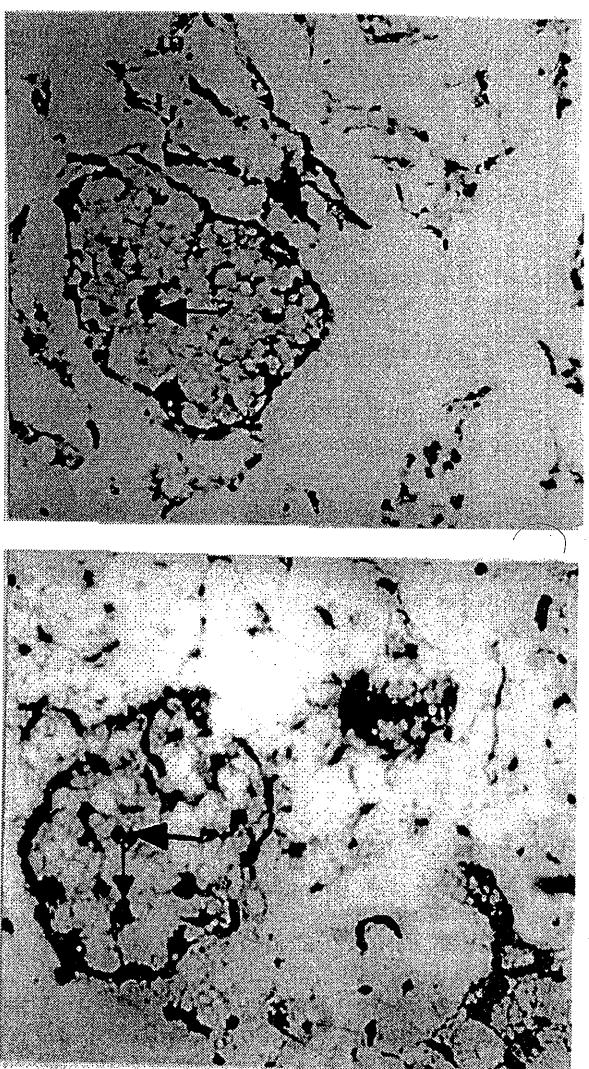


Fig. 3 Fig. 4

Fig. 3 Reacția histochimică a Ac-Pasei în zona centrală a insulei pancreatică (ce corespunde tipului de celule B) (→), de la șoarece netratat.

Fig. 4 Reacția histochimică a Ac-Pasei în insula pancreatică a unui șoarece tratat cu doză unică de 100 mg alloxantin/kg gr. corp.

Astfel, la indivizi aparținând lotului netratat, fosfataza acidă a fost localizată, predominant, în zona centrală a insulelor Langerhans, corespunzătoare tipului de celule B (Fig. 3). Aceeași distribuție citologică o întâlnim și la șoareci diabetici, însă în acest caz se constată o reducere accentuată a activității enzimei (Fig. 4).

O serie de cercetători (18), (19) consideră că scăderea activității Ac-Pasei în pancreasul endocrin se datorează procesului chimic de chelatare a aloxanului cu ionii metalici - asociații proteinelor citoplasmatic, ioni care reprezintă cofactorii enzimei. Acest proces are ca rezultat inhibiția parțială sau totală a activității fosfatazei acide.

Observațiile ultrastructurale asupra pancreasului endocrin de șobolani (2), (16) și de amfibieni (24) arată că Ac-Pasa este implicată în procesul de condensare a granulelor secretoare B. În condițiile administrației aloxanului, agresiunea acestuia asupra celulelor B este de distrugere a organitelor celulare și de scădere a numărului, volumului și suprafeței granulelor secretoare. Cercetătorii Chatterge A. K. și colab., Orci L. au constatat o reducere cu 40-50% a numărului de granule secretoare B, la 48 de ore de la injectarea citotoxicului. La 5-7 zile reducerea reprezintă 92% din totalul acestora, ceea ce evident conduce la scăderea activității enzimei.

În aceleși condiții experimentale la iepuri (4) și cobai (2) s-a constatat o reducere a activității Ac-Pasei cu 60-80% la numai 18 ore după administrația aloxanului sau streptozotocinului, urmată la 24 ore de o dispariție a activității enzimei.

Observațiile noastre histochimice privind atât distribuția Ac-Pasei (Fig. 3) cât și modificarea intensității reacției histochimice (Fig. 4) sunt asemănătoare cu cele descrise de alți cercetători (2), (4), (11), (12), (16), în cazul diabetului aloxanic și streptozotocinic. Gradul de inhibiție a activității fosfatazei acide din omogenat (Fig. 2AII) și intensitatea reacției histochimice (Fig. 4) se găsesc într-un raport invers proporțional atât cu modificările activității enzimei din sânge (Fig. 2BII) cât și cu cele ale glicemiei (Fig. III). Variațiile individuale ale șoarecilor cu diabet aloxanic arată că paralel cu creșterea concentrației glucozei și a Ac-Pasei din sânge scade activitatea enzimei din omogenat (Fig. 2AII), ceea ce concordă cu reducerea intensității reacției histochimice (Fig. 4).

Aceste observații apar explicabile dacă avem în vedere rolul atribuit fosfatazei acide din pancreasul endocrin atât în condensarea materialului granular secretor din celulele B (16), (24) cât și în apărarea celulară (5), (19).

Tabloul modificărilor activității enzimei obținute în pancreasul endocrin, în condițiile diabetului aloxanic, sugerează inhibarea acestei enzime care este într-un raport direct proporțional cu gradul de alterare a celulelor B.

## CONCLUZII

Pe baza rezultatelor, putem concluziona următoarele:

1. Diabetul aloxanic induce în pancreas creșteri semnificative ale activității Ac-Pasei din sânge și totodată reduceri accentuate ale activității enzimei, decelabile citochimic.
2. Diminuarea activității Ac-Pasei din pancreasul endocrin nu produce modificări ale distribuției acesteia, în raport cu diversele tipuri de celule endocrine.
3. Reducerea intensității reacției citochimice este strâns legată de alterarea celulelor B pancreatică.

## BIBLIOGRAFIE

1. BELFIORE F., LOVECCHIO L., NAPOLE, Clin. Chem., 19:447-452, 1981.
2. CHATTERGE A. K., MUHERJJE S. K., J. Exp. Biol. Indien, 19:228-230, 1981.
3. COMOROSAN S., MITRICA NATALIA, Biochem. Med. 219, 1962.
4. CONSTANCE OLIVER, J. Histochem. and Cytochem., 28:61-78, 1980.
5. CRAIGHEAD J. E., In the diabetic pancreas, 2nd ed. eds. B. W. Volk and E. R. Arquilla, Chap. 20, New-York, Plenum Press, 1985.
6. DARIE V., SERMAN M., St. cerc. biochim., 22:133-136, 1979.
7. DE JOUNG A. S. H. et colab., J. Histochem., 11:163, 1979b.
8. DULIN W. E., GERRITSEN G. C., CHANG A. Y., Diabetes mellitus, theory and practice 3rd, Chap. 18, New-York, Elsevier, 1983.
9. GHETIE STELA, TRIPCOVICI EMILIA, St. cerc. biochim., 2:183-190, 1964.
10. GOMORI G., Proc. Soc. Exp. Biol., 42:23-26, 1939.
11. GÖSSNER W., Verh. dt. Gen. Pathol., 42:125, 1969.
12. HELLMAN B. C., In Leibel B. S., Wrenshall G. A., On the nature and treatment of diabetes, 58-72, 1965.
13. HOFF H. F., Histochem., 23:244-253, 1970.
14. KAHN S. G., SLOCUM A., Am. J. Physiol., 213:367-372, 1984.
15. MILLER F., PALADE G., J. Cell Biol., 23, 1964.
16. ORCI L., Diabetes, 31:538-561, 1982.
17. PINO R. M., PINO C. LINDA, BANKSTON P. W., J. Histochem. 29, 9:1061-1070, 1981.
18. ROBINSON J. M., KARNOVSKY M. J., J. Histochem. and Cytochem. 30, 30:1197-1208, 1983.
19. ROSENBLIT P. D., METZGER R. P., WICK A. N., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 145:244-248, 1978.
20. RUSSO J., Acta Physiol. Latine Amer., 20:74-76, 1970.
21. SCHNELL H. ANNIKA, SWENNE I., BORG L. A. H., Cell Tissue Res., 252:9-15, 1988.
22. SMITH JEANNE A., WAYNEFORTH H. B., J. Endocr., 47:167-176, 1970.
23. TATRAL E. et colab., Exp. Pathol., 28, 2: 111-118, 1985.
24. TRANDABURU T., Z. Microsk. Anat. Forsch., 2, 9:321-333, 1978.
25. VOLK B. W., Arquilla E. R., The diabetic pancreas 2nd, New-York, Plenum Press, 1985.
26. VOLK B. W., WELLMAN K. F., In diabetes mellitus, theory and practice, 3rd ed. eds. M. Ellenberg and Rifkin, Chap. 15, New-York, Elsevier, North Holland, 1983.
27. ZEMPLÉNYI T. et colab., Ann N. Y. Acad. Sci., 149:682-698, 1978.
28. WUTZEN I., LEWICKI Z., Mater. Med. Pol., 17:215-220, 1985.
29. YASUHIRO K., Med. Hiroshima Univ., 33:587-612, 1985.

Primit în redacție la 13.09.1994

Institutul de biologie București,  
Splaiul Independenței nr. 296

## REAȚIA FICATULUI LA ADMINISTRAREA DE TIROXINĂ ȘI DE TIOURACIL LA ȘOBOLAN

MARTA GABOS, RODICA GIURGEA și IOANA ROMAN

Administration of L-thyroxine (in a daily dose of 15 µg/100 g b. wt., during 3 days) and thyouracyl (3mg/100 g b. wt. in a single dose) + L-thyroxine (in same dose like in thyroxine group) in female adult Wistar rats induces modifications in the liver depending on the nature of treatment. Only in the thyroxine group are produced more significant modifications in the liver, than thyouracyl+thyroxine group.

Hormonii tiroidieni influențează toate compartimentele metabolice ale ficatului (6). Acțiunea acestor hormoni depinde însă de ontogenie, de doza administrată, de durata tratamentului, factori care au fost semnalati în literatura de specialitate (14) și de noi (3), (4).

Având în vedere că datele referitoare la reacția ficatului dependent de funcția tiroidiană, deși sunt numeroase, sunt contradictorii, în această lucrare am urmărit efectele numai ale tiroxinei sau ale unui inhibitor tiroidian (tiouracil) + tiroxină asupra unor parametri biochimici hepatici.

### MATERIALE ȘI METODE

Experiențele au fost efectuate pe șobolani femeli, adulți, Wistar, în greutate medie de 150±10gr. Animalele au fost crescute în condiții zootigienice corespunzătoare, hrana și apa fiind administrate *ad libitum*.

Şobolanii au fost grupați în următoarele loturi: *lot martor* (M), injectat cu un volum similar, loturilor tratate, de ser fiziologic; *lot tratat cu tiroxină* (Thyroxin Organon Belge S. A.) și *lot tratat cu tiouracil* (2-Thyouracylum puriss, Heidelberg) și *cu tiroxină*. Tiroxina s-a administrat zilnic, timp de 3 zile, în doză zilnică de 15 µg/100 g greutate corp, urmând ca în ziua a 4-a animalele să fie sacrificiate. Tiouracilul s-a administrat într-o singură doză, de 3mg/100 g greutate corp, apoi trei zile consecutiv s-a administrat tiroxina, în aceeași doză ca la lotul tratat numai cu tiroxină. În acest caz sacrificarea șobolanilor s-a făcut în ziua a 5-a. Ambele substanțe s-au administrat intramuscular.

Sacrificarea animalelor s-a făcut prin decapitare, după o inanire prealabilă de 16 ore. Imediat a fost recoltat ficatul, întotdeauna o porțiune din lobul drept, din care s-au dozat: proteinele totale (PT), (5), glicogenul (G), (7), azotul aminoacicilor liberi (NA), (9), acizii nucleici – ARN și ADN – (11) și activitatea transaminazelor GOT și GPT (10).

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 47, nr. 1, p. 43 – 45, București, 1995

Tabelul nr. 1

Modificări hepatice în urma tratamentului acut cu tiroxină (Tx) sau cu tiouracil+tiroxină (T<sub>μ</sub>Tx), la şobolanul Wistar

LOT:	M	Tx	T <sub>μ</sub> Tx
PT $\bar{x} \pm ES$ (mg%) D%	278,74±15,77	312,03±2,80 +11,94	577,70±56,20 +107,25
NA (mg/g)	1,33±0,22	2,19±0,18 +65,11	3,61±0,47 +171,50
G (mg/g)	0,84±0,14	0,31±0,07 -63,09	1,60±0,38 +91,19
ARN (mg/g)	0,65±0,06	0,48±0,08 -26,82	0,69±0,22 +6,40
ADN (mg/g)	1,14±0,18	1,90±0,14 +65,50	1,39±0,12 +21,77
GPT (unități gama ac. piruvic/mg)	7567,13±2371,51	1792,58±128,66 -76,31	689,47±100,86 +90,88
GOT (unități gama ac. piruvic/mg)	7535,84±1972,66	2087,61±186,22 -72,29	4241,43±888,98 -43,71

Lotul martor este notat = M; diferențele semnificative statistic sunt subliniate. Restul explicațiilor în text.

Datele obținute au fost prelucrate statistic, prin testul „t” al lui Student. Valorile aberante au fost eliminate după criteriul Chauvenet. Semnificația statistică s-a considerat de la p=0,05. A fost calculată și diferența procentuală față de martor. (D%).

### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Efectele anabolice sau catabolice ale hormonilor tiroidieni sunt dependente de nivelul acestora din sânge, de starea funcțională a tiroidei (hipo- sau hiperfuncție). Administrarea de tiroxină, în tratament acut, şobolanilor maturi, femele, nu determină modificări biochimice, la nivel hepatic, care să fie exprimate printr-un catabolism proteic (Tabelul nr. 1). Din același tabel reiese că inhibarea inițială a funcției glandei tiroide, prin tiouracil și apoi administrarea de tiroxină, produce o creștere a conținutului de proteine și de aminoacizi liberi, fără a determina modificări în conținutul de acizi nucleici. Administrarea de tiroxină determină modificări hepatice mai numeroase la nivelul ficatului, decât tratamentul combinat. Un efect comun celor două tratamente este scăderea activității transaminazelor – GOT și GPT – fapt care a fost atribuit modificărilor de permeabilitate a membranelor hepatocitelor sau inhibării activității acestora. Această ultimă presupunere se bazează pe date anterioare care au arătat că hormonii tiroidieni determină inhibarea activității unor enzime care intervin în unele funcții de intersecție a căilor metabolice; enzimele hepatice sunt mult mai labile decât în alte organe (1). Un alt aspect, bine cunoscut, este că țesutul hepatic poate degrada hormonii tiroidieni, prin microzomi, determinând formarea de radicali fenoxidici (8). Creșterea cantității de ADN din ficat, în urma tratamentului acut cu tiroxină, se datorează stimulării activității dehidrogenazelor din ciclul pentozofosforic, care vor oferi pentozele necesare sintezei de acizi nucleici (12). În același timp, scăderea conținutului de glicogen

poate fi o dovadă a inițierii sintezei acizilor nucleici și a proteinelor, acesta fiind utilizat ca material energetic, pentru aceste sinteze. La toate aceste modificări se adaugă nivelul crescut al aminoacizilor liberi totali din ficat, aminoacizi implicați în sintezele de proteine.

Am arătat anterior că modificările metabolice hepatice, în urma administrării de hormoni tiroidieni sau de anti-tiroidieni, depind de dezvoltarea ontogenetică (3), (4). Această dependență ontogenetică se datorează prezenței la nivelul ficatului a receptorilor nucleari, pentru acești hormoni (2), dar și a faptului că la şobolan glanda tiroidă devine hipofizo-dependență la o vîrstă Tânără, când încă maturitatea neuro-endocrină nu a fost atinsă (13).

Un alt aspect, care nu trebuie neglijat, se referă la faptul că hormonii tiroidieni pe lângă acțiunile directe pe ficat pot influența și funcția glandei suprarenale (14), care prin hormonii ce-i secreta afectează celula hepatică.

*În concluzie*, nivelul hormonilor tiroidieni din organismul şobolanului Wistar, adult, afectează parametrii biochimici hepatici. Efectele sunt mult mai accentuate în urma administrării de tiroxină, decât la tratamentul combinat, tiouracil +tiroxină. Sensul modificărilor hepatice, pentru ambele variante experimentale este spre anabolism.

### BIBLIOGRAFIE

1. AUGUSTINE E. C., HYMER W. C., Endocrinology, 10:225-228, 1978.
2. BERNAL J., DE GROOT J., *Mode of action of thyroid hormones*. In: *The thyroid gland*. (eds. VISSER M.), Raven Press, New-York, 1980, p. 123-143.
3. GABOS M., GIURGEA R., SZENTGYORGYI E., SOFALVI I., Cercetări de ontogeneză funcțională, 2:55-61, 1981 (volum xerografiat, Tipografia Agronomia Cluj-Napoca).
4. GABOS M., GIURGEA R., SZENTGYORGYI E., St. cerc. biol. seria biol. anim., 37:39-41, 1985.
5. GORNALL G. A., BARDAWILL G. J., DAVID M. M., J. Biol. Chem., 78:751-766, 1949.
6. MILCU ST., VAISLER L., COSTINER E., *Ficatul și hormonii*. Edit. Academiei, București, 1967.
7. MONTGOMERY R., Arch. Biochem. Biophys., 67:378-386, 1957.
8. NEGOESCU I., CONSTANTINESCU A., HELTIANU C., *Biochimia hormonilor tiroidieni*. Edit. Academiei, București, 1971.
9. RAC I., Casop. Likarum Cesk., 98:120-123, 1959.
10. REITMAN S., FRANKEL S., Amer. J. Clin. Pathol., 28:56-63, 1957.
11. SPIRIN A. S., Biochimia, 23:656-662, 1958.
12. TAMAS V., BOITOR I., *Hormonii și funcțiile lor biochimice*. Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1977.
13. THOMMES H. C., HYLKA V. W., Gen. Comp. Endocrinol., 34:193-197, 1978.
14. TROUT J. M., MASHALY M. M., SIEGEL S. H., Dev. Comp. Immunol., 12:331-346, 1988.

Primit în redacție la 23.09.1994

Universitatea „Babeș-Bolyai”  
Facultatea de Biologie-Geologie  
Clinicilor 5-7  
și  
Institutul de Cercetări Biologice  
Republicii 48, Cluj-Napoca

## ASPECTE HISTOCHIMICE ALE ATEROSCLEROZEI EXPERIMENTALE LA NIVELUL AORTEI TORACICE DE ȘOBOLAN

VICTORIA-DOINA SANDU, MARIA BORŞA, M. A. RUSU

The effect of intragastric administration of triglycerides + cholesterol + vitamine D<sub>2</sub> and metil thiouracil on some histochemical thoracic aortae parameters at the mature Wistar rats was investigated.

The obtained results after hiperlipidic diet treatment revealed an infiltration of lipidic droplets into intima, media and adventitia of aortae, and important changes in the enzyme homeostasis (alcalin phosphatase, ATP-aze, CyOx, SDH, LDH) of the aortae. Administration of Magnesium glutamo-gluconate prevents these changes induced by hyperlipidic diet and sugests a possible protective effect of this magnesium salt, which may restaured the altered lipid and bivalent cation metabolism.

Ateroscleroza este cea mai frecventă afecțiune din marele grup al bolilor degenerative cunoscute sub denumirea de arterioscleroză. Ateroscleroza este considerată de experții OMS, cea mai extinsă și cea mai persistentă endemie pe care a cunoscut-o omenirea și ucigașul numărul unu al omului secolului XX (1, 9).

Boala afectează arterele mari și mijlocii de tip elastic și muscular, dar în special aorta și ramurile ei principale. Ateroscleroza are un substrat morfologic, reprezentat de îngroșarea și indurarea peretelui arterial, cu reducerea progresivă a lumenului și pierderea elasticității, procese însoțite de tulburări hemodinamice, metabolice și tisulare în teritoriu de distribuție (9, 12). Leziunea „prototip” a aterosclerozei la diferite specii de animale și la om, este considerată „placa ateromatoasă” rezultată în urma depunerii focale, disseminate de lipide, glucide, elemente sanguine, țesut fibros și calciu în special în intima, dar și în medie și adventice (9, 10, 12, 17).

Etiologia bolii nu este încă elucidată. Este considerată o boală multifactorială, fiind asociată cu mai mulți factori de risc, un rol deosebit fiind atribuit factorului alimentar.

În acest context studiul nostru a vizat două aspecte: – inducerea unor leziuni aterosclerotice în aorta șobolanilor Wistar, prin administrarea unei diete hiperlipidice, potențate de blocantul tiroidian metiltiouracil și – efectele medicamentului românesc Glutamo-gluconat de magneziu (GGMg) în prevenirea sau atenuarea proceselor aterosclerotice, știut fiind că ionul de magneziu ( $Mg^{2+}$ ) are un rol foarte important în fiziologia celulară în condiții normale și de stres (5, 6, 8, 11, 15).

### MATERIAL ȘI METODE

Cercetările s-au efectuat pe şobolanii adulţi Wistar, masculi, întreţinuţi în condiţii standard de crescătorie şi organizaţi în 3 loturi:

- Lotul „M” - martor-alimentat cu hrana standard;
- Lotul „ATU” - tratat timp de 16 zile, după un model experimental descris de Testa și colab. (16), cu dietă aterogenă (AT)-hiperlipidică la care s-a adăugat metiltiouacil (U). Tratamentul a constat în administrarea intragastrică, prin gavaj, a 8 doze -deci tot a 2-a zi – a către 1 ml / animal dintr-o soluţie care conţinea: ulei vegetal alimentar în doză de 5 ml/Kg/zi, colesterol (p. a. Merk, RFG) în doză de 50 mg/Kg/zi, vitamina D<sub>2</sub> în doză de 10 mg/Kg/zi şi metiltiouacil (Serva, RFG) în doză de 50mg/Kg/zi
- Lotul „ATU+GGMg” – tratat identic cu lotul „ATU” primind însă concomitent şi o soluţie injectabilă de Glutamo-gluconat de magneziu, administrată intraperitoneal în doza de 100 mg/Kg/zi.

Tratamentele s-au efectuat dimineaţă între orele 8-9, când animalele erau „á jeûne”, iar hrana obişnuită li s-a administrat după 3-4 ore. Animalele au fost sacrificiate la 24 de ore de la terminarea tratamentelor, după o inanitare de 18 ore. S-au prelevat fragmente din aorta toracică, care au fost îngheţate rapid în azot lichid şi secţionate la criotom. Pe astfel de secţiuni (10 µ) am efectuat, prin tehnicile uzuale (13), reacţiile pentru evidenţierea conţinutului de lipide sudanofile şi a activităţii următoarelor enzime: fosfataza acidă, fosfataza alcalină, adenozin trifosfataza -Mg<sup>2+</sup> activată (ATP-aza), citocromoxidaza (CyOx), succinidehidrogenaza (SDH) şi lactatdehidrogenaza (LDH).

### REZULTATE

Aprecierea conţinutului de lipide sudanofile (Fig. 1, 2, 3) şi a activităţii enzimatic din peretele aortei şobolanilor martori („M”) şi trataţi („ATU” şi „ATU + GGMg”) s-a făcut în funcţie de intensitatea relativă a reacţiilor histo-chimice efectuate, la nivelul celor trei tunici: intima, media şi adventicea. Datele înregistrate au fost exprimate conform uzanţei în valori convenţionale şi înscrise în Tabelul nr. 1. Astfel, comparativ cu animalele de control (lot „M”); La lotul „ATU” am semnalat următoarele modificări: -creşterea conţinutului de lipide, sub forma unor picături mici aglomerate din loc în loc, în intima, media, dar mai ales în adventice, însotită de o uşoară îngroşare a intimei şi mediei; -inhibarea reacţiilor fosfatazei alcaline şi ATP-azei; intesificarea reacţiilor: CyOx, SDH şi în special a LDH în toate cele trei tunici; La lotul „ATU + GGMg”, atât conţinutul de lipide cât şi activitatea enzimelor studiate sunt de niveluri apropiate de cele înregistrate la animalele din lotul „M”. Doar în cazul reacţiei LDH, intensitatea acesteia depăşeşte pe cea de la martori fiind însă sub nivelul celei de la lotul „ATU”.

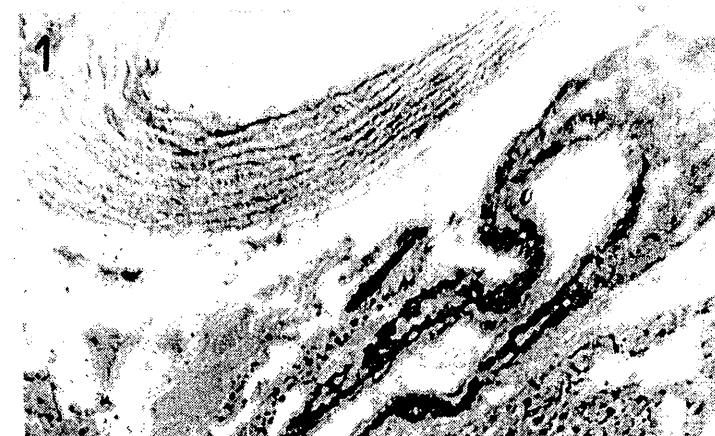


Fig. 1. – Distribuţia lipidelor sudanofile în aorta toracică a şobolanilor din lotul martor (lot „M”).



Fig. 2. – Creşterea conţinutului de lipide sudanofile în aorta şobolanilor trataţi cu dietă hiperlipidică şi metiltiouacil (lot „ATU”).

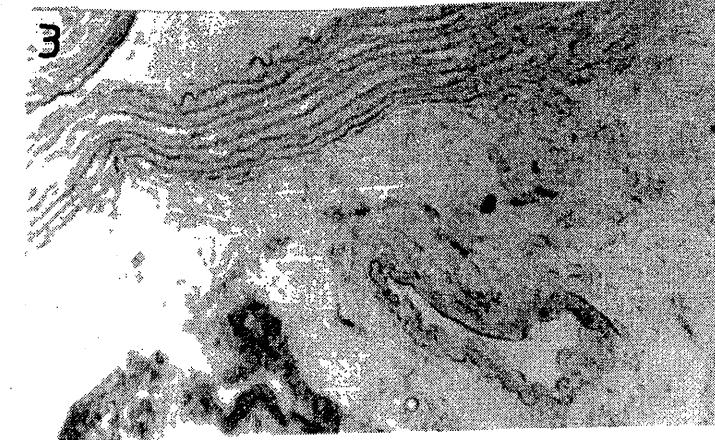


Fig. 3. – Conţinutul de lipide sudanofile în aorta şobolanilor trataţi cu dieta hiperlipidică + metiltiouacil şi cu Glutamо-gluconat de magneziu (lot „ATU + GGMg”).

*Tabelul nr. I*  
Conținutul de lipide sudanofile și activitatea enzimatică în aorta toracică a şobolanilor mariori (lot „M”) și tratați (loturile: „ATU” și „ATU+GGMg”)

Loturi	Indici histochimici	„M”			„ATU”			„ATU + GGMg”		
		intima	media	adventicea	intima	media	adventicea	intima	media	adventicea
LIPIDE SUDANOFILE	0,5	0,5	1	2	2,5	3	0,5	0,5	0,5	1
FOSFATAZĂ ACIDĂ	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5
FOSFATAZĂ ALCALINĂ	1	1,5	2,5	0,5	1	1,5	1	1,5	1,5	2,5
ATP-aza	1,5	2	3	0,5	1	2	1	1,5	1,5	3
CyOx	2	2,5	3,5	2,5	3	4,5	2	2,5	2,5	3,5
SDH	1,5	2	3	2	2,5	3,5	1,5	2	2	3
LDH	1	1,5	3	2,5	3	5	1,5	2	2	3,5

S-a notat cu: 0 = reacțiile negative; 0,5-1 = reacțiile slabе; 1,5-2,5 = reacțiile de intensitate moderată; 3 - 4= reacțiile intense; 4,5-5 = reacțiile foarte intense.

## DISCUȚII

Din analiza rezultatelor obținute reiese că dieta aterogenă asociată cu metiltiouracil nu a provocat în aorta toracică a şobolanilor o atheroscleroză tipică, cu formarea de plăci ateromatoase specifice acestei maladii. Totuși, îngroșarea peretelui arterial și depunerile de lipide în intima și medie la lotul „ATU”, deși sunt de mică anvergură le putem considera ca leziuni histopatologice incipiente ale procesului de atheroscleroză fapt consemnat și de alți autori care au experimentat pe iepuri (3, 4). Dealtfel, cercetări de înducere a fenomenelor de atheroscleroză la mai multe specii de animale ca: şobolan, iepure, porc, maimuță, pasăre, au dus la concluzia că şobolanul face în măsura cea mai redusă atheroscleroză. S-a reușit formarea de plăci ateromatoase aortice la şobolan numai în condițiile asocierii regimului alimentar aterogen cu antitiroïdiene puternice sau dacă s-a experimentat pe şobolani tiroidecomizați (9, 12).

Existența leziunilor incipiente de atheroscleroză în experimentul nostru este susținută și de modificarea homeostaziei enzimatică în peretele aortei, consecutiv administrării dietei hiperlipidice și metiltiouracilului, știut fiind că tulburările care apar în patologia cardio-vasculară și în mod particular în atheroscleroză sunt însoțite de afectarea unor sisteme enzimatică (4).

Astfel, dieta aterogenă a afectat activitatea enzimelor cu rol deosebit în transportul activ de substanță la nivelul membranelor celulare (fosfataza alcalină și ATP-aza), precum și activitatea enzimelor implicate atât în energoneza aerobă (CyOx, SDH) cât mai ales în cea anaerobă (LDH).

Reducerea generalizată a activității fosfatazei alcaline și ATP-azei la lotul „ATU” în peretele aortei mai ales în „vasa vasorum” semnifică inhibarea transportului activ de substanță la nivel membranar, care poate avea repercusiuni negative asupra troficității aortei.

În schimb, creșterea activității CyOx, SDH și LDH sugerează stimularea proceselor energogene atât aerobe cât mai ales a celor anaerobe și furnizarea unei cantități crescute de energie atât de necesară propulsării săngelui în cazul unor conducte rigide, întâlnite în atheroscleroză (17).

Remarcăm în mod deosebit că sub influența dietei hiperlipidice, asociată cu metiltiouracilul, activitatea LDH devine mult mai mare decât a enzimelor mitocondriale (CyOx și SDH), inversându-se situația de la martor.

Predominanța glicolizei anaerobe asupra altor mecanisme producătoare de energie este considerată ca principală deviere metabolică, atunci când încep să se dezvolte leziunile primare în fenomenele de atheroscleroză (17).

S-a arătat de asemenea că în stadiile premergătoare instalării leziunilor atherosclerotice are loc o deplasare și adeziune a monocitelor înspre peretii vaselor de sânge, urmată de migrarea lor în intimă și de acumularea de picături lipidice în citoplasmă, formând în final adevărate „depozite” de lipide în peretele aortei sau altor vase de sânge. (14).

Glutamo-gluconatul de magneziu administrat, în experimentul nostru, concomitent cu dieta hiperlipidică a împiedicat îngroșarea peretelui aortic și depunerea excesivă de lipide - favorizând probabil vehicularea și utilizarea lor în alte compartimente ale organismului-, precum și perturbarea activității enzimatică la acest nivel.

Se cunoște că Mg<sup>2+</sup> este factorul esențial al unui număr mare de enzime, este factorul indispensabil în sinteza și activitatea diversilor compuși macroergici, în

sinteza nicotinadeninnucleotidelor, flavinnucleotidelor, a coenzimei A, în sinteza proteinelor și lipidelor. Prin aceste acțiuni,  $Mg^{2+}$  apare ca un factor reglator fundamental al funcționalității celulelor, al metabolismului intermediar glucidic, lipidic și protidic (6, 8, 15).

$Mg^{2+}$  are un rol important în funcționarea și protecția miocardului în condiții de stres (6, 7, 8, 11), protejează de asemenea peretele vascular împotriva încărcării cu calciu și reduce alterările conjuctive, exercitând efecte vasodilatatoare directe musculotrope și indirekte antispastice. Deficiența ionului de Mg agravează cardiotoxicitatea catecolaminelor eliberate în urma stresurilor repetitive ale organismului (6).

Rezultatele studiului nostru îmbogătesc cunoștințele referitoare la efectele magneziului asupra organismului animal, sugerând rolul benefic al acestuia, respectiv al glutamo-gluconatului de magneziu-în profilaxia și atenuarea proceselor de tip atherosclerotic.

#### BIBLIOGRAFIE

1. ASSMANN G., *Lipid metabolism and Atherosclerosis*, F. K. Schatauer, Verlag G. mbH, Stuttgart, 1982;
2. BACIU I., *Fiziologie*, Ed. didactică și pedagogică, București, 1977;
3. BALTA N., DUMITRU M., RĂDULESCU M., Romanian J. Geront. Geriat., 6, 4, 265-271, 1957;
4. BALTA N., ORHA I., *Dinamica proceselor metabolice în atheroscleroză*, Edit. Acad. RSR, București, 1977;
5. CICOS V., ABRAHAM A. D., BORSA M., URAY Z., 8<sup>th</sup> Intern. Symp. on Drug Toxicity, Berlin, June, 6-10, p. 37, 1988;
6. CLASSEN H. C., FISCHER G., MARX J., SCHIMATSCHEC S., SEHMID C., STEIN C., Magnesium, 6, 34-39, 1987;
7. DAVIS N. T., Proc. Nutr. Soc., 33, 293-298, 1974;
8. DURLACH J., *Le magnesium en pratique clinique*, J. B. Baillière, Edit. Medicale Internat., Paris, 1985;
9. HÂNCU N., CUPARENCU B., DUȚU I., *Farmacoterapia Atherosclerozei*, Edit. Med., București, 1988;
10. HOVARD C. F., VESSELINOVICH J. D., WISSLER R. W., *Atherosclerosis*, 52/ I, 85-100, 1984;
11. MEISSNER D., Intern. Congr. on Magnesium Research, România, sept., 21-24, p. 25, 1989;
12. MORARIU I., *Anatomie patologică*, Edit. Med., București, 1980;
13. MUREȘAN E., GABOREANU M., BOGDAN A. T., BABA A. L., *Tehnici de histochimie normală și patologică*, Edit. Ceres, București, 1976;
14. ROGERS K. A., MORISS KARNOVSKI, Am. Journ. of Pathol., 133, 451-455, 1988;
15. RYAN M. P., Science, 234, 117-124, 1987;
16. TESTA R., CANESTRINI C., OLDANI C., J. Pharmac., 27, 699-700, 1975;
17. VELICAN C., VELIVAN D., *Etiopatogenia atherosclerozei*, Edit. Medic., București, 1981.

Primit în redacție la 8.08.1994

Disciplina HISTO-EMBRIOLOGIE  
Fac. de Biologie și Geologie  
Str. Clinicii, nr. 5-7  
și  
Institutul de Cercetări Biologice  
Str. Republicii nr. 48  
3400 Cluj-Napoca

#### EFFECTELE SELENIULUI ȘI ALE SELENIULUI + VITAMINA E ASUPRA HISTOLOGIEI INTESTINULUI SUBȚIRE ȘI ASUPRA UNOR PARAMETRI BIOCHIMICI SANGUINI LA PUII DE GĂINĂ, ÎN DIFERITE ETAPE ALE DEZVOLTĂRII ONTOGENETICE

VICTORIA-DOINA SANDU, RODICA GIURGEA și IOANA ROMAN

Cornish/Rock chickens, aged 5 or 21 days were treated with Selenium (0.2 mg/kg fooder), respectively Selenium+E vitamin (79.2 mg/kg fooder). The histological modifications of jejunum and of the biochemical parameters in blood are dependent on the age of chickens and on the duration of treatment.

Etiologia seleniului și a vitaminei E în organismul animal este deosebit de complexă, atât în deficit cât și în exces, datorită implicării acestora în procesele celulare anti-oxidative și de protecție a membranelor celulare (12), (20), (24).

Deficitul sau excesul acestor substanțe în organism afectează structura și funcția unor organe de importanță metabolică majoră, ca: ficatul (1), rinichii (16), miocardul, mușchii somatici, pancreasul, duodenul (22), oviductul (17). Modificări importante au fost semnalate și în serul sanguin, seleniul fiind oligoelementul legat de proteinele plasmatice în timpul sintezei proteice (2), iar împreună cu vitamina E intervine în sinteza de IgG și IgM (8), (15).

În acest context noi am efectuat un studiu complex privind efectele suplimentării furajului cu seleniu și seleniu + vitamina E asupra organismului puiului de găină, din care în lucrarea de față prezentăm doar rezultatele referitoare la acțiunea acestora asupra histologiei jejunului, organ de elecție al absorbției nutrientilor și asupra unor parametri biochimici sanguini cu rol important în fiziologia diferitelor organe.

#### MATERIALE ȘI METODE

Investigațiile noastre au utilizat ca material biologic pui de găină Cornish-Rock, procurăți la vârstă de o zi de la Avicola Cluj, incubatorul Gilău. Puii au fost întreținuți în condiții zoogienice corespunzătoare, hrăniți cu furaj concentrat adecvat vârstei, care împreună cu apa s-au dat *ad libitum*.

Experiențele s-au efectuat pe puie de 2 vîrste: pui de 5 zile și pui de 21 de zile, în momentul intrării în experiență. Pentru fiecare vîrstă s-au organizat 3 lotti: lot martor (M); lot tratat cu seleniu (Se) și lot tratat cu seleniu + vitamina E (Se+E). Seleniul și vitamina E (Huhtamaki Oy Novamed) s-au adăugat furajului, în doză de 0,2 mg Se/kg furaj și respectiv de 79,2 mg vitamina E/kg furaj.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 47, nr. 1, p. 53 – 59, București, 1995

Sacrificările s-au făcut prin decapitare, în 4 etape, după o inaniție prealabilă de 16 ore. Astfel, puii mici au fost sacrificați la 3, 11, 18 și 31 zile de la începerea tratamentului (ultima sacrificare fiind la 10 zile de la oprirea tratamentului), iar puii mari au fost sacrificați la 7, 13, 21 și 28 zile (ultima sacrificare la 7 zile de la oprirea tratamentului).

La sacrificare s-a recoltat imediat sângele, care s-a lăsat la temperatura camerei, apoi a fost centrifugat pentru obținerea serului. S-au recoltat de asemenea fragmente de intestin subțire (jejun), care au fost fixate în lichidul Bouin și prelucrate corespunzător studiului histologic (10). Din serum sanguin s-au dozat proteinele totale (7), colesterolul (23), gamaglobulinele (7), (25), azotul aminoacizilor liberi (13), activitatea transaminazelor GOT și GPT (14).

Valorile biochimice obținute au fost prelucrate statistic prin testul „t” al lui Student. Valorile aberante au fost eliminate după criteriu Chauvenet. S-a calculat și diferența procentuală față de martori corespunzători (D%), iar semnificația statistică s-a considerat de la  $p=0,05$ .

### REZULTATE

Observațiile studiului histologic al secțiunilor de jejun au fost sumarizate în tabelul nr. 1, în care am consemnat prin semne convenționale (+ și -) sensul și amplitudinea principalelor modificări înregistrate la loturile Se și Se+E, față de animalele de control corespunzătoare ca vârstă.

Tabelul nr. 1

Modificări histologice la nivelul jejunului puilor tratați cu seleniu (Se) și seleniu+ vitamina E (SeE), comparativ cu martori

Vârstă:	Sacrificări (zile)	5 zile				21 zile			
		3	11	18	31	7	13	21	28
Lungime vilozități	Se	+	+	+	++	0	+	+	+
	Se+E	+	+	+	++	0	+	+	+
Înălțimea enterocitelor și a platoului striat	Se	0	0	0	0	0	0	0	0
	Se+E	+	+	+	++	0	+	+	++
Grosimea corionului	Se	-	-	-	--	0	-	-	--
	Se+E	+	+	+	++	0	++	++	++
Grosimea muscularăi	Se	-	-	-	-	0	-	-	-
	Se+E	+	+	+	++	0	++	++	++
Conținutul de celule a stromei vilozitare și al corionului	Se	-	-	-	-	0	-	-	-
	Se+E	+	+	+	++	0	+	++	+
Numărul glandelor Lieberkühn/secțiune	Se	-	-	-	-	0	-	-	-
	Se+E	+	++	++	+++	0	++	++	++

S-a notat: 0 = absența modificărilor; +, ++, +++ = creșterea dimensiunilor structurilor histologice, respectiv a numărului de celule și glande Lieberkühn; -, -- = reducerea dimensiunilor structurilor histologice, respectiv a numărului de celule și glande Lieberkühn.

Astfel, Se a provocat la ambele grupe de vârstă alungirea vilozităților, concomitent cu inhibarea dezvoltării corionului muscular, glandelor Lieberkühn și cu o depletie celulară.

Tabelul nr. 2

Proteinele totale (PT), colesterolul (C), gamaglobulinele (Gg), azotul aminic (NA) și activitatea transaminazelor GOT și GPT din serum sanguin la puii de găină de 5 zile tratați cu seleniu (Se), seleniu+vitamina E (SeE) și la martor (M)

		SACRIFICĂRI (zile)			
		3	11	18	31
PT	M	77,77±2,95	73,10±3,48	22,56±1,23	45,19±0,60
	Se	+0,28	+30,71	+61,21 <sup>x</sup>	+26,37 <sup>x</sup>
	SeE	+2,79	+17,33	+3,41	+21,57 <sup>x</sup>
C	M	310,31±13,27	122,69±4,14	178,10±12,15	155,38±3,76
	Se	-60,54 <sup>x</sup>	+17,67 <sup>x</sup>	-38,17 <sup>x</sup>	-32,52 <sup>x</sup>
	SeE	-48,71 <sup>x</sup>	+21,99 <sup>x</sup>	-34,84 <sup>x</sup>	-45,62 <sup>x</sup>
Gg	M	16,22±2,06	9,71±1,20	8,15±0,64	12,59±0,39
	Se	+201,60 <sup>x</sup>	-3,82	-48,35 <sup>x</sup>	+33,20 <sup>x</sup>
	SeE	+261,71 <sup>x</sup>	-7,93	-59,51 <sup>x</sup>	+26,92 <sup>x</sup>
NA	M	2,50±0,40	5,00±0,17	2,38±0,17	4,30±0,59
	Se	+30,00	-1,80	+79,83 <sup>x</sup>	-32,56
	SeE	-4,12	-38,20 <sup>x</sup>	+8,82	-41,40 <sup>x</sup>
GOT	M	5620±62,62	3457±101,24	4617±245,24	8077±494,01
	Se	-5,41	+88,30 <sup>x</sup>	-31,95 <sup>x</sup>	-62,24 <sup>x</sup>
	SeE	-18,74	+77,02 <sup>x</sup>	-31,85 <sup>x</sup>	-27,99 <sup>x</sup>
GPT	M	283±42,26	180±35,00	395±20,55	716±73,12
	Se	+171,36 <sup>x</sup>	+278,70 <sup>x</sup>	-25,04 <sup>x</sup>	-48,15 <sup>x</sup>
	SeE	+131,27 <sup>x</sup>	+303,96 <sup>x</sup>	-14,08	-43,23 <sup>x</sup>
GOT/GPT	M	19,85	19,20	11,68	11,28
	Se	6,90	9,55	10,61	8,22
	SeE	6,98	8,41	9,25	25,46

Loturile M au trecut valoarea medie±eroarea standard; loturile Se și SeE au trecut diferența procentuală față de martor ( $\pm D\%$ ). Diferențele semnificate statistic sunt note <sup>x</sup>. Pentru alte explicații vezi textul. Pentru PT, G, Gg., NA valorile sunt exprimate în mg/ml; activitatea GOT și GPT este exprimată în unități gama acid piruvic/ml.

Tratamentul combinat cu Se + vitamina E a induș, atât în jejunul puilor mici cât și a celor mari, modificări mai ample manifestate prin alungirea vilozităților enterocitelor cu platoul lor striat, dezvoltarea mai intensă ca la martori corespunzători a corionului, musculari și glandelor Lieberkühn, precum și accentuarea polimorfismului celular al stromei vilozitare și al corionului, odată cu creșterea numărului de celule. Aceste modificări se manifestă la puii mici chiar

după un tratament scurt de 3 zile și se intensifică după întreruperea tratamentului, iar la puii mari apar mai tardiv și se mențin la un nivel relativ constant și după oprirea tratamentului. La martori am semnalat diferențe histologice legate de dezvoltarea ontogenetică.

*Tabelul nr. 3*

Proteinele totale (PT), colesterolul (C), gamaglobulinele (Gg.), azotul aminic (NA) și activitatea transaminazelor GOT și GPT din serum sanguin al puilor de găină de 21 zile, tratați cu seleniu (Se), seleniu + vitamina E (SeE) și la martori (M)

Sacrificări		7	13	21	28
PT	M	41,97±1,99	45,19±0,60	42,64±2,18	45,19±0,60
	Se	-10,30	+191,34 *	+7,92	-32,69 *
	SeE	+14,36	+205,88 *	+16,46	-16,45 *
C	M	153,72±6,34	155,38±3,76	160,79±5,83	155,38±3,76
	Se	-13,13 *	+9,69	+12,90 *	-10,18 *
	SeE	-13,50 *	+25,04	+0,41	+0,40
Gg	M	13,16±0,79	12,59±0,39	15,48±0,97	12,59±0,39
	Se	-15,28	+68,14 *	+66,09 *	-14,38
	SeE	-39,87 *	+62,82 *	+24,81 *	-7,07
NA	M	3,01±0,25	4,30±0,59	4,07±0,24	4,30±0,59
	Se	-1,33	-27,68 *	-31,17 *	-17,45
	SeE	+4,31	-3,03	-39,67 *	-9,54
GOT	M	3014,28±164,39	8077,1±494,39	13146±1200	8077,14±494
	Se	+151,16 *	-27,66 *	-75,57 *	-67,78 *
	SeE	+139,65 *	-44,89 *	-76,85 *	-64,33 *
GPT	M	647,50±253,09	716,25±73,60	751,25±33,4	716,23±73,6
	Se	-68,15 *	-59,52 *	-31,01 *	+17,27
	SeE	-11,97	-63,88 *	-34,59 *	+51,58 *
GOT/GPT	M	4,65	11,28	17,50	11,28
	Se	36,75	20,25	6,20	3,09
	SeE	12,67	17,25	6,20	2,65

Vezi explicații în text și în tabelul nr. 1.

Rezultatele studiului biochimic al săngelui au fost înscrise în tabelele 2 și 3, din care reiese în primul rând că parametrii studiați la martori variază în funcție de dezvoltarea ontogenetică a puilor. La loturile tratate menționăm următoarele aspecte:

*Proteinele serice* la puii mici (tabelul nr. 2) cresc semnificativ față de martori, la ambele tratamente (Se și SeE), după terminarea tratamentelor în timp ce la puii mari (tabelul nr. 3) cresc semnificativ după tratamentul de 13 zile și scad semnificativ după terminarea tratamentului;

*Colesterolul serie* se modifică mai mult la puii mici (tabelul nr. 2) și prezintă variații de la o recoltare la alta, exprimate prin scăderi și creșteri succesive;

*Nivelul gamaglobulinelor* la puii mici crește după tratamentul de scurtă durată (3 zile) și după întreruperea tratamentului (31 zile), dar scade semnificativ la tratamentul de durată mai lungă (18 zile); la puii mari crește semnificativ, față de martor, doar după 13 zile de la tratament și scade în celelalte etape;

*Transaminazele* se modifică sensibil aproape pe tot parcursul tratamentului și după oprirea acestuia (tabelele nr. 2 și 3). Raportul GOT/GPT la martori are valori variabile în funcție de dezvoltarea ontogenetică, fiind mult mai redus la puii de 21 de zile decât la cei de 5 zile. Sub influența tratamentelor: la puii mici acest raport scade față de martori în toate etapele studiate, cu excepția lăbului SeE. După înacetarea tratamentului, la puii mari acest raport este mai mare decât la martori, în primele două etape (la 7 și 13 zile), dar este diminuat la ultimele 2 etape (21 și 28 zile).

*Azotul aminoacicilor liberi* la ambele grupe de vîrstă se modifică la tratamentul mai lung în sensul reducerii în prima fază și al creșterii marcate în faza următoare. După întreruperea tratamentelor fie că scade, fie că revine în limitele normalului.

## DISCUȚII

Rezultatele studiului nostru coroborate cu datele din literatura de specialitate (11) relevă că la păsări ontogenia influențează puternic reactivitatea organismului la acțiunea diferenților factori; aceasta fiind variabilă în funcție de vîrstă, maturitatea neuro-endocrină a puilor și durata aplicării factorilor respectivi. O altă constatare care ne-a reținut în mod deosebit atenția este similitudinea sensului nu și a intensității modificărilor induse de Se și SeE asupra parametrilor sanguini, în timp ce asupra histologiei peretelui intestinal efectele lor sunt în general de sens contrar.

Efectele seleniului asupra jejunului, la ambele grupe de vîrstă par a fi nefavorabile datorită acțiunii sale de stagnare a dezvoltării structurilor peretelui intestinal, cu excepția alungirii vilozităților. În schimb, suplimentarea furajului cu seleniu+vitamina E induce, atât la puii mici cât și la cei mari, față de martori, modificări histologice care sugerează o acțiune benefică asupra proceselor specifice ale jejunului: digestie, absorbție, secreție și în ultimă instanță asupra valorificării optime a nutrienților din furaj. Această ipoteză este susținută de alungirea vilozităților, enterocitelor și platoului lor striat, prin care crește considerabil suprafața de absorbție, precum și de dezvoltarea și creșterea numărului de glande Lieberkühn în mucoasă, care secretă enzime cu rol în digestie și în reglarea microflorei intestinale. Aceste modificări din peretele intestinal constituie desigur baza histologică a intensificării proceselor intestinale menționate în special la lotul tratat cu Se+vitamina E. În sprijinul acestor afirmații sunt și datele noastre histoenzimologice (18), care indică stimularea unei game largi de enzime implicate în absorbție și energogeneză, cât și cele legate de absorbția glucozei la acest nivel (3).

Referitor la parametrii sanguini, subliniem că la puii mici majoritatea modificărilor apar mai târziu și se mențin semnificative față de martori și după întreruperea tratamentului, spre deosebire de puii mari, maturi neuro-endocrin (11).

la care acestea apar mai rapid și unele au tendință de revenire după sistarea tratamentului. Modificările transaminazelor serice și a raportului GOT/GPT, la loturile tratate cu Se și Se+vitamina E pot fi corelate cu efectele acestor substanțe asupra ficatului, aşa cum s-a arătat de unul din autorii acestei lucrări anterior (4), (6), și cu modificări ale permeabilității membranelor hepatocitelor (19). Modificarea titrului transaminazelor se reflectă, în unele situații, și în conținutul de proteine serice și de azot aminic, știut fiind că seleniul este un oligoelement care se leagă de proteinele plasmatice în timpul sintezei proteice (2). Creșterea nivelului gamaglobulinelor, la diferite perioade de tratament, în funcție de dezvoltarea ontogenetică a puilor reprezintă un efect pozitiv al seleniului și seleniului+vitamina E care au un rol important în sinteza de imunoglobuline (9), (15). Cercetări efectuate anterior pe timus și pe bursa lui Fabricius, într-un model experimental asemănător, au evidențiat stimularea acestor structuri (5), precum și a timocitelor și bursocitelor (6), efectele imunostimulatoare ale acestor substanțe fiind de altfel bine cunoscute (9), (21). Un alt efect pozitiv al tratamentelor aplicate pare să fie și scăderea colesterolului seric în anumite etape ale tratamentului, la ambele grupe de vîrstă, dar dinamica acestui parametru, cu reduceri și creșteri succesive în timp este dificil de explicat. Modificările de același sens, dar de intensitate diferită, induse de seleniu și de seleniu+vitamina E pot fi explicate prin faptul că aceste substanțe au o acțiune anti-oxidantă și implicații majore în activitatea unor enzime ca glutationperoxidaza, superoxid-dismutaza, catalaze, dar și în unele componente neenzimatice ca acidul ascorbic, glutationul, carotenoizii (22).

*În concluzie*, pe baza rezultatelor noastre anterioare, precum și a celor prezente, considerăm că suplimentarea furajului cu seleniu, dar mai ales cu seleniu+vitamina E exercită unele acțiuni benefice asupra organismului puilor de găină, dependent de vîrstă acestora și de durata tratamentului.

#### BIBLIOGRAFIE

1. ARTHUR J.R., NICOL F., GRANT E., BECKETT G., Biochem. J., 274: 297-300, 1991.
2. BURKFR., Annu. Rev.Nutr., 3: 53-57, 1983.
3. GIURGEA R., ROMAN I., Rev. Roum. Biol., biol. anim., 37: 103-106, 1992.
4. GIURGEA R., ROMAN I., St. cerc. biol., seria biol. anim., 45: 65-68, 1993.
5. GIURGEA R., ROMAN I., *Progrese în cercetarea biochimică*. Acad. Română, Filiala Cluj-Napoca, Comisia de biochimie (volum xerografiat), 143-148, 1993.
6. GIURGEA R., ROMAN I., ROSIORU C., Rev. roum. Biol., biol. anim., 38: 157-161, 1993.
7. GORNEL A.G., BARDAWILL G.J., DAVID M.M., J. Biol. Chem., 78: 751-766, 1949.
8. KIREMIDJIAN-SCHUMACHER L., ROZ M., WISHE H.I., COHEN M.W., STOTZKY G., PSEBM, 193: 136-142, 1990.
9. KIREMIDJIAN-SCHUMACHER L., ROZ M., WISHE H.I., COHEN M.W., STOTZKY G., Biol. Trace Elem. Res., 33: 23-35, 1992.
10. MUREȘAN E., GABOREANU M., BOGDAN A., BABA I., *Tehnici de histologie normală și patologică*, Edit. Ceres, București, 1975.
11. NVOTA J., LAMOSOVA D., FABEROVA A., Physiol. Bohemoslov., 22: 337-343, 1973.
12. OLSSON U., J. Nutr. Biochem., 1: 143-147, 1990.
13. RAC I., Casop. Likarum. Cesk., 12: 233-234, 1959.
14. REITMAN S., FRANKES S., Amer. J. Clin. Pathol., 28: 56-63, 2957.
15. ROY M., KIREMIDJIAN-SCHUMACHER L., WISHE H.I., COHEN M.W., STOTZKY G., PSEBM, 193: 143-148, 1990.
16. SAKUMA S., FUJIMOTO Z., HIKITA E., OKANO Y., YAMAMOTO I., FUJITA T., Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol., 70: 61-70, 1990.
17. SANDU V.D., BUCUR N., MITITEANU F., St. cerc. biol. seria biol. anim., 37: 124-128, 1985.
18. SANDU V.D., GIURGEA R., St. cerc. biol. seria biol. anim., 44: 33-37, 1992.
19. SVOBODA D.J., HIGGINSON J., Amer. J. Pathol., 43: 477-495, 1963.
20. TOYODA H., HIMENO S., IMURA N., Biochim. Biophys. Acta, 1049: 213-215, 1990.
21. TURNER R.J., FINCH J.M., J. Comp. Patol., 102: 99-108, 1990.
22. VANVLEET J.F., FERRANS V.J., Biol. Trace. Elem. Res., 33: 1-21, 1992.
23. ZAK B., Amer. J. Pathol., 24: 1307-1308, 1954.
24. WEITZEL F., URGINI F., WENDEL A., Biochim. Biophys. Acta, 1036: 88-94, 1990.
25. WOLFSON W.Q., COHN C., CALVARY E., ICHIBA F., J. Clin. Pathol., 18: 723-725, 1948.

Primit la redacție la 22.07.1994

Universitatea „Babeș-Bolyai” Cluj-Napoca,  
Facultatea de Biologie str. Clinicilor 5-7

și  
Institutul de cercetări biologice  
Cluj-Napoca, str. Republicii nr. 48

## ACȚIUNEA TIROXINEI ȘI A TIOUREEI ASUPRA CAPACITĂȚII ANTICORPOFORMATOARE ȘI ASUPRA UNOR PARAMETRII BIOCHIMICI SANGUINI LA PUIUL DE GĂINĂ

IOANA ROMAN, RODICA GIURGEA

Administration of thyroxine and thiourea in the 27 days old chickens associated with an antigen (Bovine Serum Albumine) induces an inhibition of the antibody titre. The diminished of the antibody titre is paralleled by a diminished of the total protein synthesis and less with gamma globulin content to the Tx group. Modifications are dependent on the physiological state of the thyroid.

Capacitatea anticorpoformatoare la mamifere (1, 3) și păsări (2, 7, 9) a fost mult studiată în funcție de starea fiziologică a glandei tiroidă. Pentru că există o multitudine de factori ce pot interveni, cum sunt fondul genetic, vârsta, dozele de hormoni tiroidieni sau anti-tiroidiene administrate etc. datele sunt contradictorii. Această neconcordanță în privința datelor din literatură, cât și din observațiile noastre anterioare (4, 5, 12, 13) ne-a determinat ca în această lucrare să urmărim efectele pe care administrarea de tiroxină sau de tiouree le are asupra puiilor de găină aflați la vârstă când maturitatea neuro-endocrină este atinsă (10).

### MATERIALE ȘI METODE

Experiențele au fost efectuate pe pui de găină Cornish-Rock, care la intrarea în experiență au avut vârstă de 27 zile. Puii au fost grupați în 3 loturi: martor (M); tratat cu tiouree (Tu) și tratat cu tiroxină (Tx). Tiourea (p.a.) s-a administrat în doză de 7 mg/kg furaj în prima zi, pentru ca apoi tot din 3 în 3 zile să se dea 2 mg/kg furaj. Tiroxina (Thyrax-Organon, Belge S.A.) s-a dat în doză de 170 µg/kg furaj din 3 în 3 zile. Tratamentele s-au aplicat până la sfârșitul experienței. În ziua a 4-a de la administrarea Tu și a Tx s-a injectat antigenul. Ca antigen s-a folosit albumina serică bovină (Kankakee, Illinois product) o soluție în concentrație de 1%, din care la toate loturile s-a dat i.m. 0,5 ml/pui. Puii au fost crescuți în condiții zoogiene corespunzătoare. Furajul concentrat a fost adecvat vârstei și împreună cu apa a fost administrat la discreție.

Recoltările de sânge s-au făcut la 5, 12, 22 de zile de la administrarea antigenului, din vena axilară. Din serum sanguin obținut după coagularea și

centrifugarea sângelui s-au determinat: proteinele totale (P.T.) (6), gamma-globulinele (Gg) (17), azotul aminoacizilor liberi (AA) (11) și titrul de anticorpi prin metoda reacției de aglutinare lentă în tuburi (RAL).

Datele obținute au fost prelucrate statistic după testul „t” al lui Student. Valorile aberante au fost eliminate după criteriul Chauvenet. A fost calculată și diferența procentuală față de martor (D%). Semnificația statistică a fost considerată de la  $p = 0,05$ .

### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pe fondul deprimării funcției tiroidiene în urma administrării Tu și Tx, contactul organismului cu antigenul -ASB- evidențiază o reducere a capacitatei de formare a anticorpilor, comparativ cu martorul (Fig.1). Reducerea

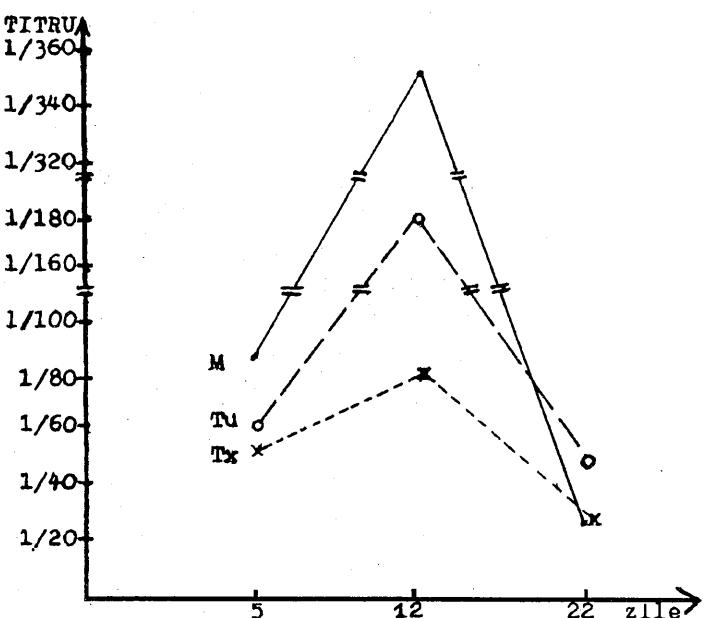


Fig. 1. - Dinamica formării anticorpilor. Abscisa = numărul recoltărilor, ordonata = titrul formării anticorpilor. Limia groasă reprezintă lotul martor, linia întreruptă lotul Tu iar linia punctată reprezintă lotul Tx. Alte explicații în text.

anticorpogenezei este mai accentuată la administrarea de Tx decât de Tu; fenomen pe care l-am înregistrat anterior într-o experiență similară pe şobolan (12).

Ca dinamică titrul de anticorpi se prezintă asemănător la cele 3 loturi (M, Tu, Tx), nivelul maxim fiind atins la 12 zile de la contactul cu antigenul. Se pare că administrarea de Tx la un organism normal determină o inhibare mai accentuată a funcției tiroidiene, decât antitiroidianul tiouree. Blocarea tiroidei

produce o inhibare a dezvoltării țesutului limfatic implicat în mecanismele imune prin limfocitele T sau B. Datele din literatură referitoare la implicațile tiroidei în anticorpogeneză sunt foarte diferite.

Unii autori au găsit o inhibare a capacitatei anticopoformatoare în hipotiroidism (18), alții dimpotrivă nu înregistrează nici un efect (8, 14). Aceste date contrădictorii s-au încercat a fi explicate prin existența a o multitudine de factori cum sunt: dezvoltarea ontogenetică, reactivitatea organismului (2), natura antigenului (timo- sau burso- dependent), dozei de antigen administrate (7, 8, 15), calea administrării (16) etc.

Tabelul nr. 1

Efectele tratamentului cu tiouree și tiroxină asupra unor parametrii biochimici sanguini la puii de găină

LGT:	MARTOR	Tu	Tx
<i>Recoltarea -1-</i>			
PT (mg/g)	47,05 ± 3,90 (7) -	55,68 ± 4,09 (7) NS, +18,34%	53,71 ± 2,06 (6) NS, +14,15%
Gg (mg%)	9,27 ± 0,27 (6) -	10,15 ± 0,70 (7) NS, +9,49%	8,68 ± 0,4 (6) NS, -6,37%
AA (mg/pr)	1,65 ± 0,23 (6) -	2,05 ± 0,25 (7) NS, +24,24%	1,54 ± 0,28 (6) NS, -6,37%
<i>Recoltarea -2-</i>			
PT	65,23 ± 1,55 (5) -	54,14 ± 5,14 (5) NS, -17,01%	26,74 ± 4,58 (8) $p < 0,001, -59,01\%$
Gg	13,41 ± 1,05 (4) -	13,78 ± 0,28 (4) NS, +2,75%	12,37 ± 1,24 (6) NS, -7,76%
AA	3,57 ± 0,27 (5) -	2,91 ± 0,32 (5) NS, -18,61%	4,22 ± 0,36 (5) NS, +18,18%
<i>Recoltarea -3-</i>			
PT	38,24 ± 1,00 (3) -	32,61 ± 4,25 (4) NS, -14,76%	34,30 ± 0,98 (4) $p < 0,05, -10,31\%$
Gg	11,12 ± 1,29 (4) -	10,27 ± 1,08 (4) NS, -7,65%	12,93 ± 1,90 (4) NS, +16,27%
AA	0,88 ± 0,12 (4) -	1,35 ± 0,32 (4) NS, +35,10%	1,85 ± 0,24 (4) $p < 0,01, +109,60\%$

La lotul martor s-a trecut valorile medii ± eroarea standard ( $\bar{x} \pm ES$ ); la loturile tratate s-au trecut și diferența procentuală față de martor (D%) și semnificația statistică; valorile nesemnificative sunt notate NS. PT = proteinele totale; Gg = gamma globulinele; AA = azotul aminoacizilor liberi. Alte explicații în text.

Parametrii biochimici urmăriți (Tab. 1) sunt puțin afectați. La recoltarea de la 5 zile de contact cu antigenul PT, Gg și AA nu se modifică față de martor la loturile Tu și Tx. În schimb, la recoltarea de la 12 zile la lotul Tx scade semnificativ nivelul PT, scădere care se menține și în ziua a 2-a moment în care crește semnificativ azotul aminoacizilor liberi. Este vorba deci de un catabolism proteic, care este cunoscut că se înregistrează în cazul unui exces de hormoni tiroidieni. Dacă admitem că ambele tratamente inhibă funcția tiroidiană atunci diferențele care apar între puii tratați cu Tu și cei cu Tx sunt evidente, efectele tiroxinei fiind mult mai puternice decât ale tioureei, atât în privința anticorpoformării cât și a parametrilor biochimici urmăriți.

*În concluzie*, administrarea de tiouree, tiroxină și ASB produc o reducere a anticorpogenozei față de martor precum și catabolism proteic, mai accentuat la lotul Tx, modificări produse probabil pe fondul inhibării funcției tiroidiene de către tratamentele aplicate.

#### BIBLIOGRAFIE

1. BACHMAN, S. E., MASHALY, M.M., Dev. Comp. Immunol., 10: 395-403, 1986.
2. ERF, G.F., MARSH, I.A., Dev. Comp. Immunol., 11: 395-406, 1987.
3. FABRIS, N., Clin. Exp. Immunol., 15: 601-611, 1973.
4. GIURGEA, R., GABOS, M., CSATA, Z., Studii și cerc. biol., seria zool., 37:46-50, 1985.
5. GIURGEA, R., GABOS, M., MOYS, M., CSATA, Z., Arch. exp. Vет. med 40: 496-500, 1986.
6. GORNALL, A.G., BARDAWILL, G.Y., DAVID, M.M., J. Biol. Chem., 78:751-766, 1949.
7. MARSH, Y.A., Devel. Comp. Immunol., 7: 535-544, 1983.
8. MARTIN, A., McNABB, F.M.A., SIEGEL, P.B., Devel. and Comp. Immunol., 12: 611-619, 1988.
9. MASHALY, M.M., YOUTZ, S.L., WIDEMAN, R.F., Immunol. Commun., 12: 551-556, 1983.
10. NVOTA, Y., SAMOCOVA, D., FABEROVA, A., Physiol. Bohemoslov, 22:337-343, 1973.
11. RAC, I., Casop. Likaru. Cesk., 98: 120-123, 1959.
12. ROMAN, I., GIURGEA, R., Realizări și perspective în cercetarea biochimică. Subcomisia de biochimie. Zilele Academiei Române Cluj-Napoca, 137-142, 1993.
13. ROMAN, I., URAY, Z., BARA, A., GIURGEA, R., Realizări și perspective în cercetarea biochimică. Subcomisia de biochimie. Zilele Academiei Române, Cluj-Napoca, 143-148, 1993.
14. SCOTT, T., VAN DER ZIJPP, A., GLICK, B., Poultry Sci., 64: 2211-2216, 1985.
15. VAN DER ZIJPP, A.J., Poultry Sci., 62, 205, 211, 1983.
16. VAN DER ZIJPP, A.J., SCOTT, T.R., GLICK, B., Poultry Sci., 65: 809-813, 1986.
17. WOLFSON, W.Q., COHN, C., CALVARY, E., ICHIBA, F., Amer. J. Clin. Pathol., 18: 723-725, 1948.
18. YAM, D., HELLER, D., SNAPIR, N., Devel. Comp. Immunol., 5: 483-487, 1981.

Primit la redacție 8.VI.1994

Institutul de Cercetări Biologice  
Str. Republicii nr.48, Cluj-Napoca

#### ACTIVITATEA TRANSAMINAZELOR (GOT ȘI GPT) ȘI CONSUMUL DE OXIGEN AL MUȘCHIULUI STRIAT LA CAL ÎN DEZVOLTAREA ONTOGENETICĂ

CAMELIA GUŞ, RODICA GIURGEA și IOANA ROMAN

The transaminase level (alanine transaminase-GPT, respectively aspartate transaminase-GOT), and the oxygen consumption, in skeletal muscle of the horse, differ both on age and sex. The differences are more emphasize in the activity of GOT and in respiratory processe, in both sexe and ages, comparaticely with the activity of GPT.

În decursul dezvoltării ontogenetice, în mușchiul striat al mamiferelor, se produc importante modificări structurale și funcționale, care orientează diferențierea fibrei musculare în direcția funcției acestuia. Încă în 1974, Müller și colab., (2) au arătat că modificările moleculare ale miozinei sunt primele în diferențierea tipurilor de fibre musculare. Diferențierea tipurilor de fibre musculare, în decursul ontogeniei, se asociază cu creșterea activității miozin-ATPazice și numai ulterior apar diferențierile la nivelul sarcoplasmei și al mitocondriilor. Într-o lucrare anterioară (1) noi am arătat că în decursul dezvoltării ontogenetice, în mușchiul de cal, apar importante modificări în conținutul unor parametrii biochimici (proteine totale, acizi nucleici, azot aminic etc.), aceste modificări fiind legate și de sex.

În aceasă lucrare am căutat să completăm datele anterioare cu alți parametrii din mușchiul scheletic la cal, în ontogenie și dependent de sex.

#### MATERIALE ȘI METODE

Bicepsul femural s-a recoltat de la cai sacrificiați de necesitate, de vîrste diferite și de la cele două sexe. Imediat după recoltare porțiunile de mușchi au fost introduse în azot lichid, urmând ca din acestea să se dozeze: activitatea transaminazelor GOT și GPT (4) și consumul de oxigen, prin metoda Warburg (incubare timp de 60 minute la 38°C în ser Krebs-Henseleit, cu citirea valorilor din 15 în 15 minute).

Valorile obținute au fost prelucrate statistic, prin testul „t” al lui Student. Valorile aberante au fost eliminate după criteriul Chauvenet. S-au calculat valorile medii ( $\bar{x}$ ), și erorile standard ( $\pm ES$ ), datele fiind prezentate în tabelele 1 și 2.

Tabelul nr. 1

Activitatea transaminazelor GOT și GPT și ale consumului de oxigen ( $QO_2$ ) din mușchiul somatic, la caii femeli, în dezvoltarea ontogenetică

Parametrii:	GOT	GPT	$QO_2$
Vârstă			
2 luni	344±34,24	48±7,53	0,030±0,004
10 luni	244±21,49	36±4,49	0,014±0,002
4 luni	555±46,67	62±12,81	0,092±0,003
10 ani	764±153,52	63±9,31	0,047±0,007
13 ani	488±50,93	70±12,80	0,089±0,003

Tabelul cuprinde valori medii ± eroarea standard ( $\bar{x} \pm ES$ ); GOT = glutamat oxalat transaminaza; GPT = glutamat piruvat transaminaza; valorile transaminazelor sunt exprimate în unități gama acid piruvic/mg țesut;  $QO_2$  este exprimat în  $mm^3O_2/mg$  țesut/oră.

Tabelul nr. 2

Activitatea transaminazelor GOT și GPT și ale consumului de oxigen ( $QO_2$ ) din mușchiul somatic, la caii masculi, în dezvoltarea ontogenetică

Parametrii:	GOT	GPT	$QO_2$
Vârstă			
4 luni	355±39,72	46±7,53	0,011±0,003
6 luni	549±47,35	50±5,12	0,211±0,018
10 luni	490±44,69	76±9,31	0,088±0,002
15 ani	386±74,43	50±9,32	0,071±0,004
20 ani	205±21,73	43±8,76	0,075±0,020

Explicația ca la tabelul nr. 1.

#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Între cele două sexe, în decursul dezvoltării ontogenetice, există diferențe mari în privința activității transaminazei GOT și a capacitatii respiratorii a mușchiului striat. Diferențele sunt mai reduse în privința activității transaminazei GPT. Aceste diferențe în funcție de sex pot să se datoreze reglajului neuro-umoral, care diferă în cursul dezvoltării ontogenetice, reglaj care este bine cunoscut că, o dată cu înaintarea în vîrstă, crește. Rolul global al reglajului neuro-umoral asupra metabolismului muscular crește în ontogenie, dar o dată cu înaintarea în vîrstă ponderea principală trece de pe reglajul umoral, dominant la început, pe cel nervos (5). Modificările mai accentuate la femele, comparativ cu masculii, pot să se datoreze acțiunii hormonilor sexuali, dar și altor grupe de hormoni, față de care mușchiul scheletic răspunde nu numai prin modificarea contractibilității, ci și a unor procese enzimaticе (6). Modificările în activitatea transaminazei GOT pot fi legate de sinteza de proteine specifice funcției musculare, la nivelul căreia în fazele incipiente are loc sinteza proteinelor. La aceasta se adaugă și creșterea timpurie a consumului de oxigen și a procesului de fosforilare oxidativă, paralel cu creșterea capacitatii de contracție a

mușchiului. În fibra somatică, la vertebrate, este demonstrat că acești parametri cresc cu până la 20 de ori în timpul contracției, paralel cu procesul de dezaminare a AMP-ului (7). Procesul de dezaminare a AMP-ului determină deplasarea reacției adenilatkinazică spre sinteza de ATP (3). Toate aceste modificări, legate de dezvoltarea ontogenetică a organismului, semnalate de literatură, pot fi corelate cu constatărilor noastre, în lucrarea de față. Pentru că în metabolismul muscular somatic sunt prezentate numeroase reacții enzimatic, cu evoluție ontogenetică, a căror intervenție este diferită în diferitele faze ontogenetice, este greu de stabilit momentul în care acestea intervin predominant. Din această cauză, considerăm necesară aprofundarea acestor studii asupra mușchiului scheletic la cal, tocmai pentru a elucida mecanismele complexe care au loc la acest nivel.

În concluzie, modificările în activitatea transaminazelor, GOT și GPT, și ale consumului de oxigen din mușchiul striat la cal evidențiază diferențe de vîrstă și de sex. Aceste diferențe sunt mai evidente în cazul transaminazei GOT și a consumului de oxigen, decât al transaminazei GPT.

#### BIBLIOGRAFIE

- GUŞ C., GIURGEA R., ROMAN I., ROTARU D., MIHAIU M., Anuarul Facultății de Med.Vet., Cluj-Napoca, 1994 (sub tipar).
- MULLER G., ERMINI M., JENNY E., Symp. Biol.Hung., 17:139-142, 1974.
- RAHIM Z.H.A., LUTAYA G., GRIFFITHS J.R., BIOCHEM. J., 184:173-176, 1979.
- REITMAN F., Technique modern de laboratoire, Edit. Doin, Paris, 1962.
- WITTENBERGER C., Cercetări de ontogeneză funcțională. Centrul de cercetări biologice, Cluj-Napoca, 2: 191-208, 1982. (volum xerografiat, Tipo Agronomia).
- WITTENBERGER C., KEUL M., Mecanismele mișcării în lumea vie, Edit. Acad.RSR, București, 1987.
- ZAAVISVILI M.M., G.R.I., 16-46, 1980.

Primit în redacție la 2.09.1994

Universitatea de Științe Agricole,  
Facultatea de Medicină Veterinară,  
str. Mănăștur nr. 3, Cluj-Napoca  
și  
Institutul de Cercetări Biologice  
str. Republicii nr.48, Cluj-Napoca

INANITIA ȘI NUTRIȚIA EXCESIVĂ FACTORI,  
DETERMINANȚI ÎN METABOLISMUL SUBSTANȚELOR  
ORGANICE ȘI MINERALE LA *CARASSIUS AURATUS*  
*GIBELIO BLOCH* ȘI *CYPRINUS CARPIO L.*

ILEANA HURGHIŞIU, AL.G. MARINESCU

EXCESSIVE INANITION AND NUTRITION, DETERMINING FACTORS ON THE METABOLISM OF ORGANIC AND MINERAL MATTERS WITH *CARASSIUS AURATUS GIBELIO BLOCH* AND *CYPRINUS CARPIO L.* Investigations have been performed on the metabolism of the species *Carassius auratus gibelio* Bloch and *Cyprinus carpio* L., with a view to establish the modifications induce in the composition of total organic and mineral matters, of total nitrogen and phosphorus, of calcium and sulphur, in different extreme physiological states such as severe inanition and excessive nutrition. Obvious metabolic derangements have been found, generally expressed by significant concentration increases of the investigated chemical compounds, especially in inanition state compared to that of excessive nutrition.

Cercetările de fiziologie animală, inițiate de noi încă din anul 1959, de peste 3 decenii, reflectă o preocupare intensă asupra metabolismului animal și anume influența dietei aterosclerogene asupra aminoacizilor liberi, influența excitației hipotalamice asupra lipidelor sanguine, denaturarea proteinelor din nervi, catabolismul proteic din creier în condiții de stress, condiții de efort, metabolismul proteinelor la temperaturi ridicate (3), (4), (5), (8), (14), (29).

Ulterior, începând cu anul 1980 și până în prezent, au existat cercetări referitoare la anumite interrelații metabolice la pești în condiții de hrănire restrictivă, influența unor substanțe toxice ca timurom și ape reziduale asupra unor organisme animale și a diferitelor specii de pești sensibili, modificări produse de acidul fosfoditioic asupra activității enzimatiche implicate în metabolismul sistemului nervos, influența unor coloranți benzidinici asupra organismului animal (6), (9), (10), (11), (13), (15), (16), (17), (18), (19), (23), (24), (25), (26), (27), (28), (33), (35).

La unele specii de nevertebrate precum și la formicide s-au efectuat cercetări ecofiziologice urmărindu-se influența mediului asupra conținutului în aminoacizi liberi, modificări biochimice produse la formicide sub influența unor paraziți, cercetarea stării de tetanie la formicide, modificări ale aminoacizilor liberi la insecte în cursul perioadei de imago, cercetări asupra unor tulpini de bacterii productoare de proteine, modificări ale metabolismului moluștelor în cursul perioadei ontogenetice.

Cercetările din ultimii ani s-au orientat asupra modificărilor metabolice la diferite specii de pești, caras, crap, guvizi, asupra consumului de oxigen, cercetări ecofiziologice asupra metabolismului energetic și material, influența apelor uzate asupra metabolismului la pești sensibili, influența factorului nutritiv asupra metabolismului energetic și material influența temperaturii, influența apelor reziduale asupra structurii populațiilor de organisme animale, identificarea unor substanțe impurificatoare în diferite ecosisteme (31), (32), (36). Cercetări similare s-au efectuat și asupra hranei administrate și anume Tubificide.

În contextul celor prezentate se încadrează lucrarea de față care prezintă date asupra modificărilor metabolice la speciile de caras și crap, sub influența factorilor fiziologici determinanți și anume inaniția și hrănirea excesivă, cu implicații în dinamica substanțelor organice și minerale totale, în dinamica azotului și fosforului, precum și în dinamica calciului și sulfului.

#### MATERIAL ȘI METODE

S-au format loturi de câte 20 pești pentru fiecare experiment al fiecărei specii, precum și pentru lotul martor. Experiențele s-au efectuat în condiții de laborator în perioada anilor 1988-1989.

Peștii au fost ținuți 2 săptămâni în carantină, pentru eliminarea indivizilor puțin rezistenți sau care nu corespund din punct de vedere fiziologic. S-a ținut cont ca peștii să fie în general de aceeași talie și greutate. Pentru a putea evalua corect rezultatele s-a cercetat compoziția chimică a apei, înainte și după efectuarea experimentului.

Probele de pești s-au recoltat în momentul apariției simptomelor grave de inaniție, respectiv de hrănire excesivă. S-a făcut analiza integrală a lor în privința conținutului în apă, substanță uscată, substanțe organice și minerale totale, compusă cu azot și fosfor, conținutul în calciu și sulf. S-au folosit metode STAS pentru analiza chimică a apei, precum și cele mai uzuale metode din literatura de specialitate, pentru analiza chimică a peștilor. (1), (2), (7), (12), (21), (22), (23), (30), (34), (37), (38). Rezultatele sunt exprimate în °C, °g, mg/l, O<sub>2</sub>mg/l, %, G%, mg%. Acestea reprezintă valori medii biane (1988-1989).

#### REZULTATE ȘI DISCUȚII

##### 1) CARACTERISTICI CHIMICE ALE MEDIULUI EXPERIMENTAL (APA DIN ACVARII)

S-au efectuat analize chimice comparative la apă din acvarii, atât la loturile martor cât și la cele experimentale, unde s-a menținut starea de inaniție, sau hrănire excesivă cu Tubifex.

S-au constatat unele modificări chimice caracteristice apei în prezența peștilor cu diferențe între loturile în inaniție totală și loturile cu hrănire excesivă cu Tubificide și anume creșterea cantității în suspensii și a rezidiului fix. Deasemenea în condițiile experimentale s-au constatat modificări ale saturăției în oxigen și a conținutului în substanțe organice totale și solubile, alcătuita apei, exprimată prin, concentrația în carbonați și bicarbonați, concentrația în cloruri caracteristice apelor dulci, gradul de duritate al apei, concentrația în ioni bivalenți și anume calciu și magneziu, cu raporturi echilibrate, caracteristice pentru apă dulce.

Tabelul nr. 1

Calitatea apei din acvarii reflectată prin caracteristicile chimice  
(valori medii bianuale 1988-1989)

Determinări	U.M.	Martor (apă de robinet)	Apă din acvarii (după 24 ore de la introducerea peștilor)
Oxigen dizolvat	O <sub>2</sub> mg/l saturatie %	6,2 70,8	5,2 59,1
Suspensiile	mg/l	10	28
Carbonați	mg/l	18	6
Bircarbonați	mg/l	110	159
Duritate	°g	46,3	47,5
Calciu	mg/l	256	320
Magneziu	mg/l	46	12
Cloruri	mg/l	46	39
Sulfati	mg/l	152	175
Azoti	mg/l	0,13	0,27
Substanță organică totală	O <sub>2</sub> mg/l	9,3	23,4
Substanță organică particulață	O <sub>2</sub> mg/l	4,2	15,1
Substanță organică solubilă	O <sub>2</sub> mg/l	5,1	7,3
Azotați	mg/l	0,6	0,3
Amoniu	mg/l	2,60	5,30
Fosfați	mg/l	0,10	0,06
Fier	mg/l	0,12	0,07
Rezidiu fix	mg/l	227	229

Componenții azotului determinați sub formă azotațiilor, azotitilor și a amoniului, cu unele creșteri în concentrația lor, în condițiile experimentale în special la loturile cu hrănire excesivă. S-a determinat și concentrația în sulfati, silice, fier.

Limitele de variație, în general, s-au situat între limitele categoriei I și II de calitate a apei (Tabelul nr 1).

#### 2) CARACTERISTICILE CHIMICE ALE PEȘTIILOR

Modificările chimice la pești produse de starea de inaniție respectiv de hrănire excesivă cu Tubificide, sunt exprimate prin deregări în sensul creșterii conținutului în substanță uscată, în detrimentul cantității de apă care scade. Starea de inaniție determină creșterea conținutului total de substanțe minerale totale în comparație cu starea de hrănire excesivă. Modificări mai accentuate s-au observat la crap la care conținutul în substanțe organice totale este foarte bogat atingând valori maxime de până la 91 g% apropiate de cele ale concentrațiilor determinate la hrănă și anume la Tubifex de 97 g% (Fig. 1).

Azotul mineral total la caras, în starea de inaniție, a avut limite de variație cuprinse între 110-899 mg %, iar în starea de hrănire excesivă între 130-450 mg %, ceea ce reprezintă o scădere a concentrației în azot mineral, până la jumătate din valorile determinate în condiții de inaniție.

La crap, în starea de inaniție azotul mineral a fost cuprins între 385-810 mg %, iar la o hrănire excesivă, de asemenea s-au înregistrat

valori mici de numai 50-370 mg % (Fig. 2). Mai sensibile la hrănierea excesivă sunt speciile de crap, în comparație cu cele de caras, în privința conținutului în azot mineral total.

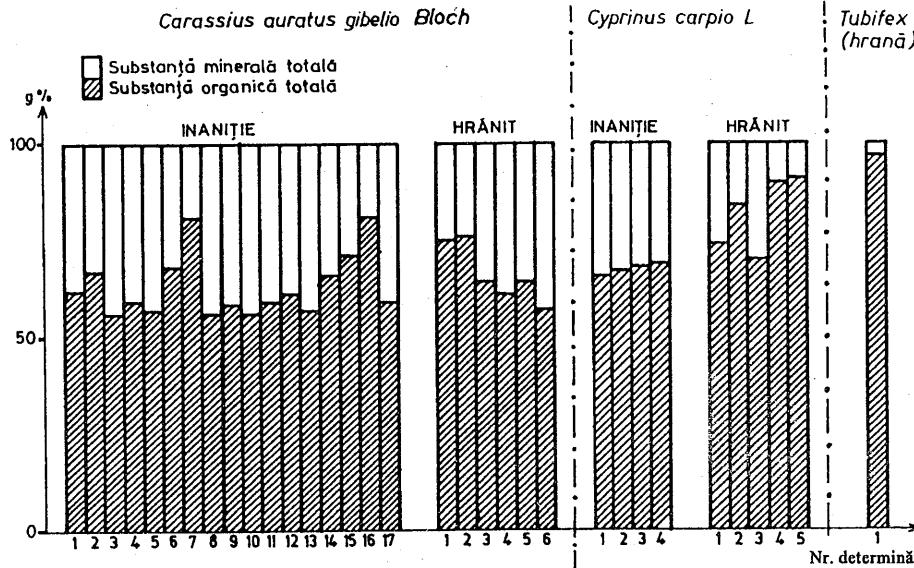


Fig. 1. Dinamica substanțelor organice totale și minerale totale la *Carassius auratus gibelio* Bloch. și *Cyprinus carpio* L. în condiții fiziologice diferite (inanție și hrănire excesivă).

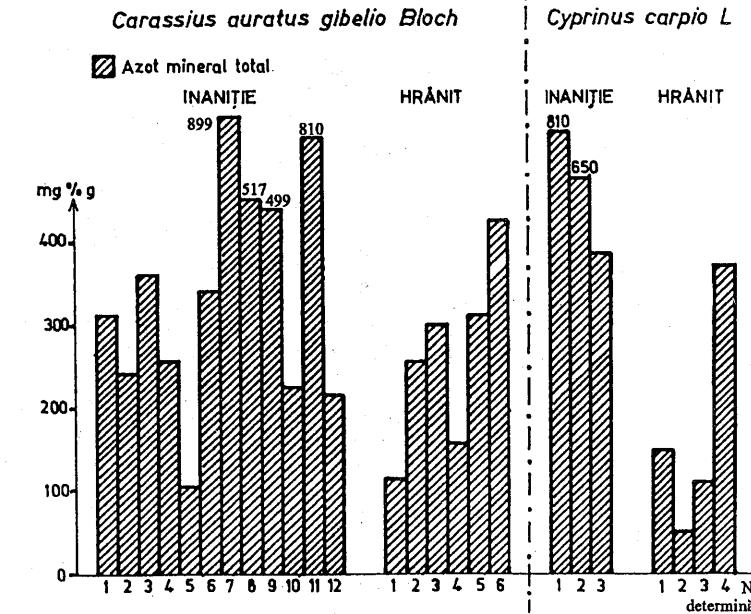


Fig. 2. Dinamica azotului mineral total la *Carassius auratus gibelio* Bloch. și *Cyprinus carpio* L., în inaniție și hrănire excesivă

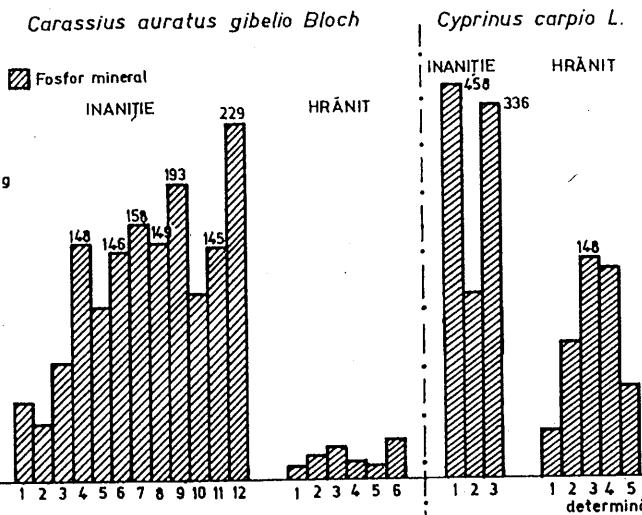


Fig. 3. Dinamica fosforului mineral total la *Carassius auratus gibelio* Bloch., și *Cyprinus carpio* L. în inaniție și hrănire excesivă

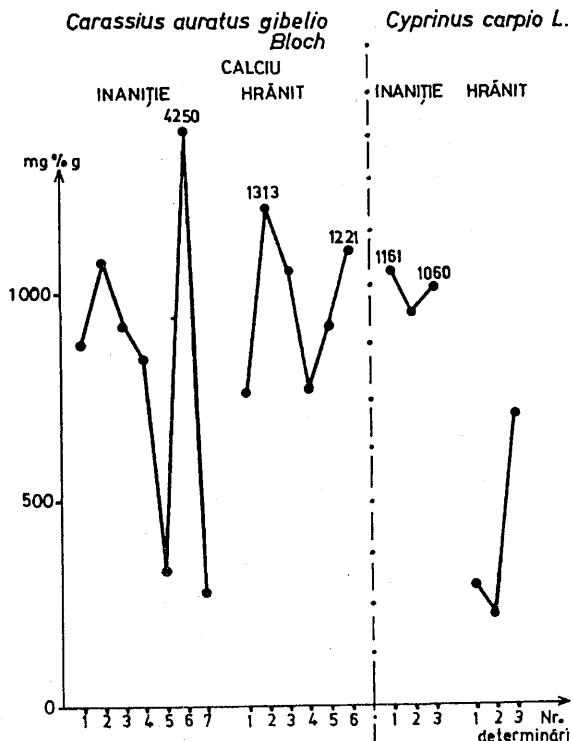


Fig. 4. Dinamica calciului la *Carassius auratus gibelio* Bloch. și *Cyprinus carpio* L., în inaniție și hrănire excesivă

Fosforul mineral total, în stare de inaniție la caras a prezentat limite de variație cuprinse între 30-229 mg % iar la hrănirea excesivă, valorile sunt foarte mici și anume de numai 3-20 mg %. La crap însă limitele de variație sunt cuprinse între 92-458 % în starea de inaniție și de numai 22-148 mg % în starea de hrănire excesivă. Datele reflectă prezența unor variații mai semnificative, cu limite mai largi la caras, ceea ce reflectă o stare de sensibilitate mai mare în condiții de inaniție (Fig. 3).

În dinamica calciului, s-au înregistrat variații foarte mari, cu concentrații ridicate la caras, în starea de inaniție, cuprinse între 280-4.250 mg %, iar în starea de hrănire excesivă concentrații cuprinse între 760-1.313 mg %. La crap însă, la lotul în inaniție limitele de variație au fost de 950-1.161 mg %, iar în condiții de hrănire excesivă de 220-700 mg %. Datele prezentate arată deosemenea o sensibilitate mai mare a speciilor de caras în privința stării fiziologice de inaniție, în dinamica calciului (Fig. 4).

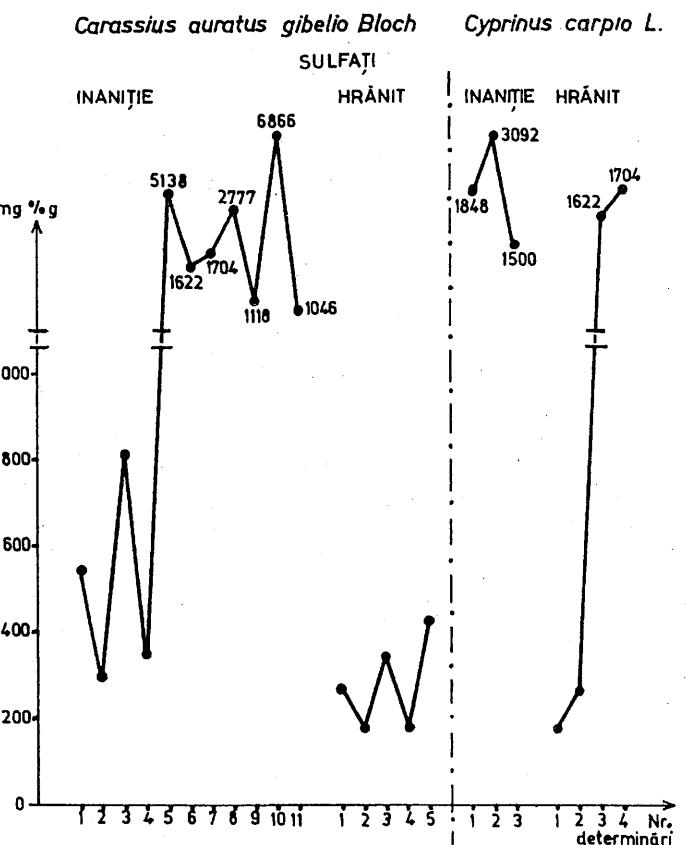


Fig. 5. Dinamica sulfatilor la *Carassius auratus gibelio* Bloch. și *Cyprinus carpio* L. în inaniție și hrănire excesivă

În metabolismul sulfului, starea de inaniție la caras, arată variații mari în concentrație, cuprinse între 300-6.866 mg %, iar în starea de hrănire excesivă de numai 180-430 mg %, iar la crap în inaniție valori mari de până la 1.500-3.092 mg % iar la hrănire excesivă valori de la 180-1.704 mg %. De asemenea speciile de caras s-au dovedit mai sensibile la starea de inaniție, în ceea ce privesc modificările metabolice ale sulfatilor (Fig. 5).

Datele prezentate se încadrează în cercetările similare, efectuate anterior, existente în literatura de specialitate, aducând însă date noi în privința stării fiziologice de inaniție sau hrănire excesivă, a gradului de sensibilitate al speciilor investigate, exprimate prin deregările metabolice produse (16), (18), (19), (5), (26), (27), (28).

## CONCLUZII

1) S-au constatat unele modificări ale chimismului apei în acvariile experimentale, ca urmare a păstrării loturilor de pești în stare de inaniție dar în special în starea de hrănire excesivă datorită acumulării produselor lor metabolice, ceea ce implică unele deregări exprimate prin modificări ale proceselor anabolice și catabolice.

2) Starea de inaniție și hrănirea excesivă, ca factori fiziologici determinanți în metabolismul peștilor, determină modificări semnificative în dinamica substanțelor organice și minerale totale, în conținutul azotului și fosforului mineral total, în concentrația calciului și a sulfului.

3) Ambele specii de pești, investigate manifestă o sensibilitate mare la starea fiziologică de inaniție sau hrănire excesivă cu modificări selective, de la un component chimic la altul.

4) *Carassius auratus gibelio* Bloch. și *Cyprinus carpio* L., fiind apropiate din punct de vedere sistematic, aparținând aceleiași familiei Cyprinidae, și din punct de vedere chimic, componentele analizate nu prezintă modificări semnificative de la o specie la alta.

5) În schimb, starea fiziologică de inaniție, în comparație cu cea de hrănire excesivă, a determinat deregări metabolice evidente, exprimate prin creșteri ale concentrației în substanțe organice și minerale totale, ale azotului și fosforului, precum și ale calciului și sulfului, la ambele specii, dintre care sensibilitatea cea mai mare s-a observat la *Carassius auratus gibelio* Bloch., la majoritatea componentelor chimice determinante.

## BIBLIOGRAFIE

1. BAUER K.H., Die organische analyse. Akad. Verl. Leipzig, 5, 202-204, 1967.
2. BELOSERSKI A.M., PROSCURJAKOV N.I., Practicum der Biochimie der pflanzen, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 1956.
3. BENETATO GR., STĂNESCU V., MĂNESCU V., VLAD C., GARDEV M., SIRCU S., HURGHIȘIU ILEANA, PETRESCU A., Comunicările Congresului Internațional de Fiziologie, Madrid, 1963.
4. BENETATO GR., NESTEANU V., MAIOR O., GARDEV M., PETRESCU A., HURGHIȘIU ILEANA, St. Cerc. Fiziologie, 2, 177-193, 1961.

5. BENETATO GR., NESTEANU V., MĂNESCU G., VLAD C., GARDEV M., STIRCU S., HURGHIȘIU ILEANA, PETRESCU A., St. Cerc. Fiziologie, 4, 589-599, 1962.
6. BOTNARIUC N., Principii de Biologie generală. Edit. Academiei, București 1967.
7. BREINERG H., SHEIDOM M., MOLTON J., *Elemente practice de diagnostic și tratament*. Edit. Medicală, București 215, 1967.
8. CAPALNA S., CHIȘU N., HURGHIȘIU ILEANA, GĂINAR I., GASMET L., Fiziologia Normală și Patologică, 3, 261-265, 1963.
9. CHICULESCU OTILIA, DOINA-MARIA STOITA, ILEANA HURGHIȘIU, PARASCHIVESCU D., St. Cerc. Biochim., 32, 1, 9, 1989.
10. CHICULESCU OTILIA, D. PARASCHIVESCU, ILEANA HURGHIȘIU, DOINA-MARIA STOITA, St. Cerc. Biochim., 32, 1, 10, 1989.
11. CHICULESCU OTILIA, ILEANA HURGHIȘIU, D. PARASCHIVESCU, DOINA-MARIA STOIT, St. Cerc. Biochim., 32, 1, 11, 1989.
12. DAVIDESCU D., IONESCU M., IVĂNESCU M., SLUSANSCHI H., PAVLOVSCHI GH. *Metode de analize chimice și fizice folosite în agricultură*. Edit. Acad. RPR, București, 1963.
13. DIUDEAM T.S., IGNA A., *Toxicologie. acvatică*. Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1986.
14. FAIBIS M., BENETATO V., MAIOR O., PETRESCU A., HURGHIȘIU ILEANA, St. Cerc. Fiziologie, 4, 533-542, 1962.
15. GHEORGHE M., GHEORGHE I., Bul. ICP, 14, 3, 37-40, 1952.
16. HURGHIȘIU ILEANA, CHICULESCU OTILIA, PARASCHIVESCU D., Crisia, Oradea, 19, 793-798, 1989.
17. HURGHIȘIU ILEANA, CHICULESCU OTILIA, PARASCHIVESCU D., Crisia, Oradea, 20, 1990.
18. HURGHIȘIU ILEANA, MARINESCU AL. G., Vol. Sesiunii Institutului de St. Biologice a Acad. Romane, 77, 1993.
19. HURGHIȘIU ILEANA, AL. G. MARINESCU, St. Cerc. Biol. s. biol. anim. 1994. (sub tipar).
20. KUMMINS K., WUICHECK J.C., *Colorimetric equivalents for investigations in ecological energetics*. E. Scheizerbart'sche Verlags buchhandlung (nägele u Obermiller), Stuttgart, 1971.
21. LANGE D., *KOLORIMETRISCHE ANALISE*. Verlag Chemie, Berlin, 1941.
22. LEEVY C., *Fatty liver*, 41, 249, 1962.
23. LEHMANN J., *Methoden der Toxizitätsprüfung. an Fischen*. Deutscher Verlag, 99, 1980.
24. MANOLESCU E., *Farmacologie*. Edit. Didactică și pedagogică, București, 63, 1975.
25. MARINESCU AL. G., ILEANA HURGHIȘIU, M. DECIU, MIHAELA-PAVELESCU OPRINA, ADINA GUTES, Bul. I.C.P., 1-10, 1982.
26. MARINESCU AL. G., ILEANA HURGHIȘIU, LICA BARBU, PETRONELA ANCUTA, DANA CUCU, ADINA GUTES, Vol. Institutului de Științe Biologice a Academiei Române, 78, 1993.
27. MARINECU AL. G., PRISTAVU N., HURGHIȘIU ILEANA, POPAR., SIMON ALEXANDRA, IONICA DOINA, GRUIA L., ANDOR DANIELA, Vol. IV-a Conf. de Ecologie, Piatra Neamț, 238, 1989.
28. MARINESCU AL. G., ILEANA HURGHIȘIU, LICA BARBU, PETRONELA ANCUTA, ADINA GUTEȘ, Vol. 24-a Sesiunea Științifică a Muzeului de St. Naturale, Pitești 1993.
29. MIULESCU V., BOROS I., RAICULESCU N., GABRIELESCU E., HURGHIȘIU ILEANA, Vol. Congresului al 22-lea de Fiziologie, Leiden, Olanda, 48, 1962.
30. PAECH K., *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*. Springer Verlag, Berlin 1955.
31. PARASCHIVESCU D., HURGHIȘIU ILEANA, Crisia Oradea, 18, 1987.
32. PARASCHIVESCU D., HURGHIȘIU ILEANA, Archiva Veterinaria, 1959-178, 1976.
33. VASILIU G. D., *Pestii apelor noastre*. Edit. științifică, București, 1966.
34. VINBERGG., *methods for the estimation of production of aquatic animals*. Acad. Pres 1-77, 1971.
35. ZAMFIR GH., *Poluarea mediului ambient*. Editura Junimea Iași, 1975.
36. ZAMFIRESCU ANA, ILEANA HURGHIȘIU, St. Cerc. Biochim. 15, 3, 311-314., 1972.
37. STAS-E 4706, 66. Condiții de calitate ale apelor de suprafață. Editura Tehnică, 1966.
38. STAS-E 4706, 74. Condiții de calitate ale apelor de suprafață. Editura Tehnică, 1974.

Primit în redacție la iunie 1994

Institutul de științe biologice  
București, Splaiul Independenței nr. 296.

## CARACTERISTICI STRUCTURALE ALE ZOOPLANCTONULUI ÎN LACURI DE ACUMULARE DE PE RÂUL ARGEŞ, ÎN CONDIȚIILE ANULUI 1994

LAURA TEODORESCU și V. ZINEVICI

The analysis of the structural characteristics of the zooplankton in the Argeș River series of man-made lakes, emphasizes the decreased amplitude of the taxonomical spectrum and low values of the numerical and biomass density. The spatial dynamic of the structural parameters shows in the case of the taxonomical diversity an ascending sense from upstream to downstream and descendant for the numerical and biomass density.

În ultimele două decenii necesitățile în domeniul irigațiilor, producerei energiei electrice, alimentării cu apă a orașelor Pitești și București, au condus la bararea, în unele zone, a cursului râului Argeș, creându-se astfel mai multe lacuri de acumulare. Pe lângă multiplele folosințe ale apei, aceste lacuri reprezintă și un debușeu pentru deversarea rezidiilor menajere sau industriale, în special ale orașelor Curtea de Argeș și Pitești.

Biocenozele instalate în aceste acumulări, o dată cu trecerea de la regimul reofil la cel stagnofil, au suferit importante modificări, atât sub raport calitativ cât și cantitativ. Dată fiind utilizarea în mai multe scopuri a apei, regimul hidrologic al lacurilor de acumulare de pe râul Argeș are un caracter dirijat, prezentând variații de nivel care nu sunt favorabile stabilității biocenotice. La acestea se adaugă și cantitatea redusă a precipitațiilor din acest an, fapt ce a făcut ca nivelul hidrologic să fie scăzut și chiar în unele zone să existe suprafețe rămase pe uscat (cum este cazul cu o parte a lacului Mihăilești). Particularitățile hidrologice ale anului 1994 au determinat și un coeficient slab de prumenire al apei. Toate aceste cauze, corroborate cu impactul surselor de poluare, conduc la ideea că acumulările de pe râul Argeș nu au asigurat condiții favorabile dezvoltării unei biocenoze cu un echilibru ecologic stabil.

În lucrare sunt prezentate rezultatele cercetărilor efectuate asupra structurii calitative și cantitative (număr și biomasă) a zooplantonului din lacurile: Curtea de Argeș, Zigoneni, Budeasa, Golești și Mihăilești.

Structura calitativă a zooplantonului celor cinci lacuri este săracă însumând 88 elemente taxonomic (Fig. 1). Analiza detaliată evidențiază o minimă de 30 taxoni (lacul Mihăilești) și o maximă de 45 taxoni (lacul Zigoneni). Pe ansamblu, tendința este de scădere a amplitudinii spectrului taxonomic din amonte spre aval.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 47, nr. 1, p. 77 – 82, București 1995

Analiza pe grupe taxonomiche, relevă proporția considerabilă a rotiferelor, urmate într-un procent mult mai scăzut de copepode, ciliate, cladocere, testacee și lamelibranhiate, atât la nivel global (Fig.2) cât și pentru fiecare lac în parte (Tabelul nr. 1). Menționăm că în structura taxonomică a râului Argeș înaintea

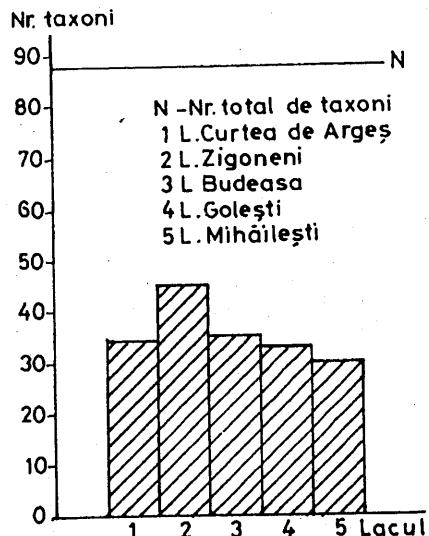


Fig. 1. Amplitudinea spectrului taxonomic al zooplanktonului.

definitivării actualei salbe de lacuri, rolul determinant revine tot rotiferelor (Popescu-Marinescu și colab., 1981). În lacul Mihăilești situația se prezintă puțin diferit, în sensul că după rotifere locul secund este ocupat de ciliate și abia după aceea urmează copepodele.

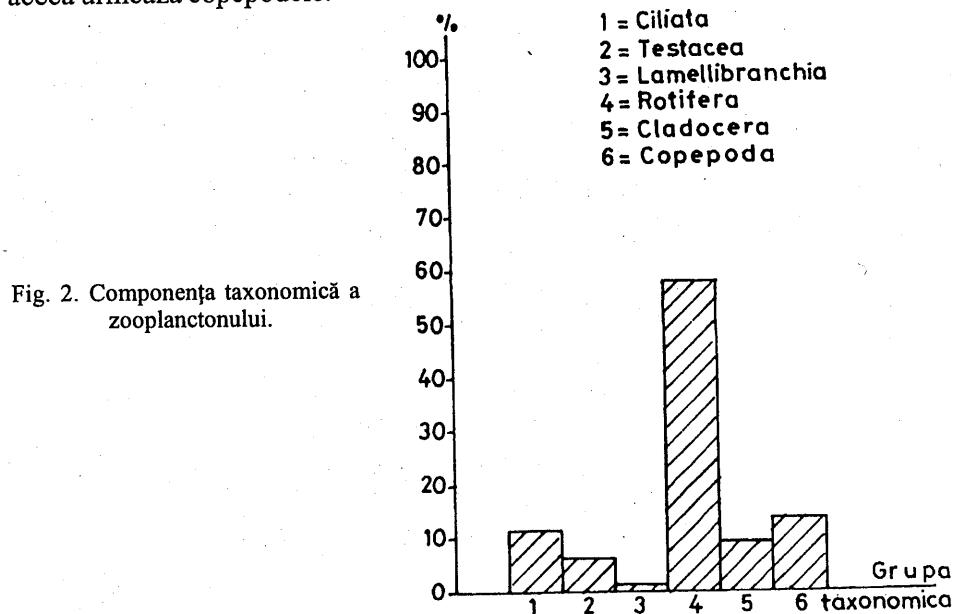


Fig. 2. Componența taxonomică a zooplanktonului.

Tabelul nr. 1

Structura taxonomică a zooplanktonului

Ecosistemul	Total nr. taxoni	Grupa taxonomică (%)					
		Ciliata	Testacea	Lamelli-branchia	Rotifera	Cladocera	Copepoda
Curtea de Argeș	34	8,82	8,82	—	52,95	11,76	17,65
Zigoneni	45	6,67	11,11	—	57,78	11,11	13,33
Budeasa	35	8,57	11,43	2,86	48,57	8,57	20,00
Golești	33	9,09	9,09	—	54,55	9,09	18,18
Mihăilești	30	16,67	10,00	—	50,00	10,00	13,33

Pentru a ne putea da seama de amplitudinea spectrului taxonomic am făcut comparații cu zooplanktonul lacurilor Siriu și Mâneciu, acumulări create în același scop ca cele de pe râul Argeș și amplasate relativ în același tip de zonă geografică (montană și submontană). Aceste lacuri sunt ecosisteme noi create, fără o biocezoză specifică de tip lacustru. Ca urmare, diversitatea taxonomică este de 11,7 ori mai mică decât în lacurile de pe râul Argeș (Teodorescu și Zinevici, 1994).

Dintre speciile identificate în cele cinci lacuri studiate 9,09% sunt specii comune (Fig.3). Dintre acestea, rotiferele și copepodele sunt cel mai bine reprezentate, cu câte 3 elemente: *Keratella tictinensis*, *Lecane luna*, *Polyarthra remata* (Rotifera) și stadiile juvenile de copepode (nauplii, copepoditii stadiul I-III și stadiul IV-V). Ele sunt urmate de testacee cu speciile *Arcella arenaria* și *Diffugia globulosa*.

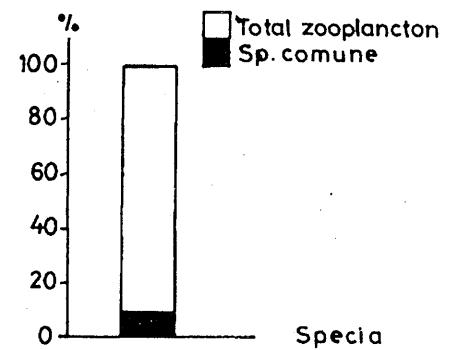


Fig. 3. Proportia speciilor comune în cadrul zooplanktonului.

Tabelul nr. 2

Densitatea (ex/l) și abundența numerică (%) a zooplanktonului

Ecosistemul	Total ex/l	Abundența (%)					
		Ciliata	Testacea	Lamelli-branchia	Rotifera	Cladocera	Copepoda
Curtea de Argeș	80,8	1,98	1,61	—	15,59	0,99	79,83
Zigoneni	67,8	1,18	1,33	—	28,91	0,88	67,70
Budeasa	259,1	2,08	0,85	0,15	14,13	0,62	82,17
Golești	693,5	17,32	0,27	—	5,21	0,23	76,97
Mihăilești	336,5	2,26	1,84	—	15,72	0,42	79,76

Valoarea medie a densității numerice a zooplantonului este de 287,6 ex/l, dar variațiile de la un lac la altul sunt ample (minima este de 67,8 ex/l în lacul Zigoneni, iar maxima de 693,5 ex/l în lacul Golești). (Fig.4). În ansamblul dinamicii spațiale a lacurilor inserate pe traseul râului Argeș se remarcă un sens ascendent din amonte spre aval.

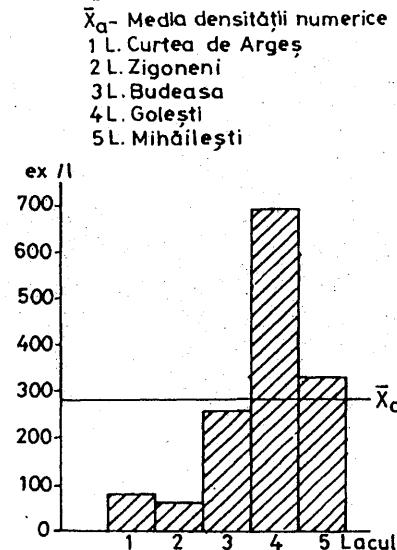


Fig. 4. Variația spațială a densității numerice a zooplantonului.

Aportul grupelor taxonomice este foarte diferit: pentru lamelibranhiate, cladocere și testacee minim, pentru ciliatice și rotifere ceva mai ridicat, în timp ce la copepode se înregistrează maxima (Fig.5). Analiza detaliată (Tabelul nr.2) evidențiază, în general, aceeași ordine de priorități a grupelor, copepodele deținând ponderea.

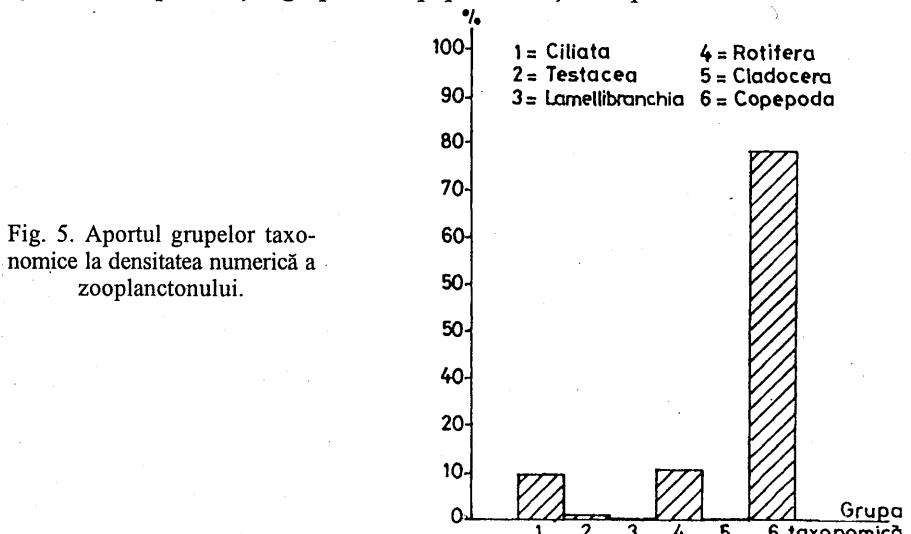


Fig. 5. Aportul grupelor taxonomice la densitatea numerică a zooplantonului.

Comparativ cu lacurile Siriu și Mâneciu, densitatea numerică a zooplantonului lacurilor de pe râul Argeș este mai ridicată (de 2,3 ori, respectiv de 1,3 ori) (Teodorescu și Zinevici, 1994).

Biomasa zooplantonică prezintă o valoare medie de 1768,3 µg/l substanță umedă. Valorile extreme se întâlnesc, ca și în cazul densității numerice, în lacurile Zigoneni și Golești (Fig.6). Variațiile de biomasă sunt mari de la un ecosistem la altul, cu excepția lacurilor Budeasa și Mihăilești (Tabelul nr.3). Cu toate acestea, o dinamică spațială similară celei evidențiate în cazul structurii numerice se remarcă și în cazul biomasei.

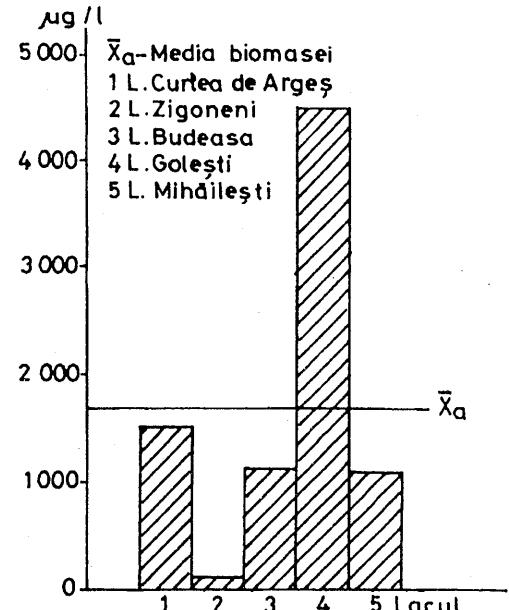


Fig. 6. Variația spațială a biomasei zooplantonice.

Tabel nr. 3

Biomasa (µg/l substanță umedă) și abundența biomasei (%) zooplantonului

Ecosistemul	Total µg/l	Abundența (%)					
		Ciliata	Testacea	Lamelli- branchia	Rotifera	Cladocera	Copepoda
Curtea de Argeș	1520,7	0,24	0,06	—	0,55	1,49	97,66
Zigoneni	286,8	0,24	0,17	—	2,93	8,27	88,39
Budeasa	1265,3	0,03	0,12	0,02	0,92	5,22	93,69
Golești	4513,2	0,09	0,03	—	0,30	1,86	97,72
Mihăilești	1255,4	0,03	0,35	—	1,16	4,77	93,69

Aportul grupelor taxonomice la realizarea biomasei zooplantonice este minim pentru protozoare și lamelibranhiate. Valori foarte mici înregistrează, de asemenei, rotiferele și cladocerele. În schimb copepodele dețin, în medie, 96,26% din pondere (Fig.7).

De menționat că, dintre toate grupele de organisme zooplantonice, dominante ca biomasă sunt copepodele. Dintre cele 12 elemente determinante, 6 sunt dominante (Tabelul nr. 4).

Comparativ cu zooplantonul din lacurile Siriu și Mânciu, în lacurile de pe traseul râului Argeș, biomasa este de 2,1 și respectiv 2,8 ori mai mare.

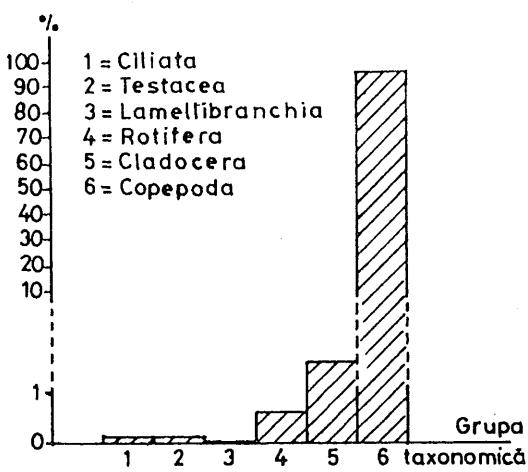


Fig. 7. Aportul grupelor taxonomicice la biomasa zooplantonica.

Tabelul nr. 4

Elementele dominante ca biomasă

CILIATA	COPEPODA
Paramecium caudatum	Nauplii Copepoda g.sp.
Trachelius ovum	Copepoditii st.I-III Copepoda g.sp.
CLADOCERA	Acanthocyclops vernalis
Alona costata	Eucyclops serrulatus
Daphnia cucullata	Mesocyclops crassus
Simocephalus vetulus	Paracyclops fimbriatus

#### CONCLUZII

Factori de natură hidrologică și de natură antropică determină în lacurile de acumulare de pe râul Argeș dezvoltarea unei zoocoze planctonice instabile cu diversitate taxonomică săracă, densitate numerică și biomasă redusă.

Dinamica spațială a parametrilor analizați indică sens descendant, din amonte spre aval, în cazul amplitudinii spectrului taxonomic și ascendent în cazul densității numerice și a biomasei.

Ponderea taxonomică o dețin rotiferele, iar cea numerică și ca biomasă copepodele, cunoscute ca specii cosmopolite și euribionte.

Variatiile de la un lac la altul sunt consecința unor cauze locale cum ar fi gradul de poluare crescut în amonte sau nivelul hidrologic extrem de scăzut în aval, datorat mai ales explorației dirijate.

#### BIBLIOGRAFIE

- POPESCU-MARINESCU VIRGINIA, BĂNĂRESCU P., STĂNESCU GH. - 1981 - Componența ihtiofaunei râului Argeș din sectorul Pitești-Golești și considerații asupra bazei trofice din zonă. Bul. Cerc. Pisc., nr. 1-2.  
TEODORESCU LAURA, ZINEVICI V. - 1994 - Die Struktur des Zooplanktons in den Bergstauseen Siriu und Mânețiu. Arbeitstagung der I.A.D., Schweiz.

Primit în redacție la 15.XI.1994

Institutul de Biologie București  
Splaiul Independenței nr. 296

#### NOTĂ CĂTRE AUTORI

Revista „Studii și cercetări de biologie, Seria biologie animală” publică articole originale de nivel științific superior din toate domeniile biologiei animale: morfologie, taxonomie, fiziolgie, genetică, ecologie etc. Sumarele revistei sunt completate cu alte rubrici ca: 1. Viață științifică, ce cuprinde unele manifestări științifice din domeniul biologiei, ca simpozioane, lucrările unor consfătuiri etc. 2. Recenzii care cuprind prezentări asupra unor cărți de specialitate apărute în țară și peste hotare.

Autorii sunt rugați să înainteze articolele, notele și recenziile dacătilografiate la două rânduri, în două exemplare.

Bibliografia, tabelele și explicația figurilor vor fi dacătilografiate pe pagini separate, iar diagramele vor fi executate în tuș pe hârtie de calc. Figurile din planșe vor fi numerotate în continuarea celor din text. Se va evita repetarea același date în text, tabele și grafice. Citarea bibliografiei în text se va face prin numere. În bibliografie se vor cita, alfabetic și cronologic, numele și inițiale autorilor (cu majuscule), titlurile cărților (subliniate) sau al revistelor (prescurtat conform uzanțelor internaționale), volumul urmat, în cazul în care este menționat, de număr (în paranteză), despărțit prin : de pagină și an. Lucrările vor fi însoțite de o prezentare în limba engleză de maximum 10 rânduri. Textul lucrărilor, inclusiv bibliografia, explicația figurilor și tabelele nu trebuie să depășească 7 pagini dacătilografiate.

Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.

La revue „Studii și cercetări de biologie, Seria biologie animală” paraît deux fois par an.

Toute commande de l'étranger sera adressée à ORION SRL, Splaiul Independenței 202 A, Bucarest 6, Roumanie, PO BOX 74-19 Bucarest, Tx 11939 CBTxR, Fax (40) 13122425, ou à RODIPET S.A., Piața Presei Libere 1, P.O.Box 33-57, Bucarest, Roumanie.