

Concluzii

1. În osteopatia experimentală s-a stabilit o conservare relativă a conținutului elementelor cardinale ale apatitei țesutului osos – calciului și fosfaților, și o sensibilitate pronunțată a nivelului elementelor minerale reglatoare, osteotrope (magneziu, zinc și cupru).
2. Remediul cianobacterian BioR și compușii coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 exercită o acțiune modulatorie selectivă și individuală asupra compoziției și metabolismului țesutului osos în OE.
3. Nivelul seric al substanțelor minerale nu corelează cu cel osos în condiții fiziologice și intoxicația cu tetraclorură de carbon.

Bibliografie

1. International Osteoporosis Foundation. Osteoporosis review of evidence for prevention, diagnosis, treatment and cost-effectiveness analysis. *Osteop Int*, 1999; 8 (4 suppl.): 51-88.
2. Lai Y.L., Yamaguchi M. Effects of copper on bone component in the femoral tissues of rats: anabolic effect of zinc is weakened by copper. *Biol Pharm Bull*, 2005; 28(12): 2296-2301.
3. Okano T. Effects of essential trace elements on bone turnover – in relation to the osteoporosis. *Nippon Rinsho, Japanese Journal of Medicine*, 1996; 54(1): 148-154.
4. Paschalis E.P., Mendelsohn R., Boskey A.L. Infrared assessment of bone quality: a review. *Clin Orthop Relat Res*.2011 Aug;469(8):2170-8.
5. Sugiyama T., Tanaka H., Kawai S. Improvement of periarticular osteoporosis in postmenopausal women with rheumatoid arthritis by β -alanil-L-histidinato zinc: a pilot study. *J Bone Miner Metab*, 2000; 18(6): 335-338.
6. Tagadiuc O. Metode de cercetare a metabolismului țesutului osos (elaborare metodică). Chișinău, Centrul Editorial Poligrafic al USMF „N. Testemițanu”, 2007, 38 p. 2.
7. Yamaguchi M., Uchiyama S., Ishiyama K., Hashimoto K. Oral administration in combination with zinc enhances β -cryptoxanthin-induced anabolic effects on bone components in the femoral tissues of rats in vivo. *Biol Pharm Bull*, 2006; 29(2): 371-374.

INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI, PRECUM ȘI A COMBINAȚIILOR LOR CU REMEDIUL BioR ASUPRA ACTIVITĂȚII HIDROLAZELOR LIZOZOMALE RENALE ÎN INTOXICAȚIA CU PROPILENGLICOL

Olga Tagadiuc, Emil Ceban, Lilia Andronache, Veronica Sardari
Laborator Biochimie, USMF “N. Testemițanu”

Summary

Influence of copper coordination compounds and their combinations with the remedy BioR on the activity of renal lysosomal hydrolases in propylene glycol intoxication

The influence of copper coordination compounds CMT-28, CMT-67 and their combinations with the cyanobacterian remedy BioR on the activity of the renal lysosomal proteases in propylene glycol (PG) poisoning was studied. It was established that PG statistically conclusive inhibits the activity of cathepsins H, L, arilsulfatases A and B, arylsulfatase C and acid phosphatase in rat kidneys. In small doses (1 mg/kg) only CMT-28+BioR combination statistically significant enhances the activity of cathepsin H in females. CMT-28 and CMT-28+BioR in high doses (10 mg/kg) statistically significantly increase the activity of cathepsin H in females with propylene glycol poisoning

Rezumat

S-a studiat influența compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67, precum și a combinațiilor lor cu remediul cianobacterian BioR asupra activității proteazelor lizozomale

renale în intoxicația cu propilenglicol (PG). S-a stabilit că PG inhibă statistic concludent activitatea catepsinelor H, L, arilsulfatazelor A și B, arilsulfatazei C și a fosfatazei acide în țesutul renal al șobolanilor. În doze mici (1 mg/kg) doar combinația CMT-28+BioR modulează statistic veridic activitatea catepsinei H la femele. Compușii CMT-28 și CMT-28+BioR în doze mari (10 mg/kg) pe fondal de intoxicație cu propilenglicol determină sporirea statistic concludentă a enzimoactivității catepsinei H la femele, iar CMT-67+BioR - numai la masculi.

Actualitatea

Patologiile renale continuă să fie 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 în patologia renală sunt incomplete și deseori contradictorii, acestor enzime atribuindu-se atât efecte nocive potente, cât și un rol important în procesele ce asigură adaptarea organului și regenerarea tisulară [1,4,8,11,14].

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. [2,6,13]. Totodată, endopeptidazele lizozomale sunt responsabile de inducția proceselor distructive, apoptotice în rinichi, inductori ai activității apoptotice a catepsinelor considerându-se produsele oxidării peroxidice a lipidelor [6].

Propilenglicolul – 1,2 propandiolul (PG) – solvent frecvent utilizat în fabricarea diverselor alimente, produse cosmetice și medicamente (orale, injectabile și pentru aplicare topică) poate manifesta efecte toxice atunci când este folosit în doze înalte [3,10,12]. Efectele toxice sunt determinate atât de compusul în sine, cât și de metabolizii lui. PG se metabolizează în organism prin oxidare cu formarea acizilor piruvic, acetic și lactic, aldehidei propionice și a altor substanțe [7, 9].

În literatura de specialitate au fost relevate mai multe efecte negative ale PG asupra proceselor metabolice din organism – hiperosmolaritatea, acidoza metabolică, hipoglicemia [7,9]. Deasemenea, au fost înregistrate dereglări ale funcției diferitor organe – leziune renală acută, aritmii cardiace, stop respirator, inhibarea funcției SNC, sindrom similar sepsisului, hemoliză, etc. [2, 9].

Totodată, în literatura accesibilă lipsesc date referitor la influența PG asupra metabolismului renal, precum și implicarea hidrolazelor lizozomale în metabolismul acestui xenobiotic în țesutul renal.

Scopul

Cercetarea a avut ca scop studiul influenței compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 și a combinațiilor lor cu remediul BioR administrați în diferite doze timp de 2 săptămâni asupra activității proteazelor lizozomale – catepsinelor D, G, L, H și a hidrolazelor – fosfatazei acide, β -glucuronidazei, β -glucozidazei, arilsulfatazelor A, B și arilsulfatazei C în țesutul renal la șobolanii intoxicați cu propilenglicol.

Materiale și metode

Experiențele au fost efectuate pe 61 de șobolani adulți ce au fost divizați în 10 grupuri experimentale:

- I – martor – animale intacte;
- II – animale cărora li s-a administrat sol. 10% de propilenglicol;
- III – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-28 în doză de 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;

- IV – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în doză de 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;
- V – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-28 în combinație cu bioremediul algal BioR câte 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;
- VI – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în combinație cu bioremediul algal BioR câte 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;
- VII – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-28 în doză de 10 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;
- VIII – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în doză de 10 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;
- IX – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-28 în îmbinare cu bioremediul algal BioR câte 10 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului;
- X – animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în combinație cu bioremediul algal BioR câte 10 mg/kg masă corporală timp de 14 zile după administrarea propilenglicolului.

Compușii coordinativi ai cuprului – CMT-28 și CMT-67, au fost oferți de prof. univ., d.h.ch. Gulea Aurelian (Catedra Chimie anorganică, Universitatea de Stat din Moldova), iar BioR de academicianul AȘ a R. Moldova, prof. univ., d.h.b., Rudic Valeriu (Institutul de Microbiologie al AȘ a R. Moldova).

La 24 ore după ultima injectare animalele au fost sacrificate sub narcoză ușoară cu eter sulfuric. Rinichii au fost extrași și s-a preparat omogenatul renal în soluție de 0,25M zaharoză, ce conținea 1 mM EDTA, pH 7,4, astfel ca diluția finală a omogenatului să constituie 1:10. În omogenat s-a determinat activitatea hidrolazelor lizozomale - catepsinelor H, L, D, G, precum și a fosfatazei acide, β -glucuronidazei, β -glucozidazei, arilsulfatazelor A și B și arilsulfatazei C conform procedeelelor descrise anterior [5].

Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului parametric t-Student cu ajutorul programului Statistica 6,0.

Rezultate și discuții

Rezultatele cercetării atestă că intoxicarea cu PG determină o suprimare evidentă a activității catepsinei D (cu 23%, $p > 0,5$), catepsinei H (cu 30%, $p < 0,01$) și catepsinei L (cu 22%, $p < 0,05$) în comparație cu valorile lotului-martor. În cazul catepsinei G modificările au fost neimportante.

Administrarea bioremediilor studiate în doză de 1 mg/kg masă corporală s-a soldat cu un răspuns neunivoc a activității proteazelor lizozomale cercetate (tabelul 1).

Astfel s-a constatat, că CMT-67 în combinație cu BioR în ambele doze (1 mg/kg și 10 mg/kg) determină revenirea la nivelul valorilor specifice martorului a catepsinei H.

Combinația CMT-67+BioR (1 mg/kg) induce o scădere statistic concludentă a activității catepsinei D cu 35% și a catepsinei G cu 22% față de nivelul acestora în grupul martor.

La șobolanii-femele intoxicate cu propilenglicol are loc o reducere pronunțată a activității catepsinei H și a catepsinei L (cu 45% și, respectiv, 23%) și o tendință de diminuare a catepsinelor D și G față de lotul animalelor intacte.

Administrarea CMT-28 în doza de 1 mg/kg determină readucerea activității catepsinei H pînă la valorile normale, menținerea la valori diminuate a catepsinei L și reducerea funcției catalitice a catepsinei G cu 47% ($p < 0,05$) în raport cu nivelul atestat la animalele intacte și respectiv, 33% ($p < 0,05$) față de animalele cu patologia indusă de propilenglicol. Compusul menționat în doza de 1 mg/kg suscită o creștere aproape dublă a activității catepsinei D.

Tabelul 1

Activitatea catepsinelor la șobolanii masculi în intoxicarea cu propilenglicol și sub influența compusului coordonativ al cuprului CMT-67 și bioremediului BioR

Grupurile studiate	Catepsina D (ng/s.g.prot.)	Catepsina H (nm/s.g.prot.)	Catepsina L (mg/s.g.prot.)	Catepsina G (nm/s.g.prot.)
Martor	4,96±0,47 (100%)	296,51±11,86 (100%)	719,25±40,88 (100%)	0,68±0,03 (100%)
Propilenglicol	3,81±0,39 (77%)	206,10±20,44** (70%)	562,20±27,78* (78%)	0,64±0,06 (94%)
CMT-67+BioR, 1 mg/kg	3,24±0,30* (65%)	283,85±29,10 (96%)	528,27±39,66** (73%)	0,53±0,04* (78%)
CMT-67BioR, 10 mg/kg	3,64±0,47 (78%)	317,44±28,48§ (107%)	605,68±48,39 (84%)	0,53±0,04* (78%)

NOTĂ: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $< 0,001$;
§ - diferență statistic semnificativă cu lotul-propilenglicol, $p < 0,05$; §§ - $p < 0,01$; §§§ - $< 0,001$;

La utilizarea dozei de 10 mg/kg de CMT-28 enzimoactivitatea catepsinei L scade semnificativ statistic cu 20% ($p < 0,05$) în raport cu valorile animalelor intacte. Concomitent, se constată reducerea neconcludentă a activității catepsinelor H și G cu 14%-15% și o tendință de creștere a activității catepsinei D față de lotul de animale netratate.

Administrarea combinată a CMT-28 și BioR (cîte 1 mg/kg) provoacă creșterea activității catepsinelor H și L la animalele intoxicate cu PG pînă la valorile martorului. Totodată, s-a înregistrat amplificarea sub influența acestor compuși a activității catepsinei D, ce depășește valorile depistate la șobolanii intoxicați cu propilenglicol și cele ale martorului. Concomitent activitatea catepsinei G se menține semnificativ mai joasă decît la animalele martor (tab.2).

Tabelul 2

Activitatea catepsinelor la șobolanii-femele în intoxicarea cu propilenglicol și sub influența compușilor coordonativi ai Cu CMT-28 și CMT-67 și bioremediului BioR

Grupurile studiate	Catepsina H (nm/s.g.prot.)	Catepsina L (mg/s.g.prot.)	Catepsina D (ng/s.g.prot.)	Catepsina G (nm/s.g.prot.)
Martor	374,73±21,71 (100%)	731,46±21,67 (100%)	4,49±0,41 (100%)	0,743±0,025 (100%)
Propilenglicol	206,10±20,44** (55%)	562,20±27,78*** (77%)	3,81±0,39 (85%)	0,638±0,058 (86%)
CMT-28, 1mg/kg	351,64±84,24 (94%)	465,09±49,70* (64%)	8,69±3,45*§ (194%)	0,397±0,049*§ (53%)
CMT-28, 10 mg/kg	321,70±27,23§ (86%)	584,45±35,95* (80%)	6,14±1,02 (137%)	0,632±0,082 (85%)
CMT-28+BioR, 1mg/kg	413,95±84,28§§ (110%)	824,25±146,91 (113%)	7,90±1,29*§ (176%)	0,560±0,072* (75%)
CMT-28+BioR, 10 mg/kg	315,55±16,11§ (84%)	615,83±32,67* (84%)	4,67±0,35 (104%)	0,550±0,038** (74%)
CMT-67, 1 mg/kg	383,78±86,05 (110%)	699,15±161,29 (96%)	9,03±2,66 (201%)	0,747±0,173 (101%)
CMT-67 (10 mg/kg)	300,65±26,73 (80%)	588,43±54,91* (80%)	3,88±0,52 (86%)	0,400±0,029***§§§ (54%)

NOTĂ: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $< 0,001$;
§ - diferență statistic semnificativă cu lotul-propilenglicol, $p < 0,05$; §§ - $p < 0,01$; §§§ - $< 0,001$;

Utilizarea combinației CMT-28+BioR (10 mg/kg) se soldează cu creșterea statistic veridică a activității catepsinei H comparativ cu lotul șobolanilor intoxicați cu propilenglicol. Simultan se constată o tendință de creștere a catepsinei L, dar care nu atinge valorile specifice lotului-martor. În același timp, activitatea catepsinei D nu se modifică statistic semnificativ comparativ cu valorile înregistrate la animalele intacte, iar funcția catalitică a catepsinei G suferă o reducere veridică cu 26% ($p < 0,01$) în comparație cu lotul-martor.

Astfel, combinația CMT-28+BioR manifestă proprietatea de a reduce într-o anumită măsură toxicitatea indusă de propilenglicol, ceea ce se traduce prin normalizarea sau tendința de restabilire a activității catepsinelor cercetate.

Modificările produse de compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în doza de 1 mg/kg au fost minimale și practic nu se deosebeau de valorile martorului. Datele din tab. 2 atestă că, doar nivelul activității catepsinei D crește semnificativ, depășind de 2 ori valorile de referință.

În doze mari (10 mg/kg), compusul coordinativ CMT-67 influențează statistic concludent doar activitatea catepsinei G, constatându-se o reducere cu 46% față de martor și cu 38% ($p < 0,01$) față de patologia netratată și a catepsinei L, care menține valoarea redusă a enzimoactivității față de animalele intoxicate cu propilenglicol.

Cercetările efectuate demonstrează că, la șobolanii-masculi intoxicația cu propilenglicol provoacă diminuarea activității hidrolazelor lizozomale, dar statistic semnificative s-au dovedit a fi reducerea funcționalității fosfatazei acide (29%, ($p < 0,05$)) și a arilsulfatazei C (25%, ($p < 0,05$)).

Administrarea compusului coordinativ al cuprului CMT-67 în combinație cu BioR în dozele de 1 mg/kg și 10 mg/kg se soldează cu reducerea statistic concludentă a activității tuturor hidrolazelor lizozomale studiate atât față de martor, cât și față de lotul de animale supus intoxicației cu propilenglicol. Excepție constituie doar arilsulfatazele A și B, diminuarea activității cărora s-a dovedit a fi fără relevanță statistică.

Rezultatele investigațiilor experimentale denotă că, la șobolanii-femele intoxicația cu propilenglicol spre deosebire de masculi induce doar modificări ale funcționalității arilsulfatazelor: reducerea cu 42% ($p < 0,001$) a arilsulfatazelor A și B și creșterea cu 97% a arilsulfatazei C ($p < 0,01$).

Tabelul 3

Activitatea enzimelor lizozomale la șobolanii masculi în intoxicația cu propilenglicol și sub influența compușilor coordinativi CMT-28 și CMT-67 și bioremediului BioR

Grupurile studiate	Fosfataza acidă ($\mu\text{M/s.g.prot}$)	β -glucuronidaza (nM/s.g.prot)	β -glucozidaza (nM/s.l.)	Arilsulfatazele A și B ($\mu\text{M/s.G.prot}$)	Arilsulfataza C (nM/s.g.prot)
Martor	4,85 \pm 0,39 (100%)	534,52 \pm 50,85 (100%)	252,99 \pm 19,68 (100%)	99,74 \pm 8,85 (100%)	99,74 \pm 8,85 (100%)
Propilenglicol	3,46 \pm 0,25* (71%)	508,66 \pm 13,69 (95%)	206,73 \pm 14,99 (82%)	80,27 \pm 7,0 (80%)	74,75 \pm 4,60* (75%)
CMT-67+BioR, 1mg/kg	2,31 \pm 0,22** § (48%)	450,07 \pm 45 (84%)	132,22 \pm 10,24*** §§ (52%)	72,85 \pm 6,05 (73%)	45,91 \pm 5,77*§ (46%)
CMT-67+BioR, 10 mg/kg	2,49 \pm 0,21** § (51%)	442,31 \pm 74,27 *§ (83%)	154,86 \pm 11,12**§ (61%)	77,34 \pm 7,99 (78%)	43,03 \pm 3,66** §§ (43%)

NOTĂ: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; § - diferență statistic semnificativă cu lotul-propilenglicol, $p < 0,05$; §§ - $p < 0,01$; §§§ - $p < 0,001$.

Medicația cu CMT-28 în dozele 1mg/kg și 10 mg/kg masă corporală induce o supresie pronunțată a activității fosfatazei acide cu 41% ($p<0,05$) și respectiv, 37% ($p<0,01$), a β -glucozidazei cu 22% ($p<0,05$) și a arilsulfatazelor A și B cu 61% ($p<0,05$) și, respectiv, 33% ($p<0,01$). Sub influența CMT-28 în doza de 1 mg/kg are loc normalizarea funcționalității arilsulfatazei C, iar doza de 10 mg/kg induce o atenuare a hiperactivității enzimei cu 17% față de lotul de animale intoxicate, dar care continuă să depășească cu 63% ($p<0,01$) nivelul lotului martor. În același timp, modificările β -glucuronidazei la administrarea CMT-28 s-au dovedit a fi statistic neconcludente.

Administrarea combinată a CMT-28+BioR în doza 1 mg/kg menține enzimoactivitatea fosfatazei acide, β -glucuronidazei și a arilsulfatazei C practic în limitele valorilor normale, pe când funcționalitatea arilsulfatazelor A și B continuă să rămână la nivel scăzut, similar celui înregistrat la animalele intoxicate cu propilenglicol. În acelaș timp medicația cu CMT-28+BioR în doza 10 mg/kg induce modificări similare ale activității hidrolizelor lizozomice ca și în cazul administrării dozei de 1 mg/kg. Singura deosebire constă în faptul că activitatea fosfatazei acide se reduce cu 28% ($p<0,01$) în raport cu nivelul atestat la animalele intacte.

Astfel, BioR manifestă proprietatea de a atenua sau reduce modificările activității hidrolazelor lizozomice induse de administrarea compusului CMT-28 pe fondal de intoxicație cu propilenglicol la șobolanii-femele.

Tabelul 4

Activitatea enzimelor lizozomale la șobolanii femele în intoxicarea cu propilenglicol și sub influența compușilor coordinați CMT-28 și CMT-67 și bioremediului BioR

Grupurile studiate	Fosfataza acidă ($\mu\text{M/s.g.prot}$)	β -glucuronidaza (nM/s.g.prot)	β -glucozidaza (nM/s.l.)	Arilsulfatazele A și B ($\mu\text{M/s.g.prot}$)	Arilsulfataza C (nM/s.g.prot)
Martor	3,83±0,20 (100%)	493,54±32,50 (100%)	203,10±8,91 (100%)	137,33±4,06 (100%)	37,99±2,98 (100%)
Propilenglicol	3,46±0,25 (90%)	508,66±13,69 (103%)	206,73±14,99 (102%)	80,27±7,0*** (58%)	74,75±4,60** (197%)
CMT-28 (1mg/kg)	2,25±0,21*§ (59%)	394,52±45,72 (80%)	158,65±16,66* (78%)	53,14±3,74*§ (39%)	39,66±2,37§ (104%)
CMT-28 (10 mg/kg)	2,43±0,14**§ (63%)	485,71±45,81 (98%)	158,65±16,66* (78%)	92,27±5,04** (67%)	61,82±6,11** (163%)
CMT-28+BioR, câte 1mg/kg	3,67±0,65 (96%)	568,30±84,77 (115%)	155,54±15,39** (77%)	74,23±15,52* (54%)	43,68±7,77§ (115%)
CMT-28+BioR, câte 10 mg/kg	2,75±0,23** (72%)	499,79±25,15 (101%)	155,54±15,39** (77%)	82,46±10,05* (60%)	43,87±9,98 (115%)
CMT-67 (1mg/kg)	3,23±0,77 (84%)	580,50±132,19 (118%)	172,52±30,92 (85%)	82,25±9,39* (60%)	58,43±20,74 (154%)
CMT-67 (10 mg/kg)	2,27±0,20**§ (59%)	318,29±23,97** (64%)	151,83±14,08* (75%)	85,29±6,73** (62%)	45,73±3,72§ (120%)

NOTĂ: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$; § - diferență statistic semnificativă cu lotul-propilenglicol, $p<0,05$; §§ - $p<0,01$; §§§ - $p<0,001$.

Administrarea compusului coordonativ al cuprului CMT-67 șobolanilor-femele intoxicate cu propilenglicol induce modificări dependente de doza administrată: la aplicarea dozei de 1 mg/kg se releva supresia pronunțată a arilsulfatazelor A și B cu 40% față de martor și o tendință de reducere a funcționalității fosfatazei acide și β -glucozidazei. Concomitent activitatea β -glucuronidazei și arilsulfatazei C crește cu 18% și, respectiv, 54%, dar aceste modificări nu au relevanță statistică. La utilizarea dozei maxime -10 mg/kg, compusul menționat induce o diminuare statistic concludentă a nivelului funcțional al fosfatazei acide cu 41% ($p < 0,01$), a β -glucuronidazei cu 36% ($p < 0,01$), a β -glucozidazei cu 25% ($p < 0,05$). Totodată, compusul nominalizat menține la valori reduse activitatea arilsulfatazelor A și B similare celor depistate la animalele intoxicate și reduce hiperfuncționalitatea arilsulfatazei C pentru că aceasta să nu mai difere concludent de valorile normale.

Rezultatele obținute relevă implicarea potentă a proteazelor lizozomale în răspunsul rinichilor la acțiunea PG ca parte componentă a mecanismului de adaptare a organismului la acțiunea xenobioticelor. Rinichii, fiind principalul organ de excreție este permanent supus acțiunii dăunătoare atât a xenobioticelor, precum și a produșilor intermediari și/sau finali ai metabolizării lor. Astfel, este cert că în intoxicarea cu PG, amplificarea activității catepsinelor renale, ce asigură biodegradarea proteinelor modificate și preîntâmpină acumularea lor, este o etapă indispensabilă a restabilirii funcțional-metabolice a țesutului renal afectat. Gradul diferit de modificare a activității enzimelor atestă, probabil, nivelul implicării fermenților respectivi în remedierea dereglărilor metabolice și structurale în rinichi.

Compușii testați - CMT-28, CMT-67 și combinațiile lor cu BioR modulează activitatea majorității enzimelor lizozomale studiate, manifestând un tropism lizozomal semnificativ. Gradul de interferență a remediilor cu activitatea proteazelor lizozomale variază, fiind influențat de mai mulți factori – doza remediei, condițiile mediului în care activează enzima, stabilitatea membranelor lizozomale, etc.

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

Concluzii

1. Efectele toxice ale propilenglicolului asupra țesutului renal se manifestă prin inhibarea semnificativă a activității catepsinei H, catepsinei L la animalele de ambele sexe, a arilsulfatazelor A și B la femele, a arilsulfatazei C și a fosfatazei acide la masculi.
2. În doze mici (1 mg/kg) doar combinația CMT-28+BioR amplifică statistic veridic activitatea catepsinei H la femele pe fondal de intoxicație cu propilenglicol.
3. Compușii CMT-28 și CMT-28+BioR în doze mari (10 mg/kg) determină sporirea statistic concludentă a enzimoactivității catepsinei H la femele, iar CMT-67+BioR - numai la masculi, comparativ cu valorile depistate la animalele intoxicate cu PG, ceea ce, probabil, asigură biodegradarea proteinelor modificate și preîntâmpină acumularea lor, contribuind astfel la restabilirea funcțional-metabolică a țesutului renal afectat.

Bibliografie

1. Baricos W. H., Cortez S. L., Le Q. C., Zhou Y. W., Dicarlo R. M., O'Connor S. E., Shah S. V. Glomerular basement membrane degradation by endogenous cysteine proteinases in isolated rat glomeruli. *Kidney Int.* 1990 Sep;38(3):395-401.
2. Benes P., Vetvicka V., Fusek M. Cathepsin D-many functions of one aspartic protease. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008 Oct;68(1):12-28. Epub 2008 Apr 8.
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., Baciu El., Marin V. et al. Investigații enzimologice. Elaborare metodică. Chișinău, 2000, 56 p
6. Ivanova S., Repnik U., Bojic L., Petelin A., Turk V., Turk B. Lysosomes in apoptosis. *Methods Enzymol.* 2008; 442: 183-99.
7. Kelner M. J., Bailey D. N. (1985) Propylene glycol as a cause of lactic acidosis. *J. Anal Toxicol* 9: 40-42.
8. Kos J., Jevnikar Z., Obermajer T. The role of cathepsin X in cell signaling. *Cell Adh Migr.* 2009 Apr–Jun; 3(2): 164–166.
9. Miller D. N., Bazzano G. (1965) Propanediol metabolism and its relation to lactic acid metabolism. *Ann NY Acad Sci*, 119: 957-973.
10. Morched K. M., Jain S. K., McMartin K. E. Propylene glycol-mediated cell injury in a primary culture of human proximal tubule cells. *Toxicol Sci.* 1998 Dec;46(2):410-7.
11. Vashishta A., Ohri S. S., Vetvicka V. Pleiotropic effects of cathepsin D. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2009 Dec;9(4):385-91.
12. Zar T., Graeber C., Perazella M. A. Recognition, treatment, and prevention of propylene glycol toxicity. *Semin Dial.* 2007; 20 (3): 217-9.
13. Герасимова А. М., Борзова Н. Ю., Керимкулова Н. В. и др. Катепсин D – его физиологическая роль и использование в медицине. *Клиническая лабораторная диагностика*, 2009, нр. 3, с. 3-5.
14. 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, том 54, вып. 2, с. 210-218.

**ASPECTE ONTOGENETICE ALE OXIDĂRII PEROXIDICE A LIPIDELOR
ȘI ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE TOTALE ÎN ȚESUTUL MUSCULAR ȘI
INFLUENȚA REMEDIULUI BIOR ÎN STRESUL OXIDATIV EXPERIMENTAL**

Veaceslav Popa

Laboratorul Biochimie LCCȘ, USMF “N.Testemițanu”

Summary

*Ontogenetic view on lipid peroxidation and total antioxidant activity
in muscular tissue and influence of BioR remedy in experimental oxidative stress*

Muscle tissue lipid peroxidation (POL) intensity and total antioxidant activity (AAT) in ontogenesis at rats and the influence BioR remedy to CCl₄ intoxication have been studied. Research has revealed marked increases of the POL level products and reduce the AAT in CCl₄ intoxication depending on ontogenetic stage of postnatal development. Medication with BioR reduce and/or normalization of POL indices and restore or even increase AAT in muscle tissue from animals of different age.

Rezumat

S-au studiat modificările intensității peroxidării oxidative a lipidelor (POL) și activitatea antioxidantă totală (AAT) în ontogeneză în țesutul muscular la șobolani supuși intoxicației cu CCl₄ și după administrarea remediei BioR. Cercetările efectuate au relevat creșteri marcante ale nivelului produșilor POL și reducerea AAT în intoxicația de durată cu CCl₄ în dependență de etapa ontogenetică de dezvoltare postnatală. Medicația cu BioR determină reducerea și/sau normalizarea indicilor POL și restabilirea și chiar creșterea valorilor AAT în țesutul muscular la animalele de diferită vârstă.