

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
C.Z.U.:577.1.+616.36-092.9

ANDRONACHE LILIA

**INFLUENȚA UNOR COMPUȘI BIOLOGICI ACTIVI
AUTOHTONI ASUPRA CICLULUI GLUTATIONIC ÎN
NORMĂ ȘI PATOLOGIA HEPATICĂ EXPERIMENTALĂ**

315.01 – BIOCHIMIE MEDICALĂ

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2016

Teza a fost elaborată la laboratorul Biochimie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Conducător științific: **TAGADIUC Olga**, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar, USMF „Nicolae Testemițanu” din R. Moldova

Consultant: **GULEA Aurelian**, doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, Academician al A.Ș.M., Universitatea de Stat din Moldova

Referenți oficiali:

1. **VIȘNEVSCHI Anatolii**, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar
2. **REVA Veaceslav**, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar

Componența consiliului științific specializat:

Președinte: **LÎSÎI Leonid**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar,

Secretar științific: **AMBROS Ala**, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Membri:

BACINSCHI Nicolae, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

ȚAPCOV Victor, doctor în științe chimice, conferențiar universitar

PROTOPOP Svetlana, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

STRATULAT Silvia, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 18 ianuarie 2016, ora 14.00 în ședința Consiliului științific specializat D50 315.01-02 din cadrul IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (MD – 2004, mun. Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, bir. 205).

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate în biblioteca IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (MD-2004, mun. Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165) și pe pagina web a C.N.A.A (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la 15 decembrie 2016

Secretar științific al Consiliului științific specializat

Ala AMBROS

Conducător științific, doctor habilitat în științe medicale,
conferențiar universitar

Olga TAGADIUC

Consultant științific, doctor habilitat în științe chimice,
profesor universitar, academician al A.Ș.M.

Aurelian GULEA

Autor

Lilia ANDRONACHE

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea problemei. Studiul aprofundat al glutationului și al enzimelor implicate în metabolismul lui a demarat vertiginos la mijlocul secolului XX, fiind identificate numeroase funcții ale compusului, precum și descifrate căile lui de sinteză, utilizare și regenerare.

S-a stabilit că glutationul este unul din principalii antioxidanți neenzimatici ai organismului uman datorită prezenței grupei funcționale sulfhidril (-SH). Fiind un compus tiolic cu masa moleculară foarte mică (tripeptid – γ -glutamil-cisteinil-glicină), gruparea –SH a compusului este „țintă” primară a radicalilor liberi (RL), spre deosebire de proteine în care gruparea tiolică este relativ protejată de catena polipeptidică.

Glutationul interacționează enzimatic sau neenzimatic cu un număr mare de compuși organici variați și cu derivații lor (RL, epoxizi, peroxizi etc.). În multiple reacții GSH se oxidează, regenerarea lui fiind un proces indispensabil al metabolismului. Reducerea glutationului oxidat (GSSG) se produce nu numai prin intermediul reacției catalizate de glutationreductază, dar și pe cale neenzimatică, prin interacțiunea lui cu acidul ascorbic. Continua regenerare a GSH pe diverse căi poate contribui la mărirea eficienței protectoare a acestui tripeptid în diverse stări patologice [26].

Atât neenzimatic, cât și acționând drept coenzimă a glutation peroxidazei sau glutation-S-transferazei, GSH este implicat în neutralizarea unei game extrem de variate de substanțe nocive, formate endogen sau provenite din mediul ambiant. Există numeroase date în literatura de specialitate, care demonstrează rolul central al GSH în intoxicațiile acute sau cronice cu compuși ce produc RL [1, 14, 18, 28].

Studiile stărilor hepatotoxice au arătat că instalarea leziunilor necrotice, a infiltrării grase hepatice, sunt precedate de scăderea dramatică a concentrației GSH din ficat. Această scădere a GSH este nespecifică, fiind identificată în diferite grade în infecții sau în alte patologii ale ficatului, precum și în insuficiență hepatică [11, 12, 19, 29, 31, 35, 36].

Descrierea situației în domeniu și identificarea problemelor de cercetare. Patologiile hepatice în prezent se impun în atenția specialiștilor ca problemă de rang global, dat fiind creșterea progresivă a morbidității și mortalității prin bolile ficatului. Maladiile hepatice sunt o parproblemă majoră în Republica Moldova, incidența, prevalența, mortalitatea și disabilitatea prin aceste patologii fiind semnificativ mai mari comparativ cu alte țări din Europa sau din alte zone economice dezvoltate.

În pofida reducerii morbidității prin hepatită virală acută de tip B de la 25,46 la 100 mii populație în anul 1997 până la 2,66 în anul 2010, prin hepatita virală acută de tip C – de la 6,14 până la 2,24, prin hepatita virală D (HVD) – de la 1,89 până la 0,28 în 2010, indicii menționați sunt semnificativ mai mari comparativ cu cei specifici țărilor europene (Austria – 0,04 cazuri la 100 mii populație, Franța – 0,2, Portugalia – 0,5, Ungaria – 0,8, Finlanda și Malta – 0,9, Germania – 1,0, Italia și Olanda – 1,4). În structura morbidității hepatitelor virale acute predomină formele grave – hepatita virală B (44,2%) și hepatita virală C (37,2%) [38].

Pe parcursul a 10 ani (2004-2014) eforturile depuse de sistemul Ocrotirii Sănătății nu au determinat micșorarea incidenței prin hepatite cronice și ciroze care a constituit 224,0 cazuri la 100 mii populație în 2014 comparativ cu 221,1 cazuri la 100 mii în 2004, iar prevalența a crescut de 1,5 ori – de la 1542,1 cazuri la 100 mii în 2004 la 2350,7 cazuri la 100 mii în 2014 [16, 17].

Impactul socioeconomic al maladiilor hepatice este extrem de sever. În Republica Moldova în perioada 1997-2010 pierderile economice cauzate de bolile ficatului au constituit 962.541 mii lei [38].

Progresul lent în ameliorarea indicilor de sănătate a populației Moldovei, dar și a altor țări, determinați de maladiile hepatice, se datorează atât cunoașterii insuficiente a mecanismelor, care stau la baza proceselor patogenice, a celor compensatorii și reparative, cât și lipsei unor metode eficiente de diagnostic precoce, în special al formelor asimptomatice.

S-a stabilit, că GSH și enzimele metabolismului glutationic sunt reglatori universali ai creșterii și proliferării în diverse sisteme celulare [3, 20, 26] și sunt implicate în resorbția țesutului fibros [33, 2], însă, rolul și gradul de angajare a acestora în patogenia maladiilor cronice hepatice și a cirozei hepatice, precum și în procesele de restabilire a parenchimului hepatic pe parcursul perioadei de regresie a cirozei nu au fost elucidate.

Identificarea mecanismelor de restabilire a funcțiilor lezate ale diferitor organe în procesul de compensare și reparare se încadrează în soluționarea unei probleme medico-biologice fundamentale – studierea mecanismelor de menținere a stabilității mediului intern al organismului. Astfel, cercetările în acest domeniu sunt actuale și au o mare importanță științifică și practică.

Deosebit de avantajoase par a fi încercările de a stimula activitatea antifibrotică și reparativă a țesutului hepatic cirozat prin metode terapeutice. În ultimii ani un interes sporit trezește utilizarea în acest scop a diferitor compuși ai metalelor de tranziție, și, în particular, a compușilor coordinativi, care, după părerea unor savanți, ar putea exercita o influență semnificativă asupra proceselor metabolice [13, 30, 41, 42].

La Universitatea de Stat din R. Moldova, la Catedra Chimie Anorganică sub conducerea doctorului habilitat în științe chimice, profesorului universitar, academicianului Aurelian Gulea, au fost sintetizați un șir de compuși coordinativi noi (baze Schiff, combinațiile lor cu metale 3d). Studiile efectuate la Universitatea Laval, Canada, au pus în evidență efectele citostatice și citotoxice pronunțate asupra celulelor canceroase (cancer mamar, carcinom hepatic, cancerul de prostată) ale acestor compuși, în special al preparatelor CMT-28 și CMT-67. Acest efect se manifestă la doze extrem de mici: 10^{-6} – 10^{-7} M. Cercetările anterioare realizate în laboratorul Biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu” a stabilit acțiunea osteotropă a compușilor coordinativi ai cuprului în condiții fiziologice, osteoporoza primară și osteopatia toxică experimentală [43].

Actualmente nu există publicații științifice privind studiul acțiunii compușilor coordinativi noi autohtoni asupra glutationului și enzimelor ciclului glutationic din organism în maladiile hepatice. Sub acest aspect studiul acțiunii compușilor coordinativi menționați asupra metabolismului glutationului în normă și hepatopatii sunt de o actualitate și valoare teoretică și practică incontestabilă.

Scopul studiului a fost evaluarea modificărilor ciclului glutationic și ale unor indici ai metabolismului tiol-disulfidic în patologia hepatică experimentală determinată de acțiunea unor compuși biologici activi (CBA) autohtoni în vederea argumentării eficienței utilizării lor în terapia maladiilor hepatice.

Obiectivele cercetării:

1. Studiul modificărilor ciclului glutationic și ale unor indici ai metabolismului tiol-disulfidic în ficat la acțiunea CBA autohtoni noi (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3d și remedii de origine cianobacteriană) în condiții fiziologice.
2. Cercetarea dereglărilor metabolismului glutationic și tiol-disulfidic în patologia hepatică experimentală – ciroza hepatică indusă de tetraclorura de carbon și hepatopatia toxică indusă de etilenglicol.
3. Elucidarea acțiunii unor CBA autohtoni noi (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3d și remedii de origine cianobacteriană) asupra ciclului glutationic și indicilor metabolismului tiol-disulfidic în patologia hepatică experimentală.
4. Identificarea celor mai sensibili indici biochimici ai dereglărilor metabolismului glutationului și tiol-disulfidic în patologia hepatică experimentală, potențiali markeri ai leziunilor hepatice și ai reversibilității lor în cadrul tratamentului cu CBA autohtoni.

Metodologia cercetării științifice. Lucrarea prezintă un studiu biochimic experimental pe animale de laborator (*Rata albicans*) al metabolismului glutationului și tiol-disulfidic în două modele ale patologiei hepatice, care a fost realizat în cadrul proiectelor din Programul de Stat 09.835.09.04A „Studierea mecanismelor de regresie a cirozei hepatice experimentale și elaborarea procedeelelor de stimulare a regenerării postcirotice a ficatului sub acțiunea unor compuși coordinațivi ai metalelor de tranziție”, 11834.09.01A „Studierea mecanismelor biochimice și morfologice de regresie a cirozei hepatice și elaborarea procedeelelor de stimulare a regenerării postcirotice cu remedii autohtone” și Proiectului Instituțional 11.817.09.07F „Identificarea mecanismelor biochimice ale acțiunii compușilor biologic activi autohtoni și argumentarea folosirii lor în profilaxia și tratamentul unor boli hepatice, renale, osteopatii și imunodeficite”.

Noutatea și originalitatea științifică a rezultatelor obținute. În baza unui studiu complex multidimensional, au fost elucidate caracterul și importanța modificărilor biochimice în țesutul hepatic în hepatopatiile experimentale și la medicația acestora cu compuși biologici activi autohtoni (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3d) și remediilor de origine cianobacteriană (polizaharide sulfatate din spirulină – PSS și BioR).

S-a stabilit că, compușii biologic activi autohtoni asigură un efect biologic înalt, ce se manifestă prin restabilirea sau augmentarea conținutului de glutation redus și, totodată, influențează pozitiv asupra principalilor indici biochimici ai ciclului glutationic și metabolismului tiol-disulfidic la animalele cu hepatopatii experimentale. CBA luați în studiu contribuie la inducția glutationperoxidazei, fapt ce mărește rezistența celulelor față de agresiunea substanțelor toxice.

A fost constatat efectul de suprimare a funcționalității tioredoxin reductazei exercitat de polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS), ce diminuează potențialul proliferativ al celulelor hepatice stelate participante la procesele de fibrogeneză.

Pe această bază urmează să fie determinate căile investigațiilor ulterioare pentru creșterea eficienței compușilor studiați în calitate de remedii modulatorie/adaptive necesare pentru tratarea și prevenția bolilor hepatice.

Datele obținute pot fi utile și în procesul de elaborare și verificare a altor remedii medicamentoase, care ar putea să se implice redresant în tratamentul proceselor fibrotice în ficat.

Problema științifică soluționată în teză constă în elucidarea potențialului profilactic al compușilor biologic activi autohtoni sintetici – baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3d, și naturali – BioR și PSS, obținuți din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*, precum și a celui therapeutic în maladiile hepatice (ciroza hepatică și hepatopatia toxică), modelate pe animale de laborator.

Semnificația teoretică. Datele obținute prezintă importanță majoră atât în cercetarea fundamentală, cât și în cercetarea aplicativă prin evaluarea unor compuși biologic activi autohtoni noi cu eficiență metabolică semnificativă. Cunoștințele noi fundamentale obținute în cadrul realizării proiectului vor permite de a deschide noi direcții de cercetare în domeniul biochimiei medicale și hepatologiei.

Datele furnizate de studiul realizat vor putea constitui un suport pentru viitoarele explorări asupra funcției enzimelor glutacionice în asigurarea homeostaziei biochimice.

Valoarea aplicativă a lucrării. Au fost dezvoltate și implementate metode eficiente de diagnostic al dereglărilor metabolismului tiol-disulfidic și de monitorizare a tratamentului aplicat în patologia hepatică. Au fost optimizate un șir de micrometode de cercetare a metabolismului tiol-disulfidic, ce permite de a reduce cheltuielile la efectuarea lor, de a mări specificitatea, precizia și reproductibilitatea analizelor și, totodată, de a prelucra concomitent un număr mare de probe biologice și de a obține rezultate mai exacte.

Rezultatele obținute pot fi implementate în activitatea laboratoarelor de diagnostic clinic din republică, procesul didactic al catedrelor de profil și folosite la elaborarea dosarului preclinic privind eficiența remediilor cu activitate antifibrotică și de inducere a regenerării postcirotoice a ficatului. Domeniul de utilizare – biochimia medicală, medicina de laborator, hepatologie, farmacie și farmacologie, tehnologia medicamentelor.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere

1. În condiții fiziologice combinațiile bazelor Schiff noi cu metale 3d – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23, determină schimbări ale conținutului de glutation total, redus și oxidat, pe când CMT-28 și CMT-67 modulează preferențial activitatea enzimelor sistemului glutacionic.
2. Remediul cianobacterian PSS induce stresul oxidativ și diminuează capacitatea de protecție antioxidantă a ficatului la animalele sănătoase, inclusiv inhibă activitatea enzimelor metabolismului glutationului – GR, GPO, G-S-T și TrxR,
3. Giroza hepatică experimentală indusă prin administrarea de durată a tetraclorurii de carbon se caracterizează prin diminuarea capacității de protecție antioxidantă, manifestată prin scăderea nivelului de glutation total, oxidant și a activității antioxidante totale în faza hexanică și izopropanolică, și majorarea notabilă a intensității stresului oxidativ (hidroperoxidizilor lipidici, a produșilor proteici de oxidare avansată și proteinei ischemic modificate).
4. Tratamentul cu CMT-28 și CMT-67 în ciroza hepatică experimentală normalizează sau amplifică activitatea glutation reductazei și glutation-S-transferazei, pe când activitatea glutation peroxidazei a fost influențată doar de CMT-28.
5. Modificări semnificative ale indicilor studiați nu sunt marcate în hepatopatia toxică produsă de intoxicarea cu etilenglicol, fiind înregistrată doar creșterea semnificativă statistic a nivelului HS-grupelor proteice și AGE, și neconcludentă a S-nitrozotiolilor, dipeptidelor histidinice și a activității catalazei.

6. Combinațiile noi ale bazelor Schiff cu metale 3d – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23, semnificativ au micșorat activitatea glutatonei și glutatonei-S-transferazei și au majorat-o pe cea a GPO; acțiunea lor asupra altor indici fiind de orientare și amplitudine diferită pentru fiecare compus în hepatopatia produsă de etilenglicol.

7. În ciroza hepatică indusă de CCl₄ PSS diminuează nivelul glutatonei totale, redus și oxidat, precum și activitatea GR, iar BioR – sporește nivelul funcțional al GR și GPO. În hepatopatia toxică condiționată de etilenglicol BioR amplifică procesele oxidative, confirmat prin creșterea AGE, PPOA și S-nitrozotiolilor, și diminuează activitatea enzimelor studiate (GR, GPO, G-S-T, SOD și catalazei) și nivelul dipeptidelor histidinice.

Implementarea rezultatelor. Rezultatele obținute au fost implementate la Centrul Republican de Control Extern al Calității; Laboratoarele de Cardiologie intervențională și de Diagnostic Clinic ale IMSP Institutul de Cardiologie; Catedrele de Diagnostic de laborator clinic și Biochimie și biochimie clinică ale IP USMF „Nicolae Testemițanu”.

Aprobarea rezultatelor științifice. Rezultatele studiului au fost discutate și aprobate la diferite foruri de nivel național și internațional:

- Congresul al IX-lea Național cu participare internațională al „Geneticienilor și amelioratorilor”. Chișinău, 2010;
- Conferința științifică internațională „Biotehnologia microbiologică – domeniu științific contemporan” Chișinău, 2011;
- Conferințele Științifice Anuale ale colaboratorilor și studenților USMF „Nicolae Testemițanu” Chișinău, 2013, 2014, 2015;
- Conferința științifică internațională ”Scientific international conference on microbial biotechnology”. Chișinău, 2014;
- The XVIII-th International Conference „Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry” Chișinău, 2015.

Teza cu tema „Influența unor compuși biologici activi autohtoni asupra ciclului glutatonic în normă și în patologia hepatică experimentală” a fost discutată și aprobată la ședința comună a Laboratorului de Biochimie și Catedrei de biochimie și biochimie clinică a IP USMF „Nicolae Testemițanu”, din 12.11.2015 (proces verbal nr. 12), ședința Seminarului științific de profil 315. Biochimie și biologie moleculară (specialitatea 315.01. Biochimie medicală), din 11.03.2016 (proces verbal nr. 2).

Publicații la tema tezei. La subiectul tezei au fost publicate 14 lucrări, inclusiv 6 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil – categoria B și C, 1 teză la forurile științifice internaționale, 3 teze la forurile științifice naționale cu participare internațională, 4 lucrări metodico-didactice, 3 publicații în calitate de singur autor.

Volumul și structura tezei. Teza este expusă pe 116 pagini de text dactilografic, constă din introducere, 3 capitole, concluzii generale, recomandări practice, rezumat în limbile română, rusă, engleză, include 27 figuri și 16 tabele, indicele bibliografic citează 239 de surse literare.

Cuvinte-cheie: compuși biologici activi, glutatone, enzime glutatonice, metabolism tiol-disulfidic, ciroză hepatică, hepatopatie toxică experimentală.

METABOLISMUL GLUTATIONIC ȘI TIOL-DISULFIDIC

Capitolul *Metabolismul glutationic și tiol-disulfidic*, însumează sinteza celor mai relevante publicații științifice de ultimă oră (nr. 239).

1.1. Metabolismul glutationului și rolul lui în sistemul antioxidant în normă și patologie. Glutacionul și enzimele ciclului glutationic dețin în organism funcții diverse și foarte importante, inclusiv protejarea față de speciile reactive ale oxigenului (SRO) și ale azotului; formarea, reducerea și izomerizarea legăturilor disulfidice, ce sunt cardinale în stabilizarea structurii tridimensionale a proteinelor și realizarea funcțiilor lor; menținerea integrității structurale și a funcționalității membranelor biologice prin întreruperea lanțurilor de oxidare peroxidică a acizilor grași polienici din fosfolipidele membranare; participarea la metabolismul eicosanoizilor, în special a leucotrienelor și unor forme de prostaglandine; rezervă labilă și accesibilă de cisteină; participarea la metabolismul toxinelor și xenobioticelor cum ar fi aldehida formică, metilglioxilatul, unele metale grele (arsenic, cadmiu, crom etc.) etc. și sporirea rezistenței celulelor față de agenții toxici; influență asupra sintezei acizilor nucleici și a proteinelor, precum și intervenția în proliferarea și diferențierea țesuturilor [32].

Numeroase lucrări științifice demonstrează rolul central al GSH în intoxicațiile acute sau cronice cu compuși ce produc RL (tetraclorură de carbon, bromobenzen, acetaminofen). Datele privind modificările sistemului GSH în hepatitele virale și afecțiunile căilor biliare sunt importante în descifrarea patogenezei acestor maladii și diagnosticul lor diferențial. Studiile de hepatotoxicitate au arătat că instalarea leziunilor necrotice, a steatozei hepatice sunt precedate de scăderea dramatică a concentrației GSH în ficat [34, 40, 49].

1.2. Mecanismele moleculare ale fibrogenezei hepatice. Fibroza – depozitarea în exces a țesutului conjunctiv fibros, care substituie elementele parenchimale necrotizate, este consecința majorității afecțiunilor hepatice survenite în urma unor agresiuni cronice provocate de diverși agenți (virali, toxici, imunologici, metabolici).

Se consideră drept cauză esențială a acumulării excesive a țesutului conjunctiv în ficat dereglarea echilibrului între sinteza și degradarea componentelor matricei extracelulare hepatice și, în special, a colagenului, survenită în urma afectării parenchimului, deficiențelor circulației sangvine (inclusiv în urma hipoxiei), sub influența produselor metabolismului dereglat. În cele din urmă, este afectată autoreglarea țesutului conjunctiv și sinteza compușilor matricei extracelulare începe să prevaleze asupra catabolismului său, fapt ce asigură progresarea ulterioară a fibrozei [15].

Studiile recente au evidențiat rolul decisiv al celulelor Ito în progresarea fibrogenezei în ficat, bazat pe capacitatea lor de a suporta o activare și de a prolifera în caz de afectare hepatică de diferită genă (toxică, colestatică, steatoză etc.). În ficatul fibrotic ele suferă o transformare în celule asemănătoare cu miofibroblastele, care sunt responsabile de sinteza sporită și acumularea de colagen (în special de tip I, III și IV), elastină, proteoglicani, fibronectină, laminină, precum și de procesul de capilarizare a sinusoidelor [21].

Este cert rolul SRO în activarea celulelor hepatice stelate (CHS) și progresia fibrozei hepatice, care prin intermediul unor căi de transducție a semnalelor (JNK și NFκB), induc expresia genelor asociate fibrozei (COL1A1, COL1A2, MCP1, TIMP1, etc.) producând sinteza excesivă MEC. SRO induc și eliberarea de către macrofagele rezidente a mai multor

citokine pro-inflamatoare (TNF α , IL-1 β , IL-6) și factori profibrotici (TGF β), precum și intervin în procesul de activare a GHS prin intermediul receptorilor Toll (TLR4). CHS activate devin receptive atât la citokinele proliferative (factorul de creștere derivat din trombocite), cât și la cele fibrogenice (factorul de creștere transformator-beta) [21].

Studiile experimentale pe animale au identificat ca țintă majoră a terapiei antifibrotice CHS. S-au relevat mai multe mecanisme posibile a efectelor de regresie a fibrozei: inducerea apoptozei CHS (gliotoxina) și revenirea miofibroblastelor la forma anterioară, de CHS neactive, latente. Raportul dintre numărul fibroblastelor ce se inactivează și celor ce vor urma calea apoptotică este incert și nu se cunosc completamente factorii ce influențează soarta celulelor [46].

1.3. Aplicarea medicală a compușilor biologic activi autohtoni. CBA au numeroase aplicații în diferite domenii cum ar fi chimia coordinativă, chimia analitică, industria pigmentilor, vopselelor și a polimerilor, agricultura etc. Totodată, CBA și complexe lor au constituit obiectul studiilor biomedicale, care au evidențiat potențialul lor în calitate de preparate medicamentoase. Atât bazele Schiff, cât și complexe lor sunt cunoscute pentru activitatea antimicrobiană, antifungică și antivirală [25].

Cercetările moderne au atestat posibilitatea utilizării CBA în calitate de agenți terapeutici în mai multe maladii neinfecțioase. Astfel, s-a stabilit a) acțiunea benefică a compușilor de tip baza Schiff în diabetul zaharat, b) îmbunătățirea funcției cardiovasculare cu limitarea zonei de necroză cardiacă și micșorarea leziunii de reperfuzie, c) capacitatea neuroprotectoare, spre exemplu în leziunile coloanei cervicale (traumă spinală), d) acțiunea anticonvulsivă; e) activitatea anticancerigenă selectivă; f) potențial antiradicalic și antioxidant; g) acțiune antiinflamatoare etc. [47, 27, 48].

Astfel, putem conchide că homeostazia glutationică și tiol-disulfidică și rolul glutationului și enzimelor metabolismului lui în maladiile hepatice toxice până în prezent sunt elucidate incomplet. O înțelegere cât mai precisă a influenței glutationului și a enzimelor metabolismului tiol-disulfidic asupra proceselor regenerative în ficat e necesară pentru a elabora metode de dirijare activă. În acest context, deosebit de avantajoase par a fi încercările de a stimula activitatea reparativă a țesutului hepatic afectat prin metode farmacologice, în special, prin utilizarea unor compuși biologic activi autohtoni.

2. MATERIAL ȘI METODELE DE STUDIU

Cercetările au fost aprobate de Comitetul de etică a cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz pozitiv din 20 iunie 2011). La efectuarea cercetărilor experimentale s-a ținut cont de cele 3 principii fundamentale cunoscute drept „conceptul celor trei R”, adoptat de Congresul Internațional de Standardizare Biologică de la San Antonio (Texas) în anul 1979.

Experiențele s-au montat pe șobolani albi masculi cu masa de 160 – 250 g. Toate animalele, atât cele din loturile experimentale, cât și cele de referință au fost întreținute în condiții similare și la rații standarde de vivarium.

Animalelor experimentale le-au fost induse ciroza hepatică (CH) prin administrarea tetraclorurii de carbon și hepatopatia toxică experimentală (HT) prin administrarea etilenglicolului. Medicația patologiei experimentale hepatice a fost efectuată cu CBA autohtoni (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3d) și unor remedii de origine cianobacteriană.

Compuși complecși CMD-4, CMD-8, CMJ-23, CMT-28 și CMT-67 au fost oferți de prof. univ., dr. hab. șt. ch., șef Catedră Chimie Anorganică a USM, academicianul Aurelian Gulea. Remediile BioR și polizaharide sulfatate din spirulină (PSS), obținute din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*, au fost oferite de prof. univ., dr. hab. șt. biol., director al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, academicianul Valeriu Rudic.

În omogenatul hepatic s-au determinat indicii:

1. metabolismului glutationic și tiol-disulfidic: conținutul de glutation total, redus și oxidat, activitatea glutation reductazei (GR), glutation peroxidazei (GPO) glutation-S-transferazei (G-S-T), tioredoxin reductazei (TrxR), conținutul de -SH grupe proteice și glutaredoxină (Grx),

2. stresului oxidativ: nivelul de dialdehidă malonică (DAM), produși proteici de oxidare avansată (PPOA), proteină ischemic modificată (PIM), oxid nitric (NO);

3. sistemului antioxidant: activitatea antioxidantă totală (AAT); activitatea superoxid dismutazei (SOD) și catalazei (CAT) și conținutul de dipeptide histidinice.

Toate procedeele de determinare a activității enzimelor și a conținutului de substanțe au fost executate după tehnici în modificarea descrisă de Gudumac V. și coaut. [22, 23], fiind adaptate pentru aplicarea la spectrofotometrul Power Wave HT (BioTek Instruments, SUA) și la spectro-fluorimetrul cu microplăci Synergy H1 Hybrid Reader (BioTek Instruments, SUA).

Evaluarea statistică a datelor obținute a fost efectuată cu ajutorul programei computerizate StatsDirect. A fost calculată media aritmetică ± eroarea mediei ($X \pm m$). Pentru testarea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate s-a utilizat testul statistic nonparametric „U Mann-Whitney” și pragul de semnificație „p” ($p < 0,05$).

3. INFLUENȚA UNOR COMPUȘI BIOLOGIC ACTIVI AUTOHTONI ASUPRA METABOLISMULUI GLUTATIONIC ȘI TIOL-DISULFIDIC ÎN FICAT ÎN CONDIȚII FIZIOLOGICE ȘI PATOLOGIA HEPATICĂ EXPERIMENTALĂ

3.1. Modificările histologice în ficat la modelarea cirozei hepatice și a hepatopatiei toxice. În modelul experimental 1 – *ciroza hepatică, indusă prin administrarea CCl₄*, examenul macroscopic al ficatului a relevat schimbarea culorii și aspectului suprafeței organului, care se caracteriza prin culoare gălbuie și suprafață micronodulară, specifică etapei de dezvoltare maximă a cirozei.

La examinarea histologică a probelor de țesut hepatic, s-au observat septuri de țesut conjunctiv, constituite din fascicule mature de collagen, care formau noduli. S-au evidențiat straturi fibroase fine în spațiile perisinusoidale ale pseudolobulilor. Țesutul conjunctiv forma preponderent septuri perilobulare, mai rar fiind depistate în direcția porto-centrală. În hepatocitele pseudolobulilor s-au observat diverse modificări – de la distrofie granulară până la distrofie hidropică (vacuolară) și necroză de colicvație (umedă). Necroza hepatocitelor varia de la necroză focală, monocelulară, până la necroză zonală, uneori subtotală a unor lobuli. Hepatocitele din zonele periferice ale lobulilor prezentau variații în limite largi atât ca dimensiuni, cât și ca densitate a citoplasmei. S-au vizualizat nuclee mărite, hipercrome, celule binucleate, precum și celule în stare de mitoză.

Observațiile examenului histologic au fost confirmate și precizate de rezultatele determinării indicilor biochimici. S-a stabilit creșterea conținutului de colagen (+30%, $p < 0,05$) și hidroxiprolină (+130%, $p < 0,001$) în țesutul hepatic, micșorarea activității ALAT (-41%, $p < 0,05$), ASAT (-25%, $p < 0,05$), PCE (-43%, $p < 0,05$) și a nivelul proteinei totale (-18%, $p < 0,01$) și a albuminelor (-13%, $p < 0,001$) în serul sangvin.

În modelul experimental 2 – *hepatopatia toxică, indusă prin administrarea etilenglicolului*, studiul microscopic demonstrează, că în o parte de cazuri ficatul păstrează aspectul general al structurii lobulare. În cadrul lobulelor cordoanele de hepatocite au orientarea predominant radiașă și sunt separate de sinusoida moderat dilatate. La fel sunt dilatate și venele centrale. În alte cazuri au fost depistate acumulări de pigment brun – lipofuscină în citoplasma multor hepatocite dispuse mozaic în lobulii hepatici, dar predominant în zonele periportale. De asemenea au fost identificate animale cu trabeculii de hepatocite dezorganizați, majoritatea hepatocitelor tumefiate, cu tablouri perinucleare și citoplasmă granulată – stare de distrofie proteică și vacuolară pronunțată. Celulele balonizate au nucleu mic și hiperchrom, fără nucleoli. O parte din celulele hepatice sunt dezintegrate. Printre celulele cu distrofie proteică și vacuolară, solitar sau în cordoane ramificate, o parte din hepatocite de dimensiuni mici și forme neregulate au nucleole picnotice, hiperchrome, ovale sau alungite și citoplasma omogenă și intens oxifilă.

Analiza microscopică a pieselor histologice în colorare cu picro-fuxină demonstrează că procesele de fibroză a organului nu se declanșează la aceste etape ale experimentului: țesut conjunctiv (fibre și fascicule de fibre de colagen) se depistează doar pe spațiile portale și au aspect obișnuit pentru aceste animale de laborator.

Studiul biochimic al conținutului de colagen și hidroxiprolină în homogenatul hepatic al animalelor din seria 2 nu a relevat modificări veridice statistic al indicilor fibrozei (colagen și hidroxiprolină), confirmând rezultatele evaluării morfologice a organului. Rezultatele aprecierii activității enzimice a relevat o tendință de creștere nesemnificativă statistic a activității aminotransferazelor și micșorarea activității pseudocolinesterazei cu 80% ($p < 0,05$), precum și diminuarea nivelului proteinelor totale plasmatică cu 15% ($p < 0,001$) și a albuminelor sangvine cu 70% ($p < 0,001$), ce este o dovadă a deteriorării grave a capacității proteosintetice a hepatocitului.

3.2. Influența CBA autohtoni asupra nivelului de glutatation și activității enzimelor glutatationice în ficat în condiții fiziologice

Administrarea animalelor sănătoase a bazelor Schiff noi, combinații cu metale 3d, exercită acțiune diferită asupra indicilor metabolismului glutatationic – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23 modulează nivelul glutatationului și formelor redusă și oxidată a compusului, dar nu influențează activitatea enzimelor glutatationice, pe când CMT-28 și CMT-67 influențează preponderent activitatea enzimatică (figura 3.1).

Toți compușii incluși în studiu au indus micșorarea nivelului de glutatation total și redus. Conținutul de glutatation total și GSH a fost diminuat de CMD-4 cu cca 20% ($p < 0,01$ și $p < 0,001$ respectiv), de CMD-8 cu cca 30% ($p < 0,001$, și, respectiv, $p < 0,01$) și de CMJ-23 cu cca 25% ($p < 0,001$, și, respectiv, $p < 0,01$). Totodată, nivelul GSSG nu a fost influențat concludent statistic de CBA cercetați, cu excepția CMJ-23, care a indus micșorarea cu 48% ($p < 0,05$) a glutatationului oxidat în ficatul animalelor intacte (tabelul 3.1).

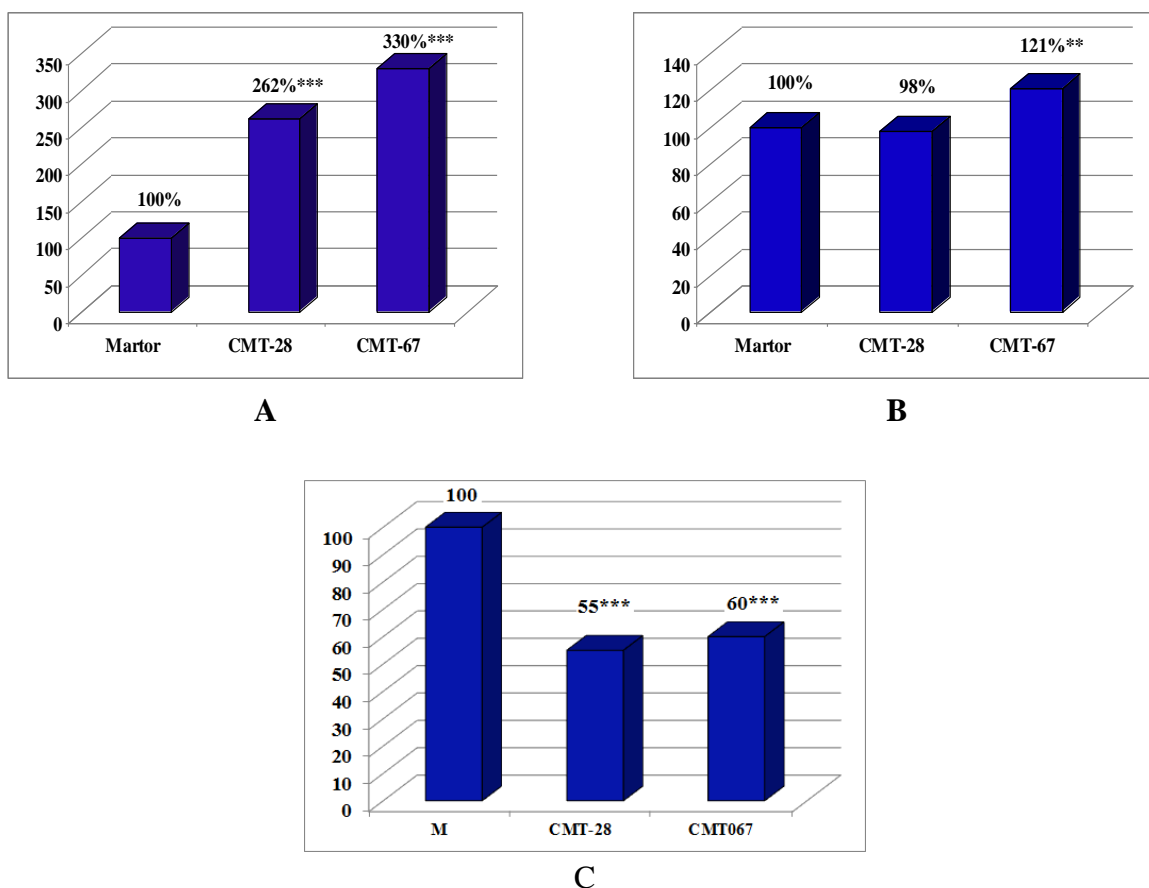


Fig. 3.1. Activitatea glutation reductazei (A), glutation peroxidazei (B) și glutation-S-transferazei (C) în ficatul animalelor intacte la administrarea CMT-28 și CMT-67 (%)

Notă: Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Din CBA studiate modificări semnificative statistice ale activității GR, G-S-T și glutaredoxinei nu a indus nici un compus. Totuși, toți CBA luați în studiu determină o tendință de diminuare a activității GR cu cca 8-18% ($p > 0,05$), a G-S-T cu cca 4-12% ($p > 0,05$) și a glutaredoxinei cu cca 5-32% ($p > 0,05$). Activitatea glutation peroxidazei nu este influențată de nici unul din CBA studiate, activitatea enzimei fiind în limitele de 100-106% ale valorilor de referință.

Tabelul 3.1. Influența PSS asupra indicilor metabolismului tiol-disulfidic în ficat în normă

Indicii studiați	Loturile de studiu	
	Martor	PSS
Glutation total, $\mu\text{mol/g}$ tesut	$12,1 \pm 0,06$	$10,8 \pm 0,14$ (89%)***
GSH, $\mu\text{mol/g}$ tesut	$11,3 \pm 0,03$	$9,8 \pm 0,09$ (87%)***
GSSG, $\mu\text{mol/g}$ tesut	$0,9 \pm 0,07$	$1,4 \pm 0,52$ (164%)
GSH/GSSG	$12,6 \pm 1,1$	$7,4 \pm 0,5$ (59%)**
GR, $\mu\text{mol/s.g}$ prot.	$2,05 \pm 0,03$	$1,65 \pm 0,02$ (80%)***
G-S-T, nmol/s.g prot.	$142,5 \pm 14,05$	$127,7 \pm 12,19$ (89%)
TrxR, nmol/s.g prot.	$84,36 \pm 2,92$	$53,67 \pm 6,67$ (64%) *
Glutaredoxina, nmol/s.g prot.	$31,3 \pm 0,46$	$22,4 \pm 0,86$ (72%) *
HS-grupe proteice, mol/g prot.	$94,4 \pm 8,57$	$83,3 \pm 6,91$ (88%)

Notă: GSH – glutation redus; GSSG – glutation oxidat; GR – glutation reductaza; G-S-T – glutation-S-transferaza; TrxR – tioredoxin reductaza.

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Compușii coordinativi ai cuprului amplifică statistic concludent activitatea glutation reductazei – CMT-28 de cca 2,6 ori ($p<0,001$), iar CMT-67 de cca 3,3 ori ($p<0,001$), comparativ cu valorile identificate la animalele din lotul martor. Activitatea glutation peroxidazei nu este influențată de CMT-28 (98%) și se mărește după administrarea CMT-67 cu 21% ($p<0,01$). Totodată, atât CMT-28, cât și CMT-67, administrat animalelor sănătoase determină diminuarea statistic concludentă a activității G-S-T cu, respectiv, 45% ($p<0,001$) și 40% ($p<0,001$) comparativ cu martorul.

La administrarea remediilor cianobacteriene (PSS) animalelor intacte se inhibă activitatea enzimelor metabolismului glutationului – GR, GPO, G-S-T și TrxR (tab. 1). Totodată rezultatele studiului efectuat a relevat, că PSS contribuie la diminuarea conținutului atât a glutationului total (cu 11%, $p<0,001$), cât și a formei reduse a compusului (cu 13%, $p<0,001$) în ficatul animalelor intacte. Nivelul glutationului oxidat crește cu 64% comparativ cu valorile martorului după administrarea PSS ($p>0,05$). Raportul GSH/GSSG este de cca 1,7 ori mai mic comparativ cu cel identificat la animalele intacte ($p<0,01$).

3.2. Influența CBA autohtoni asupra indicilor stresului oxidativ și ai sistemului antioxidant în ficat în condiții fiziologice

La administrarea PSS animalelor intacte s-a produs un stres oxidativ care s-a manifestat prin creșterea conținutului de NO, HPL, DAM, AIM și PPOA, și diminuarea protecției antioxidante – AAT în faza izopropanolică și SOD (tabelul 3.2).

Rezultatele studiului relevă că administrarea PSS animalelor intacte induce creșterea nivelului de AIM și PPOA cu respectiv 30% ($p<0,01$) și 41% ($p<0,05$) peste valorile martorului, iar conținutul de NO crește nesemnificativ cu 11% comparativ cu cele specifice animalelor intacte. La fel, nivelul hidroperoxidilor lipidici și ai dialdehidei malonice denotă tendințe neconcludente de creștere cu 30% și 14%, respectiv ($p>0,05$ în ambele cazuri).

Tabelul 3.2. Influența PSS asupra indicilor stresului oxidativ și protecției antioxidante în ficat în condiții fiziologice

Loturile de studiu	AGE, uc/g țesut	Proteina ischemic modificată μmol/g țesut	PPOA, μmol/g țesut	AAT în faza hexanică μmol/s.g țesut	SOD uc/g prot	GPO, nmol/s.g prot
Martor	6,45±0,21 100%	2,05±0,08 100%	13,97±1,55 100%	3,4±0,27 (100%)	1298±86,5 (100%)	99,9±7,78 (100%)
PSS	4,25±0,31*** 66%	2,66±0,16** 130%	19,65±1,54* 141%	4,1±0,02* (122%)	1001±65* (77%)	79,7±1,34* (80%)

Notă: AGE – produsele finale de glicare avansată; PIM – proteina ischemic modificată; PPOA – produsele proteice de oxidare avansată; AAT –activitatea antioxidantă totală; SOD – superoxid dismutaza; GPO –glutation peroxidaza

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$.

Totodată, nivelul AGE s-a diminuat după consumul de PSS cu 34% ($p<0,001$), ce denotă efectul benefic al PSS de diminuare a glicării și a propagării stresului oxidativ de către radicalii, formarea cărora este indusă de AGE.

La administrarea PSS se atestă creșterea cu 22% ($p<0,05$) a nivelului antioxidantilor hidrofobi, apreciați prin nivelul AAT în faza hexanică, pe când valorile antioxidantilor hidrofilii

(AAT în faza izopropanolică) manifestă o diminuare neveridică cu 20%. Activitatea enzimelor sistemului antioxidant se micșorează la animalele intacte după administrarea PSS. Semnificativ este diminuată activitatea SOD (-27%, $p < 0,05$) și GPO (-20%, $p < 0,05$), iar activitatea catalazei denotă doar o tendință de micșorare (-9%, $p > 0,05$).

3.3. Modificările indicilor metabolismului tiol-disulfidic, ai stresului oxidativ și sistemului antioxidant în ficat în ciroză hepatică indusă de tetraclorura de carbon

Ciroza hepatică indusă de CCl_4 se caracterizează prin modificarea semnificativă a nivelului GSH și GSSG și a activității unor enzime ale metabolismului tiol-disulfidic. S-a stabilit diminuarea semnificativă a nivelului de glutatation total (cu 8%, $p < 0,01$) din contul formei reduse a compusului (-14%, $p < 0,001$) și creștere neconcludentă a valorilor glutatationului oxidat cu 49% ($p > 0,05$) comparativ cu cel specific animalelor martor. În consecință s-a micșorat deosebit de important raportul GSH/GSSG de la $12,6 \pm 1,1$ până la $7,8 \pm 0,6$ ($p < 0,01$). Fenomenele atestate relevă utilizarea intensă a glutatationului în procesele de neutralizare a radicalilor liberi produși de noxă în organismul animalelor experimentale (tabelul 3.3).

S-a identificat scăderea semnificativă a activității tioredoxinreductazei (-11%, $p < 0,05$) și glutaredoxinei (-41%, $p < 0,001$) comparativ cu valorile specifice animalelor intacte. Diminuarea respectivă s-a soldat cu afectarea oxidativă a proteinelor și scăderea nivelului de grupe tiolice proteice cu 11% ($p > 0,05$) comparativ cu valorile de referință stabilite în lotul martor.

Tabelul 3.3. Modificările indicilor metabolismului tiol-disulfidic în ficat în ciroza hepatică indusă de CCl_4

Indicii studiați	Loturile de studiu	
	Martor	CH
Glutation total, $\mu\text{mol/g}$ țesut	$12,1 \pm 0,06$ (100%)	$11,2 \pm 0,19$ (92%)**
GSH, $\mu\text{mol/g}$ țesut	$11,3 \pm 0,03$ (100%)	$10,2 \pm 0,19$ (86%)***
GSSG, $\mu\text{mol/g}$ țesut	$0,9 \pm 0,07$ (100%)	$1,3 \pm 0,16$ (149%)*
GSH/GSSG	$12,6 \pm 1,1$ (100%)	$7,8 \pm 0,6$ (62%)**
GR, $\mu\text{mol/s.g}$ prot.	$2,05 \pm 0,03$ (100%)	$2,17 \pm 0,06$ (106%)
G-S-T, nmol/s.g prot.	$142,5 \pm 14,05$ (100%)	$135,0 \pm 4,32$ (95%)
TrxR, nmol/s.g prot.	$84,36 \pm 2,92$ (100%)	$75,56 \pm 0,83$ (89%)*
Glutaredoxina, nmol/s.g prot.	$31,3 \pm 0,46$ (100%)	$18,6 \pm 1,0$ (59%)***
HS-grupe proteice, mol/g țesut	$94,4 \pm 8,57$ (100%)	$83,8 \pm 7,85$ (89%)

NOTĂ: CH – ciroza hepatică indusă de CCl_4 ; GSH – glutatation redus; GSSG – glutatation oxidat; GR – glutatation reductaza; G-S-T – glutatation-S-transferaza; TrxR – tioredoxin reductaza.

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Noxa condiționează creșterea excesivă a indicilor stresului oxidativ (hidroperoxidilor lipidici), a produșilor proteici de oxidare avansată, proteinei ischemic modificate și produșilor finali de glicare avansată, precum și o reducere a nivelului activității antioxidante totale în țesutul hepatic, atât în mediul polar, cât și în cel nepolar, iar cura de tratament cu PSS conduce practic la normalizarea valorilor acestui indice.

3.4. Modificările indicilor metabolismului tiol-disulfidic, ai stresului oxidativ și sistemului antioxidant în ficat în hepatopatia experimentală indusă de etilenglicol

Studiul a stabilit că activitatea enzimelor principale ale metabolismului glutationului – GR, GPO, G-S-T și glutaredoxinei, în ficatul animalelor cu hepatopatie toxică produsă de etilenglicol nu diferă de cea specifică animalelor martor, variațiile fiind cuprinse între 94-108% ($p > 0,05$). Totodată, conținutul de grupări tiolice proteice s-a majorat statistic semnificativ cu 20% de la $21,99 \pm 0,96$ mol/g proteină până la $26,44 \pm 1,31$ mol/g proteină ($p < 0,05$) (figura 3.2).

S-a stabilit că patologia modelată nu afectează procesele de oxidare peroxidică a lipidelor, menținându-se la valori specifice martorului conținutul de DAM. Nu se modifică nici nivelul de NO apreciat la animalele cu hepatopatie toxică indusă de etilenglicol. Totodată, crește conținutul de S-nitrozotoli (+31%), ce poate fi consecința metabolizării NO produs în exces și implicarea lui și a metaboliților în procesele de S-nitrozilare a proteinelor.

Studiul a relevat majorarea importată a AGE (+40%, $p < 0,05$) și menținerea la valorile de referință identificate la animalele intacte a conținutului de PIM și PPOA.

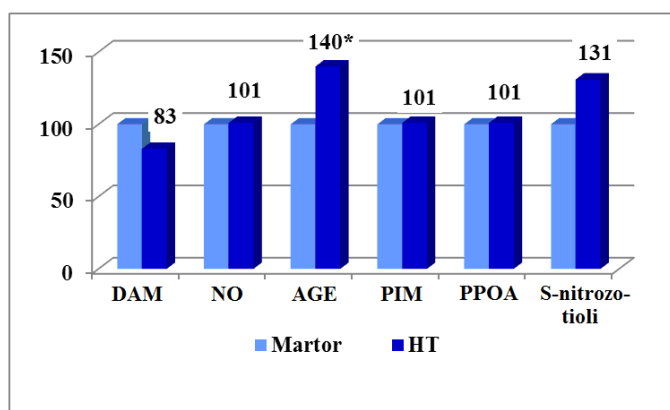


Figura 3.2. Indicii stresului oxidativ în ficat în hepatopatia toxică indusă de etilenglicol (%).

Notă: HT – hepatopatie toxică indusă de etilenglicol; NO – oxidul nitric; DAM – dialdehida malonică; AGE – produsele finale de glicare avansată; PIM – proteina ischemic modificată; PPOA – produsele proteice de oxidare avansată.

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Hepatopatia toxică produsă de administrarea etilenglicolului nu se caracterizează prin schimbări semnificative ale indicilor protecției antioxidante în ficat. Activitatea SOD ce neutralizează radicalii superoxid anion, se menține la valorile lotului martor, pe când activitatea catalazei și conținutul dipeptidelor histidinice denotă tendință neveridică statistic de creștere cu 27% și, respectiv, 13% ($p > 0,05$). Creșterea nivelului dipeptidelor histidinice poate fi un mecanism de adaptare orientat spre neutralizarea AGE produse în exces în ficatul animalelor intoxicate cu etilenglicol.

3.5. Influența CBA autohtoni asupra indicilor metabolismului tiol-disulfidic, ai stresului oxidativ și sistemului antioxidant în ficat în ciroză hepatică indusă de tetraclorura de carbon și hepatopatia experimentală toxică indusă de etilenglicol

În ciroza hepatică indusă de CCl_4 CBA autohtoni exercită acțiune redusă asupra indicilor studiați: PSS diminuează nivelul glutationului total, redus și oxidat, precum și activitatea GR; BioR – sporește nivelul funcțional al GR și GPO, iar compușii coordinativi ai metalelor – măresc nivelul GSH, activitatea GR și GPO, dar o scad pe cea a G-S-T (tabelul 3.4).

Administrarea PSS micșorează conținutul precedent crescut de GSSG practic până la valorile martorului (+8%, $p>0,05$) și ca rezultat se mărește raportul GSH/GSSG cu 34% ($p<0,05$) comparativ cu cel specific animalelor cu hepatopatie.

Tabelul 3.4. Influența PSS asupra indicilor metabolismului glutatonic și tiol-disulfidic în ficat în ciroză hepatică

Indicii studiați	Loturile		
	Martor	CH	CH + PSS
Glutation total, $\mu\text{mol/g}$ țesut	12,1 \pm 0,06 (100%)	11,2\pm0,19 (92%)**	10,4\pm0,41 (82%; 93%)**
GSH, $\mu\text{mol/g}$ țesut	11,3 \pm 0,03 (100%)	10,2\pm0,19 86%***	9,9\pm0,09 (88%; 97%)***
GSSG, $\mu\text{mol/g}$ țesut	0,9 \pm 0,07 (100%)	1,3\pm0,16 (149%)*	0,93 \pm 0,09 (108%; 72%)
GSH/GSSG	12,6 \pm 1,1 (100%)	7,8\pm0,6 (62%)**	10,6\pm0,9 (84%; 134%)#
GR, $\mu\text{mol/s.g}$ prot.	2,05 \pm 0,03 (100%)	2,17 \pm 0,06 (106%)	2,11 \pm 0,03 (103%; 97%)
G-S-T, nmol/s.g prot.	142,5 \pm 14,05 (100%)	135,0 \pm 4,32 (95%)	121,6 \pm 14,73 (85%; 90%)
TrxR, nmol/s.g prot.	84,36 \pm 2,92 (100%)	75,56\pm0,83 (89%)*	47,11\pm4,26 (56%; 62%)***##
Glutaredoxina, nmol/s.g prot.	31,3 \pm 0,46 (100%)	18,6\pm1,0 (59%***	22,6\pm1,78 (72%, 122%)***
SH-grupe proteice, mol/g prot.	94,4 \pm 8,57 (100%)	83,8 \pm 7,85 (89%)	82,8 \pm 9,06 (88%; 99%)

NOTĂ: GSH – glutation redus; GSSG – glutation oxidat; GR – glutation reductaza; G-S-T – glutation-S-transferaza; TrxR – tioredoxin reductaza.; CH – ciroză hepatică indusă de CCl_4 .

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$.

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul cu HE: # – $p<0,05$; ## – $p<0,01$; ### – $p<0,001$.

Modificările concentrației de GSSG pot fi calificate ca fiind un mecanism de completare a resurselor nespecifice de protecție antioxidantă celulară la acțiunea diferitor agenți prooxidanți și citotoxici, inclusiv a CCl_4 , și pot fi o consecință a reducerii compusului la GSH de către GR. Activitatea GR nu a suferit modificări la administrarea PSS animalelor cu ciroză hepatică indusă de CCl_4 . Nivelul funcționalității enzimei s-a menținut la valori apropiate de cele specifice animalelor intacte – 2,11 \pm 0,03 (103%, $p>0,05$), ca și în cazul cirozei hepatice 2,17 \pm 0,06 (106%, $p>0,05$).

Administrarea BioR, indiferent de doză – 1 sau 2 mg/kilocorp, nu modifică activitatea glutatonei reductazei și glutatonei-S-transferazei în ficatul animalelor cu ciroză hepatică, dar induce o tendință statistic neveridică de creștere cu 25% și, respectiv, de diminuare a cu 1-4% a activității enzimelor menționate (figura 3.3).

Totodată, remediul cianobacterian BioR exercită acțiune importantă asupra activității GPO în ficatul animalelor intoxicate cu CCl_4 . Atât în doză de 1 mg, cât și de 2 mg la kilogram masă corporală, BioR amplifică activitatea precedent scăzută a enzimei de cca 2 ori ($p<0,001$). Creșterea produsă de BioR este insuficientă pentru restabilirea activității normale a GPO, care este cu 12-13% ($p<0,001$) sub nivelul identificat la animalele martor.

Compușii coordinați ai metalelor exercită acțiune diferită asupra enzimelor studiate. CMT-28 practic normalizează activitatea GR și GPO și o diminuează pe cea a G-S-T sub valorile de referință, pe când CMT-67 amplifică activitatea GR peste nivelul depistat la animalele intacte, diminuează activitatea G-S-T – sub cel normal și nu influențează activitatea GPO (figura 3.4).

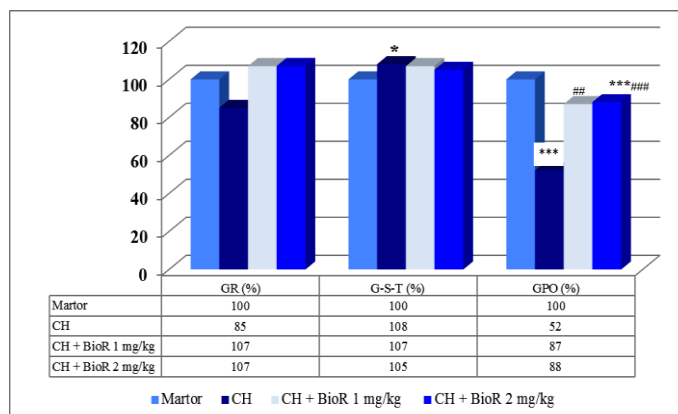


Figura 3.3. Influența remediei cianobacterian BioR asupra activității enzimelor glutationice în ficat în ciroză hepatică (%)

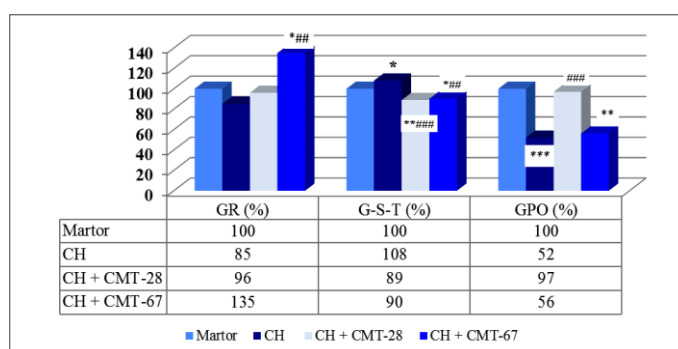


Figura 3.4. Influența compușilor coordinațivi ai metalelor – CMT-28 și CMT-67, asupra activității enzimelor glutationice în ficat în ciroză hepatică (%)

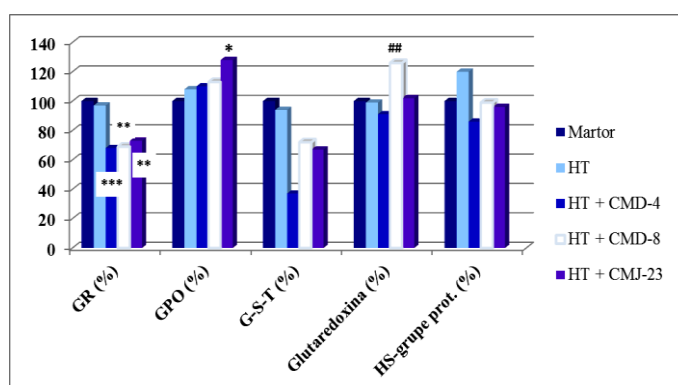


Figura 3.5. Influența compușilor coordinațivi ai metalelor asupra indicilor metabolismului tiol-disulfidic în ficat în hepatopatia toxică indusă de etilenglicol

Notă: CH – ciroză hepatică indusă de CCl_4 , HT – hepatopatia toxică indusă de etilenglicol; GR – glutationreductaza, G-S-T – glutation-S-transferaza; GPO – glutationperoxidaza.

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul martor: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Veridicitatea diferențelor comparativ cu lotul cu HT: # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$.

Tratamentul cu compușii studiați a animalelor cu hepatopatie toxică condiționată de etilenglicol produce multiple și diverse acțiuni asupra indicilor metabolismului tioldisulfidic, a stresului oxidativ și sistemului antioxidant: a) BioR diminuează activitatea majorității enzimelor studiate (GR, GPO, G-S-T, SOD și catalazei), nivelul dipeptidelor histidinice și amplifică procesle oxidative (cresc AGE, PPOA și S-nitrozotiolii); b) toți compușii coordinați ai metalelor diminuează activitatea GR, conținutul de S-nitrozotiolii și dipeptide histidinice, pe când doar CMD-4 – crește conținutul de NO și AGE, dar îl micșorează pe cel al PPOA și S-nitrozotiolilor, CMD-8 – amplifică activitatea glutaredoxinei și o diminuează pe cea a catalazei, și CMJ-23 – crește conținutul de DAM și activitatea GPO (figura 3.5).

Administrarea unor compuși biologic activi (CBA) autohtoni în maladiile hepatice experimentale induce modificări importante ale dinamicii indicilor investigați. Acțiunea preparatelor studiate asupra indicilor metabolismului tiol-disulfidic, stresului oxidativ și sistemului antioxidant este selectivă și depinde probabil de gradul de implicare a lor la diferite etape patogenice ale afectării ficatului. Astfel, se deschid posibilități de a utiliza compușii studiați cu scopul modulării proceselor metabolice în funcție de necesități.

Elucidarea detaliată a mecanismelor, care stau la baza acțiunii CBA autohtoni, va extinde cunoștințele teoretice despre proprietățile biologice ale unui șir de compuși chimici, posibilității utilizării lor în calitate de preparate farmaceutice și totodată oferă noi oportunități de a explora obiecte de perspectivă în scopul obținerii unor noi preparate medicamentoase eficiente.

Biomarkerii funcționalității sistemului tiol-disulfidic pot fi utilizați pentru a determina eficiența preparatelor noi autohtone la restabilirea biochimică și funcțională a organelor afectate. Acești indici ar putea fi folosiți în diagnosticul diferențiat, urmărirea tratamentului aplicat și profilaxia bolilor hepatice.

CONCLUZII GENERALE

1. În condiții fiziologice combinațiile bazelor Schiff noi cu metale 3d – CMD-4, CMD-8 și CMJ-23 determină schimbări ale conținutului de glutation total, redus și oxidat, dar nu acționează asupra activității enzimelor glutationice, pe când CMT-28 și CMT-67 modulează preferențial activitatea enzimatică [4; 45].

2. Remediile cianobacteriene (PSS) inhibă activitatea enzimelor metabolismului glutationului (GR, GPO, G-S-T și TrxR) și induc stresul oxidativ care se manifestă prin creșterea notabilă a concentrației HPL (30%), AIM (30%, $p < 0,01$) și PPOA (54%, $p < 0,05$), și diminuarea protecției antioxidante – SOD (23%, $p < 0,05$) și GPO (20%, $p < 0,05$) la animalele sănătoase.

3. Ciroza hepatică experimentală indusă de administrarea de durată a tetraclorurii de carbon se caracterizează prin diminuarea asociată a nivelurilor glutationului total (8%, $p < 0,01$) și a raportului GSH/GSSG (38%, $p < 0,01$), produs de micșorarea GSH și creșterea GSSG; majorarea notabilă a indicilor stresului oxidativ (hidroperoxidizilor lipidici, a produșilor proteici de oxidare avansată și albuminei ischemic modificate), și scăderea nivelului activității antioxidante totale în țesutul hepatic, atât în mediul polar, cât și în cel nepolar. Hepatopatia toxică produsă de intoxicarea cu etilenglicol nu este marcată de modificări semnificative ale indicilor studiați, fiind înregistrată doar creșterea semnificativă statistic a nivelului HS-grupelor proteice și AGE, și neconcludentă a S-nitrozotiolilor, dipeptidelor histidinice și a activității catalazei [24].

4. Combinațiile bazelor Schiff noi cu metale 3d au demonstrat acțiune mai largă și diversă în hepatopatia experimentală produsă de intoxicarea cu etilenglicol, comparativ cu ciroza

hepatică experimentală indusă de administrarea tetraclorurii de carbon. În hepatopatia toxică CMD-4, CMD-8 și CMJ-23 au micșorat semnificativ activitatea glutatonei reductazei și glutatonei-S-transferazei și au majorat-o pe cea a GPO, acțiunea asupra altor indici fiind de orientare și amploare diferită pentru fiecare compus studiat. În ciroza hepatică experimentală s-a atestat normalizarea sau creșterea activității glutatonei reductazei și glutatonei-S-transferazei (CMT-28 și CMT-67), iar activitatea glutatonei peroxidazei a fost influențată doar de CMT-28 [37, 39].

5. CBA autohtoni de origine naturală obținuți din cianobacteria *Spirulina platensis* au produs multiple și diverse acțiuni asupra indicilor metabolismului tioldisulfidic, a stresului oxidativ și sistemului antioxidant în patologia hepatică modelată. În ciroza hepatică indusă de CCl₄ PSS diminuează nivelul glutatonei total, redus și oxidat, precum și activitatea GR, iar BioR – sporește nivelul funcțional al GR și GPO, pe când în hepatopatia toxică condiționată de etilenglicol BioR diminuează activitatea majorității enzimelor studiate (GR, GPO, G-S-T, SOD și catalazei), nivelul dipeptidelor histidinice și amplifică procesele oxidative, confirmat prin creșterea AGE, PPOA și S-nitrozotiolilor [5, 9, 10].

6. Acțiunea CBA autohtoni studiați asupra indicilor metabolismului glutatonei, tioldisulfidic, stresului oxidativ și a sistemului antioxidant este selectivă și posibil depinde de gradul lor de implicare la anumite etape ale evoluției patogenetice a patologiei ficatului, oferind posibilități de a utiliza compușii cercetați în scopul modulării proceselor metabolice hepatice în funcție de necesitățile particulare impuse de dinamica procesului patologic.

RECOMANDĂRI PRACTICE

Se recomandă utilizarea:

1. *modelului hepatopatiei toxice induse de administrarea etilenglicolului* paralel cu modelul clasic al cirozei hepatice produse de tetraclorura de carbon, în calitate de model de testare experimentală în laborator a patologiei hepatice în studiile științifice ale maladiilor ficatului și a noilor compuși cu proprietăți biologice active, potențiale medicamente;

2. *indicilor noninvazivi biochimici – ai metabolismului glutatonic (nivelul glutatonei redus și oxidat, activitatea GR, GPO, G-S-T) și tiol-disulfidic (glutaredoxina, tioredoxin reductaza)* pentru aprecierea stării funcționale a ficatului și monitorizarea evoluției procesului patologic și a eficacității tratamentului la pacienții cu maladii hepatice de geneză toxică și cu ciroză hepatică, ce va avea un impact pozitiv prin eficientizarea tratamentului aplicat și reducerea complicațiilor;

3. *micrometodelor optimizate de cercetare* a metabolismului glutatonic, tiol-disulfidic, a stresului oxidativ și sistemului antioxidant în laboratoarele de diagnostic clinic de laborator cu scopul reducerii volumului reagenților utilizați, sporirea exactității și reproductibilității determinărilor, ce va eficientiza diagnosticul precoce și diferențiat al maladiilor ficatului;

4. *rezultatelor cercetărilor* drept fundament pentru aprofundarea și diversificarea studiului experimental, preclinic al compușilor biologici autohtoni și extinderea lui la nivelul clinic și pentru transferul tehnologic cu scopul producerii unor noi medicamente eficiente.

Bibliografie

1. Ahamed M., Akhtar M.J., Verma S., Kumar A., Siddiqui M.K. Environmental lead exposure as a risk for childhood aplastic anemia. *Biosci Trends*. 2011;5(1):38-43.
2. Alkreathy H.M, Khan R.A., Khan M.R., Sahreen S. CCl₄ induced genotoxicity and DNA oxidative damages in rats: hepatoprotective effect of *Sonchus arvensis*. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14:452-459.
3. Allen E. M., Mieyal J. J. Protein-thiol oxidation and cell death: regulatory role of glutaredoxins, *Antioxid. Redox Signal*. 2012;17:1748-1763.
4. **Andronache L.** Influence of new Schiff bases, there combinations with 3d metals on the glutathione and thiol-disulfide metabolism in liver under physiological conditions. În: *Curierul Medical*. Chișinău, 2016, vol. 59, nr. 1, p. 2-5. ISSN 1875-0666. **Categoria B**
5. **Andronache L.** Influența compușilor coordinativi ai cuprului și a combinației lor cu remediu BioR din cianobacterii asupra activității enzimelor glutathione dependente. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, p. 271-274. ISSN 1857-1719. **Categoria C**
6. **Andronache L.** Protocoale standardizate de cercetare ale metabolismului tiol-disulfidic. Chișinău: Tipogr. Elan Poligraf, 2014, 40 p. ISBN 978-9975-66-432-5.
7. **Andronache L.,** Tagadiuc O., Gudumac V., Gulea A.. Optimizarea procedurii nitroprusidice de evaluare a glutathionului redus în materialul biologic. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2009, p. 184-189. ISSN 1857-1719. **Categoria C**
8. **Andronache L.,** Tagadiuc O., Popa V., Gudumac V. Funcțiile biologice ale glutathionului. *Materialele Conferinței a XV Științifice Internaționale „Bioetica, filosofia și medicina în strategia de asigurare a securității umane”*. Chișinău, 2010, p. 252-255.
9. **Andronache L.,** Tagadiuc O., Sardari V. et al. Indicii metabolismului tiol-disulfidic în ficat în ciroza hepatică experimentală și influența polizaharidelor sulfatate din spirulină. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, p. 136-142. ISSN 1857-1719. **Categoria C**
10. **Andronache L.,** Tagadiuc O., Sardari V. et al. Modificările proceselor de oxidare cu radicali liberi și protecției antioxidante în intoxicația cu CCl₄ și influența polizaharidelor sulfatate din spirulină. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013. p. 112-118. ISSN 1857-1719. **Categoria C**
11. Aoyama K., Nakaki T. Impaired glutathione synthesis in neurodegeneration. *Int J Mol Sci*. 2013;14(10):21021-21044.
12. Araújo A.M., Reis E.A., Athanazio D.A., Ribeiro G.S., Hagan J.E., Araujo G.C., Damião A.O., Couto N.S., Ko A.I., Noronha-Dutra A., Reis M.G. Oxidative stress markers correlate with renal dysfunction and thrombocytopenia in severe leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;90(4):719-723.
13. Barnham KJ, Kenche VB, Ciccotosto GD, Smith DP, Tew DJ, Liu X, Perez K, Cranston GA, Johanssen TJ, Volitakis I, Bush AI, Masters CL, White AR, Smith JP, Cherny RA, Cappai R. Platinum-based inhibitors of amyloid-beta as therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(19):6813-6818.
14. Bermejo-Bescós P, Piñero-Estrada E, Villar del Fresno AM. Neuroprotection by *Spirulina platensis* protean extract and phycocyanin against iron-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Toxicol In Vitro*. 2008; 22:1496-1502.
15. Bigarella C.L., Liang R., Ghaffari S. Stem cells and the impact of ROS signaling. *Development*. 2014;141(22):4206-4218.
16. Date statistice pe anul 2004 ale MS RM. http://ms.gov.md/sites/default/files/rapoarte/anuar_2004.pdf.

17. Date statistice pe anul 2014 ale MS RM http://www.ms.gov.md/sites/default/files/12._incidenta_prin_maladii_specifice_0.pdf.
18. Egiebor E., Tulu A., Abou-Zeid N., Aighewi I.T., Ishaque A. The Kinetic Signature of Toxicity of Four Heavy Metals and Their Mixtures on MCF7 Breast Cancer Cell Line. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(10): 5209-5220.
19. Fierbințeanu-Braticevici C., Mohora M., Crețoiu D., Crețoiu S., Petrișor A., Usvat R., Ion D.A. Role of oxidative stress in the pathogenesis of chronic hepatitis C (CHC). *Rom J Morphol Embryol*. 2009;50(3):407-412.
20. Franco R., Cidlowski J. A. Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant, *Cell Death Different*. 2009;16:1303-1314.
21. Gressner A.M. Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med*. 2006;10(1):76-99.
22. Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O., Sardari V., **Andronache L.** et al. Metode de Cercetare a Metabolismului Hepatic. Elaborare metodică. Chișinău: Tipogr. Tehnica-Info, 2012, 160 p. ISBN 978-9975-63-340-6.
23. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V., Pantea V., **Andronache L.** et al. Investigații Biochimice. Volumul II. Micrometode. Elaborare metodică. Chișinău: Tipogr. Elena VI, 2010, 97 p. ISBN 978-9975-106-06-1.
24. Gudumac V., Gulea A., Tagadiuc O., Bulimaga V., Chiriac T. **Andronache L.** ș. a. Influența unor compuși biologici activi autohtoni asupra restabilirii parenchimului hepatic în ciroza hepatică experimentală. În: *Materialele Conferinței Științifice Internaționale „Biotehnologia microbiologică – domeniu științific intensiv al științei contemporane”*. Chișinău, 2011, p.63-64. ISBN 978-9975-106-78-8.
25. Gulea A., Poirier D., Roy J., Stavila V., Bulimestru I., Tapcov V., Birca M., Popovschi L. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: chemical synthesis and structure - activity relationships. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2008;23(6):806-18.
26. Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Mosc)*. 2014;79(13):1562-1583.
27. Kamiński K., Zagaja M., Łuszczki J.J., Rapacz A., Andres-Mach M., Latacz G., Kieć-Kononowicz K. Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides. *J Med Chem*. 2015;58(13):5274-86.
28. Kim J.H., Gil H.W., Yang J.O., Lee E.Y., Hong S.Y. Effect of glutathione administration on serum levels of reactive oxygen metabolites in patients with paraquat intoxication: a pilot study. *Korean J Intern Med*. 2010;25(3):282-287.
29. Li T., Zhao X.P., Wang L.Y., Gao S., Zhao J., Fan Y.C., Wang K. Glutathione S-transferase P1 correlated with oxidative stress in hepatocellular carcinoma. *Int J Med Sci*. 2013;10(6):683-690.
30. Liem D.A., Gho C.C., Gho B.C., Kazim S., Manintveld O.C., Verdouw P.D., Duncker D.J. The tyrosine phosphatase inhibitor bis(maltolato)oxovanadium attenuates myocardial reperfusion injury by opening ATP-sensitive potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;309(3):1256-62.
31. Marson F.A., Bertuzzo C.S., Ribeiro A.F., Ribeiro J.D. Polymorphisms in the glutathione pathway modulate cystic fibrosis severity: a cross-sectional study. *BMC Med Genet*. 2014;15:27-44.
32. Meister A., Anderson M.E. Glutathione. *Annu Rev Biochem*. 1983;52:711-760.
33. Morisco F., Lembo V., Mazzone G., Camera S., Caporaso N. Coffee and liver health. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(Suppl 1):S87-S90.
34. Olinescu R. Radicali liberi în fiziopatologia umană. Ed. Tehnică, București, 1994, 215 p.

35. Pastore A., Alisi A., di Giovamberardino G., Crudele A., Ceccarelli S., Panera N., Dionisi-Vici C., Nobili V. Plasma levels of homocysteine and cysteine increased in pediatric NAFLD and strongly correlated with severity of liver damage. *Int J Mol Sci.* 2014;15(11):21202-21214.
36. Pietruszyński R., Markuszewski L., Masiarek K., Makowski M., Retelewska W., Watala C. Role of preprocedural glutathione concentrations in the prediction of major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndrome treated with percutaneous coronary intervention. *Pol Arch Med Wewn.* 2013;123(5):228-237.
37. Popa V, **Andronache L.**, Știrba O. et al. Modificările indicilor metabolismului proteic în hepatopatia experimentală și influența unor compuși biologici activi autohtoni. În: *Anale științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”*, vol. I. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013. p. 142-148. ISSN 1857-1719. **Categoria C**
38. Programul național de combatere a hepatitelor virale B, C și D pentru anii 2012-2016. Hotărâre de Guvern Nr. 90 din 13.02.2012. [http://lex.justice.md/index.php?action=view &view=doc&lang=1&id=342219](http://lex.justice.md/index.php?action=view&view=doc&lang=1&id=342219).
39. Rudic V., Gudumac V., Gulea A., **Andronache L.**, Tagadiuc O. Influența unor compuși coordinațivi ai cuprului și a combinației lor cu BioR asupra nivelului glutatationului, la acțiunea propilenglicolului în experiență. În: *Materialele Conferinței științifice naționale cu participare internațională Probleme actuale ale Microbiologiei și Biotehnologiei*. Chișinău, 2009, p. 188-190. ISBN 978-9975-106-42-2.
40. Rudic V., Gudumac V., Popovici M. *Fotobiotehnologie – realizări noi în biomedicină*. Editura Cuant, Chișinău, 1995, 207 p.
41. Sakurai H. Copper compounds ameliorate cardiovascular dysfunction and diabetes in animals *Yakugaku Zasshi.* 2012;132(3):285-91.
42. Starha P, Trávníček Z, Herchel R, Popa I, Suchý P, Vanco J. Dinuclear copper(II) complexes containing 6-(benzylamino)purines as bridging ligands: synthesis, characterization, and in vitro and in vivo antioxidant activities. *J Inorg Biochem.* 2009 Mar;103(3):432-40.
43. Tagadiuc O., Gulea A., Rudic V., Gudumac V. Influence of copper coordination compounds and cyanobacterial remedy BioR on bone collagen and hydroxyproline concentrations (ontogenetic view). ICNBME-2011. In: *International conference on nanotechnologies and biomedical engineering*. Chișinău, 2011, p. 357-361
44. Tagadiuc O., Sardari V., **Andronache L.**, Gudumac V. *Protocole standardizate de cercetare ale metabolismului glucidic în țesutul osos*. Chișinău: Tipogr. Elan Poligraf, 2014, 50 p. ISBN 978-9975-66-431-8.
45. Tagadiuc O., Știrba O., **Andronache L.** et. al. Bioactive coordination compounds action on the intensity of the oxidative stress and antioxidant sistem activity in animals under physiological conditions. În: *3^{eme} Colloque Franco-Roumain de Chimie Medicinale*. Iași, Roumanie, 2014, p. 64.
46. Trautwein C., Friedman S.L., Schuppan D., Pinzani M. Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *J Hepatol.* 2015;62(1 Suppl):S15-24.
47. Vanco J, Svajlenová O, Ramanská E, Muselík J, Valentová J. Antiradical activity of different copper(II) Schiff base complexes and their effect on alloxan-induced diabetes. *J Trace Elem Med Biol.* 2004;18(2):155-61.
48. Walker C.L., Walker MJ, Liu NK, Risberg EC, Gao X, Chen J, Xu XM. Systemic bisperoxovanadium activates Akt/mTOR, reduces autophagy, and enhances recovery following cervical spinal cord injury. *PLoS One.* 2012;7(1):e30012.
49. Кулинский В.И., Леонова З.А., Колесниченко Л.С., Малов И.В., Данилов Ю.А. Система глутатиона в эритроцитах и плазме крови при вирусных гепатитах. *Биомед. химия*, 2007;53(1):91-98.

ADNOTARE

Andronache Lilia, „Influența unor compuși biologici activi autohtoni asupra ciclului glutationic în normă și în patologia hepatică experimentală”. 315.01 – Biochimie Medicală, Chișinău, 2016.

Lucrarea cuprinde 116 pagini și este constituită din: introducere, 3 capitole, concluzii și recomandări practice. Teza este ilustrată cu 16 tabele și 27 figuri, 10 anexe. Bibliografia conține 239 de surse științifice. Rezultatele obținute sunt publicate în 11 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: compuși biologici activi, glutation, enzime glutationice, metabolism tiol-disulfidic, ciroză hepatică, hepatopatie toxică experimentală.

Domeniul de studiu: biochimie, hepatologie, medicină de laborator.

Scopul studiului constă în evaluarea mecanismelor biochimice ale acțiunii unor compuși biologici activi autohtoni (CBA) asupra ciclului glutationic, a unor indici ai metabolismului tiol-disulfidic în hepatopatiile experimentale, argumentarea eficienței aplicării lor, optimizarea metodelor de diagnostic biochimic pentru urmărirea eficienței tratamentului aplicat.

Obiectivele cercetării: Studierea principalelor modificări ale enzimelor glutationice și a unor indici ai metabolismului tiol-disulfidic la acțiunea CBA autohtoni noi (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3d și remedii de origine cianobacteriană) în condiții fiziologice și la modelarea patologiilor hepatice.

Metodele de cercetare științifică: Evaluarea conținutului de glutation, a activității enzimelor glutationice (glutationreductazei, glutationperoxidazei, glutation-S-transferazei) și a indicilor metabolismului tiol-disulfidic.

Noutatea și originalitatea științifică: În premieră au fost elucidate mecanismele de acțiune a CBA asupra metabolismului tiol-disulfidic cu valori normale și patologiile hepatice. Testarea acțiunii CBA asupra ficatului la șobolani cu HP și s-a constatat eficiența lor în recuperările dismetaboliilor provocate de administrarea noxelor.

Semnificația teoretică: Elucidarea mecanismelor fine, care stau la baza acțiunii CBA largesc cunoștințele teoretice despre proprietățile biologice a unui șir de CBA autohtoni noi și, totodată, oferă noi posibilități de a explora obiecte de perspectivă în scopul obținerii unor noi preparate medicamentoase eficiente.

Valoarea aplicativă: CBA pot fi folosite în medicina practică pentru estimarea dinamicii modificărilor metabolismului intermediar pe baza unor markeri biochimici noninvazivi, precum și drept bază pentru transferul tehnologic la producerea unor noi medicamente eficiente.

Implementarea rezultatelor: Rezultatele cercetărilor au fost implementate în procesul didactic la catedrele Biochimie și Biochimie clinică și Diagnostic de laborator clinic ale IP USMF „Nicolae Testemițanu”, activitatea laboratoarelor Institutului Cardiologic și Centrul Republican de Control Extern al Calității.

РЕЗЮМЕ

Андронаке Лилия, „Влияние биологически активных соединений цикла глутатиона в норме и при экспериментальной патологии печени”, диссертация на соискание учёной степени доктора медицины, Кишинев, 2016.

Работа представлена на 116 страницах печатного текста, состоит из введения, 3-х глав, выводов и практических рекомендаций. Библиография включает 239 научных источников. Работа иллюстрирована 16 таблицами, 27 рисунками и 10 приложениями. Результаты исследования были опубликованы в 11 научных статьях.

Ключевые слова: биологически активные соединения, глутатион, ферменты цикла глутатиона, тиол-дисульфидный обмен, цирроз печени, экспериментальные гепатопатии,.

Область исследования: биохимия, гепатология, лабораторная медицина.

Цель исследования: выявить биохимические механизмы действия биологически активных соединений (БАС) на цикл глутатиона, тиол-дисульфидный обмен при экспериментальных гепатопатиях (ГП), аргументировать эффективность их применения, оптимизировать биохимические диагностические методы исследования для мониторинга эффективности лечения.

Задачи исследования: изучить основные изменения ферментов цикла глутатиона, тиол-дисульфидного метаболизма при воздействии отечественных БАС в норме и при моделировании патологии печени.

Материалы и методы исследования: оценка содержания глутатиона, активности ферментов глутатиона (глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы), показатели тиол-дисульфидного обмена.

Научная новизна: впервые выяснены механизмы действия отечественных БАС на тиол-дисульфидный обмен при моделировании патологии печени. Установлена эффективность применения указанных веществ при ГП, которое проявлялось в восстановлении метаболических нарушений в печени экспериментальных животных.

Теоретическая значимость: Полученные результаты расширяют теоретические знания о биологических свойствах ряда новых также предлагает новые возможности для изучения объектов перспективу для получения новых эффективных лекарственных препаратов.

Прикладная значимость: Выяснение тонких механизмов, лежащих в основе действия ряда отечественных БАС расширяют теоретические знания об их биологических свойствах, а также открывают новые перспективы для получения эффективных лекарственных препаратов.

Внедрение в практику: результаты исследования были внедрены в учебный процесс на кафедрах Биохимии и клинической биохимии и Клинической Лабораторной Диагностики Государственного Медицинского и Фармацевтического Университета „Николае Тестемицану” Республики Молдова, работу лабораторий Института Кардиологии и Республиканского центра внешнего контроля качества.

SUMMARY

Andronache Lilia's PhD thesis in medicine, „Influence of local biologic active compounds on glutathione cycle in normal conditions and experimental liver pathology” Chisinau, 2016.

Thesis structure: 116 pages; introduction, 3 chapters, conclusions and practical recommendations; 16 tables, 27 figures, 10 annexes; the bibliography index quotes 239 sources. The results were published in 11 scientific works.

Key Words: biologic active compounds, glutathione, glutathione cycle enzymes, thiol-disulfide metabolism, liver cirrhosis, experimental hepatopathy.

Domain of research: Biochemistry, hepatology, laboratory medicine.

The aim of the study: The research of the biochemical mechanisms of action of local biologic active compounds (BAC) on glutathione cycle, thiol-disulfide metabolism in experimental hepatopathy, argumentation of their efficient application, optimization of diagnostic methods for monitoring of the effectiveness of treatment.

Objectives of the research: To study the changes in the main glutathione enzymes cycle, indices of thiol-disulfide metabolism on action of the local BAC (Schiff base and their combinations with metal 3d, and remedies of the cyanobacterian origine) in physiological condition and in experimental liver pathologies.

Methodology of the research: Evaluation of the content of glutathione, glutathione enzymes activity (glutathione reductase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase) and thiol-disulfide metabolism indices.

Novelty and originality of the research: The mechanisms of action of BAC on glutathione enzymes activity and thiol-disulfide metabolism in hepatic pathologies were elucidated for the first time. Testing BAC action on the liver and kidneys of rats with HP has found their effectiveness in recoveries of the metabolic disorder in these pathologies.

Theoretical value: Elucidation of fine mechanisms that underlie action BAC expand theoretical knowledge about the biological properties of a number of new local BAC also offers new opportunities to explore objects perspective to obtain new effective medicinal preparations.

Applied value: BAC can be used in medical practice for estimating the dynamics of intermediary metabolism changes based on non-invasive biochemical markers, as well as a basis for technology transfer to production of new effective drugs.

Implementation of the results: The results of the research have been implemented in the teaching process of the Chairs of Biochemistry and clinical biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics of "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy (Republic of Moldova), diagnostic process in the laboratories of Institute of Cardiology and of the Republican Centre of External Quality Control.

ANDRONACHE LILIA

**INFLUENȚA UNOR COMPUȘI BIOLOGICI ACTIVI
AUTOHTONI ASUPRA CICLULUI GLUTATIONIC ÎN
NORMĂ ȘI PATOLOGIA HEPATICĂ EXPERIMENTALĂ**

315.01 – BIOCHIMIE MEDICALĂ

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: 01.12.2016
Hârtie ofset. Tipar ofset.
Coli de tipar.: 1.5

Formatul hârtiei 60x84 1/16
Tiraj 50 ex.
Comanda nr. 1175.

Denumirea și adresa instituției unde a fost tipărit autoreferatul