

**INFLUENȚA POLIZAHARIDELOR SULFATATE DIN SPIRULINĂ ASUPRA  
STRESULUI OXIDATIV LA ȘOBOLANI ÎN NORMĂ ȘI HEPATITĂ TOXICĂ**  
**Valentin Gudumac, Valeriu Rudic, Olga Tagadiuc, Olga Știrba, Lilia Andronache**  
Laborator Biochimie USMF “Nicolae Testemițanu”, Institutul de Microbiologie  
și Biotehnologie AȘ RM

**Abstract**

***Influence of cyanobacterium sulfatated polysaccharides  
on oxidative stress in normal rats and toxic hepatitis***

Sulphatated polysaccharides from *Spirulina platensis* (PSS) administered per os in dose of 125 mg/kg in normal physiological conditions caused prevailing prooxidant changes of the oxidant-antioxidant balance. CCl<sub>4</sub> intoxication led to an excessive increase in the level of hydrophobic lipids peroxidation products and to a decrease of polar lipids peroxidations products, which showed the severity of the liver disease process. PSS in CCl<sub>4</sub> intoxication contributed to the enhancement of the production of the final LPO products – trienic-conjugates and their predecessor – malonic dialdehyde, and to the strengthening of antioxidant system, which was a an adaptive-compensatory response to the oxidative stress.

**Rezumat**

Polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS) la administrarea per os în doză de 125 mg/kg în condiții fiziologice normale provoacă modificări predominant prooxidante asupra echilibrului oxidant-antioxidant. Intoxicația cu CCl<sub>4</sub> conduce la creșterea excesivă a nivelului produșilor peroxidării lipidelor neutre și diminuarea produșilor finali ai peroxidării fosfolipidelor polare, fapt ce indică la gravitatea procesului patologic în ficat. PSS în intoxicația cu CCl<sub>4</sub> contribuie la intensificarea proceselor de formare a produșilor finali – trienelor conjugate și a predecesorului lor – dialhidei malonice, precum și la fortificarea compartimentului antioxidant fapt ce poartă un caracter adaptativ-compensator la acțiunea stresului oxidativ.

**Actualitatea**

Polizaharidele sulfatate extrase din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* (PSS) reprezintă niște complexe polianionice localizate pe suprafața externă a membranelor celulare și în spațiul extracelular. Complexitatea structurală a polizaharidelor are la bază compoziția monozaharidică, variate forme izomerice și tipuri ale legăturilor glicozidice, structura tridimensională a moleculelor. Funcțiile cunoscute principale ale polizaharidelor sulfatate sunt cele de barieră tisulară, adeziune celulară, de protecție contra agenților patogeni, precum și cea de rezervor al factorilor de creștere. Multiple studii au pus în evidență efectele antivirale, antitumorale, antiinflamatoare, antiproliferative, antioxidante etc. ale polizaharidelor sulfatate din microalge [2, 6, 8].

În literatura de specialitate au apărut recent informații despre acțiunea antioxidantă a polizaharidelor din biomasa unor cianobacterii și microalge, cea mai cercetată și valorificată biotehnologic fiind cianobacteria *Spirulina platensis* [6]. Polizaharidele sulfatate din spirulină demonstrează proprietăți antioxidante care se manifestă prin întârzierea inițierii reacțiilor de oxido-reducere cu formarea de radicali liberi. Efectele antiradicalice sunt realizate prin mecanismele de reducere a radicalilor formați și în special, a celor hidroxil, care sunt cei mai maligni din speciile reactive de oxigen [5]. Acest mecanism a fost utilizat în tehnologiile de obținere și păstrare a uleiurilor [8].

Antioxidanților, ca sistem nespecific de prevenire a multor boli, li se acordă un loc deosebit, ei acționând prin menținerea mecanismelor de reglare a echilibrului oxidant-antioxidant, permițând organismului să lupte în variate situații patologice, limitând leziunile și nepermițând extinderea lor.

Sub influența diferitor factori exo- și endogeni funcționarea sistemului de protecție antioxidantă (PAO) poate fi perturbată, ceea ce conduce la dezvoltarea unei reacții

patofiziologice nespecifice – sindromul de peroxidare. Acesta are loc la metabolizarea  $\text{CCl}_4$  în sistemul monooxigenazic microsomal al ficatului cu formarea radicalilor  $\text{CCl}_3$  și  $\text{CCl}_3\text{O}_2$  care interacționează cu moleculele acizilor grași inițiind POL [4, 11].

Tetraclorura de carbon ( $\text{CCl}_4$ ) poate pătrunde în organism în urma poluării atmosferei sau prin intoxicații profesionale reacționând cu aminele sau proteinele, în urma acestui proces rezultând radicali liberi. Oxidarea peroxidică a lipidelor cu radicali liberi dereglează funcționarea sistemelor membranare ale celulei, provocând creșterea permeabilității lor, fiind considerată ca un mecanism universal al leziunilor celulare la nivel membranar [4].

Studierea mecanismelor de acțiune a substanțelor biologice active de origine cianobacteriană sau algală, și anume a polizaharidelor sulfatate (PSS), prezintă un interes deosebit în vederea utilizării lor în medicină în calitate de preparate polivalente, ele având roluri foarte importante în activitatea vitală a organismelor.

**Scopul** studiului a fost de a cerceta influența polizaharidelor sulfatate extrase din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* la administrarea enterală asupra proceselor de oxidare peroxidică și sistemului de protecție antiperoxidică în normă și în hepatita toxică experimentală.

### **Materiale și metode**

Experiențele au fost efectuate pe 32 șobolani adulți fără pedigiu cu masa corporală cuprinsă între 110 și 230 g care au fost divizați egal în următoarele grupe:

1) grupa-martor; 2) șobolani practic sănătoși, cărora li s-a administrat enteral PSS; 3) șobolani cu hepatită toxică experimentală; 4) șobolani cu hepatită toxică experimentală cărora li s-a administrat enteral PSS.

Grupa martor a fost întreținută la un regim obișnuit alimentar de vivariu. PSS a fost administrat peroral zilnic sub formă de băutură în doză majorată de 125 mg/kilocorp dizolvat în 20 ml bulion de vită timp de 35 zile. Hepatita toxică a fost modelată prin administrarea i/m a sol. 50%  $\text{CCl}_4$  dizolvat în ulei de măsline în doza de 1 ml/kilocorp bisăptămânal timp de 35 zile.

La finalul experienței animalele au fost sacrificate sub narcoză ușoară cu eter etilic. Materialul biologic – sângele periferic de la șobolani, a fost prelevat în eprubete curate de unică folosință. Serul sangvin a fost obținut prin centrifugarea sângelui periferic prelevat fără anticoagulant la 3000-4000 tur/min timp de 10 minute. După centrifugare serul sanguin a fost transferat în eprubete curate de unică folosință de tip Ependorf și apoi păstrat la frigider la + 4 °C până la finalizarea explorărilor.

Intensitatea oxidării peroxidice a lipidelor a fost apreciată prin determinarea produșilor inițiali ai oxidării peroxidice a lipidelor – dienele conjugate (DC), intermediari sau secundari - cetodienilor (CD) și terțieri sau trienelor cuplate (TC) de tipul bazelor Schiff, precum și a dialdehidei malonice (DAM) și a oxidului nitric (NO). Produsele de oxidare a lipidelor (POL), în special, cei care conțin grupele carbonilice, pot interacționa cu aminogrupele diferitor substanțe (fosfolpide, aminoacizi, proteine și al.), formând compuși de tipul bazelor Schiff. Ultima grupă de substanțe constituie baza lipofuscinelor (ceroidului), care sunt marcherii nemetabolizați ai proceselor distrofice ale celulelor.

Dozarea produșilor inițiali ai oxidării peroxidice a lipidelor – DC, CD (intermediari) și TC (terțieri) s-a efectuat prin procedeul descris de Львовская Е.И., et al. [13]. Concentrația lor a fost exprimată în unități convenționale la 1 ml ser sanguin. DAM s-a dozat prin reacția clasică cu acid tiobarbituric [9], iar nivelul produsului final al NO-nitritului a fost estimat prin procedeul [14].

Starea sistemului de protecție antiperoxidică (SPA) în serul sangvin a fost apreciată după activitatea antiradicalică (AAR) [251], concentrația carnozinei [7], ceruloplasminei [10].

Evaluarea statistică a indicilor biochimici s-a efectuat cu ajutorul criteriului parametric t-Student cu veridicitatea mai mică de 0,05 ( $p < 0,05$ ). Cercetarea a fost aprobată de Comitetul de etică în cercetarea biomedicală a USMF „Nicolae Testemățanu”.

## Rezultate și discuții

Rezultatele cercetării sunt prezentate în tabele 1-3. Analiza datelor expuse în tabelul 1 demonstrează prezența unor modificări veridice ale produșilor nepolari, hidrofobi, inițiali ai oxidării peroxidice a lipidelor neutre – dienele conjugate (DC), intermediari sau secundari – cetodienelor (CD) și terțiari sau trienelor conjugate (TC) (faza hexanică) și ale dialdehidei malonice practic în toate grupele studiate. Astfel, la administrarea PSS (grupul 2) are loc creșterea statistic veridică față de grupul martor a nivelului DC ( $p < 0,05$ ), CD ( $p < 0,001$ ) și TC ( $p < 0,001$ ). Intoxicația cu  $\text{CCl}_4$  (grupul 3) la fel conduce la creșterea excesivă a conținutului de DC, CD și TC.

Combinarea  $\text{CCl}_4$  cu PSS (grupul 4) practic contribuie la normalizarea compușilor inițiali – DC, dar menține la valori sporite conținutul de CD și TC, care, totuși erau mai puțin pronunțate în comparație cu grupul 2 de studiu cărora li s-a administrat PSS. Nivelul MDA a crescut veridic în toate grupele, mai evident în grupul 4 (cu +87% față de martor).

Tabelul 1

Influența polizaharidelor sulfatate asupra conținutului de produși nepolari, hidrofobi ai peroxidării lipidelor – diene conjugate (DC), cetodiene (CD) și triene cuplate (TC) în faza hexanică și nivelul dialdehidei malonice în serul sangvin la șobolani în normă și la intoxicația cu  $\text{CCl}_4$ .

Grupurile de studiu	DC inițiale, f. hexanică (un./conv.)	CD intermediare f. hexanică (un./conv.)	TC terțiare, f. hexanică (un./conv.)	MDA, (mkmol/l)
1.Martor	0,582±0,03 (100%)	0,219±0,01 (100%)	0,130±0,02 (100%)	10,0±0,57 (100%)
2.PSS	0,821±0,08* (141%)	0,541±0,03*** (247%)	0,327±0,02*** (252%)	15,5±1,30** (155%)
3. $\text{CCl}_4$	0,666±0,02* (114%)	0,356±0,03**** (163%)	0,294±0,01*** (226%)	15,6±1,26** (156%)
4. $\text{CCl}_4$ + PSS	0,637±0,05 (109%)	0,433±0,03***# (198%)	0,297±0,01*** (228%)	18,7±1,57*** (187%)

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

<sup>0</sup> – diferență statistic semnificativă față de lotul- $\text{CCl}_4$ ,  $p < 0,05$ ; <sup>00</sup> -  $p < 0,01$ ; <sup>000</sup> -  $p < 0,001$ .

Tabelul 2

Influența polizaharidelor sulfatate asupra conținutului de produși polari, hidrofilii ai peroxidării fosfolipidelor - diene conjugate (DC), cetodiene (CD) și triene cuplate (TC) în faza în faza izopropanolică și conținutul de NO în serul sangvin la șobolani în normă și la intoxicația cu  $\text{CCl}_4$ .

Grupurile de studiu	DC inițiale, f. izopropanolică (un./conv.)	CD intermediare, f. izopropanolică (un./conv.)	TC terțiari, f. izopropanolică (un./conv.)	NO, ( $\mu\text{mol/l}$ )
1.Martor	0,359±0,04 (100%)	0,241±0,02 (100%)	0,203±0,02 (100%)	148,2±7,86 (100%)
2.PSS	0,635±0,04*** (177%)	0,374±0,03** (155%)	0,229±0,03 (113%)	124,1±11,44 (84%)
3. $\text{CCl}_4$	0,591±0,05** (165%)	0,291±0,02# (120%)	0,146±0,007*# (72%)	137,6±7,35 (93%)
4. $\text{CCl}_4$ + PSS	0,516±0,05* (144%)	0,271±0,04 (112%)	0,155±0,02 (76%)	143,1±7,71 (97%)

NOTĂ: vezi tabelul 1

Paralel, se atestă valori sporite ale produșilor polari, hidrofilii de peroxidare a fosfolipidelor în faza izopropanolică la administrarea PSS față de indicii din grupul martor, respectiv DC – cu +77 % și CD – cu + 55 %, totodată conținutul TC a crescut nesemnificativ.

La administrarea CCl<sub>4</sub> se atestă o majorare mai modestă, dar statistic autentică a DC față de indicii din grupele martor și PSS. Valorile CD au crescut nesemnificativ, iar nivelul TC în faza izopropanolică s-au diminuat veridic cu 28%.

Combinarea CCl<sub>4</sub> cu PSS se soldează cu normalizarea conținutului de DC polare, pe când ceilalți indicii în faza izopropanolică se mențin la valori crescute similare celor din loturile 2 și 3 (tabelul 2).

Activarea proceselor de formare a trienelor cuplate (TC) de tipul bazelor Schiff prezintă unul din mecanismele importante al utilizării lipoperoxizilor care poate fi privit ca un mecanism de adaptare și compensare. Reducerea capacității de formare a TC și a predecesorului lor - DAM corelează cu prognosticul nefavorabil al diferitor procese patologice [15]. Din acest punct de vedere PSS se manifestă pozitiv, deoarece, el posedă proprietatea de a activa formarea TC și a DAM, atât la administrarea animalelor sănătoase, cât și la intoxicația cu CCl<sub>4</sub>.

Concentrația oxidului nitric (NO) este în descreștere în toate grupele studiate, mai ales în grupul 2 de animale, cărora li s-a administrat peroral PSS, însă fără veridicitate statistică. Se știe că generarea de NO este imunomodulatoare. Tendința spre diminuare a concentrației NO poate prezenta o verigă ce conduce la micșorarea toxicității celulare prin stimularea producerii mesenșierilor secundari AMPc, GMPc, precum și a factorului nuclear NF-kB, etc. Un impediment cu privire la aprecierea rolului NO în procesele inflamatorii este acela că acțiunea pro- sau antiinflamatoare este dependentă de cantitatea eliberată la locul leziunii, concentrațiile mici de NO, generate de nitric oxid sintaza constitutivă (cNOS), pot induce un răspuns invers celui produs de cantitățile mari, elaborate de iNOS inductivă.

Rolul decisiv în apărarea celulei de acțiunea nocivă a speciilor reactive ale oxigenului îi revine sistemului antioxidant prin care compușii agresivi sunt transformați în compuși inactivi.

Rezultatele evaluării indicilor sistemului de protecție antioxidantă (SPA): activității antiradicale totale, conținutului seric de carnozină și ceruloplasmină sunt expuse în statistica tabelului 3.

Tabelul 3

Activitatea antiradicălică totală (mmol/l), conținutul de carnozină (μmol/l) și de ceruloplasmină (mg/l) în serul sangvin la șobolani sub influența polizaharidelor sulfatate

Grupurile de studiu	AAR, mmol/l (faza hexanică)	AAR, mmol/l (faza izopropan.)	Carnoziina, (μmol/l)	CP, (mg/l)
1.Martor	50,4±9,87 (100%)	96,5±5,77 (100%)	284,1±16,45 (100%)	120,0±10,04 (100%)
2.PSS	43,5±4,89 (86%)	77,7±4,11* (81%)	261,2±9,90 (92%)	237,4±8,90*** (198%)
3.CCl <sub>4</sub>	59,4±7,41 (118%)	93,9±3,66 <sup>#</sup> (97%)	279,9±12,47 (99%)	214,0±11,90*** (178%)
4.CCl <sub>4</sub> + PSS	65,2±6,25 <sup>#</sup> (129%)	88,7±3,47 (92%)	297,0±12,01 <sup>#</sup> (105%)	256,9±10,80*** <sup>0</sup> (214%)

NOTĂ: vezi tabelul 1

La administrarea PSS (grupul 2) are loc reducerea statistic veridică a valorilor AAR nepolare, hidrofobe (faza hexanică) și o tendință de diminuare a celor polari, hidrofilii (faza izopropanolică) față de grupul martor. Intoxicația cu CCl<sub>4</sub> nu s-a soldat cu modificări veridice ale nivelului AAR. În faza hexanică se atestă o inducere concludentă a AAR (+ 29 %) în lotul PSS + CCl<sub>4</sub> față de lotul de animale supuse acțiunii PSS. Modificări asemănătoare fiind și în faza izopropanolică, unde în grupele 2 și 3 avem corelații statistic veridice. Concentrația carnozinei practic nu se schimbă în loturile cercetare, dar crește veridic (p < 0,05) în lotul 4 ( CCl<sub>4</sub> + PSS

față de lotul 2 cu PSS. Carnozina posedă proprietăți antioxidante pronunțate, este un antioxidant polar, hidrosolubil, iar creșterea concentrației ei la administrarea PSS animalelor cu hepatoză toxică indică la sporirea potențialului SPA.

Se remarcă o majorare a concentrației ceruloplasminei statistic veridică ( $p < 0,001$ ) în toate grupele studiate, respectiv cu 98 % în lotul-PSS, 78 % în lotul- $\text{CCl}_4$  și 114 % în lotul- $\text{CCl}_4$  + PSS.

Sporirea concentrației ceruloplasminei (CP) are un caracter compensator și de protecție a organismului la acțiunea factorului microbial și inflamator, este legată de persistența procesului inflamator. CP leagă activ  $\text{SRO}_2$ , care se eliberează în procesul fagocitozei, manifestă efecte antiradicalice, antioxidante și antihipoxice [12].

Acest indice poate fi folosit nu numai ca criteriu diagnostic pentru aprecierea caracterului și gradului de activitate a procesului patologic, ci și în scop de prognozare a evoluției bolii, complicațiilor, precum și la elaborarea complexelor terapeutice de preîntâmpinare a complicațiilor.

Astfel, atât administrarea RSS, cât și intoxicația cu  $\text{CCl}_4$  declanșează instalarea unui stres oxidativ cronic care conduce la acumularea diverșilor produși ai peroxidării lipidelor. În rezultatul interacționării lipidelor nesaturate cu  $\text{SRO}_2$ , se declanșează un șir de reacții în lanț (peroxidare a lipidelor, POL) cu formare de produși primari, secundari, terțiari (DC, CD, TC, dialdehida malonică etc.).

Rezultatele obținute în acest studiu despre acțiunea prooxidantă a RSS la administrarea perorală a acestuia în doza de 125 mg/kg se află în contradicție cu datele din literatură despre proprietățile antioxidante ale acestui compus. Acest fenomen poate fi explicat prin faptul că polizaharidele sulfatate din spirulină induc stresul oxidativ, interacționând în calitate de liganzi naturali cu receptorii specifici paterni recognitivi (RPR), denumiți și toll-like receptori (TLR), iar aceștea condiționează declanșarea răspunsului imun înnăscut prin activarea mecanismelor de expresie a unui șir de gene responsabile de producerea citokinelor pro inflamatorii sau a citokinelor (efectoare) [1].

Receptorii TLR (pentru organismul uman sunt descriși de la TLR 1 la TLR 10) reprezintă o familie de proteine transmembranare de tip I, filogenetic arhaică și sunt exprasați pe membranele tuturor celulelelor imune (inclusiv din plăcile Peyer ale tractului digestiv), macrofage, neutrofile, celule dendritice, dar și pe unele celule nonimune, astfel ca fibroblaștii sau celulele epiteliale [2].

Este bine cunoscut faptul că activarea receptorilor TLR-4 de către lipopolizaharidele (LPZ) peretelui celular al bacteriilor gramnegative *in vivo* produce intensificarea reacțiilor imunității congenitale, dezvoltarea procesului inflamator cu formarea  $\text{SRO}_2$ .

Acțiunea citotoxică a speciilor reactive ale oxigenului, în condiții normale în organism, permite o distrugere rapidă a microorganismelor patogene și a celulelor proprii defecte, concomitent posedând un potențial distructiv periculos.

Rolul  $\text{SRO}$  și  $\text{NO}$  în inflamație nu este doar de promovare și întreținere a acestui proces, ci și de frînare a lui, prin inactivarea unor mediatori ai inflamației. Deși produșii „exploziei oxidative” menționați propagă, amplifică inflamația, există date care demonstrează că  $\text{SRO}$ , împreună cu  $\text{NO}$ , au rol în temperarea/modularea procesului inflamator. Recent s-a constatat că POL, în special fosfolipidele oxidate, manifestă efecte antiinflamatorii, mecanismul de bază fiind inhibarea expresiei moleculelor de adeziune celulară, produse de LPZ bacteriilor gramnegative [11].

În baza acestor date se poate conchide că PSS pot exercita un important control feed-back negativ, inhibând activarea excesivă a reacțiilor imune și dezvoltarea procesului inflamator datorită proprietăților sale de a induce formarea POL.

## Concluzii

1. La administrarea per os a polizaharidelor sulfatate din spirulină (PSS) în doza de 125 mg/kg se produce un stres oxidativ pronunțat care se manifestă prin intensificarea pregnantă a

proceselor de peroxidare a lipidelor – creșterea notabilă a concentrației produșilor inițiali și intermediari hidrofili ai peroxidării fosfolipidelor și a produșilor intermediari și finali hidrofobi ai peroxidării lipidelor neutre. PSS induce, deasemenea, creșterea nivelului dialdehidei malonice (DAM), predecesorul trienelor conjugate (cu + 55 %).

2. Intoxicația cu CCl<sub>4</sub> contribuie la creșterea excesivă a conținutului produșilor inițiali, intermediari și finali ai peroxidării lipidelor neutre și reducerea veridică a nivelului produșilor finali ai peroxidării fosfolipidelor (trienele conjugate s-au diminuat veridic cu 28 %). Reducerea capacității de formare a trienelor conjugate indică la gravitatea procesului patologic în ficat.

3. Administrarea PSS în intoxicația cu CCl<sub>4</sub> conduce la atenuarea sau reducerea până la valorile normale a nivelului compușilor inițiali, intermediari și finali hidrofobi și hidrofili ai peroxidării lipidelor și creșterea notabilă a concentrației dialdehidei malonice. PSS în intoxicația cu CCl<sub>4</sub> contribuie la fortificarea compartimentului hidrofob antiradical și induce creșterea nivelului de ceruloplasmină, fapt ce poartă un caracter compensator și de protecție a organismului la acțiunea stresului oxidativ.

4. Activarea proceselor de formare a trienelor conjugate de tipul bazelor Schiff și a predecesorului lor – DAM sub influența PSS reprezintă unul din mecanismele importante al utilizării și detoxifierii lipoperoxizilor.

5. Intensificarea formării sub influența PSS a produșilor inițiali și intermediari al peroxidării fosfolipidelor reprezintă un mecanism de control feed-back negativ ce urmează să diminueze reacțiile inflamatorii excesive, atunci când producerea formelor active ale O<sub>2</sub> devin excesive și conduc la lezarea moleculelor proprii ale organismului.

### **Bibliografie**

1. Hirohashi Y, Torigoe T, Maeda A, et al. An HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope of a tumor-associated protein, survivin. In: Clin Cancer Res. 2002, vol. 8, nr. 6, p. 1731-1739.
2. Jiang Q., Asachi S., Miyoke K., et al. Lipopolysaccharide induces physical proximity between CD14 and toll-like receptor 4 (TLR4) prior to nuclear translocation of NF-kappa B. In: G. Immunol. 2000, vol. 165, nr. 7, p. 3541-4.
3. Kaji T., Shimada S., Yamamoto C., et al. Inhibition of the association of proteoglycans with cultured vascular endothelial cell layers by calcium and sodium spirulan. In: Journal of Health Science, 2002, vol.48, p. 250–255.
4. Olinescu Radu. Radicali liberi în fiziopatologia umană. Editura Tehnică, București, 1994, 215 p.
5. Pinero Estrada J. E., Bermejo Bescos P., Villar del Fresno A. M. Antioxidant activity of different fractions selected cyanobacteria. In: Int. J. Hyg. Environ. Health, 2001, v. 203, p. 327-334.
6. Schaeffer D. J, Krylov V. S. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria. In: Ecotoxicol Environ Safe, 2000, vol. 45, no. 3, p. 208–227.
7. Szabo M. R. Determination for Antioxidant Activity Spectrophotometric Assay. In: Chem. Pap. 2007, vol. 61, no. 3, p. 214-216.
8. Yaser F. M. Kishk, Hanan M. A. Al-Sayed. Free-radical scavenging and antioxidative activities of some polysaccharides in emulsions. In: LWT, 2007, v. 40, p. 270-277.
9. Галактинова Л. П., Молчанов А. В., Варшавский Б. Я. Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. В: Клин. лабор. д-ка. 1998, nr. 6, с. 10-14.
10. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. Минск. 1982, 386с.
11. Коротаева А. А., Самоходская Л. М., Бочков В. Н. Ингибирование воспалительных эффектов липополисахарида бактерий продуктами окисления липидов. В: Биомедицинская химия. 2007, том 53, вып. 1, с. 65-71.

12. Ким Л.Б., Калмыкова Е. Ю. Диагностическое и прогностическое значение сывороточного церулоплазмينا. В: Клиническая лабораторная диагностика. 2005, вып. 5, с. 13-19.
13. Львовская Е. И., Волчегорский И. А., Шемяков С. Е. и соавт. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов. В: Вопр. мед. химии. 1991, nr. 4, с. 92-93.
14. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови. В: Клин. лабор. д-ка. 2005, nr. 6, с. 15-18.
15. Новикова И. А., Ярец Ю. И. Показатели перекисного окисления липидов в прогнозе исходов аутодермопластики. В: Клиническая лабораторная диагностика. 2009, вып. 7, с. 14-22.
16. Северин С. Е. Практикум по биохимии. Москва: Изд. МГУ, 1989, с. 191-195.

**INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI  
ASUPRA ACTIVITĂȚII PROTEAZELOR LIZOZOMALE HEPATICE  
ÎN INTOXICAȚIA CU PROPYLENGLICOL**

**Olga Tagadiuc, Valentin Gudumac, Victor Rîvneac, Lilia Andronache**  
Laborator biochimie USMF "N. Testemițanu"

**Summary**

***Influence of the coordinative copper compounds on the activity  
of liver lysosomal proteases in propylene glycol poisoning***

We studied the influence of copper coordinative compounds CMT-28 and CMT-67 and their combination with cyanobacterial remedy BioR on hepatic lysosomal proteases activity in intoxication with propylene glycol (PG). It was established that PG enhance statistically conclusive the activity of cathepsins D, G, L, H, B and leucinaminopeptidase in rat liver. All studied remedies in low doses (1 g/kg) reduced statistically reliable leucineaminopeptidase activity, CMT-28 and CMT-67+BioR influenced cathepsin H activity and CMT-67+BioR - cathepsin L activity. In high doses (10 mg/kg) statistically conclusive was reduced only the activity of cathepsin G by CMT-67, CMT-67+BioR, CMT-28+BioR and cathepsin H activity by CMT-28 + BioR.

**Rezumat**

S-a studiat influența compușilor coordinative ai cuprului CMT-28 și CMT-67, precum și a combinațiilor lor cu remediul cianobacterian BioR asupra activității proteazelor lizozomale hepatice în intoxicația cu propilenglicol (PG). S-a stabilit că PG amplifică statistic concludent activitatea catepsinelor D, G, L, H, B și a leucinaminopeptidazei în ficatul șobolanilor. În doze mici (1 mg/kg) toate preparatele studiate diminuează statistic veridic activitatea leucinaminopeptidazei, CMT-28 și CMT-67 + BioR influențează activitatea catepsinei H, iar CMT-67 + BioR – activitatea catepsinei L. În doze mari (10 mg/kg) este micșorată statistic veridic doar activitatea catepsinei G de către CMT-67, CMT-67 + BioR și CMT-28 + BioR) și a catepsinei H de către CMT-28 + BioR.

**Actualitatea temei**

Patologiile hepatice continue 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 [5, 1, 10, 13].

Datele privind rolul endopeptidazelor lizozomale – catepsinelor, în dezvoltarea proceselor patologice, inclusiv patologia hepatică sunt incomplete și deseori contradictorii, acestor enzime