

EFFECTUL ACIDULUI α -LIPOIC ASUPRA LEZIUNILOR PROVOcate DE HIPOXIA INTRAUTERINĂ LA NIVELUL ANALIZATORULUI VIZUAL AL DESCENDENȚILOR

ROXANA ELENA CZIKER¹, ADELA ELENA JOANTĂ¹, VIOREL MICLĂUȘ², ANDREEA SECELEANU³, NICOLETA DECEA¹, ANDREEA HERMAN⁴, REMUS MOLDOVAN¹, ADRIANA MUREȘAN¹

¹Catedra de Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca

²Catedra de Histologie, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Cluj-Napoca

³Catedra de Anatomie și Embriologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca

⁴Student, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Rezumat

Studiul experimental are ca scop evidențierea efectului hipoxiei intrauterine asupra balanței prooxidante/antioxidante la nivelul extractelor tisulare prelevate din lobul occipital, corpul calos și retina provenite de la 40 de șobolani rasa Wistar, descendenți ai unor gestante supuse la factorul hipoxie hipobară.

Valorile malondialdehidei, glutationului și ale grupărilor tiol au fost studiate în funcție de caracteristicile fiecărui lot și anume: gestante neexpuse la factorul hipoxie și neprotejate cu antioxidant, lotul de control; gestante expuse la hipoxie-hipobară; gestante expuse la hipoxie, dar protejate în prealabil cu tiogama; gestante neexpuse la hipoxie, dar protejate cu tiogama.

Malondialdehida prezintă valori mai mari în grupul hipoxie, comparativ cu lotul de control și grupul cu hipoxie și administrare de tiogama ($p < 0.01$).

Grupările tiol prezintă valori mai scăzute în grupul cu hipoxie față de lotul de control. Diferențele între grupul cu hipoxie și grupul cu administrare de tiogama înainte de expunerea la factorul hipoxie sunt semnificative pentru toate cele trei extracte tisulare: cortex occipital, corp calos și retină.

Glutationul prezintă diferențe semnificative pentru toate cele trei țesuturile între grupul cu hipoxie comparativ cu lotul de control ($p < 0.01$) și lotul cu hipoxie și administrare de tiogama ($p < 0.05$).

Expunerea gestantelor (șobolani) la factorul hipoxie are efecte de creștere asupra malondialdehidei în țesuturile cortexului occipital și al corpului calos și de scădere la nivelul retinei și efecte de scădere a acțiunii antioxidante a glutationului și a grupărilor tiol pentru extracțele tisulare din lobul occipital, corpul calos și retină.

Administrarea de tiogama înainte de expunerea la factorul hipoxie are efect protector asupra glutationului și a grupărilor tiol.

Cuvinte cheie: malondialdehidă, glutation și grupări tiol, hipoxie, analizator vizual.

THE EFFECT OF α -LIPOIC ACID ON MATERNAL HYPOXIA DAMAGE TO THE FETUS VISUAL BRAIN

Abstract

The influence of intrauterine hypobaric hypoxia on prooxidant/antioxidant balance of occipital cortex, corpus callosum and retina of 40 Wistar offspring rats was investigated.

Malondialdehyde, thiol groups and reduced glutathione levels were assessed accordingly to each experimental group, as follows: control group - pregnant rats unexposed to hypobaric hypoxia and unprotected with α -lipoic acid; pregnant rats exposed to hypobaric hypoxia; pregnant rats exposed to hypobaric hypoxia and protected with α -lipoic acid; pregnant rats unexposed to hypobaric hypoxia but protected with α -lipoic acid.

It was noticed a significant increase ($p < 0.01$) in malondialdehyde levels in group exposed to hypobaric hypoxia as compared to control and to hypobaric hypoxia and α -lipoic acid treated group. Thiol groups had a lower concentration in hypobaric hypoxia group as compared to control group. Also, it was noticed a significant difference between hypobaric hypoxia group and hypobaric hypoxia and α -lipoic acid treated group in all analyzed tissues.

On the other hand, glutathione level registered significant differences between hypobaric hypoxia group as compared to control group ($p < 0.01$) and hypobaric hypoxia group as compared to α -lipoic acid treated group ($p < 0.05$) in all analyzed tissues.

Hypobaric hypoxia led to an increase in malondialdehyde levels and to a decrease of antioxidant defense (thiol groups and reduced glutathione) in occipital cortex, corpus callosum and retina.

α -lipoic acid administration, previously to hypobaric hypoxia exposure, protected thiol groups and reduced glutathione.

Keywords: malondialdehyde, thiol groups, reduced glutathione, hypoxia, visual function.

Introducere

Patogenia lezării structurilor cerebrale constă în agravarea progresivă a perturbărilor biochimice, determinată de dereglarea metabolismului cerebral, cu dezechilibrarea balanței electrolitice și energetice la nivel celular, urmată de apariția fenomenului de intoxicație endogenă. Consecințele sunt reprezentate de dezintegrarea membranelor celulare, peroxidarea lipidelor și acumularea în exces a speciilor reactive ale oxigenului (SRO): stresul oxidativ (SO).

Stresul oxidativ, inducând o intensificare sporită a proceselor de oxidare, conduce la activarea peroxidării lipidelor, hiperproducerii speciilor reactive ale oxigenului sub acțiunea cărora are loc modificarea proprietăților funcționale ale enzimelor, glucidelor și proteinelor. În condițiile perturbării proceselor energogeneratoare, dezechilibrul metabolismului energetic celular provoacă repercusiuni negative severe asupra structurilor neurogliale conducând spre apoptoza celulară [1-3]. Diferite studii au demonstrat rolul benefic al utilizării antioxidantilor în prevenirea disfuncțiilor menționate. Recent, o atenție sporită s-a acordat studierii efectelor antioxidante ale acidului α -lipoic [4].

Hipoxia, hiperoxia, inflamația și alte procese sunt mecanisme care conduc la formarea în exces a produșilor reactivi, iar copilul nou-născut este susceptibil la producerea SRO și inducerea efectelor negative provocate de acțiunea

stresului oxidativ (SO) [5].

Hipoxia perinatală este una dintre cauzele responsabile de mortalitatea neonatală și de provocarea sechelelor cum ar fi paralizia cerebrală, retardul mintal, tulburările de învățare și epilepsia [6]. Asfisia perinatală are o frecvență de 2 până la 4 cazuri la 1000 de nașteri și reprezintă, în întreaga lume, aproximativ 23% din cauzele care conduc la moartea nou-născutului. Pe de altă parte, sindromul hipoxic-ischemic perinatal reprezintă 60% din cauzele deficiențelor vizuale cerebrale (DVC) [7-11].

Modelul experimental asupra leziunilor cerebrale provocate la animale în urma sindromului hipoxic-ischemic este esențial pentru înțelegerea și evidențierea mecanismelor de producere și a experimentării unor noi abordări terapeutice [12].

Obiectivul cercetării pornește de la ipoteza conform căreia hipoxia intrauterină determină alterarea balanței prooxidante/antioxidante la nivelul cortexului occipital (CO), a corpului calos (CC) și a retinei descendente.

Material și metode

Studiul experimental s-a desfășurat respectând principiile Convenției Europene pentru protecția animalelor vertebrate utilizate în cercetare, publicate în „Official Daily N.L. 358/1-358/6, 18, Decembrie, 1986”.

Studiul a constat în determinarea efectului hipoxiei asupra analizatorului vizual, producerea deficienței vizuale cerebrale (DVC).

Am luat în studiu 10 de șobolani-femele gestante aparținând rasei Wistar, organizate în patru loturi experimentale. *Lotul I*, lotul martor – gestante neexpuse la

hipoxie și neprotejate cu antioxidant. *Lotul II* – gestante expuse la hipoxie hipobară. *Lotul III* - gestante expuse la hipoxie hipobară dar protejate, în prealabil, cu acid α -lipoic (tiogama). *Lotul IV* - gestante cărora li s-a administrat acid α -lipoic și care nu au fost expuse la hipoxie.

Gestantele corespunzătoare fiecărui lot experimental au fost menținute în cuști separate, în condiții zooigienice corespunzătoare, standardizate, în biobaza Catedrei de Fiziologie a Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca. Animalele au fost lăsate să se adapteze la microclimatul camerei cu cel puțin o săptămână înainte de începerea experimentului. Temperatura ambientală a fost menținută la $23 \pm 1^\circ\text{C}$, cu un ciclu artificial lumină-întuneric de 12 ore. Cantitatea de hrană oferită a fost standardizată, iar modul de administrare al apei a fost de tip „ad libitum”.

Evoluția sarcinii a fost urmărită zilnic. Pentru stabilirea exactă a gestației, înainte de fecundare, femelelor li s-a stimulat ovulația prin administrare de gonadotrofină corionică: 5 UI / animal / zi, timp de 3 zile. După acest tratament, șobolanii-femele au stat împreună cu masculii timp de 24 de ore, după care acestea au fost seporate. După această perioadă s-a examinat secreția vaginală la microscop, prezența spermatozoizilor fiind un indicator al fecundării. Animalele fecundate au fost izolate și urmărite. Șobolanii din această rasă au o perioadă de gestație de 21-22 zile. La 14-16 zile de la fecundație, animalele au fost controlate prin palparea abdomenului pentru a se evidenția prezența feților în cavitatea uterină.

Hipoxia hipobară a fost indusă în barocameră, în ultima săptămână de gestației. Timpul de menținere în barocameră a fost de 23 ore zilnic, la presiunea de 0.5 atmosfere. Altitudinea simulată a fost de 5500 metri, corespunzătoare unei concentrații a oxigenului ambiental de 10% (jumătate din cea fiziologică). Cantitatea de acid α -lipoic (tiogama) a fost administrată intramuscular, timp de 7 zile, în cantitate de 0.2 ml / zi / animal (fiola: 600 mg/ 20 ml).

Descendenții gestantelor, 10/lot experimental, rămași în viață, au fost sacrificați în ziua 14 postpartum prin decapitare după o narcoză prealabilă cu eter. S-au prelevat: cortexul occipital (CO), corpul calos (CC) și retina. Din aceste țesuturi s-au dozat: malondialdehida (MDA), marker al lipoperoxidării precum și capacitatea de apărare antioxidantă reprezentată de glutatone redus și de grupările tiol. Determinările biochimice s-au realizat în cadrul Laboratorului de Explorare al Stresului Oxidativ al Catedrei de Fiziologie a UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca.

Dozarea peroxidizilor lipidici și a aldehydelor este cea mai frecventă metodă folosită în evidențierea stresului oxidativ [12,13]. Metodele utilizate au fost determinarea peroxidizilor lipidici de tip malondialdehidă, determinarea grupărilor tiol și a compusului glutatone în omogenatele tisulare de la nivelul cortexului occipital, al corpului calos

și a retinei.

Pentru prelucrarea statistică datele au fost culese în programul SPSS 15. Pentru compararea variabilelor parametrice s-a utilizat testul *t Student* pentru două eșantioane independente, nivelul de semnificație fiind stabilit la pragul $p \leq 0.05$. Testul *t* a fost utilizat pentru analiza modificărilor care apar pentru malondialdehidă (MDA), glutatone și grupările tiol în cazul celor patru loturi.

Rezultate

Vârsta medie gestațională a descendenților din cele patru loturi studiate se încadrează între 23.0 ± 1.49 și 23.3 ± 1.57 săptămâni. Graficul „Box-Plot” pentru cele patru loturi arată distribuția normală a valorilor, tendința centrală fiind ne semnificativă ($p > 0.05$) (fig. 1). Particularitățile gestației animalelor de experiență sunt prezentate în tabelul 1.

Tabel 1. Particularitățile gestației animalelor de experiență.

Loturi experimentale	Nr. gestante	Nr. total feți	Nr feți neviabili
I	2	17	0
II	3	26	8
III	3	25	6
IV	2	18	0

Greutatea la naștere (GN) este 4.5 ± 0.30 g pentru lotul de control, 2.7 ± 0.19 g pentru lotul cu hipoxie, 3.1 ± 0.14 g pentru lotul cu hipoxie/tiogama și 3.9 ± 0.21 g pentru lotul tiogama. De asemenea, greutatea creierului (GC) este în medie de 220 ± 2.70 mg pentru lotul de control, de 165 ± 1.70 mg pentru lotul cu hipoxie, de 175 ± 2.10 mg pentru lotul hipoxie/ tiogama și de 198 ± 2.75 mg pentru lotul tiogama.

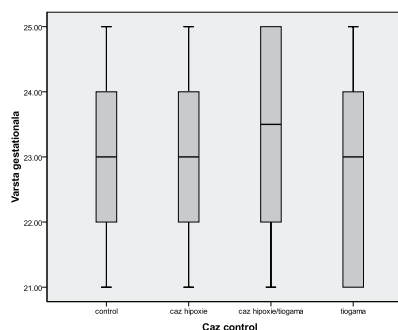


Fig. 1. Distribuția normală a vârstei gestaționale pentru cele patru loturi de șobolani femele: lotul de control, lotul cu hipoxie, lotul cu hipoxie/tiogama și lotul cu tiogama.

Rezultatele testului *t Student* pentru două eșantioane independente au evidențiat diferențe semnificative atât în ceea ce privește GN cât și GC în funcție de condiția de dezvoltare a fătului în perioada intrauterină în cazul în care femela a fost sau nu expusă la condiții de hipoxie [$t(18) = 15.86$, $p < 0.01$]. Astfel, descendenții proveniți din gestante supuse hipoxiei (H) au în medie o greutate mai mică la naștere comparativ cu lotul de control (C) ($\text{Media}_{\text{GNH}} = 2.7\text{g}$

vs. Media_{GNC} = 4.5g), cât și o greutate mai mică a creierului (Media_{GCH} = 165mg vs. Media_{GCC} = 220mg).

Valoarea medie a markerului stresului oxidativ malondialdehidă (MDA) a fost la nivelul cortexului occipital (CO) de 0.15 ± 0.31 nmol/mg proteină pentru lotul de control și de 0.50 ± 0.26 nmol/mg proteină pentru lotul cu hipoxie, de 3 ori mai mare în lotul cu hipoxie comparativ cu lotul de control. Astfel, valorile MDA au tendința să crească la nivelul CO în condiții de hipoxie (valori puternic semnificative statistic pentru $p = 0.002$) (fig. 2a).

Diferențe semnificative statistic au fost evidențiate la nivelul corpului calos (CC) între lotul de control (Media = 0.1 ± 0.06 nmol/mg proteină) și lotul cu hipoxie (Media = 0.3 ± 0.05 nmol/mg proteină), $t(18) = -8.135$, $p = 0.000$. Astfel, rezultate evidențiază o creștere de 3 ori mai mare a valorilor MDA la nivelul CC în condiții de hipoxie (fig. 2a).

Valoarea medie a MDA la nivelul retinei pentru grupul de control (0.14 ± 0.05 nmol/mg proteină) este de 2 ori mai mică comparativ cu valoarea medie pentru lotul cu hipoxie (0.23 ± 0.05 nmol/mg proteină) pentru $p = 0.001$ ($p < 0.01$) (fig. 2a).

Prin compararea valorilor MDA între grupul cu hipoxie și grupul hipoxie și administrare de tiogama

diferențele sunt semnificative statistic pentru cortexul occipital (CO), $t(18) = 2.739$, $p = 0.017$ și retină, $t(18) = 2.773$, $p = 0.013$. În schimb diferențele MDA pentru corpul calos între aceleași loturi sunt nesemnificative statistic pentru $p = 0.855$, valorile medii fiind apropiate (0.30 ± 0.05 nmol/mg proteină vs. 0.33 ± 0.58 nmol/mg proteină) (fig. 2a).

Prin compararea valorilor medii ale MDA în extractul tisular al CO și a retinei între grupul hipoxie și administrare de tiogama și grupul doar cu tiogama s-au obținut diferențe semnificative ($p = 0.028$ respectiv $p = 0.000$). Valoarea medie este de 2 ori mai mare pentru extrasul tisular de la nivelul CC pentru grupul hipoxie și tiogama (0.33 ± 58 nmol/mg proteină), comparativ cu grupul tiogama (0.14 ± 0.60 nmol/mg proteină), însă fără diferențe semnificative între loturi ($p = 0.322$, $p > 0.05$).

Diferența dintre valorile medii ale grupărilor tiol este de 4 ori mai mică la nivelul CO ($p < 0.01$), de 5 ori mai mică la nivelul CC ($p < 0.01$) și respectiv de 2 ori mai mică la nivelul retinei ($p = 0.002$, $p < 0.01$) pentru lotul cu hipoxie comparativ cu lotul de control (fig. 2b).

Rezultate identice au fost obținute prin compararea valorilor medii ale grupărilor tiol la nivelul celor trei extrase tisulare CO, CC și retină între grupul cu hipoxie și

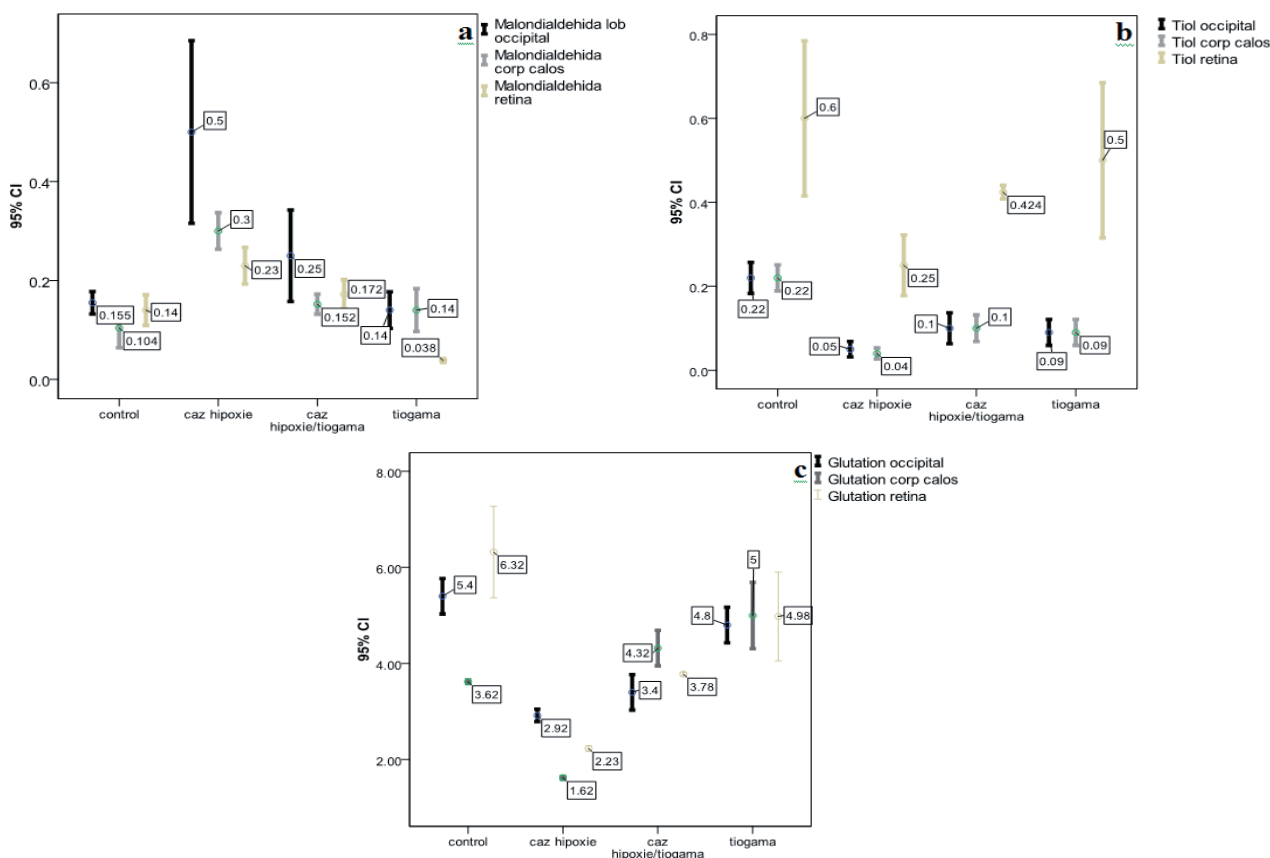


Fig. 2. Reprezentarea grafică a valorilor medii ale markerului stresului oxidativ malondialdehidă, a glutationului și a grupărilor tiol pentru cele patru loturi: de control, cu hipoxie, cu hipoxie/tiogama și cu tiogama. a. Malondialdehidă; b. Grupările tiol; c. Compusul glutation.

lotul cu hipoxie și administrare de tiogama. Astfel au fost obținute diferențe semnificative la nivelul CO ($p = 0.017$) și diferențe puternic semnificative pentru CC ($p = 0.001$) și retină ($p = 0.000$).

Prin compararea grupărilor tiol la nivelul extrasului tisular din cortexul occipital, corpul calos și retină între grupul cu hipoxie și administrare de tiogama și grupul la care s-a administrat tiogama fără expunerea la factorul hipoxie, rezultatele au evidențiat diferențe nesemnificative statistic ($p = 0.644$ CO, $p = 0.615$ CC și, respectiv, $p = 0.378$ retină).

Analiza comparativă a glutatationului a evidențiat diferențe puternic semnificative între lotul de control și lotul cu hipoxie pentru toate cele trei tipuri de țesuturi prelevate: CO ($p < 0.01$), CC ($p < 0.01$) și retină ($p < 0.01$). Astfel, apariția fenomenului de hipoxie provoacă scăderea glutatationului de 2 ori la nivelul țesutului CO, de 2 ori la nivelul CC și de 3 ori la nivelul retinei comparativ cu lotul de control (fig. 2c).

Valorile medii ale glutatationului evidențiază diferențe semnificative între lotul cu hipoxie și lotul cu hipoxie și tiogama pentru CO ($p = 0.018$, $p < 0.05$) și diferențe puternic semnificative pentru CC ($p < 0.01$) și respectiv retină ($p < 0.01$). Rezultatele sunt identice pentru lotul cu hipoxie și tiogama și lotul doar cu tiogama pentru CO ($p = 0.000$) și pentru retină ($p = 0.017$). În schimb valorile sunt nesemnificative pentru CC, $t(18) = -1.963$, $p = 0.070$, valorile medii fiind apropiate (4.32 micromoli/mg proteină vs. 5.00 micromoli/mg proteină) (fig. 2c).

Discuții

Echilibrul dintre acțiunea oxidantă a speciilor reactive ale oxigenului (SRO) și nivelul antioxidantilor dintr-un organism este esențial vieții și caracterizează capacitatea de rezistență a unui organism. În deficitul congenital sau în apariția unor stări patologice se produce accelerarea formării SRO, astfel că apare un dezechilibru între factorii prooxidanți și sistemele antioxidante protectoare. Implicarea fenomenului de stres oxidativ (SO) asupra deficiențelor vizuale cerebrale (DVC) reprezintă un domeniu de interes internațional, în care se încearcă explicarea dezechilibrului între formarea SRO, sistemele antioxidante și manifestările comportamentului vizual.

Rezultatele studiului de față au demonstrat că expunerea gestantelor la hipoxie determină generarea de SRO cu efect nociv asupra structurilor analizatorului vizual. Aceste rezultate vin în concordanță cu cercetările anterioare care au evidențiat că, în urma expunerii la sindromul hipoxic-ischemic, pot apărea următoarele perturbări: leziuni la nivelul substanței albe, scăderea numărului de celule Purkinje și a celulelor gliale, proliferarea astrocitelor, paralizie cerebrală, scăderea numărului de celule amacrine din retină și reducerea grosimii centrale a retinei [14,15].

Vârsta medie a descendenților din cele patru loturi este 23.1 zile. S-au remarcat diferențe nesemnificative între

grupul de control și grupul la care s-a administrat acidul α -lipoic (tiogama) în ceea ce privește greutatea la naștere (GN) (în medie între 3.9 - 4.5g) și greutatea creierului (în medie între 198 - 220mg). În schimb valorile medii a GN (2.7 g vs. 4.5 g) și respectiv a GC (165 mg vs. 220 mg) în cazul descendenților din lotul cu hipoxie au fost mai mici comparativ cu lotul de control. Astfel greutatea la naștere este cu 60% mai mică față de lotul de control, iar greutatea creierului cu 75% față de lotul de control ($p = 0.000$). Acest lucru este un indiciu al faptului că modificările sau leziunile apărute în urma hipoxiei pot produce întârziere în dezvoltarea somatică a șobolanilor, fapt evidențiat în studiul de față, dar și de cercetările efectuate anterior [16,17]. Cercetările efectuate de Fan și colaboratorii săi au evidențiat faptul că hipoxia provocată prin ocluzia bilaterală a arterei carotide, cu o expunere la oxigen 8% pentru 10 min sau 15 min, afectează dezvoltarea fizică a șobolanilor. Astfel, greutatea creierului a fost redusă semnificativ la lotul cu hipoxie față de lotul de control în funcție de timpul de expunere la hipoxie, de 10 min sau 15 min [14].

De asemenea, în studiul de față în lotul cu hipoxie a fost înregistrată o scădere a duratei de gestație, 23 zile vs. 20 zile (10%), a numărului descendenților, 23 vs. 19 (18%) și o reducere a viabilității acestora, 23 vs. 17 (27%) comparativ cu lotul de control.

Cercetările anterioare au dovedit experimental că acidul α -lipoic (tiogama) are rol de protecție celulară și de antioxidant prin conversia glutatationului oxidat la glutatation redus, neuroprotector etc [18-20]. De aceea în studiul de față s-a optat pentru administrarea de tiogama la unul dintre cele patru loturi înainte de expunerea la factorul hipoxie pentru a identifica efectul protector al acestuia asupra țesuturilor cortexului occipital (CO), al corpului calos (CC) și a retinei. Rezultatele obținute au fost în concordanță cu cercetările anterioare, administrarea de tiogama înainte de expunerea gestantelor la factorul hipoxie având efecte protectoare asupra glutatationului și a grupărilor tiol.

Rezultatele cercetării au arătat diferențe semnificative între lotul de control și lotul cu hipoxie în ceea ce privește markerul liperpeoxidării, malondialdehida (MDA) la nivelul CO, al CC și a retinei. Există o tendință de creștere a valorilor MDA în condiții de hipoxie la nivelul cortexului occipital (CO) și al corpului calos (CC) și de scădere la nivelul retinei. Acest lucru subliniază posibilitatea apariției unor efecte nocive asupra țesuturilor explorate și implicit și asupra dezvoltării normale a sistemului vizual.

Rezultatele obținute de Lin și colaboratorii săi [21] au demonstrat apariția leziunilor cerebrale la nivelul creierului șobolanilor în urma expunerii la hipoxie. Ten și colegii săi [22] au arătat de asemenea că hipoxia-ischemia cauzează leziuni la nivelul substanței albe prin subțierea sau necroza severă a CC, necroza celulelor nervoase și compresia hipocampusului. Aceștia au demonstrat pierderea unor oligodendrocite mature și inducerea hipomielinizării la nivelul CC și a tractului subcortical de substanță albă.

Rezultatele obținute în studiul de față sunt diferite în cazul în care se compară valorile MDA din țesuturile CO, CC și retină pentru lotul cu hipoxie și lotul cu hipoxie și administrare de tiogama. Compararea mediilor a evidențiat valori semnificative între loturi pentru CO și retină, dar nu și pentru CC. Acest lucru se poate explica pe de o parte prin faptul că factorul hipoxie produce o creștere a valorii MDA comparativ cu valorile normale la nivelul CC, valori care nu se modifică în condițiile administrării în prealabil de tiogama înainte de expunerea la factorul hipoxie. Pe de altă parte valorile MDA nu sunt diferite semnificativ nici în cazul în care se administrează tiogama înainte de expunerea la factorul hipoxie, nici în cazul administrării tiogama fără expunerea la hipoxie, valorile medii rămânând aproximativ identice pentru cele două loturi.

Prin analiza valorilor antioxidantului tiol, rezultatele sunt diferite semnificativ între lotul de control și lotul cu hipoxie. Acest lucru indică faptul că expunerea la factorul hipoxie produce scăderea antioxidantului în cele trei țesuturi și, în consecință, apărarea antioxidantă nu poate lupta în anihilarea factorului patologic care produce afectarea morfologică și/sau funcțională a sistemului vizual.

Prin compararea valorilor grupărilor tiol la nivelul țesuturilor cortexului occipital, a corpului calos și a retinei rezultatele obținute au fost diferite. Astfel diferențele au fost semnificative pentru toate cele trei extrasele tisulare între lotul cu hipoxie comparativ cu lotul hipoxie și administrare de tiogama ($p < 0.01$) și nesemnificative între lotul cu hipoxie și tiogama comparativ cu lotul tiogama fără expunerea la factorul hipoxie ($p > 0.05$). Astfel, aceste rezultate subliniază faptul că administrarea acidului α -lipoic înainte de expunerea la factorul hipoxie protejează apărarea antioxidantă a grupărilor tiol de factorul nociv al efectelor hipoxiei.

Situația este identică pentru glutatation. Diferențele sunt semnificative statistic pentru toate cele trei țesuturi prelevate atât între lotul de control și lotul cu hipoxie, cât și între lotul cu hipoxie și grupul cu hipoxie și administrare de tiogama. Diferența constă în faptul că valorile glutatationului scad în grupul cu hipoxie comparativ cu grupul cu hipoxie și administrare de tiogama cu o dată pentru CO, de 3 ori pentru CC și respectiv de 2 ori pentru retină. Excepție face diferența compusului glutatation la nivelul CC între lotul cu hipoxie și tiogama și lotul tiogama unde se observă creșterea valorii medii în grupul cu hipoxie și administrare de tiogama și în grupul cu tiogama comparativ cu valorile medii în grupul de control (3.62 nmol/mg proteină (control) vs. 4.32 nmol/mg proteină respectiv 5 nmol/mg proteină). Acest lucru subliniază faptul că probabil administrarea tiogama înainte de expunerea la factorul hipoxie poate avea acțiune protectoare pentru glutatation la nivelul țesutului CC. Acest lucru nu se remarcă la nivelul CO și al retinei unde valorile medii între cele două grupe sunt aproximativ identice.

Concluzii

1. Hipoxia intrauterină indusă prin expunerea în barocameră a determinat apariția stresului oxidativ la nivelul cortexului occipital (CO), al corpului calos (CC) și a retinei descendenților, evidențiat prin creșterea (pentru CO și CC), respectiv scăderea (pentru retină) concentrației de MDA.

2. Au fost înregistrare diferențe semnificativ mai mari între valorile MDA în grupul hipoxie comparativ cu grupul de control.

3. Administrarea acidului α -lipoic s-a dovedit a fi un antioxidant eficient pentru menținerea markerului de stres oxidativ MDA la valori normale după expunerea la factorul hipoxie pentru extrasele tisulare de la nivelul CO și a retinei, și mai puțin pentru CC.

4. Administrarea acidului α -lipoic înainte de expunerea la factorul hipoxie a evidențiat efecte de îmbunătățire a capacității antioxidante asupra grupărilor tiol la nivelul țesuturilor extrase din CO, CC și retină.

5. Administrarea acidului α -lipoic înainte de expunerea la factorul hipoxie a evidențiat efecte de îmbunătățire a capacității antioxidante asupra compusului glutatation pentru cele trei extrase tisulare CO, CC și retină. Administrarea de tiogama înainte de expunerea la hipoxie nu reprezintă un factor de protecție superior față de administrarea tiogama în perioada de gestație și fără expunere la hipoxie în cazul CO și al retinei.

Bibliografie

1. Cuparencu B, Horac I. Stresul oxidativ, mecanisme patogenetice, mijloace terapeutice. Speciile reactive ale oxigenului. Med. Orădeană 1994 1; 3-6.
2. Pre J. Radicaux libres et peroxydation lipidique II. Aspects physiopathologiques. Sem Hop Paris 1993 68; 1-2:29-39.
3. Sies H. Oxydative stress: oxidants and antioxidants. Experim. Physiology 1997 82:219-295.
4. Buonocore G, Perrone S. Biomarkers of oxidative stress in the fetus and newborn. Hematology, 2006 2(10):103-107.
5. Ghibu S, Richard C, Delemasure S, Vergely C, Mogosan C, Muresan A. Un dithiol endogène aux propriétés antioxidantes : l'acide alpha-lipoïque, utilisation potentielle dans les pathologies cardiovasculaires. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie 2008 57:161-5.
6. Ozer EA, Kumral A, Ozer E, Yilmaz O, Duman N, Ozkal S et al. Effects of erythropoietin on hyperoxic lung injury in neonatal rats. Pediatr Res 2005 Jul 58(1):38-41.
7. Parazzini C, Baldoni C, Scotti G, Triulzi F. Terminal zones of myelination: MR evaluation of children aged 20-40 months. Am J Neuroradiol 2002 Nov/Dec 23:1669-1673.
8. Liauw L, van der Grond J, Slooff V, Winggers-de Bruine F, Laan L, le Cessie S et al. Differentiation between peritrigonal terminal zones and hypoxic-schemic white matter injury on MRI. EJR 2008 65(3): 359-401.
9. Cheon JE, Kim IO, Hwang YS, Kim KJ, Wang KCh, Cho BK et al. Leukodystrophy in children: a pictorial review of MR imaging features. In: Education Exhibit RSNA 2002 May/June 22(3): 461-476.

10. Fazzi E, Bova SM, Uggetti C, Signorini SG, Bianchi PE, Maraucci I et al. Visual-perceptual impairment in children with periventricular leukomalacia. *Brain&Development* 2004 26:506-512.
11. Juul SE. Erythropoietin as a neonatal neuroprotectant basic and clinical studies. *Hematology* 2006 2(10):108-112.
12. Conti M, Moran PC, Levillain P, Lemonnier A. Improved fluorimetric determination of malondialdehyde. *Clin Chem* 1991 37:1273 - 1275.
13. Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. In: Elsevier, San Diego (CA) United States 1955 *Revue: Academic Press; Inc.* 1994. p. 380-384. (Methods in Enzymology; vol.233).
14. Fan LW, Liu S, Pang Y, Lei M, Zhang F, Rhodes PhG et al. Hypoxia-ichemia induced neurological dysfunction and brain injury in the neonatal rat. *Beh Brain Res* 2005 Nov 165(1):80-90.
15. Varsila F, Hallman M, Anderson S. Free radical-induced lipid peroxidation during early neonatal period. *Acta Pediatr* 1994 83:692-5.
16. Balduini W, de Angelis V, Mazzoni E, Cimino M. Simvastatin protects against long-lasting behavioral and morphological consequences of neonatal hypoxic/ischemic brain injury. In: *journal of the American Heart Association, Stroke* 2001 32:2185-2191.
17. Lubics A, Reglodi D, Tamas A, Kiss P, Szalai M, Szalontay L et al. Neurological reflexes and early motor behavior in rats subjected to neonatal hypoxic-ischemic injury. *Behav Brain Res* 2005 Feb 157(1):157-165.
18. Chang HT, New LS, Neo AH, Goh CW, Browne ER, Chan ECY. Distribution study of orally administered lipoic acid in rat brain tissues. *Brain Res* 2009 Jan 1251:80-6.
19. Bagh MB, Maiti AK, Roy A, Chakrabarti S. Dietary supplementation with N-acetylcysteine, alpha-tocopherol and alpha-lipoic acid prevents age related decline in Na(+),K (+)-ATPase activity and associated peroxidative damage in rat brain synaptosomes. *Biogerontology* 2008 Dec 9(6):421-8.
20. Manda K, Ueno M, Anzai K. Memory impairment, oxidative damage and apoptosis induced by space radiation: ameliorative potential of alpha-lipoic acid. *Behav Brain Res* 2008 Mar 5 187(2):387-95.
21. Lin S, Rhodes PhG, Lei M, Zhang F, Cai Zh. α -Phenyl-n-tertbutyl-nitron attenuates hypoxic ischemic white matter injury in the neonatal brain rat. *Brain Res* 2004 May 8 1007(1-2):132-141.
22. Ten VS, Bradley-Moore M, Gingrich JA, Stork RI, Pinsky DJ. Brain injury and neurofunctional deficits in neonatal mice with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Behav Brain Res* 2003 Oct 17 145(1-2):209-219.

Cercetarea a fost posibilă datorită activității interdisciplinare desfășurate în cadrul Proiectului CNCSIS de tip "PN II Idei", număr de proiect 437/2007, finanțat de Ministerul Educației, Cercetării și Inovației.