

12. Yang E.S., Richter C., Chun J.S., Huh T.L., Kang S.S., and Park J.W. Inactivation of NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase by nitric oxide. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002;33(7): 927–937.
13. Young Park S., Lee S.M., Woo Shin S., and Park J. W. Inactivation of mitochondrial NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase by hypochlorous acid. *Free Radical Research*, 2008;42(5):467–473.

**ACTIVITATEA HIDROLAZELOR LIZOZOMALE RENALE  
ÎN INTOXICAȚIA CU ETILENGLICOL ȘI INFLUENȚA UNOR  
COMPUȘI BIOLOGICI ACTIVI AUTOHTONI**

**Olga Tagadiuc, Emil Ceban, Veronica Sardari, Olga Știrba, Lilia Andronache**  
Laboratorul științific Biochimie, USMF „Nicolae Testemițanu”

**Summary**

*The activity of renal lysosomal hydrolases in ethylene glycol intoxication  
and the influence of some new local biologically active compounds*

The influence of some new local biologically active compounds (BAC) on renal lysosomal hydrolases (RLH) in ethylene glycol (EG) poisoning was investigated. The tested BAC demonstrated a pronounced tropic effect on lysosomes, influencing in different ways the activity of RLH and modifying the functional status of lysosomal apparatus. The complex compounds – CMD-4, CMD-8 and CMJ-23, remedies BioR and BioR-Ge significantly reduced the functionality of cathepsins B, H and of elastase. CMJ-23 decreased the activity of cathepsin G, β-glucosidase, arylsulfatases A, B and C, which showed the high responsiveness of these hydrolases to the action of BAC. CMD-8 increased the activity of cathepsin D, β-glucosidase and of N-acetyl-β-D-glucosaminidase. The remedy BioR normalized the activity of elastase, while BioR-Ge increased the acid phosphatase. The increased activity of RLH in the administration of the tested BAC, can be considered as a reaction of compensation-adaptation of the body, aimed to enhance the biodegradation of damaged molecules resulted from the toxic action of EG and of its metabolic products.

**Rezumat**

S-a cercetat influența unor compuși biologici activi (CBA) autohtoni noi asupra activității hidrolazelor lizozomale renale (HLR) în intoxicația cu etilenglicol (EG). CBA testați au demonstrat un lizozomotropism pronunțat, fiind capabili să influențeze în mod diferit activitatea HLR și să modifice starea funcțională a aparatului lizozomal. Compușii complecși – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23, remediile BioR, BioR-Ge au redus pregnant nivelul funcțional al catepsinelor B, H și elastazei. CMJ-23 a diminuat activitatea catepsinei G, β-glucozidazei, arilsulfazelor A, B și C., fapt ce a demonstrat sensibilitatea înaltă a acestor hidrolaze la acțiunea CBA. CMD-8 a majorat activitatea catepsinei D, β-glucozidazei și N-acetil-β-D-glucozaminidazei. Remediul BioR a normalizat enzimoactivitatea elastazei, iar BioR-Ge a crescut fosfataza acidă. Intensificarea activității HLR la administrarea CBA cercetate, poate fi apreciată ca o reacție compensatoare de adaptare a organismului, ce tinde să intensifice biodegradarea moleculelor defectuoase ce se formează în rezultatul acțiunii toxice a EG și a produșilor lui de metabolizare.

**Actualitatea**

Patologiile renale continuă să rămână una din cele mai dificile probleme ale medicinei contemporane atât în aspectul diagnosticului și tratamentului, cât și în aspectul elucidării mecanismelor intime, moleculare ale apariției și dezvoltării lor, cunoașterea cărora este indispensabilă diversificării abordărilor terapeutice și profilactice.

Datele privind rolul hidrolazelor lizozomale în dezvoltarea proceselor patologice, inclusiv celor renale sunt incomplete și deseori contradictorii, acestor enzime atribuindu-se atât efecte nocive potente, cât și un rol esențial în procesele ce asigură adaptarea organului și regenerarea tisulară [1, 4, 8, 14, 16].

În condiții fiziologice hidrolazele lizozomale sunt verigi reglatoare importante ale diferențierii celulare, angiogenezei, renovării țesuturilor prin degradarea elementelor matricei extracelulare și distrugerea celulelor îmbătrânite sau deteriorate, etc. [2, 6, 15]. Totodată, endopeptidazele lizozomale sunt responsabile de inducția proceselor distructive, apoptotice în rinichi, inductori ai activității apoptotice a catepsinelor considerându-se produsele oxidării peroxidice ale lipidelor [6].

Etilenglicolul (EG) – reprezintă o substanță toxică, fiind cel mai simplu diol. Este un lichid incolor, hidrosolubil, care se folosește ca dizolvant pentru vopsele, mase plastice și substanțe farmaceutice, precum și la fabricarea fluidelor hidraulice, lichidelor pentru curățat parbrize, antigelului și a preparatelor decongelante. Pătrunderea etilenglicolului sau a soluțiilor lui în organismul uman poate conduce la modificări ireversibile și chiar la deces [3, 13].

Efectele toxice sunt determinate atât de compusul *per se*, cât și de metaboliții lui. EG se metabolizează în organism prin oxidare cu formarea aldehidei și acidului glicolic, acidului glioxalic și acidului oxalic, care manifestă acțiune citotoxică la nivel renal. Acidul oxalic se combină cu ionii de calciu din sânge, formând precipitate de oxalat de calciu, care se pot depozita în toate țesuturile, îndeosebi la nivelul tubilor renali, determinând leziuni interstițiale, tubulare renale și blocaj renal [9, 11]. Acidul oxalic poate precipita sub formă de cristale de oxalat de calciu la nivel cerebral, renal, cardiac, pulmonar, pancreatic și urinar. În literatura de specialitate au fost relevate mai multe efecte negative ale EG asupra proceselor metabolice din organism – hiperosmolaritatea, acidoza metabolică, hipocalcemia, hiperpotasiemia. Deasemenea, au fost înregistrate dereglări ale funcției diferitor organe și sisteme [7].

Publicațiile științifice, la care am avut acces, nu ne-au furnizat informații despre existența unor studii detaliate privind implicarea aparatului lizozomal renal la șobolanii intoxicați cu etilenglicol, precum și influența compușilor biologic activi (CBA) autohtoni (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale tri-d) și remediilor de origine cianobacteriană asupra acestuia.

Elucidarea aspectelor noi ale activității compușilor menționați și ale mecanismelor biochimice de acțiune asupra aparatului lizozomal este actuală și de perspectivă pentru diversificarea arsenalului de remedii eficiente, necesare pentru corecția dereglărilor ce apar în afecțiunile renale, precum și în alte patologii.

**Scopul** cercetării constă în elucidarea influenței compușilor complecși CMD-4, CMD-8 și CMJ-23 și a remediilor cianobacteriene BioR și BioR-Ge asupra activității proteazelor lizozomale – catepsinelor B, D, G, H și a hidrolazelor – N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidazei (NAG), leucinaminopeptidazei, elastazei, fosfatazei acide,  $\beta$ -glucozidazei,  $\beta$ -galactozidazei, arilsulfatazelor A, B și arilsulfatazei C în țesutul renal la șobolanii intoxicați cu etilenglicol.

### **Materiale și metode**

Compușii complecși – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23 au fost oferii de academicianul, prof. univ., d.h.ch. Gulea Aurelian (Catedra Chimie anorganică, Universitatea de Stat din Moldova), iar bioremediile BioR și BioR-Ge de academicianul AȘ a R. Moldova, prof. univ., d.h.b., Rudic Valeriu (Institutul de Microbiologie al AȘ a R. Moldova).

Activitatea biologică a compușilor menționați mai sus a fost evaluată în experiențe pe un lot de 34 șobolani albi masculi adulți, fără pedigree cu masa 160-180 g, divizați în 7 loturi a câte 5-6 animale în fiecare. Primul lot – martorul, a fost constituit din 6 animale, întreținute la un regim obișnuit alimentar de vivariu și cărora li se injecta intramuscular soluție fiziologică timp de 30 zile. Animalelor din loturile experimentale 2-7 li s-a administrat *per os* etilenglicol zilnic în doză 1 g/kg masă corporală pe parcursul a 30 de zile. Lotul 2 l-au format animalele cu nefropatie experimentală, cărora în decursul a 30 zile li se injecta i/m soluție fiziologică.

Animalele din loturile 3-7 au fost supuse tratamentului cu CMD-4, CMD-8 și CMJ-23 și remediile cianobacteriene BioR și BioR-Ge.

La 24 ore după ultima injectare animalele au fost sacrificate sub narcroză ușoară cu eter sulfuric. Rinichii au fost extrași și s-a preparat omogenatul renal în soluție de 0,1 M tampon fosfat, ce conținea 1 mM EDTA, pH 7,4, astfel ca diluția finală a omogenatului să constituie 1:10. Pentru distrugerea completă a membranelor celulare omogenatul a fost prelucrat cu triton X-100 în concentrația finală 0,1%. Ulterior, omogenatele tisulare au fost supuse centrifugării timp de 15 min la 3000 tur/min, iar supernatantul a fost transferat în eprubete curate și până la examinare păstrat în congelator la  $t=-40^{\circ}\text{C}$ . Întreg procesul de preparare a omogenatelor tisulare se execută în condiții regulamentare pentru aprecierea activității enzimaticice.

Activitatea hidrolazelor lizozomale – catepsinelor B, D, G, H, precum și a N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidazei, leucinaminopeptidazei, elastazei, fosfatazei acide,  $\beta$ -glucozidazei,  $\beta$ -galactozidazei, arilsulfatazelor A, B și arilsulfatazei C a fost determinată în omogenate conform procedeele descrise anterior [5, 10].

Toate procedeele de determinare a activității enzimelor și a conținutului de substanțe au fost executate după tehnici, adaptate pentru aplicarea la riderul hibrid multi-modal cu microplăci Synergy H1 (Hybrid Reader) (BioTek Instruments, SUA).

Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului nonparametric „U” Mann-Witney cu ajutorul programului StatDirect.

Cercetarea a fost aprobată de Comitetul de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz pozitiv din 20 iunie 2011).

## Rezultate și discuții

Rezultatele cercetării atestă că, intoxicarea cu etilenglicol determină o creștere neveridică a activității catepsinei B și o tendință de diminuare a catepsinelor D, G și H față de lotul animalelor intacte (tabelul 1).

Tabelul 1

Activitatea catepsinelor lizozomale în țesutul renal la animalele supuse intoxicației cu etilenglicol și la administrarea unor compuși biologic activi (CBA) autohtoni

Grupurile de studiu	Cat B (nM/s.g.prot)	Cat D (nM/s.g.prot)	Cat G (nM/s.g.prot)	Cat H (nM/s.g.prot)
Martor	4,39±0,68 (100%)	0,657±0,068 (100%)	4,43±0,26 (100%)	9,49±0,61 (100%)
EG	5,25±0,88 (120%)	0,568±0,117 (86%)	3,66±0,28 (83%)	8,12±0,95 (86%)
EG+BioR	2,05±0,095** <sup>#</sup> (47%)	0,391±0,064* (60%)	4,14±0,27 (93%)	6,73±0,65* (71%)
EG+BioR-Ge	2,77±0,206 (63%)	0,668±0,069 (102%)	4,29±0,32 (97%)	7,28±0,64 (77%)
EG+ CMD-4	1,64±0,184* <sup>#</sup> (37%)	0,552±0,199 (84%)	3,83±0,29 (86%)	6,68±0,62* (70%)
EG+ CMD-8	1,71±0,18* <sup>#</sup> (39%)	0,936±0,065* (142%)	3,61±0,33 (81%)	6,10±0,59** (64%)
EG + CMJ-23	1,24±0,22* (28%)	0,686±0,190 (104%)	2,81±0,30* (63%)	4,95±0,58* <sup>#</sup> (52%)

NOTĂ: \* - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor,  $p<0,05$ ; \*\* -  $p<0,01$ ; \*\*\* -  $p<0,001$ ;  
# - diferență statistic semnificativă față de lotul cu etilenglicol,  $p<0,05$ ; ## -  $p<0,01$ ; ### -  $p<0,001$ .

Administrarea CBA luați în studiu determină reducerea concludent statistică a funcției catalitice a catepsinei B cu 53%-72%, a catepsinei H cu 29%-48% în raport cu nivelul atestat la animalele intacte, exceptând doar biopreparatul BioR-Ge care scade neveridic statistic enzimozactivitatea catepsinelor nominalizate cu 23%-37%. În același timp compusul BioR-Ge reduce potențialul funcțional al catepsinelor D și G până la valorile normale.

Utilizarea remediei BioR induce suprimarea evidentă a activității proteinazei aspartilice – catepsinei D cu 40% ( $p<0,05$ ) în comparație cu valorile lotului-martor. În același timp compusul

CMD-4 menține enzimozactivitatea catepsinei D la valori similare celor înregistrate la animalele intoxicate cu etilenglicol, CMJ-23 o readuce către valorile normale, iar CMD-8 crește funcționalitatea catepsinei D cu +42% ( $p < 0,05$ ) față de valorile specifice matorului. Creșterea activității catepsinei D sub acțiunea compusului CMD-8 denotă o inducție selectivă a fermentului. Aceasta poate influența esențial asupra procesului de inițiere a proteolizei, deoarece la degradarea proteinelor de către enzimele lizozomale prima „lovitură” este dată anume de catepsina D, iar peptidele mari rezultate sunt scindate apoi de alte proteaze [12]. Aparținând clasei proteinazelor aspartilice, catepsina D îndeplinește rolul proteolizei intralizozomale.

În cazul catepsinei G doar compusul CMJ-23 scade semnificativ statistic cu 37% ( $p < 0,05$ ) enzimozactivitatea în raport cu valorile animalelor intacte.

Modificările acivității leucinaminopeptidazei (LAP) și N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidazei (NAG) la animalele intoxicate cu etilenglicol au fost minimale și practic nu se deosebeau de valorile matorului (tabelul 2). Medicația cu bioremediile testate a condus la schimbări a activității LAP fără relevanță statistică.

Administrarea compușilor complecși CMD-4 și CMD-8 se soldează cu sporirea statistic concludentă a activității NAG atât față de mator, cât și față de lotul de animale supus intoxicației cu etilenglicol. Spre deosebire de LAP și NAG, nivelul funcțional al elastazei scade statistic semnificativ cu 11% ( $p < 0,05$ ) față de valorile specifice lotului mator. Pe fundal de intoxicație cu etilenglicol doar remediul BioR exercită un efect modulant asupra enzimozactivității elastazei, amploarea funcțională fiind net superioară cu 23% ( $p < 0,05$ ) în raport cu valorile animalelor intoxicate.

Medicația cu BioR-Ge și compușii complecși CMD-4, CMD-8, CMJ-23, dimpotrivă, determină o reducere elocventă, sugestiv statistică a activității elastazei, atât față de lotul mator, cât și în comparație cu animalele intoxicate, aceasta constituind 47%-57% din nivelul relevat în lotul mator.

Cercetările efectuate demonstrează că, pe fundal de intoxicație medicația cu bioremediul BioR-Ge induce creșterea statistic semnificativă a activității fosfatazei acide cu 43% ( $p < 0,05$ ) în raport cu nivelul atestat la animalele intacte, pe când majorarea produsă de compusul CMD-4 cu 44% s-a dovedit a fi fără relevanță statistică.

Tabelul 2

Influența unor CBA autohtoni asupra hidrolazelor lizozomale în țesutul renal la animalele intoxicate cu etilenglicol și la administrarea unor compuși biologic activi (CBA) autohtoni

Grupurile de studiu	LAP (nM/s.g.prot)	Elastaza (nM/s.g.prot)	NAG (nM/s.g.prot)	Fosfataza acidă (nM/s.g.prot.)
Mator	1689,09±78,95 (100%)	27,86±0,47 (100%)	17,21±0,82 (100%)	1,67±0,12 (100%)
EG	1788,58±113,33 (106%)	25,02±1,07* (89%)	17,40±1,22 (101%)	1,77±0,10 (106%)
EG+BioR	1623,79±61,51 (96%)	30,74±1,65# (110%)	20,98±1,36 (122%)	1,88±0,18 (113%)
EG+BioR-Ge	1722,73±21,51 (102%)	13,13±0,36*** (47%)	20,29±0,96 (118%)	2,38±0,24* (143%)
EG+ CMD-4	1819,63±52,99 (108%)	13,97±1,53# (50%)	21,92±0,50*** (127%)	2,40±0,33 (144%)
EG+ CMD-8	1448,45±146,24 (86%)	15,99±0,86*** (57%)	20,20±0,55# (117%)	1,41±0,20 (84%)
EG+ CMJ-23	1304,93±203,67 (77%)	13,27±0,88# (48%)	16,76±0,98 (97%)	1,74±0,19 (104%)

NOTĂ: LAP- leucinaminopeptidaza; NAG - N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidaza;

\* - diferență statistic semnificativă cu lotul-mator,  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

# - diferență statistic semnificativă față de lotul cu etilenglicol,  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$ .

Tabelul 3

Activitatea hidrolazelor lizozomale în țesutul renal la animalele intoxicate cu etilenglicol și la administrarea unor compuși biologic activi (CBA) autohtoni

Grupurile de studiu	$\beta$ -glucozidaza (nM/s.g.prot.)	$\beta$ -galact (nM/s.g.prot)	AS A și B (nM/s.g.prot.)	AS C (nM/s.g.prot.)
Martor	0,438±0,007 (100%)	2,41±0,24 (100%)	4,25±0,11 (100%)	12,28±0,55 (100%)
EG	0,449±0,012 (103%)	2,23±0,36 (93%)	4,01±0,26 (94%)	10,97±0,83 (89%)
EG +BioR	0,907±0,269 (207%)	1,90±0,19 (79%)	4,14±0,27 (97%)	12,50±0,92 (102%)
EG +BioR-Ge	0,482±0,023 (110%)	2,64±0,19 (110%)	4,29±0,32 (101%)	11,85±0,48 (96%)
EG I+ CMD-4	0,467±0,037 (107%)	2,18±0,24 (90%)	3,83±0,29 (90%)	11,71±0,86 (95%)
EG I+ CMD-8	0,493±0,019* (113%)	2,12±0,22 (88%)	3,61±0,33 (85%)	11,96±1,08 (97%)
EG + CMJ-23	0,314±0,024*## (72%)	1,54±0,14 (64%)	2,81±0,30* (66%)	7,55±1,43* (61%)

NOTĂ:  $\beta$ -galact -  $\beta$ -galactozidaza; AS – arilsulfataza;

\* - diferență statistic semnificativă față de lotul-martor,  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ;

# - diferență statistic semnificativă față de lotul cu etilenglicol,  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$ .

Rezultatele de evaluare a activității hidrolazelor lizozomale –  $\beta$ -glucozidazei,  $\beta$ -galactozidazei, arilsulfatazelor A, B și arilsulfatazei C în țesutul renal la animalele cu nefropatie indusă cu etilenglicol și la acțiunea unor CBA studiați sunt reprezentate în tabelul 3. Astfel, la animalele intoxicate cu etilenglicol modificările enzimelor nominalizate au fost neimportante, menținându-se practic în limitele valorilor normale.

Medicația cu biopreparatul BioR suscită o creștere dublă statistic neveridică a activității  $\beta$ -glucozidazei față de valorile de referință.

Utilizarea compușilor complecși CMD-8 și CMJ-23 conduce la majorarea concludent statistică a  $\beta$ -glucozidazei cu 13% ( $p < 0,05$ ) comparativ cu parametrii de referință și reducerea elocventă cu 28% ( $p < 0,05$ ) în raport cu nivelul atestat la animalele intacte și cu 30% ( $p < 0,05$ ) față de animalele intoxicate.

Modificările activității  $\beta$ -galactozidazei sub influența tratamentului cu CBA studiați au fost diverse: de la o scădere cu 36% indusă de CMJ-23, până la o devansare cu 10% produsă de BioR-Ge comparativ cu valorile martorului, dar schimbările fiind fără relevanță statistică.

Totodată, în rezultatul medicației cu compușii cercetați, numai CMJ-23 a reușit să suprimă sugestiv statistic funcționalitatea arilsulfatazelor A, B și C cu 34%-39% față de nivelul atestat la animalele martor, pe când celelalte preparate practic mențin enzimoactivitatea arilsulfatazelor în limitele valorilor normale.

Rezultatele obținute relevă implicarea potentă a hidrolazelor lizozomale în răspunsul rinichilor la acțiunea etilenglicolului ca parte componentă a mecanismului de adaptare a organismului la acțiunea xenobioticelor. Rinichii, fiind principalul organ de excreție sunt permanent supuși agresivității, atât a xenobioticelor, cât și a produșilor intermediari și/sau finali ai metabolizării lor. Gradul diferit de modificare a activității enzimelor atestă, probabil, nivelul implicării acestora în remedierea dereglărilor metabolice și structurale în rinichi.

Astfel, compusul CMD-8 majorează activitatea catepsinei D, iar CMD-4, CMD-8 sporesc funcționalitatea NAG. Remediul BioR normalizează enzimoactivitatea elastazei, BioR-Ge crește fosfataza acidă, CMD-8 – induce  $\beta$ -glucozidaza.

Compușii complecși testați – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23, remediile BioR, BioR-Ge reduc pregnant nivelul funcțional al catepsinelor B, H, elastazei, iar CMJ-23 scade statistic concludent activitatea catepsinei G,  $\beta$ -glucozidazei, arilsulfatazelor A, B și C. Dinamica diversă a activității

catepsinelor lizozomale demonstrează, probabil, sensibilitatea lor diferită la substanțele menționate.

Gradul de interferență a remediilor cu activitatea proteazelor lizozomale variază, fiind influențat de mai mulți factori – particularitățile conformaționale ale diferitor enzime, raportul dintre activatori și inhibitori, stabilitatea membranelor lizozomale, valoarea pH mediului, inducția și suprimarea la nivel genetic și alte momente.

Acțiunea modulatoră a bioremediilor testate asupra activității enzimelor lizozomale renale prezintă oportunități de utilizare în scopul ameliorării efectelor agresiunii substanțelor alogene asupra țesutului renal, adaptării și remanierii structural-metabolice a organului, precum și a restabilirii homeostaziei renale.

Astfel, compușii testați demonstrează un lizozomotropism semnificativ, fiind capabili să influențeze activitatea proteazelor lizozomale renale și să modifice starea funcțională a aparatului lizozomal.

### **Concluzii**

1. Compușii testați demonstrează un lizozomotropism pronunțat, fiind capabili să influențeze în mod diferit activitatea hidrolazelor lizozomale renale și să modifice starea funcțională a aparatului lizozomal.
2. Compușii complecși – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23, remediile BioR, BioR-Ge reduc pregnant nivelul funcțional al catepsinelor B, H și elastazei. CMJ-23 scade activitatea catepsinei G,  $\beta$ -glucozidazei, arilsulfazelor A, B și C, fapt ce demonstrează sensibilitatea înaltă a acestor hidrolaze la acțiunea acestor substanțe.
3. Compusul CMD-8 majorează activitatea catepsinei D, iar CMD-4, CMD-8 sporesc funcționalitatea N-acetil- $\beta$ -D-glucozaminidazei. Remediu BioR normalizează enzimo-activitatea elastazei, BioR-Ge crește fosfataza acidă, CMD-8 – induce  $\beta$ -glucozidaza.
4. Intensificarea activității enzimelor lizozomale la administrarea remediilor cercetate, poate fi apreciată ca o reacție compensatoare de adaptare a organismului, ce tinde să intensifice biodegradarea moleculelor defectuoase ce se formează în rezultatul acțiunii toxice a EG și a produșilor lui de metabolizare.

### **Bibliografie**

1. Baricos W. H., Cortez S. L., Le Q. C., et al. Glomerular basement membrane degradation by endogenous cysteine proteinases in isolated rat glomeruli. *Kidney Int.* 1990;38(3):395-401.
2. Benes P., Vetvicka V., Fusek M. Cathepsin D-many functions of one aspartic protease. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008;68(1):12-28.
3. Carnevali O., Maradonna F. Exposure to xenobiotic compounds: looking for new biomarkers. *Gen Comp Endocrinol* 2003;131(3):203-208.
4. Conus S., Simon H. U. Cathepsins: key modulators of cell death and inflammatory responses. *Biochem Pharmacol.* 2008;76(11):1374-82.
5. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V. et al. Investigații biochimice. Elaborare metodică. *Micrometode. Vol. II. Ch.: Elena V.I. SRL, 2010. 104 p.*
6. Ivanova S., Repnik U., Bojic L., Petelin A., Turk V., Turk B. Lysosomes in apoptosis. *Methods Enzymol.* 2008;442:183-99.
7. Jacobsen D., McMartin K.E. Methanol and ethylene glycol poisonings. Mechanisms of toxicity, clinical course, diagnosis, and treatment. *Medical Toxicology*, 1986;1:309–334.
8. Kos J., Jevnikar Z., Obermajer T. The role of cathepsin X in cell signaling. *Cell Adh Migr.* 2009;3(2):164-166.
9. Lamb J.A., Maronpot R.R., Gulati D.K., Russell V.S., Hommel-Barnes L., Sabharwal P.S. Reproductive and developmental toxicity of ethylene glycol in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1985;81:100-112.
10. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică / Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O., Sardari V., Rîvneac E., Andronache L., Știrba O., Pantea V., Popa V. Sub

- red. Valentin Gudumac; Univ. de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. – Ch.: S.n., 2012 (Tipogr. „Tehnica-Info”). – 162 p.
11. Riley J.H., O'Brien S., Riley M.G. Urine and tissue oxalate and hippurate levels in ethylene glycol intoxication in the dog. *Veterinary and Human Toxicology*, 1982;24:331-334.
  12. Tappel A.L. Lysosomal enzymes and other components. *Lysosomes in Biology and Pathology*. Amsterdam, 1969;2:207-245.
  13. Tennant I., Crawford-Sykes A., Ward L., Thesiger C – Ethylene glycol poisoning following ingestion of brake fluid, *West Indian Med. J.* 2006;55(4):286-7.
  14. Vashishta A., Ohri S. S., Vetvicka V. Pleiotropic effects of cathepsin D. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2009;9(4):385-91.
  15. Герасимова А. М., Борзова Н. Ю., Керимкулова Н. В. и др. Катепсин D – его физиологическая роль и использование в медицине. *Клиническая лабораторная диагностика*, 2009;3:3-5.
  16. Короленко Т.А., Филатова Т.Г., Черканова М.С. и др. Цистатины: регуляция цистеиновых протеаз и нарушения при опухолевых и воспалительных заболеваниях. *Биомед. химия*, 2008;54(2):210-218.

**INDICII METABOLISMULUI TIOL-DISULFIDIC ÎN FICAT  
ÎN CIROZA HEPATICĂ EXPERIMENTALĂ ȘI INFLUENȚA  
POLIZAHARIDELOR SULFATATE DIN SPIRULINĂ**

**Lilia Andronache, Olga Tagadiuc, Veronica Sardari, Olga Știrba, Valentin Gudumac**  
Laboratorul științific Biochimie, USMF „Nicolae Testemițanu”

**Summary**

*The indices of thiol-disulfide metabolism in experimental liver cirrhosis  
and influence of sulphatated polysaccharides from Spirulina*

In experimental liver cirrhosis (LC) induced by CCl<sub>4</sub> administration, changes of different intensity of the thiol-disulfide metabolism indices was noted – accumulation of significant quantity of oxidized glutathione (GSSG), and decrease of the (GSH)/GSSG ratio, diminution of the glutaredoxin and increase of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP) activities. Administration to intact animals of sulphatated polysaccharides from spirulina (SSP) resulted in the increase of GSSG amount, decrease of GSH/GSSG ratio and decrease of the functional level of thioredoxin reductase (TrsR) and glutaredoxin. Medications of experimental LC with SSP leads to normalization of the GSH/GSSG ratio compared with the group of untreated cirrhotic animals. SSP exerted a suppressive action on TrsR and glutaredoxin in cirrhotic liver.

**Rezumat**

În ciroza hepatică (CH) indusă prin administrarea CCl<sub>4</sub> s-au remarcat modificări de intensitate diferită ale indicilor metabolismului tiol-disulfidic – acumularea unei cantități sugestive de glutation oxidat (GSSG) și reducerea raportului GSH/GSSG, diminuarea activității glutaredoxinei și majorarea activității  $\gamma$ -glutamiltanspeptidazei ( $\gamma$ -GTP). Administrarea polisaharidelor sulfatate din spirulină (PSS) animalelor intacte a condus la creșterea nivelului de GSSG, reducerea raportului GSH/GSSG și a nivelului funcțional al tioredoxinreductazei (TrsR) și glutaredoxinei. Medicația CH cu PSS a condus la normalizarea valorilor GSSG și a raportului GSH/GSSG comparativ cu lotul animalelor cu patologia netratată. PSS au manifestat o acțiune supresantă asupra TrsR și glutaredoxinei în ficatul cirozat.

**Actualitatea**

Studiul aprofundat al proceselor biochimice, mecanismelor de reglare care participă la menținerea homeostazei celulare este o direcție de mare actualitate a biochimiei funcționale a