

N-acetil- β -glucozidazei, β -glucozidazei, arilsulfatazei C și totodată posedă o acțiune stabilizatoare asupra membranelor lizozomale, fapt manifestat prin reducerea catepsinei D.

Concluzii

1. Rezultatele studiului denotă expresia diferită a efectelor pozitive realizate de PSS în caz de inflamație aseptică, fapt demonstrat prin creșterea activității fosfatazei acide, N-acetil- β -glucozidazei, β -glucozidazei, arilsulfatazei C și reducerea catepsinei D.

2. PSS pot fi considerate ca remediu patogenic de corecție a dereglărilor metabolice în splină provocate de inflamația aseptică.

Bibliografie

1. Bhaumik S.R., Malik S. Diverse regulatory mechanisms of eukaryotic transcriptional activation by the proteasome complex. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2008; 43(6): 419-33.
2. Gudumac V., Baciuc El., Marin V. et al. Investigații enzimatice. Elaborare metodică. Chișinău, 2000, 56 p.
3. Ivanova S., Repnik U., Bojic L., Petelin A., Turk V., Turk B. Lysosomes in apoptosis. *Methods Enzymol.* 2008; 442: 183-99.
4. Olinescu Radu. Radicali liberi în fiziopatologia umană. Editura Tehnică, București, 1994, 215 p.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.Н. Антиокислительное действие диметилсульфоксида при остром поражении печени тетрахлорметаном.
9. 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.

INFLUENȚA POLIZAHARIDELOR SULFATATE ASUPRA INDICILOR SANGUINI LA ȘOBOLANI CU HEPATITĂ TOXICĂ

Olga Știrba

Laborator biochimie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Influence of sulphated polysaccharides on the blood parameters of rats with toxic hepatitis

Oral administration of sulphated polysaccharides from *Spirulina* (SPS) at a dose of 125 mg/kg in normal physiological conditions had an immunomodulating effect, mostly immunostimulatory; its main manifestation was the essential increase of the absolute number of lymphocytes in the peripheral blood. In CCl₄ intoxication SPS promoted reliable reduction of the neutrophilic index, basophilic index and increase of the nuclear deviation index, which was an evidence of its involvement in the modulation of the phagocytic and bactericidal properties and in the decrease of the excessive inflammatory response in toxic hepatitis.

Rezumat

Administrarea *per os* a polizaharidelor sulfatate din spirulină (PSS) în doză de 125 mg/kg în condiții fiziologice normale exercită un efect imunomodulator, preponderent imunostimulant evident, fapt demonstrat prin creșterea esențială a numărului absolut al limfocitelor din sângele periferic. În intoxicația cu CCl₄ PSS favorizează reducerea veridică a indicilor neutrofilic, bazofilic și majorarea raportului indicelui devierii nucleare, ceea ce demonstrează participarea lui în modularea activității fagocitare și bactericide, precum și la diminuarea reacțiilor inflamatorii excesive în hepatita toxică (HT).

Actualitatea temei

Polizaharidele sulfatate joacă un rol deosebit de important în activitatea vitală a organismelor. Funcțiile lor cunoscute principale 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 antiviral, antitumoral, antiinflamator, antiproliferativ, antioxidant etc. al polizaharidelor sulfatate, deaceia tot mai răspândite sunt cercetările ce țin de căutarea unor noi surse de polizaharide sulfatate, inclusiv din rândul microalgelor și cianobacteriilor.

În studiile experimentale asupra Na-SP, au fost demonstrate *in vitro* proprietățile lui anticoagulante și fibrinolitice [1].

Un alt studiu a demonstrat efectul antiproliferativ al Na-SP asupra celulelor musculare netede vasculare [4].

Proprietățile anticoagulante în corelare cu ameliorarea activității fibrinolitice și inhibarea proliferării celulelor musculare netede și a endoteliului vascular fac parte din strategia prevenirii aterosclerozei [5].

În experiențele cu inducerea patologiilor tumorale la șoareci, tratamentul anticanceros, suplimentat cu PSS microalgale a redus progresia tumorală în 93% din cazuri, în comparație cu 48%, obținute în tratamentul nesuplimentat [9].

Pentru PSS este caracteristică acțiunea inhibitoare asupra virusurilor, de tipul celor herpetice HSV, citomegalovirusul uman și a virusului HIV, totodată activitatea antivirală a PSS depinde de gradul de sulfatare [7, 8].

PSS din spirulină demonstrează proprietăți antioxidante care se manifestă prin întârzierea inițierii reacțiilor de oxido-reducere cu formarea de radicali liberi. Activitatea antioxidantă a PSS din spirulină a fost utilizată în testarea efectului radioprotector al lor în oncologie pentru restabilirea rapidă a sistemului hematopoetic și pentru diminuarea nivelului radicalilor liberi formați în rezultatul tratamentului radiologic [6].

Polizaharidele sulfatate exercită un potențial efect asupra sistemului imunitar prin construirea și activarea receptorilor macrofagilor și a leucocitelor. PSS din spirulină sporesc semnificativ producerea de către macrofagii peritoneali a interleucinei-1. Este menționată creșterea nivelului de γ -interferon în 50% cazuri, la administrarea Ca-SP în loturile de voluntari, fiind stabilită și producerea sporită de anticorpi de către celulele splinei [3].

Este de menționat că tot mai fregvent ne confruntăm cu dezvoltarea ascendentă a diverselor stări patologice cu tendință spre cronicizare și formare a complicațiilor grave în urma acțiunii factorilor nocivi ai mediului înconjurător. Iar dificultatea alegerii unei metode optime și inofensive de tratament și/sau profilaxie constituie una din multiplele probleme ale medicinei contemporane.

Reeșind din aceste considerente, analiza mecanismelor de acțiune ale PS din spirulină asupra indicilor sangvini în normă și patologie este de mare actualitate și prezintă interes teoretic și practic deosebit.

Scopul studiului

Evaluarea particularităților și semnificației modificărilor parametrilor sangvini sub influența polizaharidelor sulfatate din spirulină în normă și la modelarea inflamației aseptice (hepatită toxică provocată prin administrarea tetraclorurii de carbon).

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.

PSS a fost administrat peroral zilnic sub formă de băutură în doza de 125 mg/kilocorp dizolvat în 20 ml bulion de vită timp de 30 zile. Hepatita toxică a fost modelată prin administrarea i/m a sol. 50% CCl₄ dizolvat în ulei de măsline în doza de 1 ml/kilocorp bisăptămânal timp de 30 zile.

Lotul martor (grupul 1): șobolanii primeau în calitate de băutură bulion de vită fără PSS timp de 30 zile.

Lotul PSS (grupul 2): șobolanii au primit în calitate de băutură PSS – 125 mg/kg dizolvate în 20 ml bulion de vită, timp de 30 zile, zilnic.

Lotul CCl₄ (grupul 3): s-a administrat i/m sol. 50% CCl₄ dizolvat în ulei de măsline în doza 1ml/kg bisăptămânal și suplimentată cu PSS în calitate de băutură, 125 mg/kg dizolvate în 20 ml bulion de vită, timp de 30 zile, zilnic.

Lotul CCl₄+ PSS (grupul 4): s-a injectat i/m sol. 50% CCl₄ dizolvat în ulei de măsline în doza 1ml/kg bisăptămânal și suplimentată cu 20 ml bulion de vită fără PS în calitate de băutură, timp de 30 zile, zilnic.

La sfârșitul experienței animalele au fost sacrificate sub anestezie ușoară cu eter etilic. Materialul biologic – sângele periferic pentru studiul indicilor hematologici a fost prelevat și colectat în eprubete ce conțineau în calitate de anticoagulant soluție de 6% K₄-EDTA cu pH-ul 7,4. Indicii sangvini au fost apreciați în sângele periferic la analizorul hematologic PCE-210, firma ERMA, Japonia. Determinarea formulei leucocitare s-a efectuat în frotiurile sângelui periferic fixate cu colorantul May-Grunwald și colorate după Noht.

Evaluarea statistică a indicilor sangvini s-a efectuat cu ajutorul criteriului parametric t-Student cu veridicitatea mai mică de 0,05 ($p < 0,05$) și criteriul neparametric Mann-Witney cu aceeași veridicitate.

Rezultate și discuții

Cercetările efectuate demonstrează că în condiții fiziologice normale administrarea PSS nu conduce la careva modificări ale indicilor eritrocitari. La animalele cu hepatită toxică experimentală numărul de eritrocite (RBC) nu se modifică, iar conținutul de hemoglobină (HGB) scade cu 7% față de indicii înregistrați în lotul martor. După medicația animalelor cu hepatită toxică experimentală cu PSS, sub influența acestuia, se produce creșterea numărului de eritrocite (cu + 10 %) și normalizarea concentrației de hemoglobină.

Hematocritul (HCT) corespunde părții de volum ocupate de globulele roșii în raport cu volumul total de sânge (L/L), furnizând astfel informația despre concentrația hemoglobinei circulante. La animalele incluse în studiu după modelarea hepatitei toxice experimentale se înregistrează o tendință slabă de reducere a valorilor hematocritului, iar tratarea lor cu PSS se soldează cu normalizarea acestui parametru și cu creșterea veridică a nivelului HCT cu 10 % față de lotul cu HT (tab.1).

Analiza rezultatelor obținute demonstrează, că volumul mediu al eritrocitului (MCV) și conținutul mediu de hemoglobină într-un eritrocit ((MCH) scade autentic față de valorile martorului atât la modelarea HT, cât și după aplicarea tratamentului cu PSS (tab.1).

Indicii sanguini la șobolani cu inflamație aseptică și sub influența polizaharidelor sulfatate

Indicii sangvini	Grupele de animale cercetate			
	Martor	PSS	CCl ₄	CCl ₄ + PSS
RBC, 10 ¹² /L	8,22 ± 0,207 (100 %)	8,30 ± 0,28 (101 %)	8,13 ± 0,13 (99 %)	9,01 ± 0,13* ^{#000} (110 %)
HGB, g/l	145,7 ± 3,70 (100 %)	147,0 ± 4,42 (101 %)	134,8 ± 2,67* [#] (93 %)	148,5 ± 1,64 ⁰⁰ (102 %)
HCT, l/l	0,455 ± 0,016 (100 %)	0,451 ± 0,012 (99 %)	0,422 ± 0,009 (93 %)	0,465 ± 0,006 ⁰⁰ (102 %)
MCV	54,65 ± 0,43 (100 %)	54,46 ± 0,821 (100 %)	51,88 ± 0,31*** [#] (95 %)	51,58 ± 0,59*** [#] (94 %)
MCH	17,65 ± 0,19 (100 %)	17,73 ± 0,23 (100 %)	16,58 ± 0,14*** ^{##} (94 %)	16,49 ± 0,23*** ^{##} (93 %)
MCHC	324,5 ± 3,26 (100 %)	325,6 ± 2,34 (100 %)	319,4 ± 2,04 (98 %)	319,9 ± 2,39 (99 %)
RDW	31,78 ± 1,36 (100 %)	30,50 ± 1,21 (96 %)	31,61 ± 1,25 (99 %)	31,26 ± 0,88 (98 %)
Leucocite, 10 ⁹ /l	4,48 ± 0,31 (100 %)	6,15 ± 0,52* (137 %)	5,24 ± 0,49 (117 %)	6,18 ± 0,32** (138 %)
Limfocite, 10 ⁹ /l	2,87 ± 0,60 (100 %)	4,13 ± 0,47 (144 %)	4,12 ± 0,92 (143 %)	3,65 ± 0,23 (127 %)

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

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

⁰ – diferență statistic semnificativă față de lotul-CCl₄, $p < 0,05$; ⁰⁰ – $p < 0,01$; ⁰⁰⁰ – $p < 0,001$.

Concentrația corpusculară medie a hemoglobinei (MCHC) la modelarea HT și tratamentul cu PSS practic nu influențează asupra acestui indice, MCHC menținându-se la aceleași valori caracteristice pentru lotul martor (tab.1).

Curba Price-Jones, care indică amplituda distribuției eritrocitelor (RDW, fl) la modelarea HT și după medicația cu remediul testat nu se modifică, parametrul în cauză menținându-se la valorile normale înregistrate în lotul martor.

Datele expuse demonstrează, că administrarea PSS în condiții fiziologice normale conduce la creșterea pronunțată, statistic semnificativă, mai mult de 1,3 ori (+ 37 %) a numărului de leucocite (WBC) și de 1,4 ori (+ 44 %) a numărului absolut de limfocite (LYM) față de indicii martorului, fapt ce indică la proprietatea lor de intensificare a leucopoiezei și limfopoiezei.

În cazul grupei cu HT se atestă o creștere statistic neveridică cu 17 % a numărului de leucocite. Totodată medicația HT cu PSS contribuie la creșterea pregnantă a numărului de leucocite care practic nu se deosebesc de valorile lotului cu PSS (tab.2).

Formula leucocitară a sângelui colectat de la șobolani grupelor cercetate este prezentată în tabelul 2. Este evidentă ascensiunea procentajului neutrofilelor segmentate în cazul modelării patologiei (+41 %) față de lotul-martor și lotul-PSS și tendința veridică spre normalizare a acestui indice după administrarea preparatului PSS, dar care nu atinge nivelul martor. Aceste modificări se află în corelare directă cu indicele devierii nucleare.

Influența polizaharidelor sulfatate asupra formulei leucocitare în normă
și la șobolani cu hepatită toxică

Indicii sanguini	Grupele de animale cercetate			
	Martor	PSS	CCl ₄	CCl ₄ + PSS
Neutrofile segmentate, %	38,67 ± 1,43 (100 %)	38,88 ± 0,74 (100 %)	54,5 ± 0,78***###	47,5 ± 0,71***###000
Neutrofile nesegmentate, %	1,0 ± 0,1 (100 %)	1,4 ± 0,4 (140 %)	1,38 ± 0,18 (138 %)	1,29 ± 0,18 (129 %)
Eozinofile, %	1,34 ± 0,21 (100 %)	1,29 ± 0,18 (96 %)	1,5 ± 0,19 (112 %)	1,5 ± 0,34 (112 %)
Bazofile, %	1,6 ± 0,4 (100 %)	1,43 ± 0,30 (89 %)	2,29 ± 0,18# (143 %)	1,17 ± 0,17 ⁰⁰⁰ (73 %)
Limfocite, %	49,67 ± 1,52 (100 %)	49,25 ± 0,94 (99 %)	31,38 ± 0,46***###	40 ± 0,78***###000
Monocite, %	7,83 ± 0,31 (100 %)	8,63 ± 0,50 (110 %)	9,25 ± 0,31** (118 %)	9,38 ± 0,32** (120 %)
Celule tinere, (normocite bazofilice, prome-gacariocite, mielocite, promonocite), %	0	1,2 ± 0,2 (120 %)	1,5 ± 0,5 (150 %)	1,67 ± 0,34 (167 %)

Notă: vezi tabelul 1.

Cercetările efectuate indică la o diminuare esențială (cu 37 %) a procentului relativ de limfocite (LYM, %) la modelarea HT față de valorile martorului, ceea ce indică la instalarea unei stări de imunodeficiență în acest caz. Tratatamentul cu PSS conduce la creșterea veridică a raportului procentual de limfocite, acestea depășind cu 27 % valorile normale ale acestui indice înregistrate în lotul martor. Acest fapt indică la efectul imunomodulator în sens imunostimulator evident al acestui remediu.

La animalele intacte (grupul 2) în formula leucocitară după administrarea PSS se constată o creștere puțin pronunțată a conținutului procentual de monocite și apariția formelor tinere ale granulocitelor – mielocite și metamielocite. Aceste modificări au fost mai pronunțate în lotul de animale CCl₄ + PSS. Cele menționate ne adevăresc capacitatea PSS de a influența mielopoieza și reacțiile imune de apărare.

Conținutul procentual al bazofilelor scade nesemnificativ în PSS (grupul 2). La intoxicația cu CCl₄ acest indice crește veridic (+ 43 %) față de lotul-PSS (grupul 2), iar după tratament cu PSS (grupul 4), procentul bazofilelor scade evident față de CCl₄ (grupul 3). Luând în considerație că granulocitele bazofile reprezintă o sursă importantă de histamină, heparină, factori de activare și agregare a trombocitelor etc.; acestea pot influența asupra reacțiilor imunologice de tip imediat și întârziat, cât și în procesele de reglare a factorilor de coagulare.

Indicele eozinofilic, important în stările alergice și în evoluția inflamației, este slab influențat de PSS. Procentul de eozinofile scade nesemnificativ la administrarea PS, iar în lotul-CCl₄ (grupul 3) și CCl₄ + PSS (grupul 4) se înregistrează o tendință de creștere nepronunțată a acestui indice.

Concluzii

1. În condiții fiziologice normale polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS) în doza de 125 mg/kg exercită un efect imunomodulator, preponderent imunostimulant evident, fapt demonstrat prin creșterea esențială a numărului absolut al limfocitelor din sângele periferic.
2. Intoxicația cu CCl₄ contribuie la creșterea semnificativă a indicilor neutrofilic, bazofilic și majorarea raportului indicelui devierii nucleare, iar utilizarea în acest caz a PSS favorizează reducerea veridică a acestor indici față de lotul-martor, ceea ce demonstrează implicarea lor

în reglarea activității fagocitare și bactericide și diminuarea reacțiilor inflamatorii ce se produc în hepatita toxică experimentală.

Bibliografie

1. Girardin-Andreani C. Spiruline: systeme sanguin, systeme immunitaire et cancer. In: Phytotherapie, 2005, no. 4, p. 158-161
2. Hayakawa Y., Hayashi T., Hayashi K., Ozawa T., Niiya K., Sakuragawa N. Calcium spirulan as an inducer of tissue-type plasminogen activator in human fetal lung fibroblasts. T. In: J. Health Sci., 2003, vol. 49, p. 405-409.
3. Hayashi K, Hayashi T, Kojima I. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: in vitro and ex vivo evaluation of anti-Herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. In: AIDS Research and Human Retroviruses, 1996, v. 12, p. 1463-1471.].
4. Kaji T., Shimada S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Lee J.-B., Hayashi T. 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.
5. Klingler W., Kreja L., Nothdurft W., Selig Ch. Influence of different radioprotective compounds on radiotolerance and cell cycle distribution of human progenitor cells of granulocytopoiesis in vitro. In: British Journal of Hematology, 2002, vol. 119, p. 244–254.
6. Lee J. B., Srisomporn P., Hayashi K., Tanaka T., Sankawa U., Hayashi T. Effects of structural modification of calcium spirulan, a sulfated polysaccharide from *Spirulina platensis*, on antiviral activity. In: Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2001, vol. 49, p. 108–110.
7. Lee J.-B., Hou X., Hayashi K., Hayashi T. Effect of partial desulfation and oversulfation of sodium spirulan on the potency of anti-herpetic activities. In: Carbohydrate Polymers, 2007, vol. 69, p. 651–658
8. Muzio M., Bosisio D., Polentarutti N. et al. Differential Expression and Regulation of Toll-Like Receptors (TLR) in Human Leukocytes: Selective Expression of TLR3 in Dendritic Cells. In: J. Immun. 2000, nr. 164, p. 5998-6004
9. 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.

UTILIZAREA PICOLINATULUI DE ZINC ÎN TRATAMENTUL COMPLEX AL PACIENȚILOR CU PARODONTITE ȘI LA APLICAREA IMPLANTELOR DIN TITAN **Gh. Granciuc**

Catedra de chirurgie OMF pediatrică, pedodontie și ortodontie,
Laborator Biochimie USMF “Nicolae Testemițanu”

Summary

These of zinc picolinate in the treatment of patients with periodontal diseases and in application of titans implants

The utility of the inclusion in the treatment schemes of the patients with periodontal diseases and with dental implants of Zn adduct with γ -picolines was assessed by the following study: quantitative measurements of the paradontal bags depth, determination of the peridontal and hygienic indices; orthopantomography, determination of the bone density by radiovisiography, assessment of the dynamic of protheolitic enzyme tripsine and its inhibitor – a1-antitripsine; the evaluation of the intensity of the inflammatory process by its marker – ceruloplasmine; ALT; AST; bilirubine; glucose level; creatinine and serum urea; the indices of lipid metabolism – total cholesterol; HDL-cholesterol; non-HDL cholesterol and triglycerides in blood serum. The Zn picolinate ameliorated the biochemical parameters of the intermediary