

INFLUENȚA TETRAKLORURII DE CARBON ASUPRA COMPOZIȚIEI MINERALE A ȚESUTULUI OSOS

Olga Tagadiuc, Inna Șveț, Lilia Andronache, V. Gudumac

Laborator Biochimie USMF „N. Testemițanu”

Abstract

Carbon tetrachloride influence on the bone mineral composition

Carbon tetrachloride (CCl₄) is a toxic compound widely distributed in the environment. The aim of the study was to investigate CCl₄ influence on mineral composition of the bone in adult rats. Long term CCl₄ administration (8 weeks) statistically significantly decreased magnesium (21%, $p < 0,01$) and potassium (23%, $p < 0,001$) and increased sodium (62%, $p < 0,05$) contents in the bone of female rats. Only phosphates were statistically significantly changed (increased by 11%, $p < 0,05$) in male rats after prolonged CCl₄ administration.

Rezumat

Tetraclorura de carbon (CCl₄) este o noxă larg răspândită în mediul ambiant, care afectează grav diverse organe și țesuturi. Scopul studiului a fost de a cerceta influența CCl₄ asupra compoziției minerale a țesutului osos la șobolanii adulți. S-a stabilit că la administrarea de durată a CCl₄ (8 săptămâni) scade semnificativ cantitatea magneziului (cu 21%, $p < 0,01$) și potasiului (cu 23%, $p < 0,001$) și crește cantitatea sodiului (cu 62%, $p < 0,05$) în țesutul osos la femele. La masculi administrarea CCl₄ induce doar creșterea semnificativă a cantității fosfaților (cu 11%, $p < 0,05$) în țesutul osos.

Actualitatea temei

Tetraclorura de carbon (CCl₄) este o substanță semnificativ de toxică și destul de larg răspândită în mediul ambiant. Populația în majoritatea cazurilor este expusă acțiunii CCl₄ din atmosferă și mai puțin celei prezente în apă și alimente. Luându-se în considerație toate sursele de expunere, în organismul omului pătrund zilnic cca 0,1–0,27 μg CCl₄/kg masă corporală [5].

Toxicitatea CCl₄ este dictată de formarea produșilor intermediari metabolic extrem de agresivi, ca radicalii triclorometil și triclorometilperoxil, fosgen, cloroform, diclorocarben etc. Radicalii menționați interacționează cu lipidele declanșând oxidarea peroxidică a lipidelor, ce la rândul ei este un generator important de compuși nocivi - acetonă, propanal, butanal, dialdehida malonică etc. [2, 3]. Metaboliții intermediari a CCl₄ posedă capacitatea de a interacționa și a se lega covalent la substanțele macromoleculare – proteine și enzime, acizi nucleici, fosfogliceride, digliceride [4].

CCl₄ se distribuie în întreg organismul, fiind depistat în concentrații mari în sânge, țesutul adipos, măduva osoasă, creier, medulă și nervi, ficat, rinichi, mucoasa intestinului, glandele salivare, etc. Compusul tinde să se acumuleze în grăsimi, concentrația sa în lipide fiind de cca 60 ori mai mare decât în sânge [1, 8, 10]. CCl₄ afectează ficatul, rinichii, tractul gastrointestinal, sistemul nervos, fiind asociat cu apariția hepatoamelor, carcinoamelor hepatocelulare, cirozei, comei hepatice, a limfomului non-Hodgkin, insuficienței renale etc. [6, 11].

În același timp nu există studii referitor la acțiunea CCl₄ asupra țesutului osos, în general, și a fazei minerale a țesutului în particular. Deasemenea, literatura de specialitate nu oferă date despre diferențele de pendențe de sex a răspunsului țesutului osos la acțiunea toxică a CCl₄.

Scopul lucrării a fost de a studia modificările compoziției minerale a țesutului osos al șobolanilor de laborator – femele și masculi, la administrarea de durată a CCl₄.

Materiale și metode

Experiențele au fost efectuate pe 32 șobolani albi fără pedigree, adulți, cu masa corpului de 160-180 g. Au fost cercetate următoarele grupuri experimentale.

I grup – 8 femele intacte;

II grup – 8 masculi intacti;

III grup – 8 femele, cărora li s-a administrat 0,1 ml soluție CCl₄ 50% la 100 g masă corporală, bisăptămânal, timp de 8 săptămâni;

IV grup – 8 masculi, cărora li s-a administrat 0,1 ml soluție CCl₄ 50% la 100 g masă corporală. bisăptămânal, timp de 8 săptămâni.

La 24 ore după ultima administrare animalele au fost sacrificate sub narcoză ușoară cu eter sulfuric. Oasele femurale au fost extrase, eliberate de țesuturile adiacente și înlăturată măduva osoasă prin spălări repetate cu soluție glaciară 0,9% de NaCl. În continuare oasele femurale au fost înghețate în azot lichid și supuse triturării până la starea de pulbere. Pulberea (20 mg) a fost hidrolizată în HClO₄ și în hidrolizatul rezultat s-a determinat cu ajutorul seturilor standarde cantitatea substanțelor minerale:

7. calciului (Calcium Arsenazo, EliTECH),
8. fosfaților (EliTECH),
9. magneziului (Magnesium Calmagite, EliTECH),
10. clorului (Chloride, EliTECH),
11. potasiului (Potassium Fluid monoreagent, Centronic GmbH)
12. sodiului (Sodium, Centronic GmbH).

Cantitatea compușilor exprimată în mM a fost referită la g pulbere os.

Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului *t-Student* și coeficientului de corelație *r*, cu ajutorul programului STATISTICA 6,0 (StatSoft Inc, 2001).

Rezultate și discuții

Conținutul substanțelor minerale cercetate în țesutul osos al șobolanilor de laborator la animalele de diferite sexe se caracterizează prin diferențe statistic veridice. Astfel, clorul și sodiul sunt în concentrație mai mare la masculi decât la femele cu 25% ($p < 0,005$) și 91% ($p < 0,001$), respectiv, iar fosfații prevalează la femele cu 14% ($p < 0,01$) (tab. 1). La femele se atestă corelații pozitive puternice între cantitățile calciului și a fosfaților ($r = 0,86$, $p < 0,05$), calciului și a clorului ($r = 0,96$, $p < 0,05$), fosfaților și a clorului ($r = 0,77$, $p < 0,05$). La masculi s-a înregistrat doar o corelație puternică pozitivă între cantitățile calciului și clorului în țesutul osos ($r = 0,96$, $p < 0,05$).

Diferențele constatate posibil sunt determinate de deosebirile reglării hormonale a metabolismului țesutului osos la animalele de diferite sexe. La femele prevalează estrogenii, ce conservează masa osoasă, prin menținerea echilibrului optim între resorbția și formarea osoasă și intervenția în formarea, proliferarea și reglarea activității atât a osteoblastelor, cât și a osteoclastelor. La masculi androgenii preponderent reduc resorbția osoasă, efectul fiind indirect, prin aromatizarea testosteronului la estrogeni [9].

Tabelul 1. Conținutul substanțelor minerale în țesutul osos al șobolanilor adulți sănătoși (mM la 1g pulbere os).

	Calciul	Fosfații	Magneziul	Clorul	Potasiul	Sodiul
Femele	5,773±0,17	3,389±0,07	0,748±0,05	2,096±0,06	0,073±0,001	1,98±0,38
Masculi	5,77±0,17	2,981±0,1*	0,639±0,03	2,626±0,12*	0,068±0,002*	3,788±0,12

Notă: * – $p < 0,01$ conform criteriului *t-Student*.

Administrarea CCl₄ nu modifică conținutul de calciu în țesutul osos al șobolanilor adulți atât la femele (100,5%), cât și la masculi (106%). Cantitatea sumară de fosfați nu se modifică în țesutul osos al femelelor (96%) și crește la masculi cu 11% ($p < 0,05$) după administrarea noxei, pe când cea a clorului – *vice versa*, nu este afectată la masculi (100,6%) și denotă o tendință de creștere nesemnificativă la femele (109%). Cantitatea magneziului și potasiului este semnificativ diminuată în țesutul osos al femelelor după administrarea de durată a tetraclorurii de carbon – 79% ($p < 0,01$) și 77% ($p < 0,001$), respectiv, pe când la masculi ea nu suferă schimbări importante (107% și 102%). Modificările cantității sodiului sunt diametral opuse la șobolanii de sex diferit. Se înregistrează o creștere semnificativă până la 162% ($p < 0,05$) la femele și o scădere statistic neconcludentă până la 81% la masculi.

Tabelul 2. Conținutul substanțelor minerale în țesutul osos al șobolanilor adulți după administrarea CCl₄ (mM la 1g pulbere os).

	Calciul	Fosfații	Magneziul	Clorul	Potasiul	Sodiul
Femele	5,803±0,17	3,253±0,1	0,588±0,02**	2,283±0,14	0,056±0,003**	3,197±0,42*
	100,5%	96%	79%	109%	77%	162%
Masculi	6,111±0,15	3,317±0,09*	0,684±0,04	2,641±0,12	0,069±0,002	3,064±0,42
	106%	111%	107%	100,6%	102%	81%

Notă: * – $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ conform criteriului *t-Student*.

Schimbările cantității substanțelor minerale în țesutul osos înregistrate la femele după administrarea îndelungată a CCl₄ sunt mai multe și mai profunde. La ele se referă:

- scăderea semnificativă a cantităților magneziului și potasiului, cu 21% ($p < 0,01$) și cu 23% ($p < 0,001$) față de valorile normale, respectiv;
- creșterea importantă a sodiului – cu 62% ($p < 0,05$) peste valorile de referință;
- tendința de creștere a clorului (109% față de martor).

La masculi se înregistrează un număr considerabil mai mic de modificări, semnificativă statistic fiind doar creșterea cantității fosfaților cu 11% ($p < 0,05$).

Administrarea tetraclorurii de carbon afectează legăturile de corelație dintre cantitățile substanțelor minerale la femele, care dispar, pe când la masculi se menține corelația calciu-clor, dar ea este mai slabă ($r = 0,86$, $p < 0,05$).

Fenomenele stabilite sunt în concordanță cu datele literaturii, ce relevă deosebiri dependente de sex ale compoziției și metabolismului țesutului osos în diverse afecțiuni, în special în osteoporoză [7, 9]. Rezultatele noastre completează informația referitor la compoziția fazei minerale a țesutului osos în osteopatia toxică și permit de a diversifica abordările diagnostice și stabili strategii terapeutice în dependență de sex în asemenea stări patologice.

Concluzii

1. Sa atestă deosebiri statistic veridice ale cantităților fosfaților, clorului și sodiului în țesutul osos între femele și masculi la animalele intacte
2. La animalele de laborator intacte nu sunt deosebiri statistic veridice între cantitatea calciului, magneziului și potasiului în țesutul osos la femele și masculi.
3. Administrarea CCl₄ induce scăderea semnificativă a cantității magneziului și potasiului și creșterea cantității sodiului la femele în țesutul osos.
4. La masculi administrarea CCl₄ induce doar creșterea semnificativă a cantității fosfaților în țesutul osos.

Bibliografie

1. Bergman K. Application and results of whole-body radiography in distribution studies of organic solvents. Crit Rev Toxicol, 1984; 12: 59-119;
2. De Zwart L.L., Venhorst J., Groot M., Commandeur J.N., Hermanns R.C., Meerman J.H., Fan Baar B.L., Vermeulen N.P. Simultaneous determination of eight lipid peroxidation degradation products in urine of rats treated with carbon tetrachloride using gas chromatography with electron-capture detection. J Chromatogr Biomed Appl, 1997; B694: 277-287;
3. Dianzani M.U. Lipid peroxidation and haloalkylation: two distinct mechanisms for carbon tetrachloride-induced liver damage. Int Congr Ser Excerpta Med, 1984; 632: 39-50;
4. Díaz Gómez M.I., Castro J.A. Covalent binding of carbon tetrachloride metabolites to liver nuclear DNA, protein and lipids. Toxicol Appl Pharmacol, 1980; 56: 199-206;
5. International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 208 - Carbon tetrachloride. <http://www.inchem.org/documents/ech/ech/ech208.htm>;

6. Kluwe W.M. Renal function tests as indicators of kidney injury in subacute toxicity studies. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1981; 57: 414-424.
7. Manolagas S.C., Kousteni S., Jilka R.L. Sex steroids and bone. *Recent Progress in Hormone Research*, 2002; 57:358-409.
8. Marchand C., McLean S., Plaa G.L. The effect of SKF 525A on the distribution of carbon tetrachloride in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 1970; 174: 232-238;
9. Riggs B.L., Kholsa S., Melton L.J. 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine Reviews*, 2002; 23(3):279-302.
10. Watanabe A., Shiota T., Takei N., Fujiwara M., Nagashima H. Blood to brain transfer of carbon tetrachloride and lipoperoxidation in rat brain. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1986; 51: 137-140;
11. Zimmerman H.J. Syndromes of environmental hepatotoxicity. In: Zimmerman HJ ed. *Hepatotoxicity -- the adverse effect of drugs and other chemicals on the liver*. New York, Appleton-Century-Crofts, 1978, pp. 297-302.

IODTIRONIN SELENODEIODINAZELE ȘI HOMEOSTAZIA AXULUI HIPOTALAMO-HIPOFIZARO-TIROIDIAN

**Leonid Lîsîi, Svetlana Protopop, Svetlana Bobcova, Silvia Stratulat,
Ala Ambros, Larisa Zota**

Catedra Biochimie și Biochimie clinică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The iodothyronine selenodeiodinases and set-point of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis

The goal of this review is to place the existing knowledge regarding the types 1, 2, and 3 (D1, D2, and D3, respectively) iodothyronine deiodinases into a biochemical context. This article reviews new data regarding the mechanism of selenoprotein synthesis, the molecular and cellular biological properties of the individual deiodinases, including tissue distribution, subcellular localization, enzymatic properties, and regulation of synthesis, inactivation, and degradation. Also the molecular mechanisms are elucidated through which the deiodinases regulate the thyrotropin secretion, the homeostasis of circulating and intracellular triiodothyronine.

Rezumat

Lucrarea reprezintă o sinteză a literaturii și are ca scop plasarea cunoștințelor existente cu privire la iodotironindeiodinazele de tipul 1, 2 și 3 (D1, D2 și D3, respectiv) într-un context biochimic. În articol sunt expuse date recente referitor la sinteza selenoproteinelor, proprietățile moleculare și celulare ale deiodinazelor individuale, inclusiv distribuția tisulară, localizarea subcelulară, proprietățile enzimatică, reglarea biosintezei, inactivării și degradării lor. De asemenea, sunt elucidate mecanismele moleculare prin intermediul cărora deiodinazele reglează secreția tirotropinei, homeostazia triiodotironinei circulante și intracelulare.

Actualitatea

Valorile serice ale TSH-lui (thyroid stimulating hormone) și ale hormonilor tiroidieni (HT) acceptate ca norme de referință sunt destul de extinse. Deosebirile interindividuale ale funcției tiroidiene la subiecții sănătoși sunt cauzate de o combinație de factori genetici și ambianți [9]. Astfel de variații sunt probabil determinate în cea mai mare măsură de un șir de factori ai mediului, printre care nivelul captării iodului pare să fie de o importanță majoră [11,14]. La momentul actual nu sunt stabilite concentrațiile optime ale TSH-lui și ale HT, necesare pentru menținerea unei stări fizice și psihice normale, dar în ultimii ani se observă tendința de a îngusta valorile de referință ale TSH-lui.