

COMITETUL DE REDACȚIE

Director:

Academician MIHAI BĂCESCU

Redactor șef:

PETRU MIHAI BĂNĂRESCU, membru corespondent al Academiei Române

Membri:

Acad. NICOLAE BOTNARIUC; acad. OLGA NECRASOV; prof. dr. GRIGORE STRUNGARU; prof. dr. IRINA TEODORESCU; dr. NICOLAE TOMESCU; prof. dr. RADU MEȘTER – secretar de redacție.

Revista apare de două ori pe an

Pentru a vă asigura colecția completă și primirea la timp a revistei, reînnoiți abonamentul dumneavoastră.

În țară, revista se poate procura prin poștă, pe bază de abonament la:

RODIPET S.A. Piața Presei Libere, nr. 1, sect. 1, P.O. Box 33-57, Fax 401-222 6407, Tel. 401-618 5103, 401-222 4126, București, România.
ORION PRESS INTERNATIONAL S.R.L., Șos. Olteniței 35-37, sect. 4, P.O. Box 61-170, Fax 401-312 2425, 401-634 7145, Tel. 401-634 6345, București, România.

Manuscrisele, cărțile, revistele pentru schimb, precum și orice corespondență se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție al revistei: Institutul de Biologie, Splaiul Independenței, nr. 296, București.

La revue „Studii și cercetări de biologie animală” paraît deux fois par an. Toute commande de l'étranger pour les travaux parus aux éditions de l'Académie Roumaine sera adressée à:

RODIPET S.A., Piața Presei Libere, nr. 1, sect. 1, P.O. Box 33-57, Fax 401-222 6407, Tel. 401-618 5103, 401-222 4126, București, România.
ORION PRESS INTERNATIONAL S.R.L., Șos. Olteniței 35-37, sect. 4, P.O. Box 61-170, Fax 401-312 2425; 401-634 7145, Tel. 401-634 6345, București, România.



©, 1998, EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
Calea 13 Septembrie, nr. 13
76117 București
Telefon 410 38 46/2123, 2107, 2119

771695
Studii și cercetări de
BIOLOGIE

SERIA BIOLOGIE ANIMALĂ

TOMUL 50, NR. 1

ianuarie – iunie 1998

SUMAR

MELANIA STAN, Noi contribuții asupra faunei de <i>Stafilinide (Coleoptera)</i> din România ..	3
IRINA TEODORESCU, Acțiunea ierbicidelor asupra populațiilor de artropode din culturi ..	11
OTILIA ZĂRNESCU, RADU MEȘTER, WANDA BUZGARIU, Detectarea electroforetică a proteinelor viteline în cursul ovogenezei la <i>Rana ridibunda</i>	37
CRISTINA PAȘCA, ERIKA KIS, VICTORIA-DOINA SANDU, Modificări histologice induse de carboplatin și farmorubicină la nivelul ficatului de șobolan	43
ERIKA KIS, VICTORIA-DOINA SANDU, CRISTINA PAȘCA, Aspecte histologice ale acțiunii carboplatinului și ciclofosfamidei la nivelul intestinului subțire de șobolan ...	49
DORINA MIRANCEA, NICOLAE MIRANCEA, Evenimente celulare și moleculare implicate în carcinogeneză, invazivitate și metastazare	55
GABRIELA ZAMFIRESCU, RADU MEȘTER, Celulele gliale – componente esențiale ale sistemului nervos	65



St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 50, nr. 1, p. 1-74, București, 1998

NOI CONTRIBUȚII ASUPRA FAUNEI DE STAFILINIDE (COLEOPTERA) DIN ROMÂNIA

MELANIA STAN

New signallings are reported for most of the species dealt with in the present paper. The species were mainly quoted in the Romanian fauna in the first half of the 20th century.

Un număr de 20 specii de stafilinide prezentate în această lucrare au fost colectate în urma câtorva deplasări pe teren, efectuate între anii 1995–1997: Valea Vâlsanului (jud. Argeș), Gălăoia Mare și Colibița (jud. Bistrița Năsăud), Gura Zlata, Valea Bârliei, Râuşor (Munții Retezat), Munții Apuseni etc., iar alte 23 specii ne-au fost donate*, acestea fiind colectate din localitatea Voineasa (jud. Vâlcea), care reprezintă de altfel, o nouă semnalare pentru toate aceste specii.

Colectarea s-a realizat prin prelevare directă (pentru cele mai multe dintre specii), cu fileul entomologic, sau au fost folosite capcanele Barber (Gura Zlata).

S-au studiat 63 de exemplare de stafilinide, iar prezentarea sistematică corespunde celei date de G. A. Lohse (1964). Pentru determinarea la nivel de specie s-a avut în vedere studiul organului copulator mascul (aedeagus) pentru cele mai multe specii, în acest mod fiind stabilit și sexul.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Am determinat 43 specii de stafilinide care aparțin următoarelor subfamiliilor: Proteininae (1 specie), Omaliinae (4 specii), Oxytelinae (1 specie), Steninae (7 specii), Paederinae (5 specii), Xantholininae (2 specii), Staphylininae (15 specii), Trichophyinae (1 specie), Tachyporinae (5 specii) și Aleocharinae (2 specii).

* Mulțumesc pe această cale d-lui Șerban Proches de la Muzeul de Istorie Naturală „Grigore Antipa” pentru materialul de stafilinide donat.

FAMILIA STAPHYLINIDAE

Subfamilia Proteininae

Megarthus denticollis (Beck.), 1 exemplar mascul, 1.VIII.1996, colectat de la Voineasa. Citată în România din următoarele localități: Sibiu, Sighișoara (1); Brașov, Bistra, Reghin (19); Izvorul Muntelui (20).

Specia este răspândită în Europa, Siria, Siberia.

Subfamilia Omaliinae

Lathrimaeum unicolor (Marsh.), 4 exemplare, 1.VIII.1996, de la Voineasa. Citată în România din: Munții Cibinului (1); Reșița (12). Specia este răspândită în Europa Centrală, Peninsula Iberică, Marea Britanie.

Amphichroum canaliculatum (Er.), 3 exemplare, 25.V.1995, de la Gălăoia Mare, pe vegetația ierboasă de la marginea drumului, semnalare nouă. Citată în România din mai multe zone: Munții Cibinului (1); Râu de Mori, Sovata, Bucegi, Postăvarul, Munții Rodnei (19); Timișoara, Mehădia (12); Munții Țibleșului (26). Este o specie caracteristică regiunilor montane fiind răspândită în Munții Alpi și Munții Carpați.

Anthophagus angusticollis (Mannh.), 1 exemplar, 31.VII.1996, Valea Azuga, colectat de pe vegetația ierboasă din apropierea râului. Citată în România, la Brașov (1); Ciucaș, Sighișoara, Bistrița, Postăvarul, Munții Făgăraș (19); Băile Herculane (12); Valea Vinului (Maramureș) (2).

Este o specie montană răspândită în Europa Centrală și de Nord, Caucaz.

Anthophagus bicornis (Block), 2 exemplare, un mascul și o femelă, 1.VIII.1997, Valea Bârlii – amonte, în pădure, pe trunchiurile căzute ale copacilor, semnalare nouă. Citată în România în Brașov, Zărnești, Munții Retezat, Bucegi, Munții Mureșului (1); Santa, Detunata (19).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Sud.

Subfamilia Oxytelinae

Platystethus capito (Heer), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România în Munții Rodnei (2); Alba-Iulia, Sighișoara, Postăvarul, Harmani (19); Tușnad, Sibiu, Dognecea, Mehădia (12).

Specia este răspândită în Europa și regiunea mediteraneană.

Subfamilia Steninae

Stenus bimaculatus (Gyll.), 2 exemplare, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România în Sibiu, Sighișoara, Reghin (1); Brașov, Cluj (19); Broșteni (16); Insula Mică a Brăilei (24); Valea Vinului (Masivul Rodna) (26).

Este o specie cu răspândire în Europa, Caucaz, Siberia.

Stenus fossulatus (Er.), 3 exemplare (2 masculi și o femelă), 1.VIII.1996, Voineasa și 1 exemplar din 1.VIII.1996 de pe Valea Azuga, pe malul unui pârau, sub piatră, pe substrat foarte umed. Citată în România, la Brașov (1); Zlatna, Câmpeni, Sighișoara (19); Valea Pârâului Roșu, Valea Băilor (2); Pietrosul Mare (12).

Specia este răspândită în Europa Centrală, Italia, Finlanda.

Stenus clavicornis (Scop), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa și 1 exemplar din 31.VII.1997 de la Gura Zlata, pe vegetația de la marginea drumului principal. Citată în România, din Sighișoara, Rupea, Măeruș, Brașov (1); Munții Rodnei, Petroșani, Turnu Roșu, Bazna (19); Ineu (26); Broșteni (16); Predeal (14); Hangu (20).

Specia are o răspândire paleartică.

Stenus rogeri (Kr.), 1 exemplar mascul, 29.VII.1997, de la Râușor (Munții Retezat), pe malul unui pârau, pe piatră, semnalare nouă. Citată în România pentru Valea Vinului (Masivul Rodnei) (19).

Specia este răspândită în sudul Europei de Nord, Europa Centrală și de Sud.

Stenus circularis (Grav.), 1 exemplar mascul, 18.VIII.1995, de pe Valea Vâlsanului (confluența râului Robaia cu Vâlsanul), pe vegetație în apropierea apei, semnalare nouă. Citată în România de la Hațeg, Sighișoara (1); Alba-Iulia, Bălan, Turnu Roșu, Brașov, Sibiu (19); Broșteni și Comana (19).

Specia este răspândită în Europa, Caucaz, vestul Siberiei.

Stenus similis (Herbst.), 1 exemplar, 13.IX.1997, la Izvorul Rece (Munții Apuseni), semnalare nouă. Citată în România, din Munții Rodnei (2); Hațeg, Sighișoara, Rupea (1); Santa, Sibiu, Detunata, Postăvarul, Bazna, Cârța de Jos, Brașov (19); Predeal, Sinaia (14); Periprava (9); Valea Lăpușnicului (7). M. A. Ieniștea o consideră ca o specie larg răspândită la noi.

Specia este răspândită în Europa, regiunea mediteraneană, Siberia, Caucaz.

Stenus tarsalis (Ljungh.), 1 exemplar mascul, 18.IX.1997, Valea Garda Seacă (Munții Apuseni), pe vegetația ierboasă din apropierea apei, semnalare nouă. În România a fost citată pentru Hațeg, Petroșani (19); Broșteni (16).

Specia este răspândită în Europa de Nord, Europa Centrală, nordul Europei de Sud.

Subfamilia Paederinae

Paederus ruficollis (F.), 10 exemplare, 17.VIII.1995, Valea Brătiei (afluent al Vâlsanului), pe malul râului, pe substrat nisipos umed și 7 exemplare, 1.VIII.1996 de la Voineasa, ambele zone sunt semnalări noi ale acestei specii. Citată în România: Sibiu, Făgăraș, Brașov, Mediaș, Sighișoara, Munții Mureșului (12); Masivul Rodnei, Munții Țibleșului (2); Broșteni (16).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Sud.

Paederus rubrothoracicus (Goeze), 1 exemplar mascul, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România din următoarele zone: Masivul Rodnei, Valea Vinului (2);

Telciu (2, 26); Izvorul Muntelui (23); Sibiu, Făgăraș, Brașov, Sighișoara, Mediaș, Munții Mureșului (1); Alba-Iulia, Hațeg, Petroșani (19); Turnu Roșu, Tâlmăciu, Remeți (Bihor), Tulgheș, Gherla (19).

Specia este răspândită în Europa Centrală și regiunea mediteraneană.

Paederus litoralis (Grav.), 3 exemplare, 19.VIII.1995 de pe Valea Vâlsanului, în fânețe, semnalare nouă. Citată în România, la Comorova (18); Valea Vinului (2); Stejarul, alt. 400 m și Dealul Bisericii, alt. 600 m (Moldova) (23); Cocioc, Piscul Hereasca (jud. Ilfov), Stanca (lângă Ștefănești pe malul Prutului) (5); București și împrejurimile sale (14); Valea Ieșelnița, Svinița (10); iar K. Petri consemna că această specie este întâlnită în zona dealurilor și a munților mai puțin înalți din întreaga Transilvanie.

Specia are o răspândire euro-mediteraneană.

Paederus brevipennis (Boisd.) Lac., 1 exemplar mascul, 23–26.V.1997, Gura Zlata, la capcane Barber amplasate în fânețe în apropierea unor molizi (alt. cca. 790 m), semnalare nouă. Citată în România de la Sibiu, Șura-Mare, Lazaret, Geaca (12); Sighișoara, Turnu Roșu, Sibiu, Munții Rodnei (19); Predeal (14).

Specia are o răspândire central-europeană.

Lathrobium castaneipenne (Kol.), 1 exemplar femel, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România: Brașov (1); Turnu Roșu, Sighișoara (19); Munții Rodnei, Valea Vinului, Săca (3); Munții Retezat, Prejmer (12).

Specia este răspândită în Europa, Caucaz, Siberia.

Subfamilia Xantholininae

Baptolinus affinis (Payk.), 2 exemplare masculine, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, la Mehădia (12); iar K. Petri o consideră prezentă în toată Transilvania, în zona pădurilor de deal și munte sub scoarța diferitelor specii de arbori.

Specia este răspândită în Europa, Caucaz, Siberia.

Othius punctulatus (Gze.), 1 exemplar mascul, 23–26.V.1997, Gura Zlata, prins la capcane Barber, semnalare nouă. Citată în România: Brașov, Sibiu, Sighișoara, Șura-Mare, Mediaș, Reghin, Vama Buzăului și Gherla (19).

Specia este răspândită în Europa, Siberia.

Subfamilia Staphylininae

Philonthus addendus (Steph.), 1 exemplar mascul, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România de la Brașov, Azuga, Hărman, Cluj (19).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Nord, Asia.

Philonthus coeruleus (Boisd. Lac.), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România de la Ilva Mică (Năsăud), Pasul Turnu-Roșu (19); Munții Rodnei (2); Băile Herculane (12).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Sud, Caucaz.

Philonthus decorus (Grav.), 4 exemplare masculine, 24.V.1997, de pe Valea Bârliei (Munții Retezat), în apropierea râului, pe pietre. Citată în România din următoarele zone: Valea Prejbei (Munții Făgăraș), Munții Retezat, Râul Sadului, Sibiu, Munții Cibinului, Târnava, Sighișoara, Munții Bucegi, Munții Rodnei, Aiud (23); Broșteni (16).

Specia este răspândită mai ales în Europa de Nord și Centrală. În Europa de Sud este mai rară. La noi s-a semnalat din toată țara, în afară de Banat; este mai abundentă în regiunile muntoase.

Philonthus cyanipennis (F.), 2 exemplare, 1.VIII.1996, Voineasa, în pădure pe ciuperci. Citată în România, în Munții Făgăraș, Sibiu, Turnu-Roșu, Sighișoara, Sovata, Râul Galben (Munții Retezat), Dumbrava Sibiului, Brașov, Reghin (19); Mehădia, Secul, Romanești (12); Masivul Rodnei (2).

Specia are răspândire paleartică.

Gabrieus femoralis (Hoch.), 1 exemplar mascul, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, din Hațeg (18); Bălan (Harghita) (19).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Sud, Caucaz.

Gabrieus expectatus (Smet.), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, la Bicsad, Dus (Munții Cibinului), Râu de Mori, Sibiu, Măgura Cisnădiei, Hărman, Râșnov, Racoșul de Jos, Hațeg, Munții Bucegi, Pasul Turnu-Roșu, Suceava, Roman, Fălticeni (22).

Specia a fost semnalată îndeosebi din Europa de Est și partea estică a Europei Centrale, ulterior și din Europa septentrională (Norvegia, Suedia).

Ontholestes tessellatus (Geoffr. Fourch.), 1 exemplar mascul, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România din următoarele localități: Cisnădie, Cincu, Brașov, Mediaș, Reghin, Prejmer (1); Sibiu, Șerbota, Alba-Iulia, Sighișoara, Răstolița (19).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Nord, Siberia.

Staphylinus erythropterus (L.), 1 exemplar mascul, 24.V.1997, Gura Zlata (Munții Retezat), pe drumul spre cabană. Citată în România, la Hațeg, Făgăraș, Brașov, Sighișoara (12); Valea Vinului, Valea Pârâului Roșu, Valea Mariilor (Masivul Rodnei) (2); Dealul Frasinului alt. 650 m (20); Cloșani (15); București, Călimănești (14); iar K. Petri consideră că această specie se întâlnește în toată Transilvania.

Este o specie cu răspândire euro-siberiană.

Ocyopus olens (Mull.), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, în Valea Jiului, Munții Cibinului, Sebeșul de Sus, Brașov, Reghin (1); Comorova, Hagieni (18); Valea Pârâului Pângărați (20); Cloșani (15).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Sud, regiunea mediteraneană, insulele Azore și Kanare.

Ocyopus fulvipenne (Er.), 1 exemplar mascul, 7.XI.1996, Colibița (Bistrița Năsăud), pe malul râului Pietroasele, pe stâncă, semnalare nouă. Citată în România, la Sibiu, Făgăraș (1); Munții Retezat, Râu de Mori (19); Comana (17).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Nord, Caucaz și Siberia.

Astrapaeus ulmi Rossi, 1 exemplar, 11.VIII.1996, Ploiești, pe asfalt în apropierea unor zone cu verdeață, semnalare nouă. Citată în România, la Mediaș, Sibiu, Brașov (19); Reșița, Mehădia (12); Mangalia (16, 17); Bicz (20).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Sud, Marea Britanie.

Quedius ochripennis (Men.), 2 exemplare masculine, 30.XI.1995, București și 25.IX.1996, Comuna Podenii Noi (jud. Prahova), semnalări noi pentru această specie. Citată în România, la Sibiu, Sighișoara, Bazna, Brașov, Munții Rodnei (19); Românești (Banat) (12); Comana (17).

Specia este răspândită în Europa și regiunea mediteraneană.

Quedius plagiatus (Mannh.), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, în Bucegi, Reghin, Pasul Bârgăului (1); Munții Porumbacului, Munții Retezat, Bistra, Zlatna, Postăvarul (19); Munții Rodnei (2).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Nord, Siberia.

Quedius cincticollis (Kr.), 2 exemplare, 25.V.1995, Gălăoia Mare, pe vegetația ierboasă de la marginea pădurii și 31.VII.1996, Valea Azuga, în pădure de molid, pe mușchi. Citată în România în: Munții Bucegi, Negoiu, Bălan, Postăvarul, Munții Retezat, Munții Porumbacului (19); Surul (1).

Este o specie montană cu răspândire în estul Munților Alpi și în Munții Carpați.

Quedius nitipennis (Steph.), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, în Munții Cibinului, Cârțișoara (1); Bălan, Sighișoara, Turnu-Roșu (19).

Specia are o răspândire europeană.

Subfamilia Trichophyinae

Trichophya pilicornis (Gyll.), 1 exemplar, 24.V.1997, Gura Zlata (Munții Retezat), alt. cca. 790 m, prinsă cu fileul entomologic. În România a fost semnalată numai la Sighișoara (19) și Sinaia, alt. 885 m (8). M. A. Ieniștea o consideră ca o specie relativ rară în țara noastră. Aceasta este a 3-a semnalare din România.

Subfamilia Tachyporinae

Bolitobius exoletus (Er.), 1 exemplar, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, de la Hațeg (1); Alba-Iulia, Sighișoara, Ciucaș, Munții Rodnei, Brașov, Tușnad (19); Mehădia, Cornereva (Banat) (12).

Specia are o răspândire holarctică.

Bolitobius thoracicus (F.), 2 exemplare, 31.VII.1996, de pe Valea Azuga (aflată pe o ciupercă din apropierea râului) și 1.VIII.1996, Voineasa, semnalări noi. Citată în România, la Hațeg, Sibiu, Reghin (19) și Munții Rodnei (3, 19).

Specia are o răspândire holarctică.

Tachyporus chrysomelinus (L.), 3 exemplare masculine, unul din 5.VI.1996, București și două din 23–26.V și 27–31.VII.1997 de la Gura Zlata, prinse la capcane Barber. Citată în România, la Broșteni și Valea Bistriței (16); Dealul Bisericii alt. 750 m (Moldova) (20); Valea Lăpușnicului alt. 1130 m (Munții Retezat) (7); Gura Gârлуței (Insula Mică a Brăilei) (24). K Petri consideră că această specie se întâlnește în Transilvania în toată zona de deal și munte.

Specia este răspândită în regiunea paleartică (cu excepția nordului Africii) și în regiunea nearctică.

Tachinus pallipes (Grav.), 1 exemplar femel, 1.VIII.1996, Voineasa. Citată în România, la Făgăraș, Reghin (1); Borsec, Ciucaș, Parâng, Munții Rodnei (19); Mehădia (12).

Specia are o răspândire holarctică.

Tachinus laticollis (Grav.), 1 exemplar mascul, 25.V.1995, Gălăoia Mare și 1 exemplar femel 1.VIII.1996, Voineasa, semnalări noi. Citată în România, în Brașov (1); Santa, Sibiu, Bălan, Sighișoara, Detunata (19); Mehădia (12).

Specia are o răspândire paleartică.

Subfamilia Aleocharinae

Encephalus complicans (Westw.), 1 exemplar, 27–31.VII.1997, Gura Zlata, prinsă la capcane Barber, semnalare nouă. Citată în România, de la Sibiu, Sighișoara, Munții Rodnei, Postăvarul, Ineu, Saca (19).

Specia este răspândită în Europa Centrală și de Nord.

Aleochara bipustulata (L.), 1 exemplar, 31.VII.1997, Gura Zlata. Citată în România, la Reghin, Ocna Sibiului (1); Sighișoara, Bistra, Munții Rodnei, Ineu, Postăvarul (19).

Specia are o răspândire paleartică.

CONCLUZII

Putem aprecia că cea mai mare parte a localităților, zonelor de unde s-a colectat materialul de stafilinide, în perioada 1995–1997, sunt citări noi pentru România. Astfel, cele 23 de specii de stafilinide colectate de la Voineasa sunt semnalate pentru prima dată de aici. Pentru celelalte specii, s-a precizat în text dacă zona respectivă reprezintă o nouă semnalare.

BIBLIOGRAFIE

1. BIELZ E. A., *Catalogus coleopterorum Transilvaniae*, Verh. u. Mitt. des Sieb. Ver. fur Naturw. Hermannstadt, 37, 1887.
2. CSIKI, E., *Fauna de Coleoptere a Masivului Rodnei*, 132–140, 1950.
3. DEUBEL Fr., *Das Rodnaer Gebirge* (in Holdhaus u. Deubel, Untersuchungen uber die Zoographie der Karpathen), 185–200, 1910.

4. HORION A. D., Faunistic der Mitteleuropaischen Kafer, band XI, 1967.
5. HURMUZACHI C., *Catalogul Coleoptelor culese în România în anii 1899 și 1900 de membrii Societății Naturaliștilor*, Bul. Soc. Natur., nr. 2, 1901.
6. IENIȘTEA M. A., *Contribuții la fauna entomologică a României*, Stud. în St. Natur., București, III, 119, 1932.
7. IENIȘTEA M. A., *Beitrage zur naheren Kenntnis der Kaferfauna des Retezatgebirges*, Bul. Muz. din Chișinău, nr. 5, 1933.
8. IENIȘTEA M. A., *Contribuții noi la cunoașterea faunei de coleoptere din Valea Prahovei și Munții Bucegi*, Analele Univ. „C. I. Parhon”, București, 122, 1956.
9. IENIȘTEA M. A., *L'Entomofaune de l'île de Letea (Delta Dunării)*, Ord. Coleoptera (pars), Trav. Mus. Hist. Nat. „Gr. Antipa”, 9, 1968.
10. IENIȘTEA M. A., *Coleoptera*. Grupul de cercetări complexe „Porțile de Fier”, Fauna, Edit. Academiei Române, București, 198, 1975.
11. KUHNT P., *Kafer Deutschlands*, Stuttgart, 1912.
12. KUTHY D., *Coleoptera*. Fauna Regni Hungariae II, 1–214, 1897.
13. LOHSE G. A., *Staphylinidae I*. Die Kafer Mitteleuropas, band 4, Krefeld, 1964.
14. MANOLACHE C. I., *Colecția Coleoptelor din laboratorul de Zoologie descriptivă din București donată de W. Knechtel senior*, Bul. Soc. Stud. Natur., București, an I, 6, 1930.
15. MARCU O., *Contribuții la cunoașterea Coleoptelor Olteniei*, Bul. Asoc. Naturalist. din Oltenia, nr. 1, 1928.
16. MONTANDON A. L., *Notes sur la faune Entomologique de la Roumanie*, Bul. Soc. de Șt. București, 16, 1906.
17. MONTANDON A. L., *Notes sur la faune Entomologique de la Roumanie*, Bul. Soc. de Șt. București, 17, 1908.
18. NEGRU St., ROȘCA A., *Ord. Coleoptera*, Travaux du Museum d'Histoire Naturelle „Gr. Antipa”, VII, București, 123–124, 1967.
19. PETRI K., *Siebenburgens Kaferfauna auf Grund ihrer Erforschung bis zum Jahre 1911*, Hermannstadt, 1912.
20. RAIANU L., *Contribuții la cunoașterea faunei de Staphylinidae din zona lacului de acumulare de la Bicaz și împrejurimi*, Anal. St. Univ. „Al. I. Cuza”, Iași, 10, 1964.
21. RAIANU L., *Considerațiuni sistematice și ecologice asupra genului Ontholestes Ganglb. din R. S. România (Coleoptera Staphylinidae) V*, Analele St. Univ. „Al. I. Cuza”, Iași, XII, (1), 73–80, 1966.
22. RAIANU L., *Studii asupra unor specii noi sau mai puțin cunoscute în fauna României, aparținând genului Gabrius Curt (Coleoptera Staphylinidae)*, An. St. Univ. „Al. I. Cuza” Iași, XV, fasc. 2, 324, 1969.
23. RAIANU L., *Catalogul speciilor de Philonthus (Staphylinidae) din Colecțiile Muzeului de Istorie Naturală din Sibiu*, Stud. și Comunic., 15, Sibiu, 288–305, 1970.
24. STAN M., *Contribuții la cunoașterea faunei de Staphylinidae (Ord. Coleoptera) din Insula Mică a Brăilei*, Stud. și Cercet. de Biologie, 48, (2), 89–93, Edit. Academiei Române, 1996.
25. SZABO M. A., Szabo, M. E., *Dicționarul de localități din Transilvania*, 1992.
26. SZEKESY V., *Die Staphyliniden des historischen Ungarn. I–VII*. (Fragm. Faunist. Hung.), 1938–1943.
27. WINKLER A., *Catalogus Coleopterorum regionis palaearticae*, Wien, 1924–1927.

Primit în redacție
la 5 decembrie 1997.

Institutul de Biologie,
București, Splaiul Independenței, nr. 296.

ACȚIUNEA IERBICIDELOR ASUPRA POPULAȚIILOR DE ARTROPODE DIN CULTURI

IRINA TEODORESCU

Negative action of herbicide upon ground level arthropod populations in two crops (wheat and alfalfa) were investigated. Comparative, qualitative and quantitative analysis in unpolluted and herbicide polluted crops, emphasized a decrease of arthropod populations effective, especially phytophagous species, secondary consumers; but predatory species, especially *Aranea* and *Coleoptera* were resistant to the negative impact of herbicides.

Numeroase analize ale tendințelor actuale în probleme de mediu, conduc la concluzia că civilizația modernă urmează un curs ce nu are durabilitate din punct de vedere economic și ecologic. În conformitate cu aceste tendințe, specia umană nu-și mai poate continua dezvoltarea pe bazele actuale, fără a fi expusă unor perturbări severe, sociale, economice și ecologice.

Din acest punct de vedere, generația prezentă poate pune în cumpănă viitorul planetei, al tuturor formelor de viață și implicit al omului.

Se impune adoptarea unei strategii care să asigure o dezvoltare durabilă, deci o continuă creștere economică și conservarea complexității, diversității și funcționalității sistemelor ecologice, suport al vieții și al creșterii economice continue.

Comisia Internațională asupra mediului și dezvoltării a definit dezvoltarea durabilă ca „dezvoltarea care întrunește necesitățile prezentului fără a compromite capacitatea generației viitoare de a întruni propriile sale necesități”.

Dezvoltând ideea, durabilitatea poate fi definită ca interrelația dintre dinamica sistemului socio-economic uman și dinamica ierarhiei sistemelor ecologice, care să permită ca viața omenirii să continue indefinit, oamenii ca indivizi să prospere, cultura să se dezvolte, dar în care efectele activității umane să nu distrugă diversitatea, complexitatea și funcționarea sistemelor ecologice, suport al vieții.

În asigurarea durabilității este esențială responsabilitatea fiecărei generații de a proceda în așa fel încât să se asigure concomitent: **echitatea intergenerațiilor, echitatea intragenerație și echitatea ecologică sau interspecifică.**

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 50, nr. 1, p. 11–36, București, 1998

Echitatea intergenerații presupune menținerea nealterată de către om a capitalului natural, cu dirijarea activităților socio-economice pentru a satisface cerințele generațiilor prezente, fără a compromite posibilitatea generațiilor viitoare de a-și satisface propriile necesități.

Echitatea intragenerații presupune echitate pentru toți oamenii care trăiesc pe Pământ, cu satisfacerea necesităților lor materiale și nonmateriale.

Echitatea ecologică sau interspecifică se bazează pe acceptarea ideii că, Pământul este proprietatea de drept a tuturor speciilor.

De o deosebită importanță pentru realizarea acestor deziderate este reducerea impactului produs de diferitele căi de deteriorare a mediului.

Poluarea, una din căile majore de deteriorare, afectează în prezent în grade diferite, toate ecosistemele de pe Terra, deci întreaga ecosferă.

Investigarea impactului produs de pesticidele utilizate în combaterea dăunătorilor animalii, a buruienilor, a vectorilor pentru boli infecțioase și parazitare, ca și investigarea acțiunii negative a diferitelor emisii industriale, prezintă o deosebită importanță, încercând să demonstreze că acest impact se resimte asupra tuturor componentelor biosferei.

MATERIAL ȘI METODA

Cercetările s-au desfășurat în anul 1997, pe teritoriul comunei Domnești din Sectorul Agricol Ilfov, probele fiind colectate în intervalele 23-27 mai, din cultura neexpusă acțiunii pesticidelor și 11-15 iunie, din cultura tratată chimic pentru controlul buruienilor.

Erbicidele utilizate au fost 2,4-D (sare de izopropilamină), LS-2,4 D (sare de izopropilamină a acidului 2,4-D a.e. 33), pentru cultura de grâu și Asulox 40 SL CS (asulan 400g/l), pentru cultura de lucernă, erbicide cu spectru larg în combaterea buruienilor.

Materialul biologic necesar analizei a fost colectat din cele 2 culturi, înainte de tratamentul chimic și după ce culturile au fost tratate cu erbicid.

S-a realizat o colectare continuă într-un interval de 10 zile, prin utilizarea de capcane Barber, îngropate la nivelul solului. În fiecare cultură s-au instalat câte 5 capcane la distanță de 10 metri între ele (4 în unghiurile unui pătrat și una în centru).

Pentru atragerea și conservarea pe timpul colectării a artropodelor, în special a insectelor, în capcane s-a pus acid acetic, evitându-se alcoolul care se evaporă și formolul care are acțiune repelentă.

Extragerea materialului colectat în fiecare capcană s-a realizat zilnic, 5 zile înainte de aplicarea tratamentului și 5 după, reinnoindu-se permanent acidul acetic.

Materialul biologic astfel colectat, conservat în alcool etilic 70°, a fost supus în laborator unei minuțioase analize calitative și cantitative.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În ambele culturi, obiectivele urmărite au fost:

- determinarea structurii calitative a materialului colectat;
- compararea numărului de specii și de exemplare aparținând diferitelor grupe de artropode din probele martor și cele poluate și pe această bază estimarea reducerii diversității în biocenozele expuse acțiunii pesticidelor;
- încadrarea speciilor în categorii trofice și analiza acțiunii diferențiate a erbicidelor asupra acestora;
- urmărirea abundenței numerice și a frecvenței în probe a speciilor și pe această bază stabilirea speciilor dominante și constante.

CULTURA DE GRÂU

Structura calitativă a materialului biologic

Analiza calitativă, comparativă a materialului biologic a scos în evidență unele caracteristici comune probelor colectate din cultura de grâu înainte de aplicarea erbicidului (considerată martor) și celor colectate din aceeași cultură, după folosirea erbicidului: prezența unor specii din clasele Insecta și Arachnida, ponderea mare a insectelor ca număr de specii și de exemplare, față de arahnide și existența aceluiași categorii trofice (consumatori primari și secundari, necrofagi, coprofagi, detritofagi).

Clasa Arachnida a fost reprezentată prin ordinele *Acarina* și *Aranea*.

Clasa Insecta a fost reprezentată prin specii aparținând la 11 ordine: *Collembola* (*Sminthuridae* etc.), *Orthoptera* (*Gryllidae*), *Dermaptera* (*Forficulidae*), *Heteroptera* (*Pyrrochoridae*, *Scutelleridae*, *Lygaeidae*, *Nabidae*, *Anthocoridae*), *Homoptera* (*Cicadellidae*, *Aphididae*), *Thysanoptera* (*Thripidae*), *Coleoptera* (*Carabidae*, *Anthricidae*, *Staphylinidae*, *Elateridae*, *Dermestidae*, *Tenebrionidae*, *Coccinellidae*, *Chrysomellidae*, *Scarabaeidae*, *Curculionidae*), *Neuroptera* (*Chrysopidae*), *Hymenoptera* (*Braconidae*, *Cera-phronidae*, *Diapriidae*, *Scelionidae*, *Myrmicidae*, *Formicidae*), *Lepidoptera* și *Diptera* (*Cecidomyiidae* etc.). Unele sunt specii caracteristice pentru fauna de la nivelul solului, altele au ajuns accidental în capcanele Barber sau au fost atrase de acidul acetic.

Comparație între numărul de specii și de exemplare din probele martor și cele poluate

Analiza materialului colectat la nivelul solului a reliefat existența unei diversități mult mai mari în cazul probelor martor, față de cele colectate după exercitarea acțiunii toxice a erbicidului, diversitate ridicată reflectată printr-un număr mai mare de specii și de exemplare.

Numărul de specii din probele martor a fost mai ridicat, variind între 15 și 23, comparativ cu cel din cultura tratată, care a variat între 4 și 7. Numărul de specii colectate după aplicarea erbicidului, a fost de peste 3 ori mai mic decât înainte de aplicarea acestuia. Menționăm că datele referitoare la numărul de specii sunt aproximative, deoarece nu în toate cazurile determinările au mers până la nivel de specie.

Numărul de exemplare din cele 5 probe colectate din cultura martor de grâu a variat între 47 și 82, fiind mai mare îndeosebi în primele două zile ale intervalului de colectare (69–82), corelat cu condițiile meteorologice favorabile. În probele colectate după aplicarea erbicidului, numărul de exemplare colectate a scăzut semnificativ, menținându-se între 8 și 14 exemplare, cele mai mici valori înregistrându-se la mijlocul intervalului de colectare (13–14 iunie).

Numărul total de exemplare din cele 5 probe colectate din cultura tratată cu erbicid (53) a fost de peste 5 ori mai mic, decât numărul de exemplare colectate din cultura considerată martor (290).

Analiza acțiunii diferențiate a erbicidului 2,4-D sare de izopropilamină LS-2,4 D asupra diferitelor categorii trofice de artropode din cultura de grâu

Cercetările au evidențiat existența unei acțiuni diferențiate a erbicidului asupra categoriilor trofice de artropode din cultura de grâu.

Consumatorii primari au fost specii polifage sau oligofage, dăunătoare culturii de grâu, unor culturi premergătoare sau adiacente.

În cultura martor, consumatorii primari au fost ortopterele *Gryllulus burdigalensis*, *Gryllus desertus*, heteropterele *Pyrrochoris apterus*, *Lygaeus* sp., *Eurygaster integriceps*, homopterele *Macrostoteles sexnotatus*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, tizanopterul *Limothrips denticornis*, coleopterele *Harpalus distinguendus*, *Amara aenea*, *Agriotes lineatus*, *Oulema melanopus*, *Tanymecus dilaticollis*, *Apion* sp., dipterele *Mayetiola destructor*.

În materialul colectat după aplicarea tratamentului, consumatorii primari au fost: heteropterul *Eurygaster integriceps*, homopterele *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, coleopterele *Oulema melanopus*, *Phytodecta fornicata*, *Opatrum sabulosum*, diptera *Mayetiola destructor*.

Consumatorii secundari au fost reprezentați de specii prădătoare și parazitoide.

În probele colectate din cultura martor, prădătorii au fost specii aparținând claselor *Arachnida* (*Aranea*) și *Insecta* din ordinele *Heteroptera* (*Orius* sp., *Nabis* sp.), *Coleoptera* (*Poecilus cupreus*, *Pterostichus* sp., *Anisodactylus signatus*, *Formicomus pedestris*, *Staphylinidae*, *Coccinellidae*), *Neuroptera* (*Chrysopa* sp.), iar parazitoizii, prezenți accidental în material deoarece nu se încadrează în entomofauna caracteristică de la nivelul solului, prin specii de *Braconidae*, *Ceraphronidae*, *Diapriidae* (*Loxotropa tritoma*), *Scelionidae*

(*Trissolcus grandis*, *Telenomus chloropus*), ultimele 3 specii având importanță mare ca paraziți ai unor dăunători specifici culturilor de cereale păioase.

Numărul total de exemplare de prădători și parazitoizi în probele colectate din cultura martor a fost 104.

În probele colectate din cultura tratată, prădătorii și parazitoizii au fost foarte slab reprezentați, în afară de cele 8 exemplare din *Aranea*, fiind colectate doar 4 exemplare de insecte (*Trissolcus grandis*, *Poecilus cupreus*, *Staphylinidae* și *Formicomus pedestris*).

Deși numărul de specii de consumatori primari este mai mare în probele martor, raportul dintre aceștia și consumatorii secundari a fost favorabil celor secundari în probele din cultura martor și celor primari, care sunt dăunători, în probele din cultura tratată. Această constatare se poate explica prin rezistența mai mare a consumatorilor primari față de erbicid. Reducerea efectivelor consumatorilor secundari se datorează acțiunii negative a erbicidului; se remarcă o rezistență ceva mai mare a speciilor prădătoare în comparație cu paraziții.

Speciile necrofage (*Dermestidae*) și **coprofage** (*Scarabaeidae*) au fost slab reprezentate în ambele categorii de probe. În cultura martor se remarcă prezența speciilor de *Collembola* (detritofage), în 3 probe, numărul lor fiind mare în probele colectate în 23 și 27 mai.

Abundența și frecvența speciilor de artropode, în culturile martor și poluate

În probele martor, ponderea insectelor a fost în general mai mare (valorile abundenței numerice variind între 79,71% și 100%), decât în cele expuse acțiunii erbicidului, abundența numerică între 62,5% și 100% (tabelele și fig. 1–10).

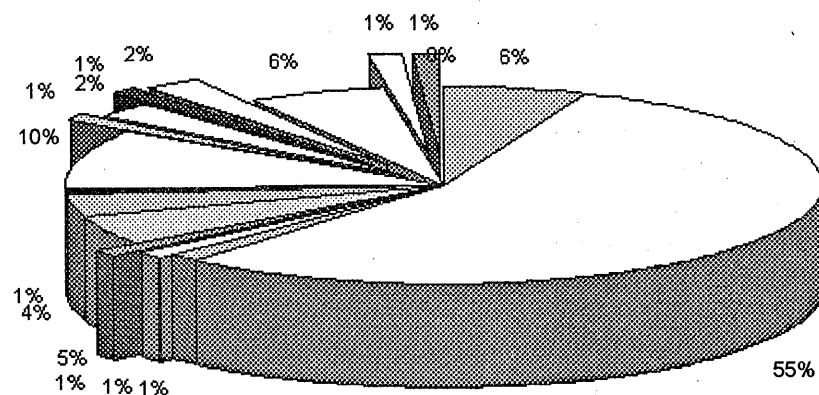
Dintre insecte, dominante au fost coleopterele (îndeosebi prin specii de *Carabidae*, *Staphylinidae*), colebolele și formicidele în unele probe, deci specii de insecte caracteristice pentru fauna de la nivelul solului.

Trebuie remarcat faptul că, în marea majoritate a probelor provenite din cultura martor, speciile prădătoare și parazitoide au avut o abundență numerică mai ridicată decât cele fitofage.

Frecvență mai ridicată în cultura martor au avut speciile de *Collembola*, *Homoptera*, (*Macrostoteles*, *Aphididae*), *Heteroptera* (*Anthocoridae*), *Coleoptera* (*Carabidae*, *Anthicidae*, *Staphylinidae*), *Hymenoptera* (*Scelionidae*, *Formicidae*, *Myrmicidae*) și *Diptera*. În cazul coleopterelelor și heteropterelelor, mai frecvente în probe au fost speciile prădătoare.

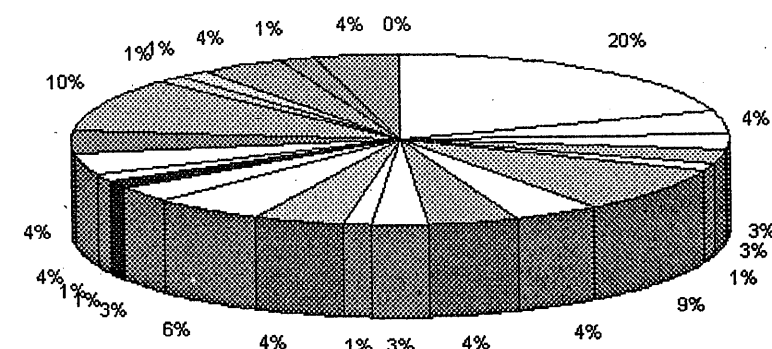
În cultura de grâu aflată sub acțiunea erbicidului, o frecvență ridicată au avut deasemenea coleopterele, dar îndeosebi prin specii fitofage (*Opatrum*, *Phytodecta*), himenopterele *Formicidae*, homopterele *Aphididae* și speciile de *Aranea*.

Fig. 1. – Abundența numerică, grâu martor, 23 mai 1997.



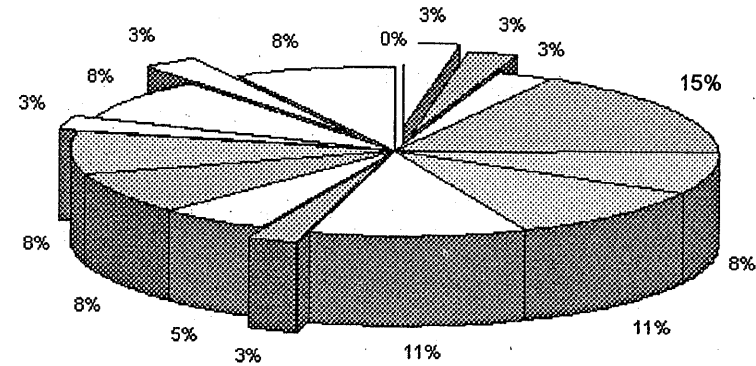
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Acarina	5	6,02
2	Collembola	46	55,42
3	Gryllulus desertus	1	1,20
4	Pyrochoris apterus	1	1,20
5	Orius sp.	1	1,20
6	Macrosteles sexnotatus	4	4,82
7	Sitobion avenae	3	3,61
8	Haplothrips tritici	1	1,20
9	Pterostichus sp.	8	9,64
10	Dermestidae	1	1,20
11	Staphylinidae	2	2,41
12	Tanymecus dilaticollis	1	1,20
13	Myrmicidae	2	2,41
14	Formicidae	5	6,02
15	Telenomus chloropus	1	1,20
16	Mayetiola destructor	1	1,20
	Total	83	

Fig. 2. – Abundența numerică, grâu martor, 24 mai 1997.



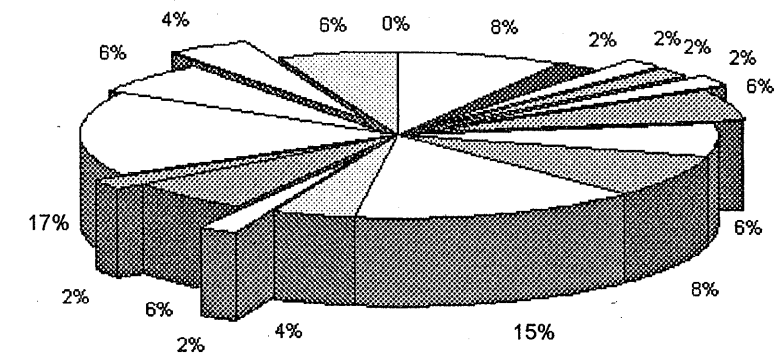
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	14	20,00
2	Acarina	3	4,29
3	Collembola	2	2,86
4	Sminthurus sp.	2	2,86
5	Orius sp.	1	1,43
6	Sitobion avenae	6	8,57
7	Haplothrips tritici	3	4,29
8	Poecilus cupreus	3	4,29
9	Harpalus distinguendus	2	2,86
10	Amara aenea	1	1,43
11	Formicomus pedestris	3	4,29
12	Staphylinidae	4	5,71
13	Dermestidae (larve)	2	2,86
14	Scarabaeidae	1	1,43
15	Apion sp.	1	1,43
16	Tanymecus dilaticollis	3	4,29
17	Myrmicidae	3	4,29
18	Formicidae	7	10,00
19	Ceraphron sp.	1	1,43
20	Loxotropa tritoma	1	1,43
21	Trissolcus grandis	3	4,29
22	Diptera Nematocera	1	1,43
23	Diptera Brachycera	3	4,29
	Total	70	

Fig. 3. – Abundența numerică, grâu mator, 25 mai 1997.



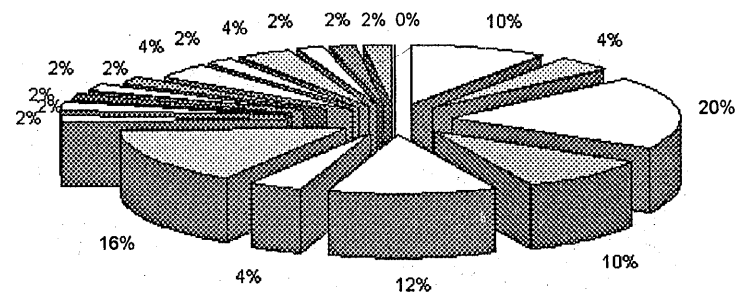
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Forficula auricularia	1	2,70
2	Eurygaster integriceps	1	2,70
3	Lygaeus sp.	1	2,70
4	Macrosteles sexnotatus	6	16,22
5	Sitobion avenae	3	8,11
6	Poecilus cupreus	4	10,81
7	Staphylinidae	4	10,81
8	Agriotes lineatus	1	2,70
9	Coccinellidae (larve)	2	5,41
10	Tanymecus dilaticollis	3	8,11
11	Chrysopa sp. (larva)	3	8,11
12	Ichneumonidae	1	2,70
13	Trissolcus grandis	3	8,11
14	Myrmicidae	1	2,70
15	Diptera Brachycera	3	8,11
	Total	37	

Fig. 4. – Abundența numerică, grâu mator, 26 mai 1997.



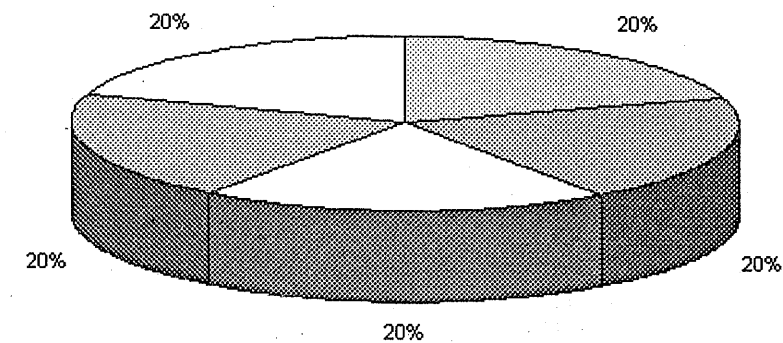
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	4	8,33
2	Gryllulus burdigalensis	1	2,08
3	Gryllus desertus	1	2,08
4	Orius sp.	1	2,08
5	Nabis sp.	1	2,08
6	Macrosteles sexnotatus	3	6,25
7	Poecilus cupreus	3	6,25
8	Amara aenea	4	8,33
9	Formicomus pedestris	7	14,58
10	Oulema melanopus	2	4,17
11	Carpophilus sexpunctatulus	1	2,08
12	Staphylinidae	3	6,25
13	Lepidoptera (larva)	1	2,08
14	Myrmicidae	8	16,67
15	Formicidae	3	6,25
16	Trissolcus grandis	2	4,17
17	Diptera Brachycera	3	6,25
	Total	48	

Fig. 5. – Abundența numerică, grâu martor, 27 mai 1997.



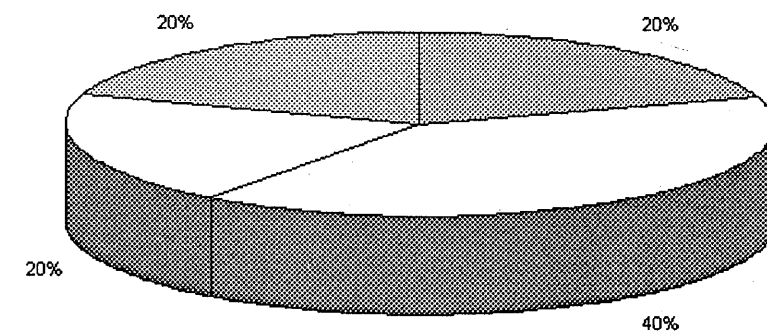
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	5	9,80
2	Acarina	2	3,92
3	Collembola	10	19,61
4	Gryllus desertus	5	9,80
5	Gryllulus burdigalensis	6	11,76
6	Macrosteles sexnotatus	2	3,92
7	Sitobion avenae	8	15,69
8	Eurygaster integriceps	1	1,96
9	Haplothrips tritici	1	1,96
10	Poecilus cupreus	1	1,96
11	Anisodactylus signatus	1	1,96
12	Formicomus pedestris	1	1,96
13	Staphylinidae	2	3,92
14	Formicidae	1	1,96
15	Myrmicidae	2	3,92
16	Contarinia medicaginis	1	1,96
17	Mayetiola destructor	1	1,96
18	Drosophilidae	1	1,96
	Total	51	

Fig. 6. – Abundența numerică, grâu tratat, 13 iunie 1997.



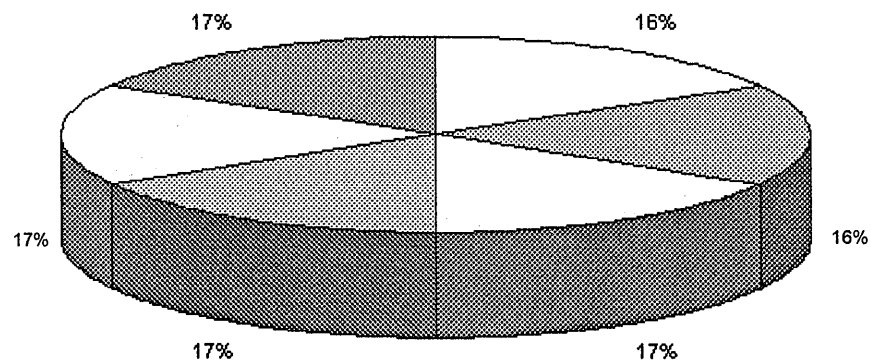
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	1	20,00
2	Eurygaster integriceps	1	20,00
3	Dermestidae	1	20,00
4	Valgus hemipterus	1	20,00
5	Myrmicidae	1	20,00
	Total	5	

Fig. 7. – Abundența numerică, grâu tratat, 14 iunie 1997.



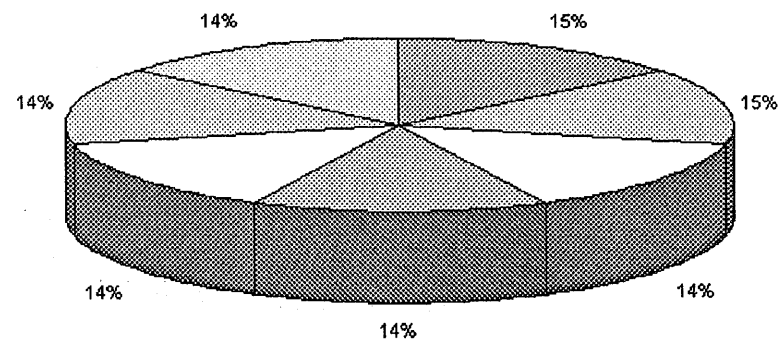
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	1	20,00
2	Sitobion avenae	2	40,00
3	Ophonus rufipes	1	20,00
4	Myrmicidae	1	20,00
	Total	5	

Fig. 8. – Abundența numerică, grâu tratat, 15 iunie 1997.



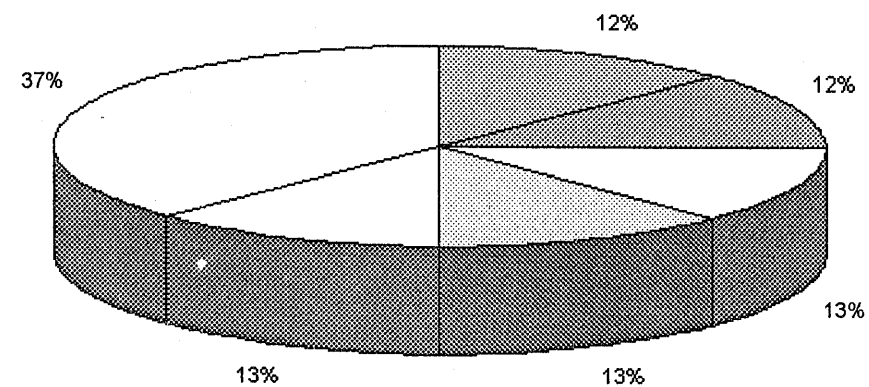
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	1	16,67
2	Eurygaster integriceps	1	16,67
3	Macrosteles sexnotatus	1	16,67
4	Pterostichus sp.	1	16,67
5	Phytodecta fornicata	1	16,67
6	Contarinia tritici	1	16,67
	Total	6	

Fig. 9. – Abundența numerică, grâu tratat, 11 iunie 1997.



Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Staphylinidae	1	14,29
2	Dermestidae	1	14,29
3	Geotrupes stercorosus	1	14,29
4	Ichneumonidae	1	14,29
5	Trissolcus grandis	1	14,29
6	Formicidae	1	14,29
7	Diptera Brachycera	1	14,29
	Total	7	

Fig. 10. – Abundența numerică, grâu tratat, 12 iunie 1997.



Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Sitobion avenae	1	12,50
2	Formicomus pedestris	1	12,50
3	Oulema melanopus	1	12,50
4	Curculionidae	1	12,50
5	Formicidae	1	12,50
6	Myrmicidae	3	37,50
	Total	8	

CULTURA DE LUCERNĂ

Structura calitativă a materialului biologic

Și în cazul lucernei, analiza calitativă, comparativă a materialului biologic colectat a scos în evidență ponderea mare a insectelor ca număr de specii și de exemplare față de celelalte grupe de artropode (*Arachnida* și *Crustacea*) și existența aceluiași categorii trofice: consumatori primari, consumatori secundari (prădători și parazitoizi), necrofagi, coprofagi.

Clasa *Arachnida* a fost reprezentată prin ordinul *Aranea*, crustaceele prin *Armadillidium vulgare*, din familia *Armadillidiidae* iar clasa *Insecta* a fost reprezentată prin specii aparținând la 8 ordine: *Orthoptera* (*Gryllidae*), *Dermaptera* (*Forficulidae*), *Heteroptera* (*Anthocoridae*), *Homoptera* (*Cicadellidae*, *Aphididae*), *Coleoptera* (*Carabidae*, *Anthicidae*, *Elateridae*, *Staphylinidae*, *Dermestidae*), *Hymenoptera*, (*Ichneumonidae*, *Myrmicidae*), *Lepidoptera* și *Diptera* (*Cecidomyiidae*).

Comparație între numărul de specii și de exemplare

Analiza materialului biologic a evidențiat și în acest caz existența unei diversități mai ridicate, reflectată printr-un număr mai mare de specii și de exemplare, în cazul probelor colectate din cultura neafectată de acțiunea ierbicidului, față de cele provenite din aceeași cultură, după aplicarea tratamentului chimic.

Numărul de exemplare din cele 5 probe colectate din cultura neexpusă acțiunii erbicidului a fost ridicat (30-199), fiind mai mare îndeosebi în ultimele două zile ale intervalului de colectare, corelat cu condițiile meteorologice mai favorabile.

În probele colectate după aplicarea tratamentului, numărul a scăzut foarte mult, menținându-se la valori cuprinse între 5 și 14 exemplare, cele mai mici valori înregistrându-se în primele trei zile ale intervalului de colectare.

În privința numărului total de exemplare, în probele colectate din cultura martor, acesta a fost de peste 12 ori mai mare (514), față de cel din probele obținute după aplicarea tratamentului chimic (42), ceea ce, chiar dacă se ia în calcul și acțiunea limitativă a unor factori abiotici defavorabili, indică existența unui impact major al ierbicidului, asupra populațiilor de artropode din cultură.

Numărul de specii din probele martor a fost mai ridicat, variind între 11 și 25 comparativ cu cel din cultura expusă acțiunii ierbicidului (3-7). Numărul aproximativ de specii colectate după aplicarea erbicidului a fost de peste 3 ori mai mic decât înainte de aplicarea acestuia.

Analiza acțiunii diferențiate a erbicidului Asulox 40 SL CS asupra diferitelor categorii trofice de artropode din cultura de lucernă

Se remarcă o acțiune diferențiată a erbicidului asupra speciilor din diferite categorii trofice de artropode din cultura de lucernă.

Consumatorii primari au fost specii fitofage de *Orthoptera*, *Homoptera*, *Coleoptera*, *Lepidoptera*, *Diptera*.

În materialul colectat înainte de aplicarea tratamentului consumatorii primari au fost ortopterele *Gryllulus burdigalensis*, *Gryllus desertus*, homopterele *Cicadellidae*, *Aphis fabae*, coleopterele *Ophonus rufipes*, *Agriotes lineatus*, *Phytodecta fornicata*, *Sitona lineatus*, *Sitona hispidulus*, *Phytonomus variabilis*, *Apion* sp., dipterele *Contarinia medicaginis* și *Chlorops pumilionis*.

În materialul colectat după aplicarea tratamentului, consumatorii primari au fost reprezentați numai de coleoptere: *Ophonus rufipes*, *Anisodactylus signatus*, *Harpalus distinguishedus*, *Harpalus aeneus*, *Opatrum sabulosum*, *Phytodecta fornicata*.

Consumatorii secundari au fost specii prădătoare și parazitoide.

Prădătorii mai numeroși în probele martor, aparțin ordinelor: *Arachnida* (*Aranea*), *Heteroptera* (*Orius* sp., *Nabis* sp.), *Coleoptera* (*Carabus scabriuscu-*

lus, *Carabus coriaceus*, *Poecilus cupreus*, *Pterostichus lepidus*, *Pterosichus* sp., *Brachinus psophia*, *Brachinus explodens*, *Idiochroma dorsalis*, *Formicomus pedestris*, *Staphylinidae*, *Coccinella quatuordecimpustulata*).

Parazitoizii prezenți accidental în probe deoarece nu își duc viața la nivelul solului, au fost reprezentați în probele martor prin specii de *Ichneumonidae* și *Diapriidae* (*Trichopria* sp.), fără să putem face o legătură între acestea și dăunătorii culturii de lucernă.

În probele colectate din cultura tratată ca prădători au fost specii de *Aranea*.

Deși numărul de specii aparținând consumatorilor primari este mai mare în probele obținute din cultura martor, raportul dintre aceștia și consumatorii secundari este favorabil celor secundari, în probele din cultura martor și celor primari în probele din cultura ierbicidată. Explicația depresiei efectivelor consumatorilor secundari rezidă și în cazul culturii de lucernă din acțiunea negativă a erbicidului. Se remarcă o rezistență ceva mai mare a speciilor prădătoare în comparație cu paraziții.

Speciile necrofage (*Dermestidae*) și coprofage (*Caccobius* sp.) au fost slab reprezentate în ambele categorii de probe.

Abundența numerică și frecvența speciilor de artropode

Abundența numerică în probele colectate din cultura martor de lucernă și afectată de ierbicid a avut valori mai mari în cazul insectelor (tabelele și fig. 11-20).

În probele colectate din cultura martor ponderea insectelor a fost mai mare (între 90,45% și 100%) decât în cele poluate, în care cu excepția primelor zile de colectare, când s-au întâlnit numai insecte, valorile abundenței numerice a insectelor au fost mai scăzute (între 71,43% și 83,33%). Dintre insecte, dominante numeric au fost coleopterele (îndeosebi prin specii de *Carabide* și *Staphylinidae*).

O remarcă specială trebuie făcută pentru coleopterul prădător *Brachynus explodens*, a cărui abundență relativă în unele probe a avut valori foarte mari (49,25% pe 27 mai și 56,14% pe 26 mai), pentru speciile de *Homoptera* și himenoptere *Formicidae*, *Myrmicidae*, abundente în unele probe.

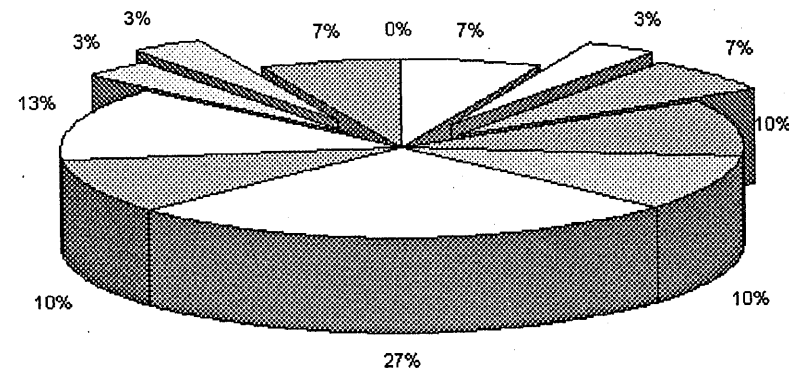
În probele colectate din cultura poluată, *Brachynus* n-a mai fost capturat și în general prădătorii au avut o abundență numerică mult mai mică decât fitofagii.

Frecvența artropodelor în probe colectate din cultura martor și poluată a fost diferită.

În probele colectate din cultura martor, mai frecvente au fost speciile de *Gryllidae*, *Carabidae* și *Diptera* (ultimele atrase și de oțetul folosit în capcane). Dintre carabide, mai frecvente au fost speciile prădătoare de *Poecilus*, *Pterostichus*, *Brachinus*, *Carabus*.

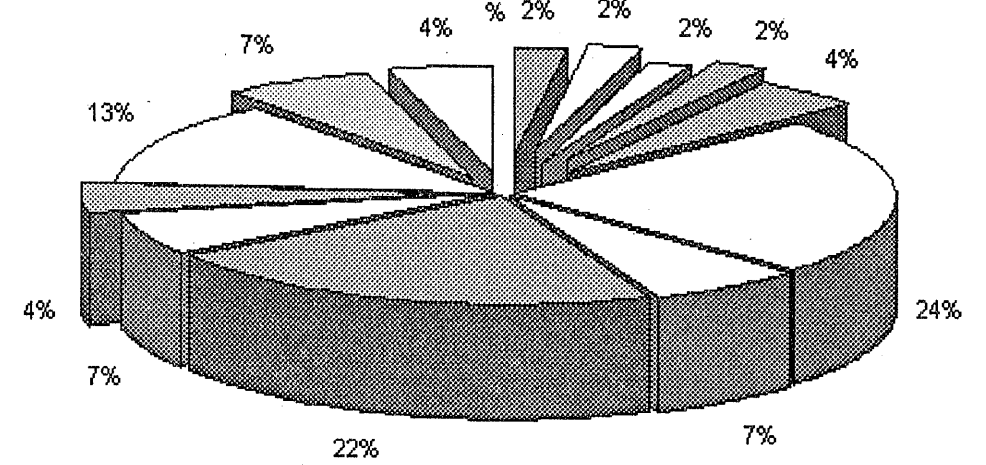
În probele colectate din cultura tratată cu ierbicid, valori mai ridicate ale frecvenței au avut speciile de *Aranea* și unele coleoptere fitofage.

Fig. 11. – Abundența numerică, lucernă mator, 23 mai 1997.



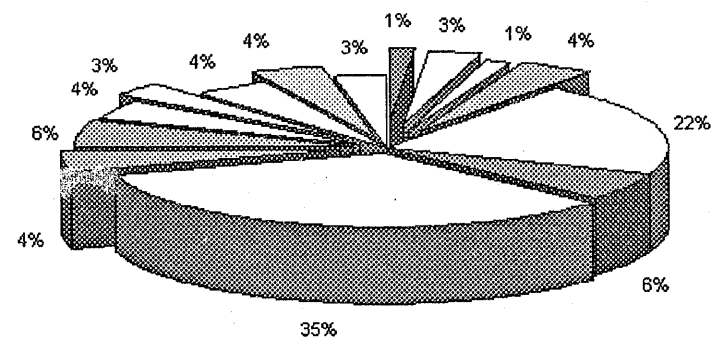
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	2	6,67
2	Gryllus desertus	1	3,33
3	Cicadellidae	2	6,67
4	Aphis fabae	3	10,00
5	Poecilus cupreus	3	10,00
6	Pterostichus sp.	8	26,67
7	Ophonus rufipes	3	10,00
8	Brachinus excludens	4	13,33
9	Agriotes lineatus	1	3,33
10	Contarinia medicaginis	1	3,33
11	Diptera Brachycera	2	6,67
	Total	30	

Fig. 12. – Abundența numerică, lucernă mator, 24 mai 1997.



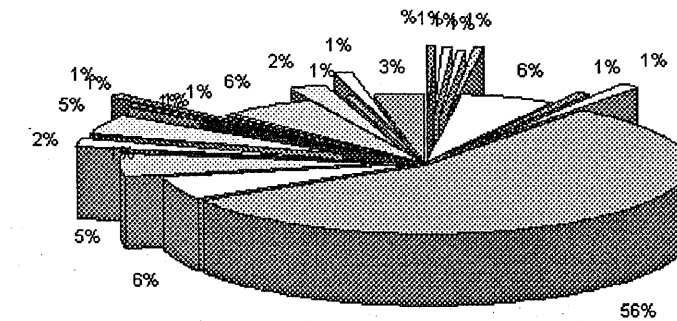
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	1	2,17
2	Gryllulus burdigalensis	1	2,17
3	Orius sp.	1	2,17
4	Carabus scabriusculus	1	2,17
5	Pterostichus lepidus	2	4,35
6	Pterostichus sp.	11	23,91
7	Poecilus cupreus	3	6,52
8	Brachinus excludens	10	21,74
9	Ophonus rufipes	3	6,52
10	Ichneumonidae	2	4,35
11	Myrmicidae	6	13,04
12	Formicidae	3	6,52
13	Drosophilidae	2	4,35
	Total	46	

Fig. 13. – Abundența numerică, lucernă mator, 25 mai 1997.



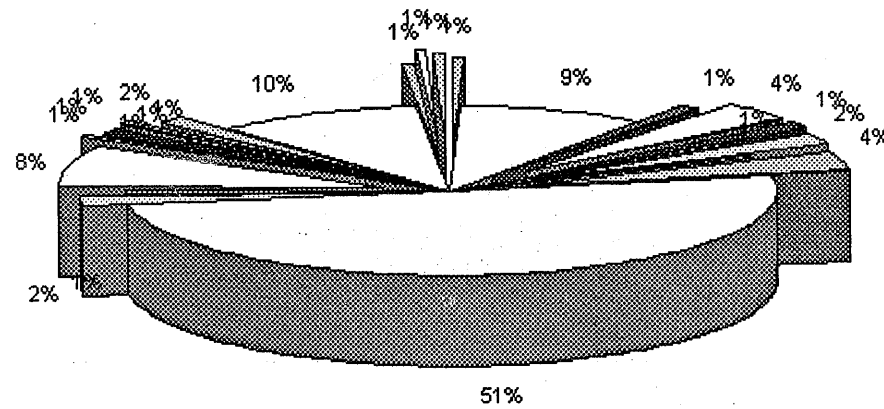
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	<i>Gryllus desertus</i>	1	1,47
2	<i>Gryllulus burdigalensis</i>	2	2,94
3	<i>Forficula auricularia</i>	1	1,47
4	<i>Brachinus psophia</i>	3	4,41
5	<i>Brachinus explodens</i>	14	20,59
6	<i>Idiochroma dorsalis</i>	4	5,88
7	<i>Pterostichus</i> sp.	23	33,82
8	<i>Poecilus cupreus</i>	3	4,41
9	<i>Ophonus rufipes</i>	4	5,88
10	<i>Formicomus pedestris</i>	3	4,41
11	Staphylinidae	2	2,94
12	Dermestidae (larve)	3	4,41
13	Myrmicidae	3	4,41
14	Diptera Brachycera	2	2,94
	Total	68	

Fig. 14. – Abundența numerică, lucernă mator, 26 mai 1997.



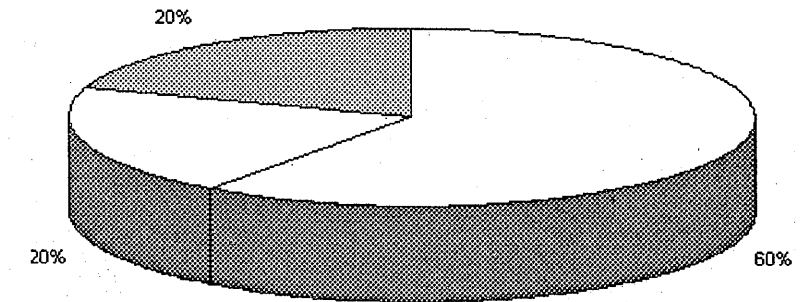
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	<i>Armadillidium vulgare</i>	1	0,58
2	<i>Gryllulus burdigalensis</i>	1	0,58
3	<i>Nabis</i> sp.	1	0,58
4	<i>Orius niger</i>	1	0,58
5	<i>Aphis fabae</i>	10	5,85
6	<i>Forficula auricularia</i>	1	0,58
7	<i>Ophonus rufipes</i>	2	1,17
8	<i>Brachinus explodens</i>	96	56,14
9	<i>Idiochroma dorsalis</i>	10	5,85
10	<i>Poecilus cupreus</i>	9	5,26
11	<i>Carabus coriaceus</i>	1	0,58
12	<i>Formicomus pedestris</i>	3	1,75
13	Dermestidae (larve)	8	4,68
14	<i>Coccinula quatuordecimpustulata</i>	1	0,58
15	<i>Phytodecta fornicata</i>	1	0,58
16	<i>Sitona lineatus</i>	1	0,58
17	<i>Phytonomus variabilis</i>	1	0,58
18	<i>Apion</i> sp.	1	0,58
19	Myrmicidae	10	5,85
20	Formicidae	4	2,34
21	Lepidoptera (larve)	1	0,58
22	Drosophilidae	2	1,17
23	Diptera Brachycera	5	2,92
	Total	171	

Fig. 15. – Abundența numerică, lucernă martor, 27 mai 1997.



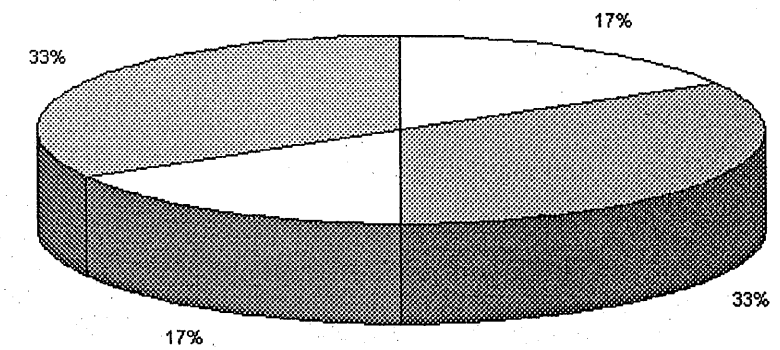
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Armadillidium vulgare	1	0,50
2	Aranea	18	9,05
3	Forficula auricularia	2	1,01
4	Aphis fabae	7	3,52
5	Orius sp.	2	1,01
6	Nabis sp.	1	0,50
7	Carabus coriaceus	4	2,01
8	Pterostichus sp.	1	0,50
9	Idiochroma dorsalis	7	3,52
10	Brachinus explodens	98	49,25
11	Formicomus pedestris	4	2,01
12	Staphylinidae	1	0,50
13	Dermeestidae	15	7,54
14	Phytodecta fornicata	1	0,50
15	Phytonomus variabilis	1	0,50
16	Sitona hispidulus	2	1,01
17	Sitona lineatus	1	0,50
18	Caccobius sp.	1	0,50
19	Trichopria sp.	1	0,50
20	Formicidae	3	1,51
21	Myrmicidae	20	10,05
22	Apodea	1	0,50
23	Contarinia medicaginis	1	0,50
24	Chlorops pumilionis	1	0,50
25	Diptera Brachycera	5	2,51
	Total	199	

Fig. 16. – Abundența numerică, lucernă tratată, 11 iunie 1997.



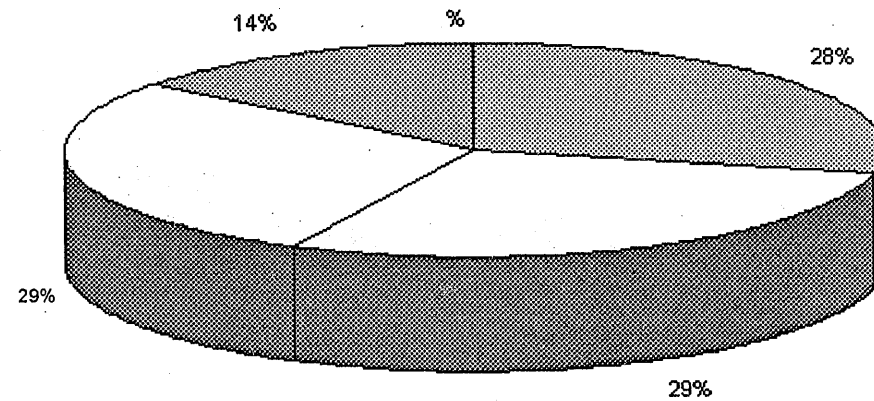
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Ophonus rufipes	3	60
2	Drosophilidae	1	20
3	Diptera Brachycera	1	20
	Total	5	

Fig. 17. – Abundența numerică, lucernă tratată, 12 iunie 1997.



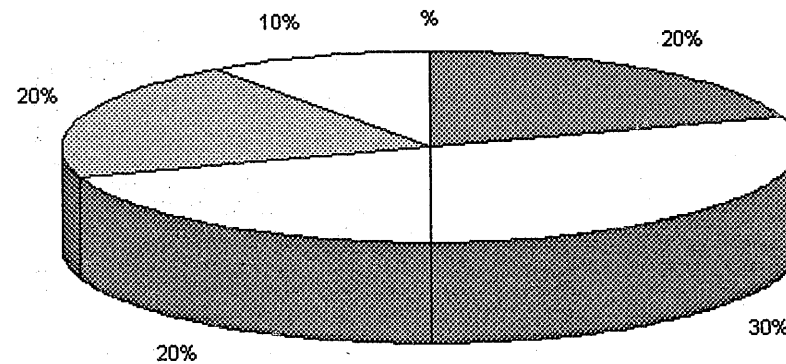
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	1	16,67
2	Ophonus rufipes	2	33,33
3	Dermeestidae	1	16,67
4	Diptera Brachycera	2	33,33
	Total	6	

Fig. 18. – Abundența numerică, lucernă tratată, 13 iunie 1997.



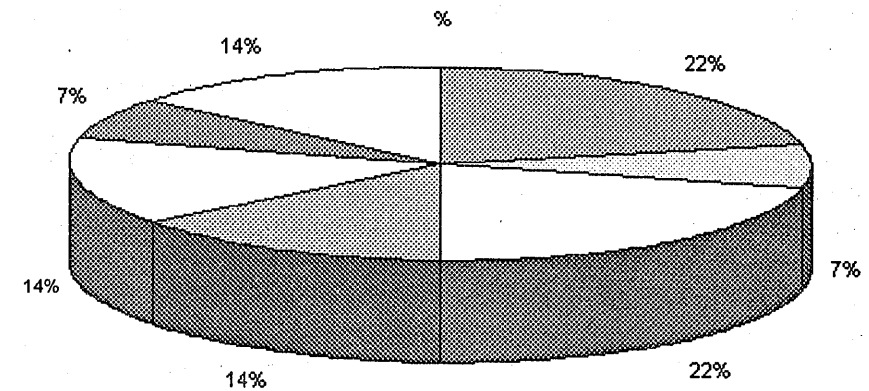
Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	2	28,57
2	Ophonus rufipes	2	28,57
3	Dermeestidae	2	28,57
4	Diptera Brachycera	1	14,29
	Total	7	

Fig. 19. – Abundența numerică, lucernă tratată, 14 iunie 1997.



Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	2	20
2	Ophonus rufipes	3	30
3	Opatrum sabulosum	2	20
4	Phytodecta fornicata	2	20
5	Diptera Brachycera	1	10
	Total	10	

Fig. 20. – Abundența numerică, lucernă tratată, 15 iunie 1997.



Nr. crt.	Specia/Grupul	Număr	%
1	Aranea	3	21,43
2	Anisodactylus signatus	1	7,14
3	Ophonus rufipes	3	21,43
4	Harpalus distinguendus	2	14,29
5	Harpalus aeneus	2	14,29
6	Opatrum sabulosum	1	7,14
7	Diptera Brachycera	2	14,29
	Total	14	

CONCLUZII

Scopul cercetărilor a fost sesizarea și evidențierea efectelor negative ale erbicidelor utilizate în combaterea unor buruieni: 2,4-D (sare de izopropil amină), LS-2,4D (sare de izopropilamină a acidului 2,4-D a.e 33) pentru cultura de grâu și Asulox-40 SL CS (asulan 400 g/l) pentru cultura de lucernă, asupra faunei de artropode de la nivelul solului și extrapolarea efectelor negative la nivel biocenotic.

În cultura de grâu, materialul biologic colectat din cultură înainte și după tratamentul chimic a fost alcătuit din artropode aparținând claselor Arachnida și Insecta, dominante ca număr de specii și de exemplare fiind insectele reprezentate îndeosebi prin specii caracteristice pentru fauna de la nivelul solului. Clasa Arachnida a fost reprezentată prin specii ale ordinelor *Acarina* și *Aranea* (nedeterminate până la nivel de specie).

Din clasa Insecta materialul a cuprins specii aparținând la 10 ordine: *Collembola*, *Orthoptera*, *Heteroptera*, *Homoptera*, *Thysanoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera*, *Neuroptera*, *Lepidoptera* și *Diptera*, cele mai bine reprezentate în

probe fiind coleopterele, îndeosebi prin specii aparținând familiilor *Carabidae* și *Staphylinidae*, himenopterele, prin familiile *Formicidae*, *Myrmicidae* și colembotele, toate, îndeosebi prin specii caracteristice, care trăiesc la nivelul solului.

Numărul speciilor de artropode colectate și numărul de exemplare au fost în toate cazurile mult mai mare în probele colectate înainte de aplicarea tratamentului chimic, comparativ cu cele colectate după ce erbicidul și-a exercitat acțiunea toxică.

Dinamica numărului de specii și de exemplare, constatată înainte de folosirea erbicidului a fost dată de acțiunea factorilor abiotici (temperatură, umiditate). După aplicarea tratamentului s-a înregistrat o scădere bruscă la peste 50% din numărul de specii și o scădere de aproximativ 6 ori a numărului mediu de exemplare, datorită acțiunii toxice a erbicidului. Abia la 6 zile de la aplicarea tratamentului s-a constatat o tendință de reinstalare a faunei de artropode de la nivelul solului.

Referitor la categoriile trofice în care se încadrează speciile de artropode capturate, menționăm că acestea au fost: consumatori primari (fitofagi), consumatori secundari (prădători și parazitoizi), necrofagi, coprofagi, detritofagi.

Consumatorii primari au fost dăunători specifici grâului: *Heteroptera* (*Eurygaster integriceps*), *Homoptera* (*Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, *Macrosteles sexnotatus*), *Tysanoptera* (*Limothrips denticornis*), *Coleoptera* (*Oulema melanopus*) și *Diptera* (*Mayetiola destructor*) și dăunători polifagi (*Gryllidae*, *Lygaeidae*, *Carabidae*, *Elateridae*, *Tenebrionidae*, *Curculionidae*).

Consumatorii secundari au fost specii prădătoare și parazitoide. Prădătorii mai numeroși decât parazitoizii au fost specii polifage de *Aranea*, *Heteroptera*, *Coleoptera*, *Neuroptera*, iar parazitoizii, ajunși accidental în probe au fost specii de himenoptere *Ceraphronidae*, *Diapriidae*, *Scelionidae*, dintre care importanță prezintă îndeosebi *Trissolcus grandis*, *Telenomus chloropus*, paraziți în ouăle de *Eurygaster*.

Coprofagii, necrofagii și detritofagii au fost mult mai bine reprezentați în probele martor, îndeosebi prin specii de *Collembola*. În probele colectate din cultura aflată sub impactul erbicidului, colembotele au dispărut, menținându-se doar câteva exemplare de *Dermestidae* (necrofage) și *Scarabaeidae* (coprofage).

Raportul dintre consumatorii primari și cei secundari a fost favorabil celor secundari, în probele din cultura înainte de tratament și celor primari în probele din cultura poluată. Acest raport este un indicator al gradului de afectare a rețelei trofice din biocenoză, consumatorii secundari fiind întotdeauna în mai mare măsură afectați de pesticide. În cultura martor, consumatorii secundari fiind preponderenți au capacitatea, ca factori biotici limitativi, să țină sub control efectivele consumatorilor primari.

Mai rezistente față de acțiunea toxică a erbicidului par a fi fost unele specii de *Coleoptera* (îndeosebi fitofage) și *Aranea*.

În probele colectate din cultura erbicidată, cei mai afectați de toxicitatea pesticidului au fost consumatorii secundari și dintre aceștia parazitoizii, al căror număr s-a redus substanțial.

În cultura de lucernă, materialul biologic colectat de la nivelul solului a cuprins artropode aparținând claselor Crustacea, Arachnida, Insecta, dominante în probe fiind insectele. Dintre crustacee a fost prezent *Armadillidium vulgare*, iar din clasa *Arachnida*, specii ale ordinului *Aranea*.

Clasa *Insecta* a fost reprezentată de specii aparținând la 8 ordine: *Orthoptera*, *Dermaptera*, *Heteroptera*, *Homoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera*, *Lepidoptera* și *Diptera*, dominante numeric fiind coleopterele, îndeosebi prin *Carabidae* și *Staphylinidae* și himenopterele, prin *Formicidae*, *Myrmicidae*, toate prin specii caracteristice, care trăiesc la nivelul solului.

Numărul de specii și de exemplare a fost în toate cazurile mult mai mare în probele martor, comparativ cu cele expuse acțiunii toxice a erbicidului.

Dinamica numărului de specii și de exemplare, indusă în cultura martor de variația factorilor abiotici, a prezentat o modificare majoră după aplicarea erbicidului: dacă numărul de specii a scăzut de circa 4 ori, numărul de exemplare a scăzut în ziua aplicării tratamentului de peste 39 de ori, față de ziua precedentă, iar ca valoare medie pe cele 5 zile, a scăzut de peste 15 ori.

Categoriile trofice în care se încadrează speciile colectate din cultura de lucernă au fost: consumatori primari, consumatori secundari (prădători și parazitoizi), necrofagi, coprofagi. Consumatorii primari au fost reprezentați de dăunători specifici lucernei (*Phytodecta fornicata*, *Sitona lineatus*, *Sitona hispidulus*, *Phytonomus variabilis*, *Contarinia medicaginis*) și polifagi (*Gryllidae*, *Aphididae*, *Carabidae*, *Tenebrionidae*, *Elateridae*).

Consumatorii secundari au cuprins specii prădătoare și parazitoide.

Prădătorii au fost specii polifage de *Aranea*, *Heteroptera*, *Coleoptera* (*Carabidae*, *Coccinellidae*, *Staphylinidae*).

Parazitoizii au fost slab reprezentați, prin specii de *Ichneumonidae*, *Diapriidae*, care nu au importanță pentru cultura de lucernă, având alte gazde decât dăunătorii specifici acestei culturi.

Necrofagii și coprofagii au fost mai bine reprezentați în cultura martor, îndeosebi prin *Dermestidae*, îndeplinind rolul lor benefic de „sanitari ai naturii”. În cultura expusă acțiunii ierbicidului s-au întâlnit doar câteva *Dermestidae*.

Raportul dintre consumatorii primari și cei secundari a fost și în cultura de lucernă favorabil celor secundari în probele martor și celor primari în probele colectate după aplicarea tratamentului chimic.

Și în acest caz, speciile de *Coleoptera* (îndeosebi cele fitofage) și *Aranea*, par a fi manifestat o oarecare rezistență față de acțiunea erbicidului.

Cei mai afectați de toxicitatea pesticidului au fost consumatorii secundari (reduși la *Aranea*) și îndeosebi parazitoizii, care au lipsit cu desăvârșire în probele colectate din cultura de lucernă expusă acțiunii toxice a erbicidului folosit în combaterea buruienilor.

BIBLIOGRAFIE

1. TEODORESCU IRINA, CUȚARU M., *Contributions a la connaissance des effets de la pollution industrielle sur certaines biocenoses des agrosystemes adjacentes aux sources d'emission*, An. Univ. Buc., XXXVIII, 71-79, 1989.
2. TEODORESCU IRINA, STĂNESCU M., *The industrial pollution effect upon some biocenosis from the adjacent agrosystems around the emission sources*, Ocrot. nat. și a med. înconj., 38 (1): 27-44, 1994.
3. TEODORESCU IRINA, VĂDINEANU A., *The pesticide pollution impact on the structure and dynamics of the arthropod association*, Rev. Roum. Biol., Serie Biol. Anim., 42 (1): 125-135, 1997.
4. TEODORESCU IRINA, VĂDINEANU A., *Negative action of industrial emission upon ground level arthropod populations*, Rev. Roum. Biol., Serie Biol. Anim., 43 (2): 237-248, 1997.

Primit în redacție
la 10 decembrie 1997.

Facultatea de Biologie
Universitatea București
Splaiul Independenței, nr. 91-95.

DETECTAREA ELECTROFORETICĂ A PROTEINELOR VITELINE ÎN CURSUL OVOGENEZEI LA *Rana ridibunda*

OTILIA ZĂRNESCU¹, RADU MEȘTER¹, WANDA BUZGARIU²

The yolk proteins in frog, *Rana ridibunda* during oocyte development were compared using SDS-gel electrophoresis. Changes during oocyte development were observed in the abundance of yolk proteins.

The majority of yolk proteins in follicles measuring less than 0.450 mm in diameter appeared to be derived from sources other than vitellogenic. In contrast, in larger follicles all the major yolk proteins detected were derived from vitellogenin. Thus, in early vitellogenic stage yolk proteins migrated with molecular masses of: 200 116, 53 and 40 kDa, whereas in middle and late vitellogenic follicles the major bands are represented by: 200 and 116 kDa.

Vitelogeneza este principalul eveniment responsabil de creșterea ovocitului (9) și vitelogenina a fost identificată ca precursor vitelin la majoritatea vertebratelor inferioare (1, 2, 7, 8). Ea este preluată de ovocit prin endocitoză mediată de receptor și clivată ulterior în proteine viteline (6).

În cursul vitelogenezei la diferite specii de vertebrate inferioare au fost identificate electroforetic, cromatografic, prin filtrare în gel sau ultrafiltrare, o serie de lipoproteine serice și proteine viteline (7, 9).

Până în prezent, proteinele viteline la amfibieni au fost caracterizate la următoarele specii: *Xenopus laevis* (4), *Rana catesbeiana* (10), *Rana temporaria* și *Rana esculenta* (5). Aceste studii au caracterizat electroforetic vitelogenina serică, sau proteinele viteline din omogenatele obținute din ovare întregi sau ovule.

Scopul acestui studiu a fost identificarea proteinelor viteline din diferite categorii de foliculi ovarieni de *Rana ridibunda*.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiile electroforetice au fost realizate pe femele de *Rana ridibunda*, provenite de la Stațiunea de Cercetări Piscicole Nucet, de la care s-au recoltat ovare pe tot parcursul sezonului de reproducere.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 50, nr. 1, p. 37-41, București, 1998

Lobii ovarieni au fost disecați din ovar și plasați într-o soluție de 0,155 M NaCl, în care s-a realizat disocierea foliculilor ovarieni și îndepărtarea țesutului conjunctiv stromal. S-au selectat în funcție de diametrul exterior și aspectul morfologic diferite categorii de foliculi ovarieni. În cazul foliculilor cu diametru mai mic de 0,470 mm s-a omogenizat întreaga lamelă ovariană.

După disociere, câte 50 de foliculi ovarieni din fiecare categorie, sau lamele ovariene au fost omogenizate într-un mililitru de tampon de omogenizare (15 mM Tris-HCl, pH-6,8, 2 mM PMSF-Phenylmethyl-sulfonilfluoride – ca inhibitor serin proteazic), realizat în trei variante: A (cu 0,155 M NaCl), B (cu 0,5 M NaCl) și C (cu 1 M NaCl). După omogenizare, probele au fost centrifugate la 15.000 rot./min., 30 de minute, la 4°C.

După centrifugare, omogenatul a prezentat trei faze: (1) strat superficial reprezentat de lipide; (2) strat median opac, care conține extractul vitelin; (3) un sediment în care se găsesc proteine viteline rămase nesolubilizate, resturi celulare și pigment.

Omogenatul ovarian total a fost obținut din fragmente de ovar previtelogenetic și vitelogenetic, care au fost omogenizate în același tampon de omogenizare. Omogenatul total a fost filtrat prin două straturi de tifon (pentru îndepărtarea resturilor de țesut conjunctiv) și centrifugat la 15.000 rot./min., 30 de minute la 4°C.

Extractele viteline au fost păstrate la -20°C, până în momentul utilizării.

Analiza electroforetică unidimensională a proteinelor s-a realizat pe un sistem convențional Tris-glicină (7,5% acrilamidă) (Laemmli, 1970).

Probele supuse electroforezei au fost diluate cu tampon de probă (2% SDS, 1% β mercaptoetanol, 10% glicină, Tris-HCl 0,063 M, pH-6,8) și încălzite la 100°C, cinci minute pentru denaturare. În fiecare godeu al gelului s-au turnat câte 20 μl (10 μg) de probă. Electroforeza s-a realizat trei ore la un curent constant de 15 mA. După terminarea electroforezei gelurile au fost colorate cu o soluție de 0,25% Coomassie Brilliant Blue și decolorate cu un amestec de acid acetic:metanol:apă distilată (1:1:8).

Pentru determinarea masei moleculare aparente a proteinelor viteline s-au folosit următorii markeri de masă moleculară (Sigma): miozină (205 kDa); β-galactozidază (116 kDa); fosforilază b (97,4 kDa); fructozo-6 fosfat kinaza (84 kDa); albumină (66 kDa); glutamic dehidrogenază (55 kDa); ovalbumină (45 kDa); gliceraldehid 3- fosfat dehidrogenaza (36 kDa).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Experimentele inițiale au fost realizate pentru a stabili clasele de ovocite și stadiul de dezvoltare al acestora. În acest scop, foliculii ovarieni au fost grupați în categorii, pe baza diametrului și aspectului morfologic. În funcție de aceste criterii s-au izolat patru categorii de foliculi ovarieni (tabelul nr. 1).

Nu se constată diferențe între profilele electroforetice ale polipeptidelor viteline din foliculii ovarieni aflați în același stadiu de dezvoltare, prelevați de la aceeași femelă sau de la femele diferite.

Tabelul nr. 1

Corelația dintre dimensiunea foliculilor ovarieni și gradul de diferențiere al ovocitului

Dimensiune foliculi (mm)	Stadiul de dezvoltare al ovocitelor
0,268–0,450	Previtelogeneză timpurie și medie
0,500–0,600	Previtelogeneză târzie-început de vitelogeneză
0,882	Mijlocul vitelogenezei
1,000–1,200	Vitelogeneză târzie

Diferențe electroforetice au fost observate între stadiile previtelogenetice și cele vitelogenetice.

În cazul lamelilor ovariene cu foliculi previtelogenetici (0,268–0,450 mm diametru) există numeroase polipeptide cu greutatea moleculară aparente cuprinse între 205–10 kDa, care probabil nu au legătură cu proteinele viteline (fig. 1, coloana A).

Foliculii ovarieni cu dimensiuni cuprinse între 0,5–0,6 mm diametru sunt la începutul vitelogenezei și se caracterizează electroforetic prin prezența a patru polipeptide mai evidente, cu greutatea moleculară aparente de 200, 116, 53 și 40 kDa (fig.1, coloana B) și o serie de benzi slab reprezentate cantitativ.

În foliculii ovarieni aflați la mijlocul și sfârșitul vitelogenezei se remarcă două polipeptide majore cu greutatea moleculară de 200 și 116 kDa și o serie de benzi mai slab reprezentate (fig. 2, coloana B).

Folosirea de tampoane de extracție cu concentrații crescătoare de NaCl a indicat că solubilizarea proteinelor viteline este cu atât mai intensă cu cât concentrația de clorură de sodiu este mai mare (fig. 2, coloanele A–B; fig. 3, coloanele A–B). În plus, extragerea sedimentului obținut după prima centrifugare cu 0,5 M NaCl, indică prezența a două polipeptide viteline identice cu cele obținute prin extracția cu NaCl 0,155 M, dar într-o concentrație mult mai mare (fig. 3, coloanele C–D).

Se constată, de asemenea, că nu există diferențe între profilul electroforetic al extractului ovarian total și cel al foliculilor ovarieni vitelogenetici, aspect care demonstrează că tamponul folosit pentru extracție solubilizează numai proteinele viteline (fig. 2, coloanele A–B; fig. 3 coloanele A–D).

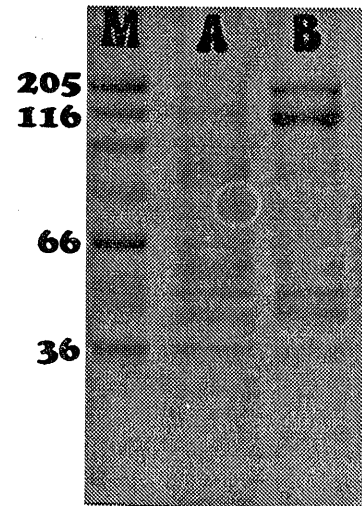


Fig. 1. – Profilul electroforetic al proteinelor din lamelele ovariene previtelogenetice (A) și foliculii vitelogenetici timpurii (B). M–markeri de greutate moleculară.

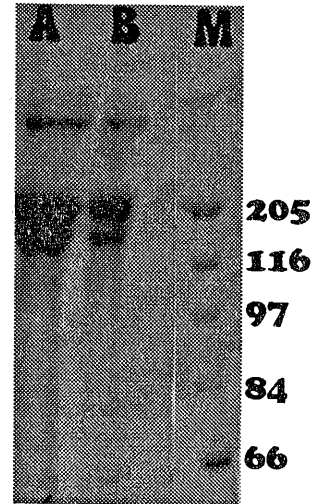


Fig. 2. – Profilurile electroforetice ale proteinelor viteline (extrase în 1 M NaCl), din ovocitele aflate la mijlocul vitelogenezei (A) și din omogenatul obținut din ovar vitelogenetic (B). M–markeri de greutate moleculară.

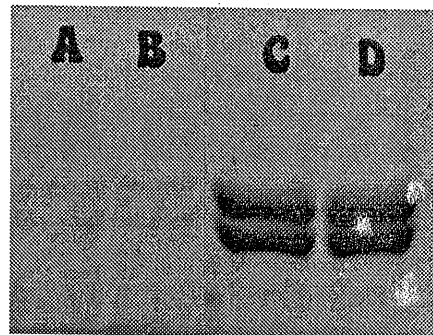


Fig. 3. – Profilurile electroforetice ale proteinelor viteline din omogenatul ovarian (A) și foliculii vitelogenetici târzii (B), extrase în 0,155 M NaCl. Sediment obținut după centrifugarea omogenatului ovarian (C) și a celui din foliculii vitelogenetici târzii (D) extras în tampon cu 0,5 M NaCl.

În timpul vitelogenezei, creșterea ovocitului se datorează în principal preluării vitelogeninei și procesării ei în proteine viteline.

Rezultatele electroforetice obținute de noi sunt asemănătoare cu cele ale altor autori care au realizat experimente similare pe *Xenopus laevis* (4), *Rana esculenta* și *Rana temporaria* (5).

În cazul lamelelor ovariene cu foliculii previtelogenetici (0,268–0,450 mm diametru) există numeroase polipeptide cu greutate moleculară aparente cuprinse între 205–10 kDa. Această situație este similară cu cea observată de noi la *Carassius auratus gibelio* (14) și probabil polipeptidele respective nu au legătură cu proteinele viteline.

Odată cu începutul vitelogenezei în ovocitele de *Rana ridibunda* încep să se acumuleze proteine viteline derivate din vitelogenină.

S-a demonstrat că după internalizarea vitelogeninei, aceasta este clivată în proteine viteline reprezentate în special de lipovitelin, fosvitin și fosvet. Cele două benzi majore din extractul vitelin de *Rana ridibunda* cu greutate moleculară de 200 și respectiv 116 kDa reprezintă probabil lipovitelin 1. Aceste valori sunt puțin mai mari decât cele raportate la *Rana esculenta* (120–103 kDa), *Rana temporaria* (123–105 kDa) (5) și *Xenopus laevis* (111–121 kDa) (11, 12).

Extracția proteinelor viteline într-un tampon cu 1 M NaCl sau solubilizarea suplimentară a sedimentului obținut după prima centrifugare a extractului vitelin cu 0,5 M NaCl, indică o extracție suplimentară de lipovitelin1. În cazul amfibienilor, spre deosebire de pești, proteinele viteline sunt mai strâns împachetate și cristalizate în interiorul plachetelor viteline, astfel încât, sunt necesare concentrații crescute de sare pentru a le solubiliza. Deși acest aspect a fost observat încă din 1954 de Essner la *Rana pipiens* (3), recent s-a arătat că lipovitelinul din plachetele viteline descrește odată cu creșterea molarității soluției saline, iar la 0,5 M NaCl el este degradat rapid (13). Aceste rezultate sunt corelate cu presupunerea că limitarea proteolizei vitelogeninei de către catepsina D este datorată insolubilității plachetelor viteline la concentrații fiziologice de sare. Acest comportament ar putea explica de ce vitelusul poate fi stocat stabil în prezența hidrolazelor acide o lungă perioadă de timp.

BIBLIOGRAFIE

1. ANSARI A. Q., DOLPHIN P. J., LAZIER C. B., MUNDAY K. A., AKHTAR M., *Biochem. J.*, **122**: 107–113, 1971.
2. BERGINK E. W., WALLACE R. A., *J. Biol. Chem.*, **249**: 2897–2903, 1974.
3. ESSNER E. S., *Protoplasma*, **43**: 79–89, 1954.
4. EVANS J. P., KAY B. K., *Methods in Cell Biology. Xenopus laevis: practical uses in cell and molecular biology*, (B. K. Kay, H. B. Peng, Eds), Academic Press, San Diego, **36**: 133–148, 1991.
5. LANGE R. H., RICHTER H-P., RIEHL R., ZIEROLD K., TRANDABURU T., MAGDOWSKI G., *J. Ultrastruct. Res.*, **83**: 122–140, 1983.
6. OPRESKO L. K., WILEY H. S., *J. Biol. Chem.*, **262**: 4109–4115, 1987.
7. WALLACE R. A., *Developmental Biology* (Browder L. W., Ed), Oogenesis, Plenum Press, New York, **1**: 127–177, 1985.
8. WALLACE R. A., BERGINK E. W., *Am. Zool.*, **14**: 1159–1175, 1974.
9. WALLACE R. A., SELMAN K., *J. Electr. Microsc. Techniq.*, **16**: 175–201, 1990.
10. WARD R. T., OPRESKO L., WALLACE R. A., *Develop. Biol.*, **112**: 59–65, 1985.
11. WILEY H. S., WALLACE R. A., *J. Biol. Chem.*, **256**: 8626–8634, 1981.
12. YOSHIZAKI N., *Develop. Growth & Differ.*, **34**: 517–527, 1992.
13. YOSHIZAKI N., YONEZAWA S., *Develop. Growth Differ.*, **38**: 549–556, 1996.
14. ZĂRNEȘCU O., MEȘTER R., OANCEA A., BUZGARIU W., *Rev. Roum. Biol. Biol. Anim.*, **42**, 167–172, 1997.

Primit în redacție
la 5 ianuarie 1998.

¹ *Facultatea de Biologie,
București, Splaiul Independenței 91–95.*
² *Institutul Național de Științe Biologice
București, Splaiul Independenței nr. 296.*

MODIFICĂRI HISTOLOGICE INDUSE DE CARBOPLATIN ȘI FARMORUBICINĂ LA NIVELUL FICATULUI DE ȘOBOLAN

CRISTINA PAȘCA, ERIKA KISS, VICTORIA-DOINA SANDU

Carboplatin (Paraplatin) and Epirubicin (Farmorubicina), cytostatic drugs widely used in the chemotherapy of cancer, administered i.v. to adult male Wistar rats, a single dose of 1.18 mg Carboplatin/100 g body weight and 1.8 mg Epirubicin/100 g body weight, caused obvious histopathological changes of the liver 3 days after the administration. These changes are more obvious in the case of Carboplatin treatment.

These cytostatics established swollen degeneration of the hepatocytes, distensions, congestions and haemorrhages of the blood vessels.

After 10 days from the administration of these drugs, the effect of Carboplatin decreased while the effect of Epirubicin increased.

Both of these cytostatics have an obvious hepatotoxic effect.

Carboplatinul și Farmorubicina sunt citostatice larg utilizate în terapia antineoplazică. Carboplatinul sau Paraplatinul (cis diamino 1,1 ciclobutan dicarboxilat de Pt) face parte din grupul agenților alchilanți care conțin platină iar Farmorubicina (Epirubicin) – clorhidrat de epirubicină – este un antibiotic anti-tumoral (1, 3, 7, 16).

Mecanismul lor de acțiune are la bază inhibarea biosintezei ADN și ARN, precum și interacțiunea cu proteinele nucleare și plasmatică (1, 2, 4, 6, 10, 11, 12, 13, 15, 18, 19, 24).

Citostaticele au o acțiune selectivă redusă și de aceea acționează nu numai asupra țesuturilor tumorale ci și asupra celor normale, ceea ce impune cu necesitate cunoașterea efectelor secundare ale acestora.

În acest context, noi am investigat efectele histologice ale Carboplatinului și Farmorubicinei la nivelul ficatului sănătos – organ „țintă” al acțiunii xenobiotice, aspect puțin investigat.

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetările s-au efectuat în 2 serii experimentate pe șobolani adulți Wistar, masculi (180–200 g) întreținuți în condiții standard de laborator. Astfel, pentru fiecare citostatic s-au organizat 3 loturi de animale a câte 10 șobolani:

1) lotul M – martor;

2) lotul T1 – tratat i.v. în vena codală cu câte o doză unică de 1,18 mg Carboplatin, respectiv 1,8 mg Farmorubicină/100 g greutate corporală. Animalele au fost sacrificate după 4 zile de la administrarea citostaticelor;

3) lotul T2 – tratat similar lotului T1, în ambele cazuri dar sacrificat după 10 zile de la aplicarea tratamentului.

Sacrificarea șobolanilor s-a făcut după o anestezie prealabilă cu eter, prin exsangvinizare, dimineața după 16 ore de înfometare.

Înainte de sacrificare animalele au fost cântărite și examinate macroscopic.

La sacrificare s-a prelevat: sângele și fragmente din mai multe organe care au fost prelucrate corespunzător studiului histologic, histochimic și histoenzimologic, după tehnicile uzuale descrise de Mureșan și colab. (13).

În prezenta lucrare ne referim doar la ficat. Menționăm că fragmentele de ficat au fost recoltate la toate animalele din lobul drept și fixate în lichidul Bouin.

Pe secțiuni de 5 microni realizate din piese incluse în parafină și colorate cu hematoxilină-eozină am efectuat studiul histologic.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

S-a constatat că șobolanii tratați cu Farmorubicină erau apatici față de martori, aveau părul zburlit, iar sub aspect ponderal au scăzut în greutate dar nu semnificativ. La loturile tratate cu Carboplatin nu s-au observat modificări notabile față de martori.

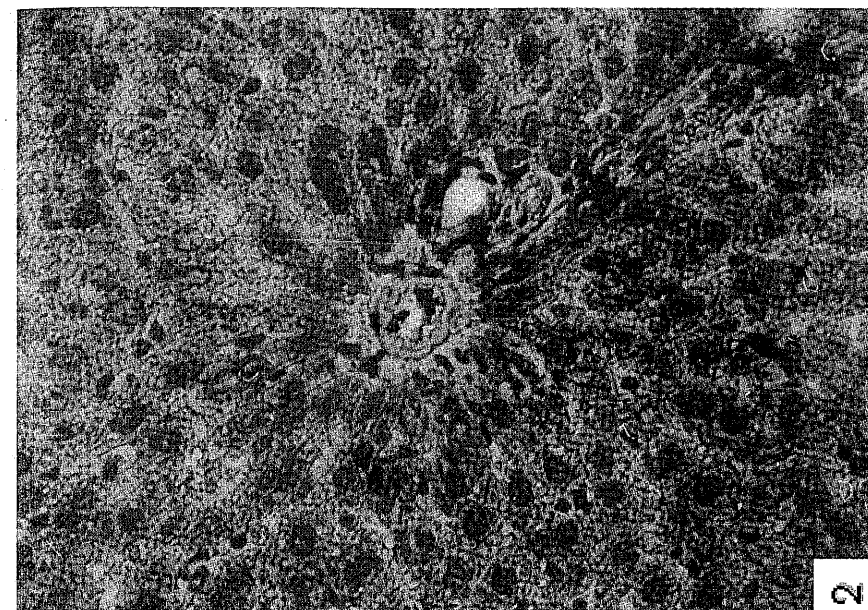
Aspectul macroscopic al ficatului la loturile tratate cu citostatice și în special cu Farmorubicină este modificat față de al martorilor, prin apariția unor zone albicioase și printr-o consistență mai rigidă; aspecte mai evidente la loturile T1.

Studiul histologic al secțiunilor de ficat la loturile tratate cu citostatice, față de ficatul animalelor de control (fig. 1, 2) relevă o serie de modificări.

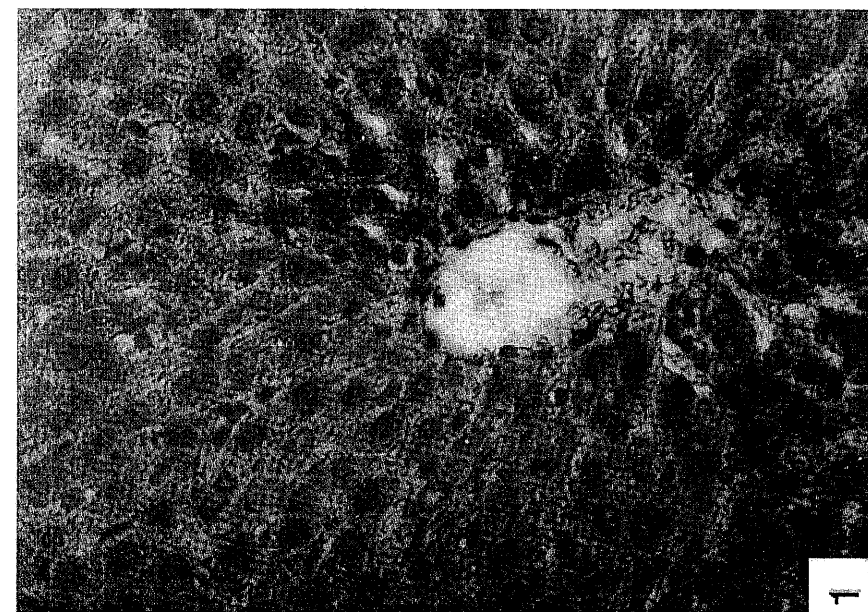
În cazul tratamentului cu Carboplatin:

– la lotul T1 (fig. 3, 4) am semnalat apariția unui număr mare de hepatocite balonizate pe toată suprafața de secțiune a lobului hepatic, fenomene de necroză celulară dispuse în arii mici, spre periferia lobulilor, dilatări ale sinusoidelor pe toată suprafața, cu aspecte de disecare a parenchimului hepatic, congestie vasculară în vena centro-lobulară. Vena portă este puternic dilatată, iar în jurul ei apar eventuale hemoragii și infiltrate inflamatorii.

– la lotul T2 (fig. 5, 6), după 10 zile de la administrarea citostaticului se vizualizează modificări histopatologice asemănătoare celor înregistrate la lotul T1, dar mult mai atenuate. În jurul venei centrolobulare s-a observat o zonă de parenchim normal; degenerarea balonizată și dilatări sinusoidale se mențin doar în jurul spațiului port, deci spre periferia lobului. Diametrul venei porte și centrolobulare s-a redus față de T2, apropiindu-se de cel al martorilor.

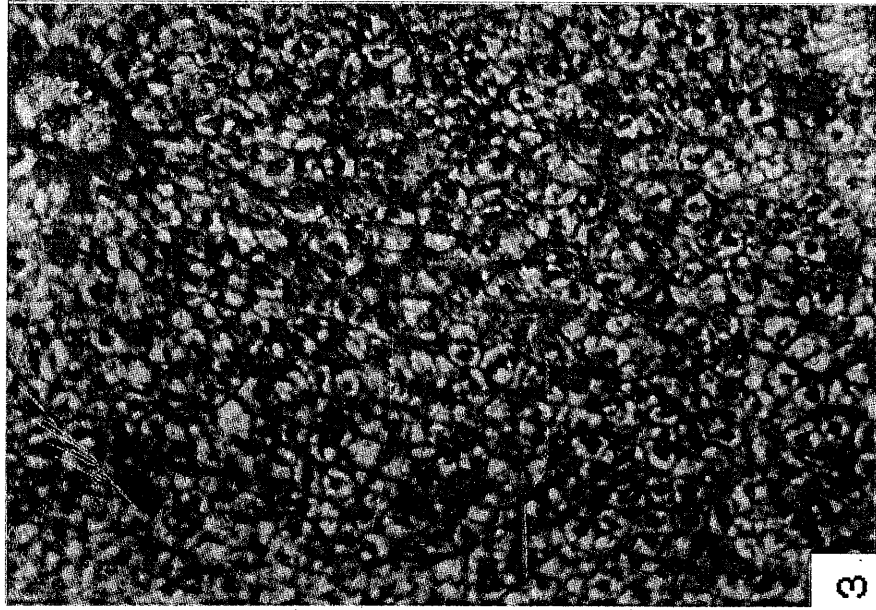


2

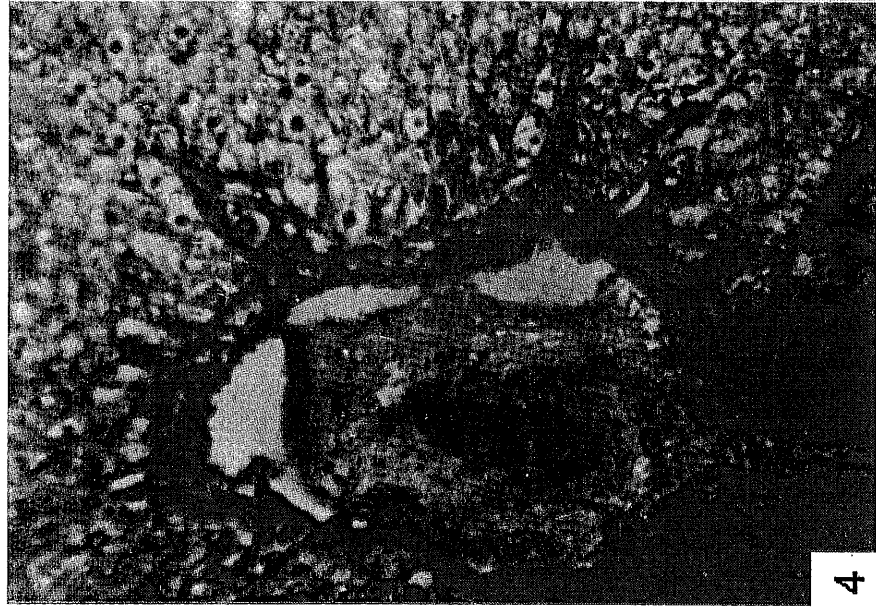


1

Fig. 1, 2. – Aspectul histologic al ficatului la lotul de control (lotul M).



3



4

Fig. 3, 4. - Aspectul histologic al ficatului la lotul T1 tratat cu Carboplatin.



5



6

Fig. 5, 6. - Aspectul histologic al ficatului la lotul T2 tratat cu Carboplatin.

Consecutiv tratamentului cu Farmorubicină:

– la lotul T1 (fig. 7, 8), comparativ cu animalele de control, s-a înregistrat o hipertrofie hepatocitară și nucleară; apariția unor celule rotunde în special în zona pericentrolobulară, degenerarea balonizată a hepatocitelor din zona lobulară periferică, deci concentrică spațiului port, precum și o ușoară dilatare a sinusoidelor.

– la lotul T2 (fig. 9, 10), apar modificări histopatologice similare celor semnalate la lotul T1, dar mai accentuate și mai extinse. Astfel, numărul hepatocitelor balonizate este mai mare, aria lor extinzându-se spre vena centrolobulară, în jurul căreia se menține doar o zonă îngustă de parenchim hepatic nemodificat; sinusoidale sunt mai dilatate.

O modificare marcată suferă și spațiul port la nivelul căruia are loc o puternică dilatare a ramurii respective a venei porte și chiar apariția de leziuni în peretele vascular, însoțite de hemoragii evidente în zona *vasorum*, cât și în țesutul concentric vasului.

Rezultatele histologice prezentate anterior, coroborate cu cele histochemice și histoenzimologice (date nepublicate) relevă marea sensibilitate a ficatului de șobolan la acțiunea citostaticelor studiate administrate în doză unică și în special la Farmorubicină, în condițiile experimentului nostru, care în concepția toxicologilor ar reprezenta o intoxicație acută (20).

Leziunile hepatice induse de ambele citostatice, dar în special de Carboplatin, după 4 zile de la aplicarea tratamentului (efectul imediat), reflectă o afectare pronunțată a ficatului la nivelul tuturor structurilor.

Astfel, ca efect imediat, comun al ambelor citostatice apare degenerarea balonizată de natură hidropică sau grasă. Conform datelor din literatura de specialitate (20), balonizarea hepatocitelor este determinată de balonizarea mitocondriilor și de creșterea permeabilității membranelor celulare și subcelulare.

Un alt fenomen comun semnalat consecutiv acțiunii celor două citostatice este afectarea vaselor sanguine, manifestată prin: dilatări, congestii și hemoragii perivasculare la nivelul ramurilor venei porte, capilarelor sinusoidale și venelor centrolobulare, efecte caracteristice acțiunii majorității hepatotoxicelor (8, 14).

În cazul Carboplatinului am semnalat după 4 zile și apariția unor zone de necroză celulară, diseminate sub forma unor insule în parenchimul hepatic, aspect înregistrat și în cazul intoxicației cu fosfor (9). Aceste necroze se vizualizează prin vacuolizări hidropice ale citoplasmei, vacuolele conținând adesea material hialin omogen.

Efectul întârziat – după 10 zile – al citostaticelor testate, diferă.

Astfel, în timp ce sub influența Carboplatinului, modificările histopatologice înregistrate după 4 zile, se atenuază vizibil, regenerarea ficatului afectat fiind evidentă, în cazul Farmorubicinei, se accentuează.

Credem că aceste diferențe de acțiune întârziată se datorează timpului lor diferit de înjumătățire, formei și modului de eliminare din organism.

Farmorubicina are probabil un efect mai drastic datorită timpului său de înjumătățire de 30–40 ore, largii distribuții în organism și eliminării sale lente sub formă nemodificată, pe cale hepatică (1, 21, 22).

Atenuarea în timp a efectelor Carboplatinului poate fi consecința timpului redus de înjumătățire (3 ore) și eliminării sale din organism în primele 24 ore în proporție de 60–70%, din care jumătate nemodificată și pe cale renală, o mică parte a carboplatinului fiind excretată prin bilă (5, 17, 23).

Având în vedere acțiunea imediată și întârziată exercitată asupra ficatului, de Carboplatin și Farmorubicină, considerăm că aceste citostatice prezintă un anumit grad de toxicitate, ceea ce impune prudență în utilizarea lor în chimioterapie anticanceroasă.

BIBLIOGRAFIE

1. BANDAK S., CZEJKA M., SCHULLER J., SCHERNHAMMER E., Serum and Red Blood Cells. Drug Res., 45 (1): 2, 212–215, 1995.
2. BLOMMAERT F.A., van DIJK-KNIJNENBURG H. C. M., DIJT F.J., den ENGELSE L., BAAN R. A., BERENDS F., FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. J., Biochemistry, 34 (26): 8474–8480, 1995.
3. CALBARESIP., PARKS R. E., Panamericana, 1179–1242, 1986.
4. CALVERT A. H., Anticancer Research, 14: 2273–2278, 1994.
5. CALVERT A. H., NEWELL D. R., GUMBRELL L. A., O'REILLY M., BOXALL F. E., SIDDIK Z. H., JUDSON I. R., GORE M. E., ALLTSHAW E., J. Clin. Oncol., 7: 1748–1756, 1989.
6. CALVERT A. H., HARLAND S. J., NEWELL D. R., SIDIK Z. H., HARRAP K. R., Cancer Treat. Rev., 12 (suppl. A): 51–57, 1985.
7. DRANISSARIS G., TRAN T. M., European Journal of Cancer, 31A (13, 14): 2174–2180, 1995.
8. ETINGER L. J., KRAILO M. D., GAYNON P. S., HAMMOND G. D., Cancer, 73 (3): 917–922, 1993.
9. HRUBAN R. H., STERNBERG S. S., MEYERS P., FLEISHER M., MENENDEZ-BOTET C., BOITNOTT J. K., Cancer Investigation, 9(3): 263–268, 1991.
10. LI DEZHONG, LIU XIAOYI, SU QINBO, Acta Academiae Medicinae Hubei, 17 (1): 14–17, 1996.
11. MAZUE G., WILLIAMS G. M., IATROPOULUS M. J., NEWMAN A. J., SAMMARTINI U., PULCI R., CASTELLINO S., SCAMPINI G., BRUGHERA M., IMONDI A. R., PODESTA A., Journal of Oncology, 8 (3): 525–536, 1996.
12. MILLWARD M. J., WEBSTER L. K., TONER G. C., BISHOP J. F., RISCHIN D., STOKES K. H., JOHNSTON V. K., HICKS R., Aust NZ J Med., 26: 372, 379, 1996.
13. OLIVEIRA BRETT ANA MARIA, SERRANO S. H. P., MACEDO T. A., RAIMUNDO D., MARQUES M. H., Electroanalysis, 8 (11): 992–995, 1996.
14. ONISHI Y., HATAE M., MATSUDA Y., NAKAMURA T., KODAMA Y., ITOH M., MARUYAMA H., MAEDA Y., Japanese Journal of Cancer & Chemotherapy, 22(8): 1103–1106, 1995.

15. PERINKOFT I., TESCH G., DEMPE K., KLETZL H., SCHULLER J., CZEJKA M., Pharmazie, 51 (11): 897–901, 1996.
16. ROSENBERG B., Biochimie, 859–867, 1978.
17. SIDDIK Z. H., NEWELL D. R., BOXALL F. E., HARRAP K. R., Biochem. Pharmacol., 36: 1925–1932, 1987.
18. SLAVUTSKY I., CAMPOS E., GONZALES CID M., LARRIPA I., Anti-Cancer Drugs, 6: 758–762, 1995.
19. TERHEGGEN P. M. A. B., BEGG A. C., EMONDT J. Y., DUBBELMAN R., FLOOT B. G. J., den ENGELSE L., Br. J. Cancer, 63: 195–200, 1991.
20. TIMAR M., Bazele terapiei raționale a ficatului, 93–100, 1982, Ed. M. I. Ch. București.
21. TWELVES C. J., RICHARDS M. A., SMITH P., RUBENS R. D., Annals of Oncology, 2 (9): 663–666, 1991.
22. TWELVES C. J., DOBBS N. A., MICHAEL Y., SUMMERS L. A., GREGORY W., HARPER P. G., RUBENS, R. D., RICHARDS M. A., British Journal of Cancer, 66 (4): 765–769, 1991.

Primit în redacție
la 10 octombrie 1997.

Facultatea de Biologie
Cluj-Napoca.

ASPECTE HISTOLOGICE ALE ACȚIUNII CARBOPLATINULUI ȘI CICLOFOSFAMIDEI LA NIVELUL INTESTINULUI SUBȚIRE DE ȘOBOLAN

ERIKA KIS, VICTORIA-DOINA SANDU, CRISTINA PAȘCA

Carboplatin and Cyclophosphamide cytostatic drugs widely used in the chemotherapy of cancer, administered to adult Wistar rats, a single dose of 1.18 mg Carboplatin /100 g and 4 mg Cyclophosphamide/100 g body weight caused histological changes of the jejunum. These were expressed by desquamative processes of vilosity epithelium, lymphocyte infiltrations, hyperemia in the stroma of villi and decrease of goblet cell number. The amplitudes of histological changes, determined by Carboplatin were more striking than in the case of Cyclophosphamide.

Extinderea chimioterapiei antineoplazice din ultimii ani, impune cu necesitate studierea și cunoașterea acțiunii citostaticelor nu numai asupra țesuturilor tumorale cărora le sunt destinate, ci și asupra țesuturilor și organelor sănătoase la nivelul cărora există efecte secundare datorate acțiunii selective reduse pe care o au.

În acest context, noi am investigat la nivelul organelor sănătoase de importanță metabolică majoră, efectele histologice, histochimice și histoenzimatice ale unor tratamente acute cu două citostatice alchilante, frecvent utilizate în terapia anticanceroasă: Carboplatinul și Ciclofosfamida.

Carboplatinul (Paraplatinul) face parte din grupul agenților alchilanți care conțin platină, iar Ciclofosfamida aparține grupului azotiperitei (6, 11).

Prezenta lucrare se referă la efectele histologice imediate și întârziate, induse de o doză unică din fiecare citostatic la nivelul intestinului subțire, aspect care după cunoștințele noastre nu a fost studiat până în prezent.

MATERIAL ȘI METODĂ

Experiențele s-au efectuat în două serii experimentale pe șobolani adulți Wistar, masculi (180–100 g), întreținuți în condiții standard de laborator. Astfel, pentru fiecare citostatic au fost organizate câte 3 loturi a 8 animale similare:

– lotul martor (M);

– lotul T1 (T1C și T1CFA), tratat i.v. în vena codală, cu doză unică de 1,18 mg Carboplatin/100 g greutate corporală (lot T1C) și respectiv 4 mg Ciclofosfamidă/100 g greutate corporală (lot T1CFA).

Animalele din aceste loturi au fost sacrificate după 3–4 zile de la administrarea citostaticelor.

– lotul T2 (T2C respectiv T2CFA), tratat similar lotului T1, dar sacrificat după 10 zile de la aplicarea tratamentului.

Sacrificările s-au făcut prin exsanguinizare, după o anestezie prealabilă cu eter. Printre alte organe s-au prelevat și fragmente de intestin subțire, din segmentul proximal al jejunului. Acestea au fost fixate în lichidul Bouin, incluse la parafină și secționate la microtom. Pe astfel de secțiuni groase de 5 μ , colorate prin tehnicile uzuale cu hematoxilină-eozină (10), am efectuat studiul histologic la un microscop MC1, la care am realizat și microfotografiile.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Examenul histologic al secțiunilor de jejun evidențiază la loturile tratate cu citostatice, modificări față de animalele de control. Astfel, consecutiv tratamentului cu Carboplatin s-au înregistrat următoarele modificări structurale comparativ cu martorii (fig. 1):

– la lotul T1C (fig. 2), descuamări celulare în epitelul din vârful vilozităților lungi; reducerea numărului de celule caliciforme în epitelul luminal, precum și apariția de hiperemii în stroma vilozitară subepitelială și mici edeme în vârful acestora.

– la lotul T2C (fig. 3), modificările semnalate sunt similare ca tip celor de la lotul T1C, dar mai accentuate: descuamările celulare epiteliale sunt mai extinse, ducând la denudarea vârfului vilozităților lungi; celulele caliciforme sunt extrem de rare în epitelul absorbant, iar edemele sunt mult mai mari, îndepărtând vizibil epitelul din vârful vilozităților lungi de stromă subiacentă. De asemenea, are loc și o accentuată depleție celulară în stromă.

În cazul tratamentului cu Ciclofosfamidă, modificările structurale față de martori (fig. 4) sunt mai puțin evidente, manifestându-se prin următoarele aspecte:

– la lotul T1CFA (fig. 5), descuamări celulare punctiforme în epitelul din vârful vilozităților lungi și scăderea numărului de celule caliciforme în tot epitelul luminal: ușoare hiperemii și infiltrație limfocitară în stroma unor vilozități.

– la lotul T2CFA (fig. 6), modificările sus menționate la lotul T1CFA sunt atenuate vizibil, aspectul structural al mucoasei jejunului fiind apropiat de cel de la animalele de control.



Fig. 1. – Aspectul histologic al vilozităților din jejunul animalelor de control (lotul M).

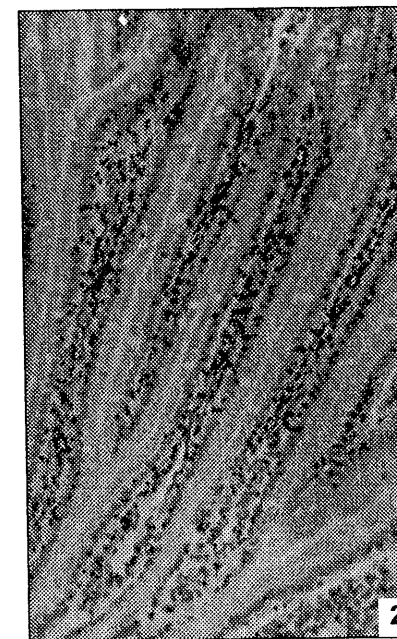


Fig. 2. – Aspectul histologic al vilozităților din jejunul animalelor din lotul T1C.



Fig. 3. – Aspectul histologic al vilozităților din jejunul animalelor din lotul T2C.



Fig. 4. – Aspectul histologic al vilozităților din jejunul animalelor din lotul M.



Fig. 5. – Aspectul histologic al vilozităților din jejunul animalelor din lotul TICFA.



Fig. 6. – Aspectul histologic al vilozităților din jejunul animalelor din lotul T2CF.

Rezultatele histologice prezentate, coroborate cu cele histochemice și histoenzimologice obținute (date nepublicate) în cadrul aceluiași experimente, relevă sensibilitatea mucoasei intestinului subțire la acțiunea celor două citostatice, deși intestinul nu este un organ țintă pentru xenobiotice.

Se știe de altfel că, mucoasa jejunului, organ de elecție al digestiei și absorbției, este vulnerabilă față de numeroase xenobiotice fizice, chimice sau biologice, cu care vine în contact direct (1, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23).

Această vulnerabilitate se datorează desigur polimorfismului celular accentuat și intensei activități metabolice și mitotice ce caracterizează această mucoasă.

Efectele imediate (la loturile T1) și întârziate (la loturile T2) ale celor două citostatice administrate în doză unică, se manifestă prin modificări histopatologice diferite ca tip, intensitate și durată.

Astfel, efectele imediate ale Carboplatinului sunt mai drastice decât ale Ciclofosfamidei și se accentuează în timp (lot T2C).

Modificările provocate de Ciclofosamidă la lotul T1CFA se atenuază considerabil după 10 zile de la administrarea acesteia (la lotul T2CFA), ceea ce sugerează un proces de regenerare naturală și în timp a mucoasei intestinale afectate, regenerarea fiind una din calitățile intrinseci ale materiei vii, care se manifestă mai pregnant la nivelul ficatului.

Deși Ciclofosfamida este considerată mai puțin toxică decât alte citostatice, se știe că ea execută acțiuni secundare: hepatotoxie moderată, modulatorie (22), imunosupresoare (13, 23) și mutagene (9).

Procese de regenerare a mucoasei intestinale lezate am semnalat și în cazul unor intoxicații acute cu substanțe hepatotoxice (CCl_4 , alcool etilic, metilcloroform), administrate „per os”, dar după o perioadă de timp mai lungă (19).

Desigur, durata acestei regenerări de restaurație depinde de sensibilitatea organului studiat, de toxicitatea substanței administrate și în consecință, de gravitatea leziunilor produse de aceasta.

În condițiile experimentului nostru, modificările histopatologice provocate de Carboplatin în mucoasa jejunului fiind mai accentuate și mai persistente decât cele induse de Ciclofosfamida, necesită un timp mai îndelungat pentru atenuare sau refacere și ne permit să atribuim Carboplatinului un grad de toxicitate mai mare.

Sensibilitatea maximă față de cele două citostatice o prezintă epitelul vilozitar și unele componente ale stromei vilozitare (sistemul capilar și chiliferul central), în timp ce glandele Lieberkuhn, țesutul muscular și nervos din peretele intestinului sunt mai rezistente.

Apariția modificărilor histopatologice la loturile tratate, doar în anumite vilozități ne face să ne gândim la o eventuală afectare a vilozităților aflate în plină activitate, știut fiind că vilozitățile intestinale prezintă o alternanță funcțională.

Reducerea marcantă a numărului de celule caliciforme din epitelul luminal la loturile tratate cu citostatice (T1 și T2) o considerăm doar aparentă, în sensul că ele nu au fost lizate, ci există în epiteliu, dar fiind golite de produsul lor de secreție pe care nu-l mai pot sintetiza în ritm normal, după administrarea citostaticelor, sunt mascate de enterocite și astfel nu pot fi vizualizate.

Ipoteza noastră se bazează pe mecanismul de acțiune al citostaticelor testate, care are la bază inhibarea biosintezei de ADN și ARN, precum și interacțiunea lor cu proteinele nucleare și plasmatică (2, 4, 5, 7, 8, 21).

Referitor la modul de acțiune al citostaticelor studiate, nu ne putem pronunța sigur dacă ele exercită o acțiune directă asupra mucoasei intestinale, sau/și o acțiune indirectă prin intermediul unor produși de metabolizare.

În cazul Ciclofosfamidei, la tratamente îndelungate cu doze mari au fost semnalate efecte hepatotoxice manifestate prin necroze și leziuni hepato-celulare, care au fost atribuite metabolizării ei (3, 12, 22).

În concluzie, considerăm că, în condițiile experimentului nostru, Ciclofosfamida, dar mai ales Carboplatinul, exercită asupra intestinului subțire efecte histologice secundare, cu repercusiuni negative asupra funcțiilor specifice acestui organ: digestie, secreție, absorbție.

Având în vedere efectele toxice ale Carboplatinului și Ciclofosfamidei la nivelul jejunului și altor organe de importanță metabolică deosebită, studiate, sugerăm asocierea administrării lor cu medicamente antistresante (ca Trofopar, glutamo-gluconat de Mg, etc.), care ar putea să contracareze, sau să atenueze efectele secundare negative provocate de aceste citostatice.

BIBLIOGRAFIE

1. BECCIOLINI P., COSTOGNOLI P., ARGONINI L., DE GIULI G., *Radiation Res.*, 55: 291-303, 1973.
2. BLOMMAERT F. A., VAN DIJK-KNIJNENBURG H. C. M., DIJT F. J., DEN ENGELSE L., BAAN R. A., BERENDS F., FICHTINGER-SCHEPMAM A. M. J., *Biochemistry*, 34(26): 8474-8480, 1995.
3. BOYD L., ROBBINS J. D., EGAN W., LUDEMAN S. M., *J. Med. Chem.*, 29: 2106-1214, 1986.
4. BROCK N., *Cancer Chemother., Rep.*, 51: 315-325, 1967.
5. CALVERT A. H., *Anticancer Research*, 14: 2273-2278, 1994.
6. CHIRICUȚA J., *Cancerul. Chimioterapie*, I. P. Cluj, 1978.
7. COLVIN M., *Clinical pharmacology of antineoplastic drugs*, 245-261, 1978, Amsterdam, Elsevier-North Holland.
8. CROOK T. R., SOUHAMI R. L., MCLEAN A. E. M., *Cancer Res.*, 46: 5029-5034, 1986.
9. MADLE B., KOSTE A., BEEK B., *Mutagenesis*, 1(6): 419-411, 1986.
10. MUREȘAN E., GABOREANU M., BOGDAN, A. T., BABA A. I., *Tehnici de histologie normală și patologică*, București, Edit. Ceres, 1976.
11. ONISHI Y., HATAE M., MATSUDA Y., NAKAMURA T., KODAMA Y., ITOH M., MARUYAMA H., MAEDA Y., *Japanese Journal of Cancer & Chemotherapy*, 22(8): 1103-1106, 1995.
12. PĂUN R., URSEA U., LUCA M., COCULESCU M., LUCA R., *Terapia imunosupresivă*, 107-116, Edit. Medicală, București, 1972.
13. POLI G., SECCI C., BONIZZI L., GUTTINGER M., *Tiss. Reac.*, 8(3): 231-238, 1986.
14. SANDU V. D., ABRAHAM A. D., *Trav. Mus. Hist. Nat. Gr. Antipa*, 22: 177-180, 1980.
15. SANDU V. D., ABRAHAM A. D., 6th Symposium on Drug Toxicity, Cluj-Napoca, 1-2 sept. Abstracts, 50, 1983.
16. SANDU V. D., ABRAHAM A. D., *St. cerc. biol., seria biol. anim.*, 39(1): 64-68, 1987.
17. SANDU V. D., ABRAHAM A. D., PUICA-DAT C., *Morphol.-Embryol.*, XXXIV(1): 77-79, 1988.
18. SANDU V. D., ABRAHAM A. D., *St. cerc. biol., seria biol. anim.*, 44(2): 139-142, București, 1992.
19. SANDU V. D., RUSU M. A., *St. cerc. biol. anim.*, 46(1): 15-19, București, 1994.
20. SANDU V. D., PAȘCA C., COSTEA A., KIS E., *St. cerc. biol., seria biol. anim.*, 48(1): 29-44, București, 1996.
21. SLAVUTSKY I., CAMPOS E., GONZALES CID M., LARRIPA I., *Anti-Cancer Drugs*, 6: 758-762, 1995.
22. URAY Z., BARA A., LASZLO G., MANIU M., IMREH P., RĂDULESCU E., NISTOR G., BAN C., *Oncologia*, 25(4): 287-294, 1986.
23. VALET C., *Strahlentherapie*, 153(11): 758-768, 1977.
24. ZHENG Z. N., LANDRY M. L., NAYO D. R., HSIUNG G. D., *Acta Pharmacol. Sinica*, 8: 158-164, 1987.

Primit la redacție
la 19 octombrie 1997.

Facultatea de Biologie,
Cluj-Napoca.

EVENIMENTE CELULARE ȘI MOLECULARE IMPLICATE ÎN CARCINOGENEZĂ, INVAZIVITATE ȘI METASTAZARE

ALTERAREA DISTRIBUȚIEI MOLECULELOR DE ADEZIUNE CELULARĂ INFLUENȚEAZĂ CAPACITATEA DE INVAZIVITATE ȘI METASTAZARE A CELULELOR MALIGNNE DIN TUMORILE PRIMARE

DORINA MIRANCEA, NICOLAE MIRANCEA

1. Invazivitatea și metastazarea, rezultat al unei succesiuni de evenimente celulare și moleculare complexe în care interacțiunile dintre celulele maligne și țesuturile gazdă sunt determinante.

Carcinogeneza este un proces multistadial determinat de carcinogeni capabili să inducă alterări genetice și epigenetice în celule susceptibile care selectiv vor câștiga avantaje de creștere și expansiune clonală, ca rezultat al activării proto-oncogenelor și/sau inactivarea genelor supresoare de tumori (Harris C.C., 1991). Celulele maligne exprimă schimbări fenotipice progresive în timpul dezvoltării tumorii și manifestă instabilitate genomică intrinsecă.

Celula malignă este un fenotip special, rezultat ca o consecință a alterării severe a genotipului celulei normale, care apare ca un răspuns alternativ de supraviețuire, față de acțiunea stresant-agresivă a unor factori extra- și/sau intracelulari. Constituția statutului de malignitate a unei celule presupune ca, celula respectivă să se dividă pentru că alterările genetice achiziționate să se multiplice în numeroși descendenți clonali, care vor manifesta comportamente speciale, caracteristice. Celula malignă are un comportament nefast, întrucât manifestă o independență sporită față de factorii de reglare locală și sistemică, achiziționează proprietăți de celulă imortalizată și proliferază anarhic, introducând în acest fel dezordine în subsistemele organismului.

Cu toate că în ultimii ani, modalitățile sofisticate de investigație permit diagnosticarea precisă și relativ precoce, iar tehnicile chirurgicale au fost îmbunătățite și agenții terapeutici adiționali utilizați sunt din ce în ce mai agresivi față de neoplasmul primar, majoritatea deceselor în cazul pacienților cu cancer se datorează metastazelor întrucât, atunci când tumora primară este descoperită, metastazele pot să apară în organismul gazdă.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 50, nr. 1, p. 55-64, București, 1998

Metastaza este o leziune neoplazică secundară, constituită în urma unor procese stadiale, care necesită migrarea unor celule din tumora primară și care au abilitatea de a se localiza în locuri ectopice în organism, unde proliferază generând focare tumorale noi.

Înainte de constituirea tumorii secundare (metastaza), se produce o cascadă de evenimente celulare și moleculare legate între ele și care în esență, implică multiple interacțiuni celule tumorale-țesuturi gazdă. O celulă izolată, sau un grup de celule maligne (mic embol) invadează țesutul vecin, intră în circulație, se oprește în patul vascular la distanță, extravazează în interstițiul și parenchimul organului țintă și proliferază ca o colonie tumorală secundară (Liotta L. A., și Stetler-Stevenson W. G., (1991)).

Procesul metastazării debutează cu invazia locală a țesutului gazdă. Capacitatea de invazivitate și metastazare nu este o caracteristică a tuturor celulelor care compun tumora primară (Hayle A.J., și colab., 1993). În interiorul unei mase tumorale coexistă mai multe subclone cu diferite capacități metastatice (Fidler și Kripke, 1977, citați de Hayle A.J., și colab., 1993). Numai unele subpopulații celulare specializate care se dezvoltă în tumora primară vor manifesta abilitatea de a se deplasa activ/pasiv din tumoră și de a prolifera într-un mediu tisular îndepărtat de tumora de origine.

Kerbel (1990, citat de Liotta L.A., și Stetler-Stevenson W.G., 1991), observă că, subpopulația metastatică domină masa tumorală primară timpurie în creșterea sa. Se pare că, dominanța se poate datora creșterii selective a subpopulației metastatice ca răspuns la citokinele locale.

Care sunt modalitățile prin care celulele tumorale angajate în procesul de metastazare acced la teritoriile tisulare în care vor prolifera ca focar tumoral secundar?

Din analiza făcută de Poste și Fidler (1990), rezultă că există trei modalități majore: (1) în unele neoplasme, focarul tumoral secundar se realizează prin împrăștierea directă a celulelor din leziunea tumorală de-a lungul unor căi mecanice preformate cum sunt: „fascia planes” și tecile nervoase; (2) prin diseminarea unor celule maligne din leziunile tumorale primare dezvoltate în cavitățile majore ale organismului pe suprafețele mucoase și/sau nervoase ale altor organe se constituie tumorile secundare; (3) cea mai comună și importantă rută pentru diseminarea celulelor tumorale implică invazia și penetrarea celulelor tumorale în vasele de sânge și/sau limfatice, de unde vor ajunge în diferite organe.

Se apreciază că vasele limfatice și venulele cu pereți subțiri oferă o rezistență mecanică scăzută la penetrarea lor de către celulele tumorale. Din contră, arterele și arteriolele sunt mai rar invadate (Regato J., 1978, citat de Poste și Fidler, 1980).

Exprimarea oncogenelor virale și celulare, precum și inactivarea supresorilor tumorali sunt implicate în controlul proliferării celulelor tumorale. Pentru ca o subpopulație de celule tumorale să-și manifeste capacitatea de invazivitate și apoi de metastazare este de presupus că schimbări adiționale și o interacțiune specială cu matricea extracelulară trebuie să aibă loc (Grant și colab., 1991). Expresia cea mai elocventă a acestor alterări este legată de modificările cantitative și calitative înregistrate pentru unele molecule de adeziune celule-celule și celule-matrice extracelulară (Ingber și colab., 1981; Sommers și colab., 1991; Castronovo și colab., 1991; Liotta și Stetler-Stevenson, 1991; Mareel și colab., 1992). În plus, trebuie menționată capacitatea unor celule de a elibera enzime (hidrolaze lizozomale, enzime colagenolitice etc.), care degradează țesuturile adiacente (Poste și Fidler, 1980).

De regulă, metastazarea se produce relativ târziu, după constituirea unei mase tumorale relativ mari. Excepție face carcinomul intestinal, care este înalt metastatic, adesea neprecedat de o leziune preneoplazică detectabilă (Grant S.G., și colab., 1991).

Într-o masă tumorală mare, care s-a constituit relativ repede, vascularizația este defectuos realizată și, în consecință oxigenarea este precară, iar necrozele care apar (Mirancea N., 1985) implică degradări proteolitice adiacente ceea ce facilitează mobilitatea unor celule tumorale și așa înzestrate cu un grad sporit de libertate. În acest fel, celule maligne izolate sau mici emboli penetrează unele vase de sânge și/sau limfatice învecinate de unde vor intra în circulație.

Penetrarea celulelor maligne în sistemul circulator este exacerbată de schimbările intermitente ale presiunii venoase, de alterările de curgere ale fluidului sanguin și datorită unor manipulări efectuate la nivelul tumorii în vederea diagnosticării, sau în scop chirurgical.

Celulele epiteliale polarizate au un rol fundamental în ontogeneză și în funcționarea unor varietăți de țesuturi și organe, în procesul regenerării tisulare, sau reparării postlezionale, ca și în timpul reconstrucției unor structuri organoide *in vitro* sau postgrafting.

Celulele epiteliale în ontogeneză, în procesul de reparare postlețională și în sistemele de culturi celulare intră în relații de contact celule-celule și celule-substrat. Originea vecinătății de contact și întinderea zonei de contact determină o reactivitate celulară adecvată, care se exprimă mai întâi prin elaborarea unui semnal la nivelul de contact plasmalemal, semnal care va traduce un răspuns celular complex și care la nivel molecular se exprimă sub forma distribuției mozaiccate a unor proteine, sau complemenți glicolipoproteici, constituind domenii plasmalemale distincte în timpul dezvoltării polarității epiteliale.

Urmare a declanșării unor programe de biosinteze specifice și a procesării vectoriale a unor epitopi moleculari, la nivelul siturilor de contact celulă-celulă și celulă-substrat se vor constitui structuri specializate (joncțiuni înguste, des-

mosomi, hemidesmosomi etc.) detectabile prin reacții imunologice (în imuno-fluorescență, imuno-electronmicroscopie), sau evidențiate electronmicroscopic.

Polarizarea celulară conduce la constituirea unor bariere selective permeabile între compartimentele biologice, reglează micromediul hidroelectrolitic al acestor compartimente și controlează activitatea de transport în procesul de absorbție, secreție și transcitoză.

Diversitatea funcțiilor realizate de anumite tipuri de celule epiteliale reclamă o distribuție distinctă de domenii plasmalemale structural-funcționale în anumite poziții: apical, bazal, apical-lateral sau bazo-lateral.

Mișcarea celulelor este o caracteristică generală a majorității celulelor. În timpul dezvoltării embrionare, celule individuale, sau mase de celule se deplasează ocupând diferite poziții. De asemenea, inițierea și întreținerea unui răspuns (celular imun) ca și realizarea unui proces de regenerare și/sau reparare tisulară postlezională implică cu necesitate manifestarea capacității de locomoție celulară. În toate situațiile mai sus enumerate, locomoția celulară este controlată de mecanisme generale limitând mișcarea acestora strict la necesitățile fiziologice pe care le reclamă rezolvarea unei situații de moment.

Din nefericire, celulele maligne manifestă abilitatea (cel puțin unele subpopulații celulare din masa tumorală) de a se deplasa din locul de origine în zone ectopice unde se vor divide necontrolat și vor ocupa nișe ecologice noi, formând mase tumorale secundare, care vor afecta structura și fiziologia organelor în care se dezvoltă metastaza.

Studii recente demonstrează că, interacțiunile celulă-membrana bazală au un rol esențial în optimizarea programului de exprimare temporal-vectorială a unor markeri celulari, a polarizării celulare și a organogenezei (Remy și colab., 1993; Mirancea și colab., 1993). Reciproc, deficiențele care apar în biosinteza și asamblarea unor componente ai membranei bazale, care afectează relațiile celule-membrana bazală sunt parte integrantă a tabloului sindromului de invazivitate a celulelor maligne, moment crucial în declanșarea procesului de metastazare.

Reducerea densității receptorilor celulari și eventuala reexprimare a unor antigeni embrionari în anumite proliferări neoplazice (de ex. în carcinomul mamar) este corelată cu gradul de diferențiere celulară.

S-a demonstrat că integrina $\alpha 5\beta 1$, care este necesară pentru constituirea depozitelor de matrice extracelulară (MEC) și așa-numitul receptor de asamblare a matricei, care este necesar pentru depozitarea fibronectinei sunt exprimate la un nivel foarte scăzut, sau sunt absente în cazul celulelor tumorale (Rouslahti, 1991). Consecința directă a scăderii conținutului, sau chiar a absenței unor componente ai MEC este că celulele tumorale câștigă un grad sporit de libertate. Pe de altă parte, s-a demonstrat că o linie de celule CHO supusă unei transfecții genice pentru supraexprimarea integrinelor $\alpha 5\beta 1$, nu numai că depozitează mai

multă fibronectină în MEC dar, comparativ cu controlul, devine mai puțin migratorie, crește greu în „soft agar” și în plus, nu reușește să formeze tumori după transplantarea pe șoarecele atimic (Rouslahti, 1991).

Tumorile maligne de origine epitelială sunt compuse din populații celulare heterogene în ceea ce privește capacitatea lor de a invada țesuturile peritumorale și eventual, de a realiza metastaze în zone ectopice. Astfel, recent Remy și colab., (1993), pornind de la o linie de celule LoVo (un adenocarcinom de colon uman moderat diferențiat) au izolat experimental două clone de celule maligne E2 și C5, care după transplantare pe șobolani imunosupresați s-au manifestat fenotipic diferit, în ceea ce privește diferențierea lor, capacitatea de invazivitate și metastazare. Aceste diferențe comportamentale se corelează bine cu exprimarea calitativă și cantitativă diferită a unor molecule de adeziune celule-celule și celule-MEC. De asemenea, s-au remarcat diferențe și în ceea ce privește localizarea unor epitopi antigenici. Astfel, clona E2 postgrafting dezvoltă un carcinom diferențiat, pe când clona C5 proliferază sub forma unor insule de celule maligne nediferențiate și separate între ele prin țesut conjunctiv. Celulele E2 în poziție bazală sintetizează componente ai membranei bazale, care se vor asambla și vor constitui o membrană bazală veritabilă cu lamina lucida și lamina densa continuă.

Celulele C5 deși sintetizează specii moleculare caracteristice membranei bazale, totuși nici după 21 de zile, xenogrefa nu exprimă o membrană bazală veritabilă la examinarea electronmicroscopică. În tumorile generate de clona E2, integrina $\alpha 6$ este detectabilă nu numai la polul bazal al celulelor E2, ci și în spațiile intercelulare (în poziție laterală), considerându-se că aceasta este legată de interacțiunile celule-celule sau reprezintă un „pool” de molecule în tranzitul acestora către o localizare mai bazală. În tumorile generate de clona C5, distribuția lamininei este punctată (întreruptă). Xenogrefa tumorală E2 este metastatică în 14% din cazuri, pe când tumora C5 produce metastaza în 66% din cazuri după transplantare.

Creșterea gradului de libertate a celulelor maligne exprimat prin ușurința dispersării acestora se datorează pierderii receptorilor de adeziune celulă-celulă (caderine) și achiziționării de receptori celulari, celule-MEC (integrine și alte molecule), care apoi vor media migrarea celulară, ca răspuns la variatele componente ale MEC (Rougon și colab., 1992).

Este de presupus ca, reasocierea celulelor și dezvoltarea acestora în noua localizare pot să fie mediate prin reexprimarea moleculelor de adeziune celule-celule și achiziționarea de noi specificități de adeziune (Rougon și colab., 1992).

În cazul keratinocitelor normale, integrinele $\alpha 1$ sunt în primul rând implicate în interacțiunile celule-celule, pe când integrinele $\beta 4$ au un rol primar în aderarea celulă-substrat. *In vivo*, în keratinocitele epidermale bazale, epitopii integrinelor $\beta 4$ au o distribuție polarizată și anume, la polul bazal, către mem-

brana bazală. Capacitatea redusă a celulelor transformate de a adera la membrana bazală prin intermediul integrinei $\beta 4$ poate reflecta slăbirea interacțiunilor celule-MEC și poate fi pus în relație cu comportamentul de malignitate al diferitelor carcinoame de origine epidermică (Ryryanen și colab., 1991).

Invazivitatea și metastazarea sunt rezultatul unui grup de evenimente celulare și moleculare corelate între ele. Nu se poate afirma că numai produsul unei gene este responsabil de realizarea unuia dintre cele două procese. Schimbările genetice care determină o proliferare celulară anormală, necontrolată într-un teritoriu tisular nu este *per se* cauza invaziei și metastazării (Liotta și Stetler-Stevenson, 1991). Forma mutantă (val-21) a proteinei Ha-ras p 21 este necesar să fie sintetizată într-o cantitate relativ mare pentru a furniza celulelor HaCaT ras-transfectate un avantaj de creștere *in vivo* (postgrafting). Totuși, exprimarea mutantei p 21 *per se* nu este exclusiv responsabilă de conversia malignă a celulelor HaCaT ras (Fusenig și colab., 1990).

Activarea reciprocă a proteazelor, atracția chemotactică a celulelor tumorale și stromale și degradarea țesutului înconjurător pot fi considerate aspecte esențiale în procesul de malignitate și invazie celulară (Hornung și colab., 1987).

Experimente efectuate recent demonstrează că, mezenchimul reacționează normal la prezența celulelor epiteliale maligne transplantate pe șoareci atimici (cultivate în prealabil pe un gel de collagen care, cel puțin pentru 1-2 săptămâni se interpun între epiteliu și mezenchim). Este probabil ca factorii difuzibili produși de celulele epiteliale maligne trec prin gelul de collagen și induc o proliferare anormală a celulelor mezenchimale care, împreună cu capilarele de neoformare migrează rapid prin gelul de collagen, pentru ca apoi să se intrice cu celulele maligne (Fusenig și colab., 1991; Mirancea și colab., 1995). La rândul său, mezenchimul (probabil prin modificarea componentelor MEC) induce schimbări remarcabile în comportamentul celulelor maligne: relațiile intercelulare și relațiile celulelor epiteliale bazale cu membrana bazală sunt profund modificate ca urmare a alterărilor dramatice ale patternului de exprimare cantitativă și calitativă a unor epitopi antigenici de felul moleculelor receptori de adeziune de tip caderine și/sau integrine și a unor specii moleculare localizate la nivelul joncțiunilor specializate de tip desmosomal și hemidesmosomal, precum și al unor elemente citoscheletice asociate prin intermediul unor molecule (de ex. catenine) cu receptori transmembranari. Evenimentul cel mai spectaculos al modificărilor care se produc este degradarea membranei bazale cu toate că, în cazul unui epiteliu malign cu arhitectura himerică (carcinom squamocelular indus experimental), în prima săptămână postgrafting este decelabilă o membrană bazală precară, foarte curând, (în săptămâna a doua și a treia după transplantare) aceasta va fi degradată (Mirancea și colab., 1995) prin acțiunea mecanică a extensiilor celulare ale polului bazal și prin acțiunea proteolitică, întreți-

nută atât de celulele maligne, cât și de celulele mezenchimale aflate în imediata vecinătate a acestora. În acest fel, comportamentul agresiv al celulelor maligne *vis-à-vis* de țesutul gazdă se va manifesta plenar prin migrarea celulelor din micromediul lor inițial, prin intermediul fluidelor sanguine și/sau limfatice, pentru a popula zone tisulare ectopice și unde se vor selecta clone de celule maligne, care vor prolifera anormal în detrimentul celulelor normale.

Proteoliza realizată de celulele maligne favorizează invazia acestora în țesuturile adiacente tumorii neoplazice. Totuși, degradarea enzimatică a țesuturilor vecine nu este o proprietate unică a celulelor tumorale. Degradarea proteolitică se manifestă și în alte situații, cum ar fi: implantarea trofoblastului, morfogeneza, remodelarea tisulară, invazia parazită și bacteriană, angiogeneza. S-a demonstrat clar că, în condiții normale, atât mecanic, cât și proteolitic, celulele trofoblastice degradează membrana bazală și pătrund în stroma uterină pentru a permite implantarea embrionului (Blankenship și colab., 1992).

Degradarea litică a barierelor tisulare realizată de celulele tumorale-invasive nu diferă de modul de operare realizat de celulele normale. Liotta și Stetler-Stevenson (1991) consideră că diferența constă în faptul că celulele invazive cupleză activitatea proteolitică cu motilitatea, pentru a realiza invazia la timp și locuri care sunt inadecvate pentru celulele normale. Se consideră că celulele tumorale secretă direct enzime degradative, sau determină gazda să elaboreze proteinaze, pentru a degrada matricea și moleculele de adeziune componente ale acesteia. În aceste zone de eliberare a enzimelor litice, cantitatea acestora contrabalansează inhibitorii naturali ai proteinazelor prezenți în ser, în matrice sau secretați de celulele normale din vecinătate. S-a demonstrat că, de regulă, mai multe enzime intervin în realizarea procesului de invazivitate, dintre care cele mai studiate aparțin familiilor de enzime heparanaze, serin-tiol și metal-dependente. "Urokinase-type plasminogen activator" (uPA) este strâns asociat cu fenotipul metastatic. Supraexprimarea uPA în celulele 3T3 Ha ras-transfectate sporește invazia în pulmon și formarea experimentală a metastazelor. Experimental, anticorpul anti-uPA blochează invazia celulelor umane HEP-3 în membrana chorioalantoidiană de pui de găină și metastazarea celulelor de melanom murin B16 F10 injectate intravenos.

2. Alterările patternului moleculelor de adeziune a celulelor maligne sunt corelate cu modificări citoscheletice.

Proteinele care constituie filamente intermediare sunt expresia unei familii multi-genice și se acumulează sub forma citoscheletului citoplasmic (citokeratine, vimentine și neurofilamente) și ca proteine karioskeletice (de ex. lamina în nucleu).

Constituirea țesuturilor și organelor presupune o coordonare spațio-temporală la care o contribuție esențială o au joncțiunile realizate între celulele adiacente una alteia, sau cu un substrat anhist, de felul membranei bazale.

Investigațiile structurii, compoziției moleculare și a mecanismelor care controlează asamblarea și dezasamblarea structurilor supracelulare au o importanță deosebită, întrucât contribuie la cunoașterea morfogenezei normale și a proceselor implicate în constituirea unei tumori primare, ca de altfel și a formării tumorilor ectopice (metastatice).

Pierderea adeziunii celule-celule în cazul celulelor carcinomatoase reprezintă un pas important în achiziționarea comportamentului de invazivitate și metastazare. Într-un studiu efectuat pe tumori de cancer de sân, Somers și colab., (1991) observă că la investigarea mai multor linii de celule epiteliale de cancer uman de sân, acestea manifestă grade variate de invazivitate în cazul cultivării lor pe o membrană bazală reconstituită (Matrigel), care se corelează cu morfologia celulelor și cu raportul uvomorulina/vimentina. Celulele uvomorulin-negative, vimentin-pozitive au forma stelată (fibroblastoid-like), atât de îndepărtată de forma normală a celulelor epiteliale care au aspectul pietrei de pavaj. Este evident că moleculele de adeziune de tip uvomorulinic (CAM) au un rol esențial în detașarea celulelor maligne din tumora primară și reimplantarea la distanță. Este de asemenea remarcabil faptul că, în timp ce liniile de celule epitelioide uvomorulin-pozitive care exprimă și filamente de citokeratina intracelular sunt și cele mai puțin invazive, în timp ce liniile celulare de formă stelată (fibroblastoid-like) au pierdut capacitatea de a sintetiza uvomorulina și exprimă vimentina, fiind cele mai invazive în determinările *in vitro*, acestea corespundând tumorilor cu evoluție agresivă.

Datele noastre experimentale arată că linia de celule HaCaT *ras-transfectata* se dovedește a fi un construct genetic defectiv pentru placa internă hemidesmosomală, ceea ce implică alterarea patternului unor epitopi moleculari și, în consecință, fac defectivă conexiunea hemidesmosomilor cu filamentele de citokeratină (Mirancea și colab., 1995).

3. Angiogeneza în cancer.

Neovascularizarea unei tumori solide reprezintă un element important de control pentru expansiunea unui neoplasm (Knierim și colab., 1986). În fond, celulele normale sunt induse să ajute tumorile să se consolideze prin furnizarea nutrienților. Procesele detaliate legate de formarea noilor capilare nu sunt încă foarte bine cunoscute.

Statistic, la pacienții cu afecțiuni neoplazice, metastazarea unui cancer poate să apară într-una din situațiile clinice (Folkman, 1995):

1. tumora primară este detectabilă, dar la câteva luni de la extirpare apar metastaze (carcinom de colon);

2. metastazele sunt deja manifeste când tumora primară este detectată;
3. metastazele sunt aparente înaintea tumorii primare care rămâne „ocultă”;
4. tumora primară este îndepărtată (sau tratată prin alte terapii), dar metastazele nu apar pentru încă 5–10 ani;

5. o categorie rară de pacienți este de asemenea cunoscută: metastazele regresează după extirparea tumorii primare (sunt citate unele cazuri rare de dispariție a metastazelor după înlăturarea unor tumori renale primare).

Bazele celulare și moleculare ale procesului metastatic nu sunt bine cunoscute. De exemplu, se pune problema de ce unele metastaze apar în pulmon sau în ficat după mai mulți ani de la extirparea tumorii primare? Acestea sunt denumite „dormant metastases”, dar nu este clar dacă această latență lungă poate fi atribuită ritmului lent sau absenței proliferării celulelor metastatice. Se pare că alături de alți factori, intensitatea angiogenezei din patul vascular are rol foarte important, care acționează fie pozitiv, fie negativ.

De obicei, la debut tumorile umane sau animale spontane nu sunt angiogenice. Este posibil ca *in situ*, un carcinom să rămână la volum de numai câțiva milimetri cubici atât timp cât nu se formează capilare de neovascularizare.

Acțiunea unor factori stimulatori paracrini reprezentați de factori de creștere și unele proteine prezente în MEC, conjugată cu vascularizarea abundentă a tumorii primare conduce la expansiunea masei tumorale. Pe de altă parte, trebuie subliniat că neovascularizarea din teritoriile ocupate de o proliferare neoplazică este dependentă de acțiunea unor factori angiogenici produși de celulele tumorale mobilizați din MEC sau eliberați de macrofagele atrase de tumora. S-a constatat că acțiunea factorilor angiogenici pozitivi nu este suficientă pentru constituirea unui fenotip angiogenic. Este necesară scăderea nivelului unor factori regulatori negativi (trombospondina și angiostatina). Trombospondina ca factor inhibitor este produs de către celulele normale, dar este redus cantitativ în timpul tumorigenezei. Este interesant de menționat că în fibroblaștii umani acest factor inhibitor al angiogenezei în condiții normale este supus controlului genei supresoare de tumori p 53. Fibroblaștii pacienților de cancer cu sindromul Li-Fraumeni au numai o copie pentru p 53 când această alelă a suferit o mutație sau deleție, trombospondina este redusă cantitativ și activitatea angiogenică este declanșată. Este remarcabil faptul că, o masă tumorală de circa 1 cm³ este suficient de mare pentru a genera cantități semnificative din acest fel de inhibitor. Un alt inhibitor al angiogenezei este angiostatina, care se acumulează în circulație în prezența unei tumori primare și dispare la cinci zile după ce tumora a fost îndepărtată. Angiostatina este o proteină de 38 kDa, cu circa 98% homologie, cu un fragment intern de plasminogen și este un inhibitor specific al proliferării celulelor endoteliale. În absența activității angiogenice, celulele tumorale metastatice se distribuie ca o manșetă perivasculară, în jurul microvasculaturii.

BIBLIOGRAFIE

1. BLANKENSHIP T. N., GIVEN R. L., *Anat. Rec.*, 233: 196-204, 1992.
2. CASTRONOVO V., TARABOLETTI G., SOBEL M. E., *Cancer Res.*, 51: 5672-5678, 1991.
3. FOLKMAN J., *Nature Med.*, 1(1): 27-31, 1995.
4. FUSENIG N. E., BOUKAMP P., BREITKREUTZ D., HULSEN A., PETRUSEVSKA S., CERUTTI P., STANBRIDGE E., *Toxic. in vitro*, 4(4/5): 627-634, 1990.
5. FUSENIG N. E., BREITKREUTZ D., BOUKAMP P., BOHNERT A., MACKENZIE I. C., *Epithelial-mesenchymal interactions in the tissue homeostasis and malignant transformation in: Oral cancer detection of patients and lesions at risk*, ed. by N. W. Johnson, Cambridge University Press, 218-256, 1991.
6. GRANT S. G. N., SEIDMAN I., HANAHAN D., BAUTCH V. L., *Cancer Res.*, 51: 4917-4923, 1991.
7. HARRIS C. C., *Cancer Res., Suppl.*, 51, 18, 5023s-5044s, 1991.
8. HAYLE A. J., DARLING D. L., TAYLOR A. R., TARIN D., *Differ.*, 54: 177-189, 1993.
9. HORNUNG J., BOHNERT A., PHAN-THAN L., KRIEG T., FUSENIG N. E., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 113: 325-341, 1987.
10. INGBER D., MADRI J. A., JAMIESON J. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 3901-3905, 1981.
11. LEGAN P. K., COLLINS J. E., GARROD D. R., *Bio Essays*, 14(6): 385-393, 1992.
12. LIOTTA L. A., and STETLER-STEVENSON, *Cancer Res.*, (Suppl), 51: 5045s-5059s, 1991.
13. MAREEL M., VLEMINCKX K., VERMEULEN S., BRACKE M., VAN ROY F., *Bull Cancer*, 79: 347-355, 1992.
14. MIRANCEA N., MIRANCEA D., CALOIANU-IORDĂCHEL M., MANTEA S., *Morphol. Embryol.*, 35(3): 163-171, 1989.
15. MIRANCEA N., MIRANCEA D., *The influence of some natural and synthetical substrata upon the behaviour of some cell lines in vitro*, in: *Animal Cell Technology*, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, eds. Spier, Griffith, Mac Donald, 95-97, 1992.
16. MIRANCEA N., THIEKOTTER G., BAUR M., FUSENIG N. E., *Influence of substratum and mesenchyme on epidermal reconstruction and basement membrane formation*. The 40th Meeting of the European Tissue Culture Society, Rennes (France), 4-6 July 1993, Abstract Book, 106.
17. MIRANCEA N., BREITKREUTZ D., STARK H. J., STEINBAUER H., FUSENIG N. E., *Ultrastructural aspects of in vitro and postgrafting reconstructed epithelia of normal human keratinocytes and tumorigenic HaCaT rat clones*, International Conference "Cell interactions in development differentiation and malignancy", Deutsche Section der European Tissue Culture Society, Heidelberg, 2-5 April, 1995, Abstract Book 79.
18. POSTE G., FIDLER I. J., *Nature*, 283, 10 January, 139-146, 1980.
19. REMY L., JACQUIER M. F., DAEMI N., DORE J. F., LISSITZKY J. C., *Differ.*, 54: 191-200, 1993.
20. ROUGON G., DURBEC P., FIGARELLA-BRANGER D., *Cancer J.*, 5(3): 137-140, 1992.
21. ROUSLAHTI E., *Integrins as receptor for extracellular matrix*, in: *Cell Biology of Extracellular matrix*, second edition, ed. by E. Hay, Plenum Press, N.Y., 343-363, 1991.
22. RYYANEN J., JAAKNOLA S., ENGVALL E., PELTONEN J., UITTO J., *J. Invest. Dermatol.*, 97: 562-567, 1991.
23. SOMMERS C. L., THOMSON E. W., TORRI J. A., KEMLER R., GELMAN E. P., BYERS S. W., *Cell Growth Differ.*, 2: 365-372, 1991.

Primit în redacție
la 30 decembrie 1997.

Institutul de Biologie,
București, Splaiul Independenței, nr. 296.

CELULELE GLIALE – COMPONENTE ESENȚIALE ALE SISTEMULUI NERVOS

GABRIELA ZAMFIRESCU, RADU MEȘTER

INTRODUCERE

Glia, denumire derivată din cuvântul grecesc pentru „clei”, a fost mult timp desconsiderată. În ciuda faptului că raportul cu neuronii este de circa 10:1, reprezentând mai mult de jumătate din volumul creierului, glia a fost considerată ceva mai mult decât un „clei”, care ține creierul laolaltă, în timp ce neuronii realizează munca reală de transmitere și procesare a informației. Totuși, glia nu este un privitor pasiv, ci un participant activ în fiziologia creierului. Neurogliile au fost recunoscute ca elemente celulare distincte ale S.N.C., la sfârșitul secolului XIX, de către Rudolf Virchow.

În timpul embriogenezei, proliferarea glioblaștilor și diferențierea lor în câteva tipuri de celule gliale, pare a fi strâns coordonată cu dezvoltarea neuronilor. Glia direcționează migrarea neuronilor spre ținte și determină ce tip de neuron va deveni celulă cerebrală neangajată. În timpul dezvoltării postnatale timpurii a creierului de rozător, proliferarea glială continuă la un nivel semnificativ, după ce proliferarea neuronală a fost stopată. În general, proliferarea glială din creier rămâne puternic inhibată, cu excepția tumorigenezei și după lezarea sistemului nervos (26).

După lezarea fizică a sistemului nervos central astrocitele răspund prin schimbarea morfologiei celulare, creșterea exprimării GFAP (proteină acidă fibrilară glială), hipertrofie și proliferare rapidă. Astrocitele reactive formează cicatrici gliale în procesul de glioză, care par să interfereze cu regenerarea neuronală în sistemul nervos central adult (10, 15).

La organismele mature, două tipuri de glie, celulele Schwann din sistemul nervos periferic și oligodendrocitele din creier și măduva spinării produc tecile de mielină, care înconjură neuronii și permit propagarea rapidă a impulsului electric. Alt tip de glie, microglia servește ca celulă imună a creierului.

Aceste celule sunt parteneri intimi ai neuronilor din vecinătate, asigurând nutrienții cruciali pentru sănătatea neuronilor și ajută la transmisia semnalelor neuronale prin îndepărtarea ionilor și neurotransmițătorilor din spațiul sinaptic.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t. 50, nr. 1, p. 65-74, București, 1998

Se pare că neuronii sunt dependenți de glie și se sugerează că variațiile subtile în funcționarea glii pot modula activitatea neuronală.

S-a arătat că celulele gliale pot transmite semnale înapoi la neuron, cel puțin în placa Petri. Misterul major rămâne mecanismul care poartă semnalul de la glie la neuron. Se crede că semnalul este transmis prin joncțiunile gap.

Rezultatele din ultimii ani au dus la speculații că astrocitele joacă un rol în memorie și învățare (21).

CARACTERIZAREA CELULELOR GLIALE

Celulele gliale din sistemul nervos central sunt reprezentate de astrocite și oligodendrocite (formează împreună macroglia), microglia și celulele endimare. La nivelul sistemului nervos periferic se află celulele Schwann.

Caracteristica principală a celulelor gliale este absența proceselor asemănătoare axonului, ceea ce indică faptul că nu pot conduce impulsurile. Celulele gliale nu au corpi Nissl. Au cantități mai mici de RNA (acid ribonucleic) decât neuronii (după unii autori, numai a zecea parte), iar în condiții normale există și unele diferențe în ceea ce privește compoziția în baze a acidului. Dacă în RNA-ul neuronal predomină guanina, în RNA-ul glial predomină citozina. Analiza aminoacizilor evidențiază în neuron cantități de două ori mai mari de acid glutamic, GABA (acidul gamma aminobutiric), glutamină decât în fracțiunea glială. De asemenea, s-a izolat o proteină, 14-3-2 prezentă în cantități mari și o proteină, S-100 localizată preferențial în celulele gliale și considerată ca fracțiune specifică. În ce privește enzimele, se pare că celula glială, comparativ cu neuronul, conține cantități mai mari de 5-nucleotidază, dipeptidaze, glucozo-6-fosfatază, 6-fosfo-gluconat-dehidrogenază, izocitratdehidrogenază și succinicdehidrogenază și cantități mai mici de hexokinază, fosfoglucoizomerază, dehidrogenază lactică și malică.

Studiul izoenzimelor LDH, în afara unor modificări cantitative, a evidențiat și unele modificări calitative, privind componenta proteică. Celula glială conține cantități foarte mari de anhidrază carbonică (99×10^{-13} M, iar neuronul $1,95 \times 10^{-13}$ M) socotită ca marker glial. Nu s-a evidențiat nici o activitate acetilcolinesterazică, dar s-a descris o pseudocolinesterază nespecifică (butirilcolinesterază) în cantități mai mari în glie, decât în neuroni. Celulele gliale conțin cantități mai mari de lipide decât neuronul și anume cerebrozide, colesterol (de nouă ori mai mult) și fosfatide (de șase ori), în schimb cantitatea de sfingomieline este mai mică decât în neuroni. Gliile au în concentrații mai mari decât neuronii, porfirine, ATP-aza, adenzintrifosfatază, vitamina C și riboflavină (5).

Oligodendroglia conține în cantități mai mari enzime ale ciclurilor hexozomonofosfat și citric, iar astroglia deține o activitate oxidativă mai mare (SDH, DPN-diaforeză). Celule gliale nu posedă capacitatea regenerării, modificării

conductanței membranei și generării impulsurilor conducătoare, ele neparticipând la funcția de transmitere rapidă a influxului nervos (5).

Astrocitele sunt celule purtătoare de procese, de formă stelată, răspândite în creier și în măduva spinării. Pe baza morfologiei lor și a răspândirii în sistemul nervos central, astrocitele sunt împărțite în două subtipuri: protoplasmatic și fibros. Astrocitele protoplasmatiche predomină în substanța cenușie, iar cele fibroase în substanța albă (7, 19). Astrocitele protoplasmatiche au prelungiri scurte, groase și puternic ramificate, care înconjură vasele de sânge, neuronii și sinapsele de la nivelul SNC. Astrocitele fibroase au prelungiri lungi, drepte, puțin ramificate, iar citoplasma este bogată în material fibrilar reprezentat de filamentele intermediare (gliofilamente). La microscopul optic se observă un nucleu oval (la cele protoplasmatiche), sau lobat (la cele fibroase), nucleolul este neevident, citoplasmă puțină, săracă în organite și electrono-transparentă. Reticulul endoplasmatic rugos este redus, iar matricea electrono-densă. Aparatul Golgi este puțin dezvoltat, iar lizozomii sunt numeroși (17, 27).

Caracteristica ultrastructurală a astrocitelor este prezența filamentelor intermediare (gliofilamente) aflate în număr mare în astrocitul fibros. Principala componentă a gliofilamentelor este proteina acidă fibrilară glială (GFAP) (16, 17). GFAP se găsește doar în astrocite și este un marker pentru identificarea lor (tab. 1).

Astrocitele posedă două specializări membranare, joncțiunile gap și ansamblurile ortogonale (2, 17, 21). La nivelul joncțiunilor gap se găsesc canale intercelulare formate din conexine; aceste canale mediază cuplarea electrică. Joncțiunile gap sunt implicate în sincronizarea glială, cooperarea metabolică și semnalizarea la distanță mare. Joncțiunile gap se găsesc între celulele gliale și nu la nivelul neuronilor din SNC, deși cantități mici de RNAm (acid ribonucleic mesager) ale conexinei 32 din joncțiunile gap s-au descoperit în neuronii și glia din SNC (2).

Astrocitele exprimă în principal conexina 43, iar oligodendrocitele conexina 32. Răspândirea joncțiunilor gap și exprimarea conexinelor este uniformă în masa creierului (17). Degenerarea și pierderea neuronală este urmată de o pierdere aproape totală a imunoreactivității conexinei 43. S-au mai identificat conexinele 26, 30, 37, 40, 45 (35).

Ansamblurile ortogonale sunt structuri paracristaline compuse din particule de 7 nm care pot fi văzute numai în preparatele criofracționate. Aceste structuri sunt în număr foarte mare pe pediculii astrociticici de la nivelul vaselor de sânge și pe procesele astrocitare de la nivelul *pia mater*. Ansamblurile ortogonale pot funcționa în adeziunea celulară sau în transportul substanțelor între astrocite și sânge sau lichidul cerebro-spinal (17). Oligodendrocitele sunt lipsite de ansambluri ortogonale. Cea mai vizibilă proprietate a acestor ansambluri ortogonale de la astrocitele *in situ* este distribuția lor inegală. Polaritatea legată

Tabelul nr. 1

Markeri celulari pentru identificarea celulelor

Tip de celule	Markeri celulari
1. Oligodendrocite	Anhidraza carbonică II
	Colesterol ester hidrolaza (CEH)
	Cyclic nucleotid phosphohidrolaza (CNP)
	Gangliozida GD3
	Galactocerebrozidul 01 (GC)
	Glutation-S-transferaza (GST) clasa Pi
	Glycerolphosphat-dehidrogenaza (GPDH)
	Glicoproteina asociată mielinei (MAG)
	Proteina bazică mielinică (MBP)
	O ₄
	O ₁₀
	POA
	Proteina proteolipid
	Sulfatidul
	Transferina
2. Astrocite	Anhidraza carbonică II
	Proteina acidă fibrilară glială (GFAP)
	Glutation-S-transferaza (GST, M ₁₁ clasă)
	Ran-2
	Proteina S-100
3. Celulele Schwann	Galactocerebrozid
	Proteina acidă fibrilară glială (GFAP)
	Laminina
	Proteina bazică mielinică
	NGFR (p75, 217c)
	O ₄
	Sulfatid
	S-100
4. Microglia	ED ₁
	MAC-1
	MAC-3
	Esteraza nonspecifică

În stadiul embrionar toate celulele au vimentină.

de ansambluri este pierdută în cultură, și astfel pare a fi necesar micromediul intact al creierului pentru evidențierea lor. Rolul posibil al astrocitelor polarizate pentru menținerea barierei sânge-creier este discutabil (29).

În nucleul astrocitelor GFAP+ din creier a fost identificată o proteină Ref-1, cu activitate reparatorie a DNA și rol în activarea factorilor de transcripție Fos și Jun. Nivelele ridicate de Ref-1 din astrocite sugerează că acțiunea factorilor de transcripție din aceste celule poate fi modulată, în special după lezarea creierului. Există posibilitatea ca Ref-1 să funcționeze în primul rând ca enzimă reparatorie a DNA în celulele creierului (8).

Celulele gliale au toate tipurile de receptori pentru neurotransmițători, neuromodulatori și factori de creștere (12, 18, 31). Există receptori pentru EGF (factor de creștere epidermal), PDGF (factor de creștere derivat din plachete), FGF (factor de creștere al fibroblastilor), NGF (factor de creștere al nervului), insulină (36).

Dintre receptorii pentru neurotransmițători identificați pe suprafața celulelor gliale trebuie amintiți: adrenoceptorii pentru subtipurile α și β , receptorii pentru histamină, dopamină, serotonină, acetil-colină (receptor muscarinic), adenzină (receptorii A₁ și A₂), pentru acid gamaaminobutiric (GABA-A și GABA-B), glutamat/aspartat/cainat, peptida intestinală vasoactivă (VIP), angiotensin-II, endotelin, bradichinină, substanța P, somatostatina, secretin (31). Cei mai mulți neurotransmițători/neuromodulatori își exercită efectele prin intermediul unor mesageri secundari (AMP_c, inozitoltrifosfat, protein-kinaza C). De asemenea, astrocitele posedă situsuri de legare pentru mesagerii secundari.

Pe lângă receptori, celulele gliale expun o mare varietate de canale ionice și pompe. Predomină canalele pentru K⁺, din care unele sunt activate de voltaj. Există, de asemenea, canale pentru Na⁺ (activate de voltaj), Cl⁻, ca și pompe ionice pentru Na⁺, transportori proteici pentru bicarbonat, glutamat (11, 12).

Spre deosebire de astrocite, oligodendrocitele sunt celule relativ mici, cu procese celulare foarte fine, puțin numeroase și rar ramificate, incapabile să mai prolifereze la contactul cu alte celule (inhibiție de contact). Citoplasma densă la fluxul de electroni cuprinde un nucleu excentric cu cromatina fin condensată, reticul endoplasmic perinuclear dezvoltat și aparat Golgi bine dezvoltat. Celulele conțin numai câțiva lizozomi, comparativ cu astrocitele. Nu se observă mănunchiurile de gliofibrile existente la astrocite (18, 7, 24).

Aceste celule se găsesc în apropierea pericarionilor neuronilor (în substanța cenușie) și printre fibrele mielinizate (în substanța albă).

Într-o cultură primară, oligodendrocitele cresc peste stratul de astrocite, fără a necesita contactul cu acestea. Raportul între oligodendrocite și astrocite este de 8:1, dar astrocitele proliferează mai rapid decât oligodendrocitele și acest raport descrește (33).

Oligodendrocitele sunt celulele responsabile de sinteza tecii de mielină în sistemul nervos central. Celulele gliale *in vitro* sintetizează trei proteine mielinice: proteine mielinice bazice, glicoproteine mielinice asociate sau P₀ și proteine lipoproteice, la o săptămână după apariția galactocerebrozidelor. Oligodendrocitele asociază activ proteinele mielinice în structuri asemănătoare mielinei. Aceste proteine nu necesită influența neuronilor pentru a fi sintetizate (2).

În practică, oligodendrocitele sunt definite operațional nu numai dacă realizează teci de mielină, dar și dacă au un subset selectat de proprietăți caracteristice acestei celule în mediul său normal. O definiție mai largă a oligodendrocitului este cea de celulă care exprimă unele proprietăți funcționale și/sau morfologice, unice pentru ea și diferite de ale altor tipuri de celule neurale. Această definiție permite includerea în categoria oligodendrocitelor a celulelor care sunt în procesul de diferențiere, dar nu mielinizează încă axonii și oligodendrocitele care și-au pierdut legătura cu axonii prin lezare (25).

Ganglioizidul GD₃ este un glicolipid specific de suprafață, marker pentru oligodendrocite. Un alt marker este 2'3'-cyclicnucleotid 3'-phosphohidrolaza (EC3.1.4.37)-CNPaza. Cu toate că această enzimă este considerată în mod uzual ca un marker pentru mielină, s-a evidențiat faptul că celulele conțin CNPază și în absența mielinei vizibile. Alți markeri oligodendrogliali sunt glicerolfosfat dehidrogenaza (EC 1.1.1.8), GPDH, sulfatida, anhidraza carbonică (tab. 1).

În culturile obținute din nerv optic se observă, pe lângă oligodendrocite, două subtipuri de astrocite, care pot fi diferențiate prin morfologia fenotipului antigenic și răspunsul la factori de creștere. Cele două subtipuri sunt denumite astrocite tip-1 și astrocite tip-2. De curând a fost acceptată teoria că, toate oligodendrocitele și astrocitele tip-2 provin dintr-o celulă progenitor comună (0-2A), neangajată în dezvoltarea postnatală (9, 20).

Studiile *in situ* sugerează că celulele 0-2A sunt sursa majoră, directă pentru glie în dezvoltarea postnatală. Aceste celule bipotențiale, se crede că sunt nedeterminate până spre sfârșitul diviziunii celulare când devin determinate să formeze oligodendrocite, sau astrocite de tip-2 (25). Se crede că factorii de creștere, în special PDGF și factorul neurotrofic ciliar (CNF) joacă un rol important în determinarea progenitorilor 0-2A spre o linie celulară. În nervul optic de rozător evidențele imunocitochimice sugerează că celulele 0-2A conduc în primul rând la oligodendrocite și apoi la astrocite tip-2 (13).

Când sunt cultivate în mediu chimic definit cu 0,5% ser pentru supraviețuire, celulele 0-2A se diferențiază rapid într-o manieră relativ sincronă în oligodendrocite mature după o perioadă de 3-5 zile.

O altă populație de astrocite denumite tip-1 se formează dintr-o linie separată, anterior generației de oligodendrocite și astrocite tip-2. Astrocitele tip-1 apar primele, la embrionii de 16 zile, oligodendrocitele apar în momentul nașterii, iar astrocitele tip-2 la începutul celei de a doua săptămâni postnatale.

Ambele categorii de celule precursor proliferază înainte de diferențierea lor. Astrocitele tip-1 continuă să se dividă cel puțin o săptămână, în timp ce oligodendrocitele și probabil astrocitele tip-2 se divid neregulat după ce se formează. Experiențele *in vitro* sugerează că astrocitele tip-1, primele celule gliale care se diferențiază în dezvoltarea nervului optic, au un rol major în proliferarea și diferențierea celulelor progenitor 0-2A (2). Astrocitele tip-1 în culturi secretă factori de creștere care țin celulele progenitor 0-2A în stare proliferativă și previn diferențierea lor prematură.

Dacă celulele 0-2A sunt cultivate cu 10% ser fetal de vițel, ele devin astrocite tip-2, în timp ce în absența serului fetal de vițel ele devin oligodendrocite (22).

Se propune ca termenii de „astrocit de tip-1” și „tip-2” să fie analogi cu cei de „astrocite tip protoplasmatic” și „tip fibros” dar deocamdată cele două categorii nu se exclud reciproc, dar nici nu se includ reciproc (17).

La *Drosophila*, s-a identificat o nouă proteină transmembranară, gliotactinul, care este exprimată tranzient de glia periferică, și care este necesară pentru formarea barierei periferice sânge-nerv. La *Drosophila*, glia nu formează mielină; ea se dezvoltă și funcționează într-o manieră analogă gliei din organismele superioare. Glia periferică este similară cu celulele Schwann nemielizate de la vertebrate, în ce privește morfologia, dezvoltarea și compoziția (4).

Microglia ocupă 5-12% din populația de celule din sistemul nervos central, în funcție de regiune, iar când este luată în considerație și citoplasma proceselor sale ramificate, microglia constituie o componentă importantă a parenchimului din sistemul nervos central. În stare de repaus microglia are forme variate; cea mai comună este forma ramificată, procesele sale celulare foarte ramificate pornind dintr-un pericarion destul de mic. Există și o microglie reactivă, iar interrelația precisă dintre aceste tipuri de microglie nu este clară. Mai mult, markerii antigenici care disting sigur macrofagele de microglie, sau cei care identifică subtipurile de microglie nu sunt încă disponibili (30).

Celulele microgliale au capacitate de migrare și fagocitoză. Microglia aderă de celulele țintă, utilizând unul sau mai multe seturi de receptori exprimați pe suprafața sa. Unii dintre acești receptori sunt exprimați constitutiv, pe când activarea și exprimarea altora necesită activarea unei varietăți de citokine. Este necesar ca, celula țintă să exprime ligandul corespunzător, endogen sau ca rezultat al lezării (30).

Microglia din neopalium exprimă antigene specifice microgliei (Mac-1, Mac-3, F4/80) receptori pentru fragmentul F_c al imunoglobulinelor și receptori pentru complement (34) (tab. 1). În funcție de condițiile de cultură, majoritatea microgliei, dar nu toate subtipurile morfologice, exprimă moleculele MHC (complex major de histocompatibilitate) clasa a II-a. Acest răspuns a fost privit ca un indiciu că celulele microgliale au fost activate (28). Un rol important îl are

unicul canal de K al microgliei. Au o puternică activitate respiratorie, ceea ce înseamnă că produc radicali de oxigen. Ele posedă de asemenea cathepsin β și L și astfel sunt celule potențial citotoxice (32). Sunt negative pentru GFAP, markerul specific astrocitelor, dar conțin filamente intermediare de vimentin. Exprimă antigene I_a , se colorează cu DIL- γ -LDL și sunt pozitive pentru esteraza non-specifică utilizându-se α -naftil-butiratul ca substrat. Formează lizozomi și au fagocitoză mediată de receptor.

Celulele ependimare reprezintă o formă de macroglie adaptată pentru funcția de captușire și pentru cea de secreție și resorbție. Celulele ependimare au aspect epitelial, sunt cilindrice, înalte, în viața fetală și la copiii mici sunt ciliate. Ele tapetează cavitățile ventriculare, canalul medular, plexurile și pânzele coroide. Capacitatea regenerativă și proliferativă este mare; glia ependimară dă naștere la tumori de tip particular, mai ales la copii, numite ependinoame (19).

Liniile celulare cu origine tumorală au fost folosite cu succes în neurochimie. Ele se dovedesc a fi o populație omogenă, în cantități mari și foarte reproductibilă. Liniile celulare de succes sunt cele care continuă să exprime în cultură proprietățile diferențiate ale celulelor normale (6, 14). Cele mai utilizate linii celulare sunt C_6 , PC12 și CEINGE CL3 (2, 3, 23).

Prima linie celulară clonală a fost linia celulară de gliom C_6 obținută prin inducerea pe cale chimică a unei tumori la șobolanul adult. Celulele C_6 posedă proprietăți diferențiate de la astrocite și oligodendrocite. Asemănător oligodendrocitelor *in vivo* sau în cultură primară, celulele C_6 exprimă glicerolphosphate-dehidrogenază indusă de glicocorticoid și componenta mielinică 2',3'-cyclic nucleotid phosphohidrolaza. Posedă de asemenea, glutamin-synthetaza indusă de glucocorticoid și GFAP. S-a arătat că celulele C_6 posedă multe alte mecanisme reglatorii de control și proprietăți diferențiate ale celulelelor gliale.

Linia celulară clonală PC₁₂ a fost obținută din pheochromocytoma de șobolan, o tumoră medulară adrenală. Celulele PC₁₂ au multe proprietăți în comun cu nervii simpatici primari și cu cultura celulelor cromafine. Ca răspuns la NGF, ele își întind neuritele și-și măresc activitatea tyrosin-hydroxylazei.

Numeroase linii celulare clonale au fost obținute din neuroblastoma de șoarece și umană. Aceste linii celulare exprimă câteva enzime sintetizatoare de neurotransmițători (3).

Linia CEINGE CL3 a fost obținută prin utilizarea oncogenei Tr, poliomei mijlocii. Aceste celule se colorează cu anticorpi anti-vimentini și anti-S100, nu se colorează cu anticorpi anti-neurofilamente, sau anti-GFAP. Numai un subset de celule CEINGE CL3 (20–30%) se colorează cu anticorpi anti-cerebrozid. Celulele exprimă nivele scăzute ale RNAm al proteinei proteolipid, în timp ce RNAm mesager pentru GFAP și neurofilamente este prezent (23).

CONCLUZII

Prin complexa lor organizare și prin funcțiile speciale, diferite de ale neuronilor, celulele gliale sunt indispensabile desfășurării activității neuronale. În biologia celulară și în medicină, cunoștințele acumulate din studierea unei specii pot să nu se aplice la alte specii sau la om. Similar, informațiile din studiile *in vitro* pot să nu fie reprezentative pentru glia *in situ*. Într-un organ atât de complex din punct de vedere biochimic și funcțional cum este creierul, cunoștințele dobândite din studierea celulelor gliale dintr-o anumită zonă pot să nu fie aplicabile la alte zone ale sistemului nervos.

Lucrarea are ca scop reconsiderarea rolului celulelor gliale din sistemul nervos central.

BIBLIOGRAFIE

1. ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J. D., *Molecular biology of the cell*, 2nd ed., Garland Publishing, New York and London, 1989.
2. ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J. D., *Molecular biology of the cell*, Third edition, Garland Publishing, New York and London, 1994.
3. ARENANDER A. T., DE VELLIS J., *Development of the nervous system* in Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical aspects, 5th Ed., edited by Siegel G. J. et al., Raven Press, New York, 1994.
4. AULD V. J., FETTER R. D., BROADIE K., GOODMAN C. S., *Glialactin, a novel transmembrane protein on peripheral glia, is required to form the blood-nerve barrier in Drosophila*, Cell 81: 757–767, 1995.
5. BADIU GH., TEODORESCU EXARCU I., *Fiziologia și fiziopatologia sistemului nervos*, Edit. Medicală, București, 79–177, 1978.
6. CAMERON R. S., RAKIC P., *Glial cell lineage in the cerebral cortex: a review and synthesis*, Glia, 4: 124–137, 1991.
7. DICULESCU I., ONICESCU D., *Histologie medicală*, vol. 1, București, Edit. Medicală, 1987.
8. DRAGUNOW M., *Ref-1 expression in adult mammalian neurons and astrocytes*, Neurosci. Lett., 191(3): 189–192, 1995.
9. DUTLY F., SHCWAB M. E., *Neurons and astrocytes influence the development of purified O-2A progenitor cells*, Glia, 4: 559–571, 1991.
10. FEDOROFF S., VERNADAKIS A., (eds.), *Astrocytes*, Academic Press, Orlando, vol. 2, 1987.
11. FERRERO J., SCHORDERET M., *Sérotonine: Des récepteurs en quête de médicaments*, Méd. et Hyg., 52: 2048–2050, 1994.
12. HANSSON E., RÖNNBÄCK L., *Astrocytes in glutamate neurotransmission*, The FASEB Journal, 9: 343–350, 1995.
13. HARDY R., RAYNOLDS R., *Proliferation and differentiation potential of rat forebrain oligodendroglial progenitors both in vitro and in vivo*, Development, 111: 1061–1080, 1991.
14. HATTEN M. E., KETTENMANN H., RANSOM B. R., *Glial cell lineage*, Glia, 4: 124–243, 1991.
15. HATTEN M. E., LIEM R.K.H., SHELANSKI M. L., MASON C. A., *Astroglia in CNS injury*, Glia, 4: 233–243, 1991.

16. KIMELBERG H. K., *Primary astrocyte cultures – a key to astrocyte function*, Cell Mol. Neurobiol., 3: 1–16, 1983.
17. MONTGOMERY D. L., *Astrocytes: Form, functions and roles in disease*, Vet. Pathol., 31: 145–167, 1994.
18. NICHOLLS J. G., MARTIN A. R., WALLACE B. G., *Properties of neurons and glia*, In: From neuron to brain, 3rd ed., Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 146–184, 1992.
19. OLINIC A., TOADER RADU M., MUREȘAN V. D., MĂRGINEANU M., NEAGOE A., COCA M., MUREȘAN M., *Curs de histologie*, vol. I, Litografia UMF Cluj-Napoca, 1992.
20. PIXLEY S. K., *The factory nerve contains two populations of glia, identified both in vivo and in vitro*, Glia, in press, 1992.
21. PROSSER R. A., EDGAR D. M., HELLER H. C., MILLER J. D., *A possible glial role in the mammalian circadian clock*, Brain Res., 643: 296–301, 1994.
22. RAFF M. C., *Glial cell diversification in the rat optic nerve*, Science, 243: 1450–1455, 1989.
23. RUSSO T., MOGAVERO A. R., AMMENDOLA R., MESURACA M., FIORE F., FATATIS A., SALVATORE G., CIMINO F., *Immortalization of a cell line showing some characteristics of the oligodendrocyte phenotype*, Neuroscience letters, 159: 159–162, 1993.
24. SERES-STURM, *Neuroanatomie*, Edit. Did. și Ped., București, 1993.
25. SKOFF R. P., GHANDOUR M. S., KNAPP P. E., *Postmitotic oligodendrocytes generating during postnatal cerebral development are derived from proliferation of immature oligodendrocytes*, Glia, 12: 12–23, 1994.
26. TRAVIS J., *Glia: The brain's other cells*, Science, 266: 970–972, 1994.
27. WILKIN G. P., MARRIOTTE D. R., CHOLEWINSKI A. J., *Astrocyte heterogeneity*, Trends Neurosci., 13: 43–46, 1990.
28. WILLIAMS K., AMIT BAR-OR M. S., ELLING ULVESTAD B. S., OLIVIER A., ANTEL J. P., YONG V. W., *Biology of adult human microglia in culture: Comparisons with peripheral blood monocytes and astrocytes*, J. Neuropath. and Exp. Neurology, 51(5): 538–549, 1992.
29. WOLBURG H., *Orthogonal arrays of intramembranous particles: a review with special reference to astrocytes*, J. Hirnforsch, 36(2): 239–258, 1995.
30. ZAJICEK J. P., WING M., SCOLDING N. J., COMPSTON D. A. S., *Interaction between oligodendrocytes and microglia: A major role for complement and tumour necrosis factor in oligodendrocytes adherence and killing*, Brain, 115 (part VI): 1611–1633, 1992.
31. HOSLIE E., HOSLIE L., *Receptors for neurotransmitters on astrocytes in the mammalian central nervous system*, Progress in neurobiology, 40: 477–506, 1993.
32. KREUTZBERG G. W., *Microglia, the first line of defence in brain pathologies*, Arzneimittelforschung, 45: 357–360, 1995.
33. McCARTLY K. D., De VELLIS J., *Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue*, J. Cell Biology, 85: 890–902, 1980.
34. RICHARDSON A., HAO C., FEDEROFF S., *Microglia progenitor cells: A subpopulation in cultures of mouse neopallial astroglia*, Glia, 7: 25–33, 1993.
35. BRUZZONE R., RESSOT C., *Connexions, gap junctions and cell-cell signalling in the nervous system*, Eur. J. neurosci., 9: 1–7, 1997.
36. ZĂGREAN L., *Elemente de neurobiologie*, Edit. universitară „C. Davila”, București, 1996.

Primit în redacție
la 5 decembrie 1997.

Facultatea 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: taxonomie, morfologie, fiziologie, genetică, ecologie etc. Sumarele revistei sunt completate cu alte rubrici ca: 1. Viața științifică, ce cuprinde manifestări științifice din domeniul biologiei (lucrările unor consfătuiri, congrese, simpozioane); 2. Recenzii, care cuprind prezentări ale unor cărți de specialitate apărute în țară și peste hotare.

Autorii sunt rugați să prezinte articolele, notele și recenziile introduse pe calculator la două rânduri, în două exemplare. Listarea se va face de preferință pe o imprimantă laser. Textul va fi copiat pe dischete, ca document «MS Word vers. 6.0». Mărimea caracterelor va fi conform uzanțelor revistei: 11/13 pentru textul propriu-zis; 12/14 pentru titlu; 9/11 pentru anexe (tabele, bibliografie, explicația figurilor, note) și pentru rezumatul în limba engleză, care va fi plasat imediat sub titlul lucrării. Este obligatoriu ca pe dischetă să fie specificat numele fișierelor în care se află articolul. Materialul grafic va fi adus pe dischetă, scanat, cu aceeași specificație. În cazul în care articolele nu pot fi culese pe calculator, textul poate fi dactilografiat, iar în absența unui scanner, materialul grafic va fi executat în tuș pe hârtie albă.

Tabelele și ilustrațiile vor fi numerotate cu cifre arabe, iar figurile din planșe vor fi numerotate în continuarea celor din text. Bibliografia, tabelele și explicația figurilor vor fi imprimate pe pagini separate. Se va evita repetarea aceluiași 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 inițiala autorilor (cu majuscule); titlurile cărților (italic), locul apariției, Editura (prescurtat, Edit.), pagina, anul, titlul revistelor (prescurtate conform uzanțelor internaționale, titlul articolului cursiv), volumul (bold), urmat de număr (în paranteză), despărțit prin două puncte de pagină și anul apariției.

Exemplu:

1. BELDIE AL., *Flora și vegetația munților Bucegi*, București, Edit. Academiei, 638, 1967.
2. POPESCU VIRGINIA, *Rev. roum. biol., Biol. anim., Starea fitosanitară a pădurilor*, 31 (1): 73–80, 1986.

Lucrările vor fi însoțite de o prezentare în limba engleză de maximum 10 rânduri. Textul lucrărilor, inclusiv bibliografia, tabelele și explicația figurilor nu trebuie să depășească 15 000 de caractere.

Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.