

MODIFICĂRILE COMPOZIȚIEI MINERALE A ȚESUTULUI OSOS ÎN OSTEOPATIILE EXPERIMENTALE ȘI LA REMEDIEREA CU COMPUȘI BIOACTIVI AUTOHTONI

**Valeriana Pantea – cercet. șt.,
Lilia Andronache – cercet. șt.,
Veronica Sardari – cercet. șt. superior, dr. șt. med.,
Olga Știrba – cercet. șt.,
Inna Șveț – cercet. șt.,**

Laboratorul de biochimie, IP USMF „Nicolae Testemițanu”

tel. 022 205136, veronica.sardari@usmf.md

Rezumat

Cunoașterea concentrației și dinamicii componentelor minerale din țesuturi și organe prezintă o importanță majoră pentru aprecierea stării normale sau patologice a organismului. În acest sens, cercetarea influenței unor compuși bioactivi (CBA) autohtoni asupra componenței minerale a țesutului osos în osteopatiile (OP) experimentale, argumentarea utilității folosirii lor în profilaxia și tratamentul acestor patologii prezintă un mare interes teoretic și practic. În studiu au fost utilizați CBA autohtoni - CMD-4, CMD-8, CMJ-23, CMJ-26 și CMJ-33 și remedii, obținute din spirulină - BioR, BioR-Ge, polizaharide sulfatate (PSS). În OP CCl₄-indusă medicația cu CMD-8 și CMJ-23 reduce nivelul de calciu osos cu 4% ($p < 0,05$), iar CMJ-23 scade concentrația de fosfați cu 2% ($p < 0,05$), ceea ce indică la eficiența lor redusă. Tratamentul cu PSS s-a dovedit a fi mai eficient, deoarece acesta contribuie la restabilirea conținutului de minerale în țesutul osos afectat de OP. În OP indusă cu etilenglicol sub influența BioR-Ge și CMJ-23 se remarcă o tendință de restabilire a nivelu-

lui de zinc, iar utilizarea CMD-8 și CMJ-23 conduce la normalizarea conținutului de cupru. În OP indusă de ciclofosfan medicația cu PSS și BioR-Ge induce o majorare a conținutului de calciu, ce a devansat cu 14% - 17% nivelul atestat în lotul martor. Utilizarea BioR-Ge și PSS a condus la normalizarea conținutului de zinc și chiar majorarea valorilor acestui microelement. Datele obținute deschid posibilități privind elaborarea unor strategii terapeutice eficiente de intervenție în maladiile osoase cu CBA.

Cuvinte-cheie: osteopatia experimentală, compuși bioactivi, metabolism mineral

Summary. Modification of bone mineral composition in experimental osteopathy and influence of some local bioactive compounds

The knowledge of the concentration and dynamics of mineral components in tissues and organs is of major importance for the assessment of the condition of the body. In this aspect, the influence of some local bioactive compounds (BAC) on mineral composition of bone tissue in experimental osteopathy (OP) and usefulness of their use in the prophylaxis and treatment of these pathologies is of great theoretical and practical interest. The local CBA - CMD-4, CMD-8, CMJ-23, CMJ-26 and CMJ -33, and remedies obtained from spirulina - BioR, BioR-Ge and sulfated polysaccharides (PSS), were studied. In CCl_4 -induced OP, the medication with CMD-8 and CMJ-23 reduced the level of bone calcium by 4% ($p < 0.05$), and CMJ-23 decreased the phosphates concentration by 2% ($p < 0.05$), which pointed their reduced efficiency. Treatment with PSS has proven to be more efficient because it restored bone mineral content affected by OP. In ethylene glycol-induced OP medication with BioR-Ge and CMJ-23 induced a tendency of zinc level restoration, while administration of CMD-8 and CMJ-23 led to the normalization of copper level. In ciclofosfan-induced OP medication with PSS and BioR-Ge induce an increase in calcium content, which surpassed with 14% - 17% the level in the control group. Administration of BioR-Ge and PSS resulted in normalization and even increase of the bone zinc level. Obtained data open possibilities for the development of effective therapeutic strategies in bone diseases using BAC.

Key words: experimental osteopathy, bioactive compounds, mineral metabolism

Резюме. Изменения минерального состава костной ткани при экспериментальных остеопатиях и влияние отечественных биоактивных соединений

Знание концентрации и динамики минеральных компонентов в тканях и органах, имеет важное значение для оценки состояния организма. В этом контексте, исследование влияния отечественных биологически активных соединений (БАС) на минеральный состав костной ткани при экспериментальных остеопатиях (ОП) и обоснование их использования для профилактики и лечения этих патологий имеет большое теоретическое и практическое значение. Были исследованы отечественные БАС - CMD-4, CMD-8-23 CMJ, CMJ CMJ-26 и-33 и средства, полученные из спиролины - BioR, BioR-Ge, сульфатированные полисахариды (PSS). При CCl_4 -индуцированной ОП введение CMD-8 и CMJ-23 приводит к снижению уровня кальция в костях на 4% ($p < 0,05$), в то время как CMJ-23 снижает концентрацию фосфатов на 2% ($p < 0,05$), что указывает на их низкую эффективность. Лечение PSS было более эффективным, поскольку препарат восстановил минеральный состав костей при данной ОП. В этиленгликоль-индуцированной ОП, под воздействием BioR-Ge и CMJ-23 отмечена тенденция восстановления уровня цинка, а CMD-8 и CMJ-23 приводит к нормализации содержания меди. Препараты PSS и BioR-Ge вызывают увеличение уровня кальция при ОП индуцированной циклофосфаном, который на 14% - 17% превышал содержание элемента в контрольной группе. Использование BioR-Ge и PSS привело к нормализации цинка и даже увеличению уровня этого микроэлемента. Результаты исследования открывают новые возможности для развития эффективных терапевтических стратегий при заболеваниях костной ткани с применением БАС.

Ключевые слова: экспериментальная остеопатия, биоактивные вещества, минеральный обмен

Introducere. Cunoașterea conținutului și a dinamicii diferitelor componente biochimice din țesuturi și organe prezintă o importanță majoră pentru aprecierea stării normale sau patologice a organismului. În acest sens, evaluarea modificărilor cantitative ale diferitor compuși biochimici se impune ca o necesitate pentru caracterizarea biochimică și funcțională a organismului, modificările acestora constituind criterii de apreciere și diagnostic.

Majoritatea moleculelor organice din organisme vii sunt constituite din atomii de C, H, N, O, și, deasemenea, S și P. Ei sunt urmați de ioni Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} , Cl^- și de microelemente, în special, cele de tranziție (Fe, Mn, Co, Cu, Zn). Ultimele anume

datorită proprietăților se potrivesc cel mai bine pentru rolul în care le întâlnim, adică formatori de complecși metaloorganici și cofactori ai enzimelor oxido-reductoare [5].

În țesutul osos decurge activ procesul de mineralizare, adică de acumulare a sărurilor minerale din elementele chimice aduse de sânge, de aceea, osul conține cantitatea cea mai mare a majorității substanțelor minerale din organismul uman. Astfel, el conține cca 99% din totalul de calciu, 87% de fosfat, 58% de magneziu, 46% de sodiu și cca 20% din microelemente [11, 14].

Diverse studii atestă o compoziție semnificativ mai complexă a apatitei, comparativ cu formula stoi-

chiometrică clasică – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ [11]. Numărul elementelor minerale cu concentrație mică în țesutul osos este semnificativ. Din aceste microelemente cca 30 sunt considerate osteotrope. La ele se referă fluorul, zincul, magneziul, manganul, cuprul, bariul etc. Microelementele menționate mai rar se incorporează în structura cristalină a apatitei (de ex. Magneziul), rolul lor primordial fiind cel de reglare al remodelării osoase prin implicarea în diferențierea, proliferarea și funcțiile celulelor țesutului, a activității enzimelor osoase, a menținerii homeostaziei țesutului osos etc. [4, 11, 14].

În studiile modene ale dereglărilor metabolice la nivelul țesutului osos s-au atestat modificări combinate ale matricei organice și ale fazei minerale, de diferită amploare și orientare în funcție de tipul maladiei, gravitatea ei și tratamentul aplicat [1, 2, 3, 9].

O direcție relativ nouă și actuală în cercetările biomedicale este cea legată de evaluarea și perspectiva utilizării compușilor chimici – combinațiilor complexe în diverse domenii ale medicinei [7, 10, 13].

Elucidarea aspectelor noi ale activității compușilor menționați și ale mecanismelor biochimice de acțiune asupra organismului este actuală și de perspectivă pentru diversificarea arsenalului de remedii de înaltă eficiență, necesari corecției dereglărilor metabolice în diferite afecțiuni.

Scopul studiului constă în cercetarea mecanismelor de acțiune a unor compuși bioactivi autohtoni (baze Schiff noi, combinației lor cu metale 3-d, a unor remedii de origine cianobacteriană) asupra componenței minerale în osteopatiile experimentale și argumentarea utilității folosirii lor în profilaxia și tratamentul acestor patologii.

Material și metode. În studiu au fost utilizați un șir de CBA autohtoni (baze Schiff noi, combinațiile lor cu metale 3-d) și polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS) obținute din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. Compușii CMD-4, CMD-8, CMJ-28 și CMJ-33 au fost oferiți de prof. univ., șef Catedră Chimie Anorganică a USM, academicianul Gulea Aurelian.

Remediile – PSS, BioR-Ge au fost oferite de prof. univ., d.h. în b., academicianul Rudic Valeriu, director al Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova.

Osteopatia (OP) toxică a fost studiată pe 3 modele experimentale induse prin intoxicarea cu CCl_4 [8], etilenglicol și ciclofosfan în trei serii de experiențe.

În prima serie de experiențe OP a fost indusă prin intoxicarea cu CCl_4 . Cercetările au fost efectuate pe 2 subloturi de animale. Primul sublot a fost constituit din 40 șobolani albi masculi fără pedigree cu masa 180–220 g, divizați în 7 grupuri experimentale

a câte 5-6 animale în fiecare: 1) martor (6 animale intacte, cărora li s-a administrat ulei de măsline 1,0 ml/kilocorp, bisăptămânal, timp de 8 săptămâni); 2) animale cu OP, indusă prin administrarea a 0,1 ml soluție 50% de CCl_4 în ulei de măsline la 100 g masă corporală, bisăptămânal, timp de 8 săptămâni; 3) animale cu OP+CMD-4 0,1 mg/kilocorp; 4) animale cu OP+CMD-8 0,1mg/kilocorp; 5) animalele cu OP+CMJ-23 (câte 0,1 mg/kilocorp); 6) animale cu OP+CMJ-26; 7) animale cu OP+CMJ-33 (câte 0,1mg/kilocorp). În această serie de experiențe, toate substanțele au fost diluate în sol. fiziologică ce conține 1% gelatină și apoi administrate i/m timp de 14 zile, doza zilnică constituind 0,1 mg/kilocorp pentru CMD-4, CMD-8, CMJ-23, CMJ-26 și CMJ-33. Animalelor din grupul martor și grupul cu OP în decursul a 14 zile li se injecta i/m soluție fiziologică ce conține 1% gelatină.

În al doilea sublot de experiențe activitatea biologică a compușilor autohtoni a fost evaluată pe un grup de 36 șobolani albi masculi linia Wistar cu masa 160–180 g, divizați în 6 grupuri a câte 6 animale în fiecare: 1) martor, 6 animale, cărora li s-a administrat ulei de măsline 1,0 ml/kilocorp, bisăptămânal, timp de 8 săptămâni); 2) animale cu OP, indusă prin administrarea a câte 1 ml/kilocorp soluție 50% de CCl_4 în ulei de măsline, bisăptămânal, timp de 8 săptămâni; 3) animale cu OP+PSS, 50 mg/kilocorp; 4) animale cu OP+ PSS, 125 mg/kilocorp; 5) animalele cu OP+ PSS, 50 mg/kilocorp; 6) animale cu OP+ PSS, 125 mg/. În aceste experiențe, PSS a fost diluat în bulion de vită până la concentrația finală de 5% și administrat *per os* în doza de 50 și 125 mg/kg timp de 14 zile. Animalelor din lotul martor și lotul cu OP în decursul a 14 zile li se administra *per os* bulion de vită.

În a doua serie de experiențe activitatea biologică a CBA autohtoni a fost evaluată pe un lot de 45 șobolani albi masculi linia Wistar cu masa 160 – 180 g, divizați în 7 loturi a câte 5-7 animale: 1) martorul - 6 animale intacte; 2) animale cu OP, indusă prin administrarea etilenglicolului în doza 1 g/kilocorp *per os* zilnic pe parcursul a 30 de zile; 3) animale cu OP+CMD-4; 4) animale cu OP+CMD-8; 5) animalele cu OP+CMJ-23; 6) animale cu OP+CMJ-26; 7) animale cu OP+CMJ-33; 8) animale cu OP+polizaharide sulfatate din spirulină (PSS). Toate substanțele, cu excepția remediei PSS, au fost diluate în sol. fiziologică ce conține 1% gelatină și apoi administrate i/m timp de 14 zile, doza zilnică constituind 0,1 mg/kilocorp pentru CMD-4, CMD-8, CMJ-23, CMJ-26 și CMJ-33. Remediu cianobacterian PSS a fost diluat în bulion de vită până la concentrația finală de 5% și administrat *per os* în doza de 50 mg/kg, timp de 14

zile. Animalelor din lotul martor și lotul cu OP în decursul a 14 zile li se injecta i/m soluție fiziologică ce conține 1% gelatină.

În a treia serie de experiențe activitatea biologică a compușilor menționați a fost evaluată în experiențe pe un lot de 33 șobolani albi masculi linia Wistar cu masa 160 – 180 g divizați în 5 loturi a câte 6-7 animale în fiecare: 1) martorul - 6 animale intacte; 2) animale, intoxicate cu ciclofosfan (CF) în doză 50 mg/kg, i/m de 2 ori pe săptămână pe parcursul a 14 zile; 3) animale intoxicate cu CF, supuse tratamentului cu PSS în doză 50 mg/kg; 4) animale intoxicate cu CF, supuse tratamentului cu PSS în doză 125 mg/kg; 5) animale intoxicate cu CF, supuse tratamentului cu remediul cianobacterian BioR-Ge timp de 14 zile, i/m doza zilnică constituind 0,1 mg/kilocorp.

Remediul cianobacterian PSS a fost diluat în buclion de vită până la concentrația finală de 5% și administrat *per os* în doză de 50 și 125 mg/kg timp de 14 zile.

Cercetarea a fost aprobată de Comitetul de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz din 20 iunie 2011).

Cercetarea metabolismului mineral în țesutul osos a fost apreciată prin dozarea nivelului de calciu, fosfați, magneziu, cupru și zinc.

Cercetarea țesuturilor mineralizate prezintă anumite dificultăți, de aceea tehnologia de pregătire a omogenatelor osoase a fost perfecționată în felul următor: oasele femurale au fost extrase, eliberate de țesuturile adiacente și înlăturată măduva osoasă prin spălări repetate cu soluție glaciară de 0,9% de NaCl. În continuare, oasele femurale au fost supuse triturării

în azot lichid până la starea de pulbere în piuliță de porțelan cu pisălog și cântărite pe balanța de torsion. În calitate de mediu de dispersare a fost folosită soluția de 15% acid tricloracetic, astfel ca concentrația finală a omogenatului să constituie 10%.

Determinarea compușilor minerali s-a efectuat în supernatantul obținut la centrifugarea omogenatului osos la 5000 tur/min timp de 10 min. Ulterior supernatantul obținut a fost transferat în eprubete Eppendorf și până la examinare păstrate în stare congelată la temperatura de -40°C.

Cantitatea de substanțe minerale - cupru, fosfați, zinc și cupru, a fost determinată conform procedeele descrise anterior [6, 11].

Toate procedeele de determinare a activității enzimelor și a conținutului de substanțe au fost executate după tehnici, adaptate pentru aplicarea la riderul hibrid multi-modal cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader) (BioTek Instruments, SUA).

Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului t-Student, precum și cel nonparametric „U” Mann-Witney cu ajutorul programului Stats Direct Statistical Softwear (StatsDirect Ltd, Marea Britanie).

Rezultate și discuții. Rezultatele de evaluare a influenței CBA autohtoni asupra metabolismului mineral în OP experimentală indusă de tetracolorura de carbon sunt reflectate în statistica tabelului 1.

Astfel, la animalele cu OP experimentală indusă de CCl_4 conținutul de calciu nu suferă modificări statistic veridice, nivelul de fosfați crește concludent ($p<0,05$), iar nivelul de cupru și zinc manifestă o tendință de scădere cu 8% - 13%. La utilizarea CBA

Tabelul 1

Influența CBA autohtoni asupra metabolismului mineral în țesutul osos (mM/g țesut) în OP experimentală indusă de tetracolorura de carbon

Grupurile de studiu	Calciu	Fosfați	Zinc	Cupru
Martor	4,60±0,14 (100%)	1,44±0,11 (100%)	2,26±0,08 (100%)	3,60±0,12 (100%)
CCl_4	4,68±0,14 (102%)	1,45±0,011* (102%)	1,97±0,33 (87%)	3,47±0,29 (92%)
CCl_4 +CMD-4	4,54±0,11 (99%)	1,45±0,13 (102%)	2,34±0,09 (104%)	3,62±0,25 (101%)
CCl_4 +CMD-8	4,48±0,13 # (97%)	1,46±0,14 (105%)	2,03±0,18 (90%)	3,50±0,26 (94%)
CCl_4 +CMJ-23	4,48±0,13 # (97%)	1,43±0,11# (98%)	2,48±0,08 (110%)	3,57±0,28 (98%)
CCl_4 +CMJ-33	4,54±0,15 (99%)	1,43±0,15 (98%)	2,27±0,15 (101%)	3,86±0,35 (116%)
CCl_4 +CMJ-26	4,62±0,12 (100%)	1,45±0,16 (102%)	2,36±0,15 (104%)	3,52±0,35 (95%)

Notă: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, $p<0,05$;

- diferență statistic semnificativă cu lotul- CCl_4 , $p<0,05$, ## - $p<0,01$.

autohtoni CMD-8 și CMJ-23 se constată o reducere veridică statistică a nivelului de calciu cu 4% ($p<0,05$), iar conținutul de fosfați este diminuat cu 2% ($p<0,05$) de către CMJ-23 comparativ cu animalele cu OP CCl_4 -indusă.

Administrarea medicației cu CBA cercetați nu a provocat schimbări statistice a conținutului de zinc și cupru în raport cu animalele cu OP.

Rezultatele de evaluare a influenței bioremediului PSS 50 în doză mg/kg și de 125 mg/kg asupra metabolismului mineral în OP experimentală indusă de tetraclorura de carbon sunt reflectate în statistica tabelului 2.

Astfel, la animalele intoxicate cu CCl_4 conținutul de calciu manifestă o tendință discretă de scădere cu 6%, pe când nivelul de fosfați, zinc și cupru se micșorează cu 14%, 39% și 42%, respectiv, dar fără relevanță statistică. Reducerea conținutului de minerale în lotul cu OP, denotă o demineralizare a țesutului osos în intoxicațiile cu CCl_4 . Sub influența bioremediului PSS 50 mg/kg, atât la animalele sănătoase, cât și la cele intoxicate cu CCl_4 , conținutul de calciu practic nu se modifică. Din datele expuse reiese, că la animalele cu OP experimentală conținutul de fosfați și cupru se menține la nivelul valorilor animalelor sănătoase. Totodată nivelul de calciu manifestă o tendință de creștere cu 10%, iar conținutul de zinc o tendință de scădere cu 15% față de valorile specificate în lotul martor. Medicația cu bioremediul PSS 125 mg/kg, atât la animalele sănătoase, cât și cele cu OP menține conținutul de minerale cercetate practic la nivelul animalelor cu OP.

În același timp medicația cu PSS conduce la menținerea conținutului de fosfați și zinc la parametrii de

referință la animalele sănătoase și redresarea până la același nivel a conținutului de fosfați și cupru la cele cu OP indusă de CCl_4 . Tratamentul cu bioremediul PSS 50 mg/kg s-a dovedit a fi eficient, deoarece acesta contribuie la restabilirea conținutului de minerale în țesutul osos afectat de OP.

Influența CBA autohtoni asupra metabolismului mineral în OP experimentală indusă de etilenglicol sunt reflectate în datele statistice din tabelul 3.

La animalele intoxicate cu etilenglicol se constată o reducere evidentă a conținutului de zinc și cupru cu 47% și 55%, respectiv, dar fără relevanță statistică. În același timp conținutul de calciu și fosfați se menține la nivelul indicilor atestați în lotul martor, atât la animalele intoxicate cu etilenglicol, cât și la cele supuse medicației cu CBA autohtoni. La administrarea tratamentului se remarcă o tendință de restabilire a nivelului de zinc sub influența bioremediului BioR-Ge și a compusului CMJ-23 și a conținutului de cupru la CMD-8 și CMJ-23. Tratamentul cu compușii BioR și CMD-4 reduc și mai pronunțat conținutul de zinc și cupru diminuat de OP EG-indusă, concentrația acestora constituind 32%-36% din nivelul relevat în lotul martor. Astfel, rezultatele investigațiilor efectuate ne permit să constatăm că tratamentul cu compușii BioR și CMD-4 nu reușește să normalizeze sau să amelioreze conținutul de zinc și cuprul în țesutul osos în OP, fapt ce poate fi apreciat drept dovadă a eficienței reduse a compușilor nominalizați privind restabilirea compoziției chimice a țesutului osos.

Rezultatele cercetării influenței bioremediilor de origine cianobacteriană PSS și BioR-Ge asupra compoziției minerale a țesutului osos la șobolanii cu OP

Tabelul 2

Influența CBA autohtoni asupra metabolismului mineral în țesutul osos (mM/g. țesut) în OP experimentală indusă de tetraclorura de carbon

Grupurile de studiu	Calciu, mM/g. țesut	Fosfați, mM/g. țesut	Zinc, μM/g. țesut	Cupru, μM/g. țesut
Martor	4,10±0,13 (100%)	1,45±0,12 (100%)	2,88±0,29 (100%)	3,81±0,20 (100%)
CCl_4	4,50±0,24 (110%)	1,45±0,13 (100%)	2,44±0,28 (85%)	3,71±0,22 (97%)
PSS, 50 mg/kg	2,48±0,29 (97%)	1,42±0,12 (98%)	2,94±0,35 (104%)	3,93±1,92 (103%)
PSS 125 mg/kg	4,60±0,29 (112%)	1,44±0,13 (99%)	2,33±0,16 (81%)	3,89±0,23 (102%)
CCl_4 +PSS, 50 mg/kg	4,30±0,34 (94%)	1,44±0,14 (99%)	2,16±0,25 (76%)	3,09±0,79 (97%)
CCl_4 +PSS 125 mg/kg	4,45±0,38 (108%)	1,43±0,12 (99%)	2,5±0,16 (87%)	3,77±0,10 (99%)

Notă: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, $p<0,05$;

- diferență statistic semnificativă cu lotul- CCl_4 , $p<0,05$, ## - $p<0,01$.

Tabelul 3

**Influența CBA autohtoni asupra metabolismului mineral în țesutul osos (mM/g. țesut)
în OP experimentală indusă cu etilenglicol**

Grupurile de studiu	Calciu	Fosfați	Zinc	Cupru
Martor	4,84±0,15 (100%)	1,43±0,12 (100%)	2,50±0,49 (100%)	4,90±0,36 (100%)
EG	4,70±0,16 (97%)	1,43±0,12 (100%)	1,32±0,28 (53%)	2,21±0,63 (45%)
EG+BioR	4,50±0,16 # (94%)	1,31±0,13 (92%)	0,80±0,16 (32%)	1,64±0,05 (34%)
EG+BioR-Ge	4,64±0,12 (96%)	1,40±0,11 (98%)	2,20±0,34 (88%)	2,66±0,65 (54%)
EG+CMD-4	4,52±0,15 (93%)	1,34±0,14 (94%)	0,89±0,23 (36%)	1,70±0,28 (35%)
EG+CMD-8	4,62±0,03 (96%)	1,43±0,02 (100%)	1,37±0,51 (55%)	4,28±0,98 (87%)
EG+CMJ-23	4,51±0,05 (94%)	0,135±0,12 (95%)	1,91±0,38 (76%)	5,52±0,79 (113%)

Notă: # - diferență statistic semnificativă cu lotul-EG, p<0,05.

- diferență statistic semnificativă cu lotul- CCl₄, p<0,05, ## - p<0,01.

experimentală indusă de ciclofosfan sunt reflectate în tabelul 4.

Ca și în cazul animalelor intoxicate cu etilenglicol, la cele intoxicate cu ciclofosfan, conținutul de calciu și fosfați practic rămâne la nivelul indicilor înregistrați în lotul martor. Medicația cu bioremediiile testate crește veridic conținutul de calciu, ce a devansat cu 14% - 17% nivelul atestat în lotul martor.

Totodată la animalele cu OP indusă de ciclofosfan conținutul de zinc scade cu 20%, iar nivelul de cupru sporește cu 22% în raport cu parametrii de referință. Utilizarea biopreparatului PSS 50 mg/kg a condus la restabilirea conținutului de zinc până la indicii animalelor sănătoase, iar bioremediile BioR-Ge și PSS 125 mg/kg reușesc să devanseze valorile lotului martor cu 18% (p<0,05) și 27% (p<0,05) respectiv.

Apatita din toate țesuturile mineralizate ale diferitor organisme vii denotă similitudini semnificative

ale compoziției, structurii și proprietăților. Una din proprietățile principale este rezistența importantă a compusului, care conferă duritate acestor țesuturi. Modificările patologice ale compoziției apatitei are repercusiuni severe asupra funcțiilor țesuturilor mineralizate [11].

Cercetările efectuate demonstrează, că în OP experimentală are loc o conservare relativă a conținutului elementelor minerale ce predomină cantitativ în apatită – a calciului și fosfaților, care se manifestă prin lipsa modificărilor semnificative ale concentrației acestor elemente în țesutul osos. Fenomenul nominalizat relevă, că în OE indusă prin administrarea de durată a CCl₄, apatita se caracterizează printr-o capacitate semnificativă de adaptare la acțiunea noxei orientată spre menținerea durității, rezistenței și a activității țesutului osos.

Modificările conținutului zincului și cuprului în

Tabelul 4

**Influența CBA autohtoni asupra metabolismului mineral în țesutul osos (mM/g. țesut)
în OP experimentală indusă de ciclofosfan**

Grupurile de studiu	Calciu	Fosfați	Zinc	Cupru
Martor	4,84±0,15 (100%)	1,43±0,12 (100%)	2,50±0,49 (100%)	4,90±0,36 (100%)
CF	4,90±0,13 (101%)	1,43±0,11 (100%)	1,99±0,53 (80%)	5,99±0,25 (122%)
CF+PSS, 50 mg/kg	5,60±0,16** ## (116%)	1,45±0,13 (105%)	2,59±0,67 (104%)	3,29±0,62 (67%)
CF+ PSS, 125 mg/kg	5,50±0,14* # (114%)	1,44±0,02 (102%)	3,17±0,65* (127%)	5,64±1,10 (115%)
CG+BioR-Ge	5,66±0,16** ## (117%)	1,42±0,14 (98%)	2,96±0,78* (118%)	6,48±0,81 (132%)

Notă: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, p<0,05; ** - p<0,01;

- diferență statistic semnificativă cu lotul-CF, p<0,05; ## - p<0,01.

formele de OP experimentală toxică studiate au fost mai puțin pronunțate. Ambele elemente minerale intervin în realizarea activității de către unele enzime importante ale țesutului osos (fosfataza alcalină, liziloxidaza etc.). În așa mod compușii facilitează echilibrarea proceselor de resorbție și formare osoasă din cadrul remodelării osoase, implicându-se în metabolismul matricei extracelulare și crearea condițiilor favorabile pentru mineralizarea ei [11]. Posibil, mai profund este afectată faza de formare osoasă, atât la etapa biosintezei matricei organice a țesutului, cât și la cea a mineralizării osteoidului.

Compoziția minerală a țesutului osos al animalelor cu OP experimentală se modifică la administrarea CBA studiați, în funcție factorul ce induce OP (CCl_4 , etilenglicol sau ciclofosfan), iar în cazul PSS și de doza administrată. Normalizarea nivelului substanțelor minerale în țesutul osos sub influența CBA relevă susținerea de către remediile studiate a reacțiilor adaptive orientate spre menținerea integrității țesutului.

Astfel, este cert că studiile CBA autohtoni necesită lărgire și aprofundare, pentru identificarea mecanismelor intime de implicare în remodelarea osoasă în condiții fiziologice și patologie, cu scopul aplicării lor în prevenția și tratamentul maladiilor osoase sau cu atingere osoasă.

Concluzii

1. În OP experimentală CCl_4 - indusă conținutul de fosfați crește veridic, iar nivelul de cupru și zinc manifestă o tendință de scădere cu 8% - 13%. Medicația cu CMD-8 și CMJ-23 reduce statistic veridic nivelul de calciu cu 4% ($p < 0,05$), iar CMJ-23 scade concentrația de fosfați cu 2% ($p < 0,05$) comparativ cu valorile stabilite la animalele cu OP, ceea ce relevă eficiența redusă a compușilor nominalizați în tratamentul OP. În același timp tratamentul cu bioremediul PSS 50 mg/kg s-a dovedit a fi mai eficient, deoarece acesta a determinat restabilirea conținutului de minerale în țesutul osos afectat de OP.

2. În OP indusă cu etilenglicol se constată o reducere a conținutului de zinc și cupru cu 47% și respectiv, cu 55%. Sub influența bioremediului BioR-Ge și a compusului CMJ-23 se remarcă o tendință de restabilire a nivelului de zinc, iar utilizarea CMD-8 și CMJ-23 conduce la normalizarea conținutului de cupru. Tratamentul cu compușii BioR și CMD-4 reduce și mai pronunțat conținutul de zinc și cupru, concentrația acestora constituind 32%-36% din nivelul relevant în lotul martor. Tratamentul cu BioR și CMD-4 nu reușește să normalizeze sau să amelioreze indicii metabolismului zincului și cuprului în țesutul osos, fapt ce poate fi apreciat drept dovadă a eficienței reduse a compușilor nominalizați privind restabilirea compoziției chimice a apatitei osoase.

3. În OP indusă de ciclofosfan conținutul de calciu și fosfați practic nu se modifică, conținutul de zinc scade cu 20%, iar nivelul de cupru crește cu 22% în raport cu parametrii de referință. Medicația cu PSS și BioR-Ge a induce o majorare a conținutului de calciu, ce a devansat cu 14% - 17% nivelul atestat în lotul martor. Utilizarea biopreparatului PSS 50 mg/kg a condus la normalizarea conținutului de zinc, iar bioremediile BioR-Ge și PSS 125 mg/kg reușesc să majoreze valorile acestui microelement cu 18% ($p < 0,05$) și, respectiv, 27% ($p < 0,05$).

Bibliografie

1. Addison W.N., Azari F., Sorensen E.S. et al. *Pyrophosphate inhibits mineralization of osteoblast cultures by binding to mineral, up-regulating osteopontin, and inhibiting alkaline phosphatase activity*. J. Biol. Chem. 2007. Vol. 282, nr. 21. P. 15872-15883.
2. Campos L.M.A., Liphaut B.L., Silva C.A.A. et al. *Osteoporosis in childhood and adolescence*. J de Pediatría. 2003. Vol.79, nr.6. P.481-488.
3. Compston J.E. *Treatments for Osteoporosis – Looking beyond the horizon*. N. Engl. J. Med. 2007. Vol. 356. P. 1878-1880.
4. Dollwet, H. H., Sorenson, J. R. *Roles of copper in bone maintenance and healing*. Biological Trace Element Research. 1988. Vol. 18. P. 39-48.
5. Gudumac V., Tagadiuc O., Andronache L. *Rolul și importanța științelor fundamentale în determinarea vârstei biologice și elaborarea programelor de prelungire a duratei vieții umane*. Bioetica, filosofia și medicina în strategia de asigurare a securității umane. Materialele conferinței a XIV Științifice Internaționale. 2009, pp. 99-102.
6. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V. et al. *Investigații biochimice. Elaborare metodică. Micro-metode. Vol.II*. Ch.: Elena V. I. SRL, 2010, 104 p.
7. Gulea A., V.I. Tsapkov, D. Poirier, C. Arucsandei, E. Pahonțu, *Sulfanylcontaining copper (II) internal complexes with 2-[(2-hydroxifenilamino)-METHYL]-FENOL AND 1-[(2-hydroxifenilamino)-METHYL]-NAFTALENE-2-OL*; Russian Journal of General Chemistry, vol. 40, 3 (2010) 212.
8. Nussler A.K., Wildemann B., Freude T., et al. *Chronic CCl_4 intoxication causes liver and bone damage similar to the human pathology of hepatic osteodystrophy: a mouse model to analyse the liver-bone axis*. Arch.Toxicol. 2014.apr;88(4):997-1006.
9. Raisz L.G. *Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects*. J. Clin. Invest. – 2005. Vol. 115. P. 3318-3325.
10. Rudic V. *BioR – studii biomedicale și clinice*. Chișinău, 2007. 376 p.
11. Tagadiuc O. *Biochimia țesutului osos – aspecte metabolice în normă și patologii*. Chișinău, Elena VI SRL, 2011, 160 p.
12. Tsapkov VI, Prisacar VI, Buracheva SA, Lazakovich DV, Gulya AP, *Synthesis and antimicrobial activity of sulfazine-containing copper(II) coordination compounds*

with substituted salicylaldehydebzoylhydrazones. Pharm. Chem. J., 2008,42, 523-526.

13. Tennant I., Crawford-Sykes A., Ward L., Thesiger C – *Ethylene glycol poisoning following ingestion of brake fluid*, West Indian Med. J. 2006;55(4):286-7.

14. Прохончуков А.А., Жижин Н.А., Тигранян Р.А. *Гомеостаз костной ткани в норме и при экстремальном воздействии*. В «Проблемы космической биологии», под ред. Уголева А.М. Москва. Наука. 1984. Том 49. С. 14-63.