

UNIVERSITATEA “ POLITEHNICA“ DIN TIMIȘOARA

FACULTATEA DE CHIMIE INDUSTRIALĂ ȘI INGINERIA MEDIULUI

Ing. Pup Mihaela

TEZĂ DE DOCTORAT

Efecte dishomeostazice induse de microelemente metalice

**Conducător științific :
Prof. Dr. Gârban Zeno**

2006

UNIV. “POLITEHNICA”	
TIMIȘOARA	
BIBLIOTECA CENTRALĂ	
Nr. volum	39.183
Dulap	369 Lit. 7

CUPRINS

	pag.
Prefață-----	1
Introducere-----	3
1. Metale în biochimia anorganică: biodisponibilitate, interrelații metabolice-----	5
1.1. Considerații generale-----	5
1.2. Biodisponibilitatea - particularizare pentru bioelemente și elemente cu potențial toxicigen-----	22
1.2.1 Conceptul de biodisponibilitate. Aplicații în nutriție, farmacologie și toxicologie-----	22
1.2.2. Variabilele biodisponibilității-----	28
1.2.2.1. Variabile intrinseci- fiziologice-----	29
1.2.2.2. Variabile extrinseci- nutriționale-----	29
1.2.3. Compușii minerali și biodisponibilitatea-----	31
1.3. Sinergismul și antagonismul în relația bioelemente-organism-----	34
1.3.1. Sinergismul și antagonismul la macrobioelemente și oligobioelemente-----	34
1.3.2. Sinergismul și antagonismul la microelemente-----	41
Caracteristici ale interacțiilor specifice elementelor metalice luate în studiu : Zn, Mn, Al-----	53
2.1. Considerații generale-----	53
2.2. Zincul-----	54
2.2.1. Prezentare sinoptică-----	54
2.2.1.1. Proprietăți fizico- chimice generale-----	55
2.2.1.2. Surse de expunere-----	55
2.2.2. Zincul în sistemele biologice-----	56
2.2.3. Efectele zincului asupra plantelor și animalelor-----	57
2.2.4. Efectele zincului asupra organismului uman-----	59
2.3. Manganul-----	62
2.3.1. Prezentare sinoptică-----	62
2.3.1.1. Proprietăți fizico- chimice generale -----	62
2.3.1.2. Surse de expunere la mangan-----	62
2.3.2. Manganul în sistemele biologice-----	64
2.3.3. Efectele manganului asupra plantelor și animalelor-----	65
2.3.4. Efectele manganului asupra organismului uman-----	67
2.4. Aluminiul-----	70
2.4.1. Prezentare sinoptică-----	70

2.4.1.1. Proprietăți fizico- chimice generale-----	70
2.4.1.2. Surse de expunere-----	71
2.4.2. Alumiul în sistemele biologice-----	74
2.4.3. Efectele alumiului asupra plantelor și animalelor-----	79
2.4.4. Efectele alumiului asupra organismului uman-----	81
3. Contribuții la investigarea acțiunii zincului și manganului asupra homeostaziei biochimice a unor bioelemente la animale de laborator-----	86
3.1. Caracteristici ale modelului experimental pentru investigația biochimică-----	86
3.2. Principii metodologice de interes biologic și analitic-----	90
3.2.1. Prelevarea probelor-----	90
3.2.2. Analiza prin S.A.A.-----	90
3.2.3. Interpretarea statistică a datelor-----	91
3.3. Efectul zincului asupra homeostaziei biochimice tisulare-----	92
3.3.1. Efectul asupra mușchilor-----	93
3.3.2. Efectul asupra ficatului-----	96
3.3.3. Efectul asupra creierului-----	100
3.4. Efectul manganului asupra homeostaziei biochimice tisulare-----	103
3.4.1. Efectul asupra mușchilor-----	103
3.4.2. Efectul asupra ficatului-----	106
3.4.3. Efectul asupra creierului-----	110
3.5. Analiza comparativă a efectelor produse de administrarea în exces de mangan și de zinc, în diferite organe-----	114
4. Contribuții la investigarea acțiunii alumiului asupra homeostaziei biochimice la leporide-----	115
4.1. Modelul experimental pentru investigații biochimice cu asocieri de factori-----	116
4.2. Investigarea analitică a metaboliților-----	118
4.2.1. Metode de dozare a unor metaboliți sanguini-----	118
4.2.2. Metode de dozare a metalelor din organe-----	120
4.2.3. Interpretarea statistică a datelor-----	121
4.3. Efectele alumiului asupra homeostaziei biochimice sanguine și tisulare-----	122
4.3.1. Efectul alumiului asupra sângelui-----	123
4.3.1.1. Bioelemente metalice-----	123
4.3.1.2. Metaboliți lipidici-----	130
4.3.1.3. Metaboliți protidici și glucidici-----	135
4.3.1.4. Metaboliți din clasa enzimelor (proteinelor-enzime)-----	137
4.3.1.5. Investigații hematologice-----	140
4.3.2. Efectele alumiului asupra unor formațiuni ale sistemului locomotor-----	145

4.3.2.1. Distribuția în oase-----	145
4.3.2.2. Distribuția în mușchiul striat-----	152
4.3.3. Efectele aluminiului asupra unor organe din sistemul circulator-----	156
4.5.4.1. Distribuția în cord-----	156
4.5.4.2. Distribuția în splină-----	160
4.3.4. Efecte aluminiului asupra rinichiului-----	165
4.3.5. Efecte aluminiului asupra creierului-----	171
4.3.6. Efecte aluminiului asupra ficatului-----	177
4.3.7. Efecte aluminiului asupra pulmonului-----	183
4.4. Studiul comparativ al efectelor produse de administrarea de aluminiu	
la diferite organe studiate-----	187
Concluzii-----	198
Bibliografie-----	206

PREFAȚĂ

Cercetarea experimentală a efectelor induse de metale asupra organismului cu evidențierea modificărilor homeostaziei biochimice suscită interes sub aspect teoretic (biochimie, patobiochimie, fiziologie etc.) și aplicativ (nutriție, farmacologie, patologie etc.). Rolul micronutrienților în nutriția umană este o problemă binecunoscută atât specialiștilor cât și persoanelor interesate de statusul nutrițional și menținerea sănătății. Un exemplu curent este acela al utilizării micronutrienților minerali sub formă de suplimente alimentare cu calciu, magneziu sau cu mixturi de oligoelemente (cum ar fi Zn, Cu, Mn, Fe etc.). De asemenea, metalele sub forma compușilor organici sau anorganici se regăsesc în unele medicamente chimioterapice, interesând farmacologia și terapeuica.

Homeostazia biochimică asigură constanța relativă a mediului intern, fiind o consecință a echilibrului dinamic dintre acțiunea factorilor externi și interni. Această stare de variație în limite foarte înguste, a valorilor unui factor intern (bioconstituent metabolic) se realizează în condițiile în care același factor extern (nutrient) se modifică în limite destul de largi în mediul extern. Acest fapt este valabil pentru toate metabolismele materiale (glucidic, lipidic, protidic și hidro-electrolitic).

În general, se poate afirma că stabilitatea mediului intern - menținută prin procese de reglare (autoeglare) - este tributară unor mecanisme « programate genetic », sau poate fi dobândită în cursul vieții, fapt datorat așa numitei « autoreglări adaptative ».

Dishomeostazia biochimică a compușilor biominerali – în speță a metalelor - se integrează problematicii metabolismului hidro-electrolitic. Din aceste motive, din punct de vedere biochimic, fiziologic și fiziopatologic, farmacologic și chiar toxicologic, Atenția este reținută de: aportul exogen (deficitar sau excedentar), procesele de metabolizare a nutrienților și biotransformare a xenobioticelor chimice, retenția, eliminarea (sau acumularea) în timp a bioelementelor și/sau a elementelor cu potențial toxicogen.

În prezenta teză de doctorat s-a abordat problema relației doză - efect pentru explicarea modului de acțiune al zincului, manganului, aluminiului în raport cu alte elemente metalice în diferite țesuturi la animale de experiență. A fost evidențiată dishomeostazia biochimică produsă în condiții de supradozare.

Teza de doctorat cu titlul “Efecte dishomeostazice induse de microelemente metalice” a fost efectuată sub îndrumarea Prof. Dr. Zeno Gârban în calitate de conducător științific de doctorat în domeniul chimie – științe exacte (specializarea biochimie), căruia îi mulțumesc pentru cunoștințele împărtășite cu generozitate. În teză se prezintă date asupra unor cercetări experimentale de biochimie și xenobiochimie. În acest sens se reiterează faptul că biochimia abordează predilect problema bioconstituenților și metabolizarea acestora pe „căi biochimice naturale”, iar xenobiochimia abordează problema xenobioticelor și biotransformarea acestora pe „căi biochimice specifice”.

Cercetările experimentale privind efectele supradozării biometalelor Zn și Mn asupra animalelor de experiență s-au făcut în laboratorul disciplinei de Biochimie-Biologie moleculară de la Facultatea de

Tehnologia Produselor Agroalimentare, a Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului (S.A.M.V.B.) Timișoara. Am cooperat cu colegii de la disciplină Șef lucr.Dr.Ing. Ahmadi-Vincu Mirela, Asist.Drd. Velciov Ariana-Bianca la efectuarea experimentelor, prelevarea probelor etc.

Într-o etapă următoare, au fost întreprinse cercetări experimentale privind acțiunea unui metal cu potențial toxicogen - Al, efectuate asupra iepurilor de casă dintr-o crescătorie privată. Experimentele au fost efectuate în colaborare cu Conf. Dr. Ing. Dorel Dronca de la Facultatea de Zootehnie și Biotehnologii a Universității „S.A.M.V.B.” Timișoara.

Analiza probelor de țesut prelevate de la animale după disecție, s-a făcut în Laboratorul de calitate al „R.A. Aquatim” - Timișoara, prin bunăvoința directorului general Conf. Dr. Ing. Ilie Vlaicu.

Evaluarea statistică a datelor experimentale, asistată de calculator, a urmărit stabilirea mediilor, deviațiilor standard și testului t. În acest scop am colaborat și cu Prof. Dr. Ilie Julean de la Facultatea de Chimie și Ingineria Mediului a Universității „Polithnica” Timișoara și Conf.Dr. Elena Brudiu de la Facultatea de Medicină Veterinară a Universității „S.A.M.V.B.” Timișoara.

Rezultatele experimentale au făcut obiectul unor lucrări științifice publicate în periodice și volumele unor manifestări științifice naționale și internaționale. Publicarea s-a făcut împreună cu colegii din cadrul Universității „Politehnica” Timișoara și a Universității „S.A.M.V.B.” Timișoara.

Tuturor cadrelor didactice și colegilor care au acordat sprijin în diverse etape ale cercetărilor experimentale și au colaborat la elaborarea lucrărilor, adresez mulțumiri, aleasă considerație și sentimentul de grațitudine.

INTRODUCERE

În compoziția materiei vii a fost decelată prezența, în condiții naturale, a unui număr de 52 de elemente, din totalul de 109 elemente cunoscute la ora actuală. Dintre acestea, în organismele vii din regnul vegetal și animal se află 25 elemente esențiale, denumite cu un termen generic „bioelemente”. O parte din acestea sunt reprezentate de biometale. Între biometale se includ și unele metale tranzitionale care intervin în menținerea statusului morfofiziologic al sistemelor biologice.

Din punctul de vedere al biochimiei și fiziologiei este important a avea în vedere rolul metalelor în menținerea <<homeostaziei biochimice>> a organismelor. Homeostazia, alături de cronobiochimie și homeorezie sunt atribute specifice materiei vii, interesând deopotrivă materia vie acelulară (virusuri) și materia vie structurată celular (organisme procariote și eucariote). În acest cadru metalele și, în general, compușii biominerali constituie obiectul de studiu al biochimiei, fiziologiei, morfologiei. În condiții normale homeostazia este asigurată de două efecte: reglarea (autoreglarea) homeostazică și echilibrul homeostazic.

Perturbarea homeostaziei biochimice conduce la modificări ce pornesc de la nivel molecular și conduc spre nivelele celular, tisular, de organ și în final afectează întregul organism. În aceste circumstanțe se urmăresc modificările metaboliților ca expresie a <<dishomeostaziei biochimice>>, acestea interesând patologia biochimică (patobiochimia), fiziologia și fiziopatologia, respectiv morfologia și morfopatologia.

Compușii biominerali, în speță, și metalele, contribuie la: procesele de morfogenează ca și bioconstituenți ai diverselor țesuturi; desfășurarea interacțiilor metabolice ca și activatori sau ca și inhibitori ai reacțiilor; constituirea sistemelor tampon din mediile lichidiene (îndeosebi din sânge); biogeneza unor efectori biochimici (spre exemplu Co în vitamina B₁₂, iodul în hormonii tiroidieni, zincul în anhidraza carbonică); realizarea sistemelor bioelectrice implicate în tranzitul transmembranal (pompa Na-K, pompa Ca-Mg); menținerea în limite fiziologice a presiunii osmotice, coloid-omotice (oncotice) și echilibrului acido-bazic.

În domeniul chimiei biologice se studiază problema „compușilor biominerali” existenți în organismul omului, a animalelor și în general în materia vie. În conexiune cu aceasta se studiază și problema „compușilor minerali” prezenți în produsele alimentare de origine vegetală și animală sau în produsele farmaceutice (de extracție sau de sinteză). Acestea prezintă importanță pentru faptul că sunt utilizate ca alimente sau administrate ca medicamente. În aceste circumstanțe acced în organism unde se constituie în compuși biominerali. Alături de alimente și produse chimioterapice, pentru biochimie este importantă și cunoașterea prezenței metalelor (mai exact a biometalelor și metalelor cu potențial toxicogen) în mediul ambiant realizându-se astfel legătura cu ecologia. În acest sens se menționează faptul că, uneori condiționat de sol și apă, există circumstanțe în care biometalele, prin exces, se pot constitui în factori patogeni uneori pentru organism.

Se poate remarca faptul că, în cazul compușilor metalici efectele dishomeostaziei pot fi induse atât de biometale, îndeosebi în cazul prezenței în exces (condiționat de arealul geografic, de contaminarea antropogenă - în special în zonele cu industrie a metalelor neferoase și chiar de administrarea unor medicamente chimioterapice) cât și de metalele cu potențial toxicogen (având aceeași condiționare ca și precedentele).

Cu privire la metalele prezente în organism provenind din micronutrienții existenți în alimente sau din mediul ambient se menționează faptul că în organismul animalelor și omului studiile au evidențiat existența unor „căi biochimice naturale” în cazul biometalelor și de „căi biochimice specifice” în cazul metalelor cu potențial toxicogen. Metabolizarea nutrienților și biotransformarea xenobioticelor se bazează pe mecanisme homeostazice și homeorezice. În cazul biometalelor, este important ca acestea să fie disponibile în caz de necesitate, dar să nu se producă acumulări care duc la manifestarea proprietăților toxice. Pentru evaluarea statusului homeostaziei biochimice a metalelor, se procedează la identificarea bioconstituenților implicați în interacții, a mecanismelor de reglare, cunoașterea specificității metalelor, a topobiochimiei (spre exemplu Cu prezent predilect în ficat, Fe predilect în sânge, etc.) și modalităților de transfer la nivel molecular în materia vie.

Teza de doctorat “Efecte dishomeostazice induse de microelemente metalice” este structurată în două secțiuni: prima secțiune include aspecte monografice privind metalele în chimia bioanorganică și caracteristicile biochimice ale metalelor luate în studiu. Secunda secțiune cuprinde date analitice experimentale referitoare la două bioelemente metalice (Zn și Mn) și la un element metalic cu potențial toxicogen (Al).

Prima secțiune, constituită din Cap.1 și Cap.2 prezintă date generale referitoare la biochimia anorganică, biodisponibilitate, sinergism și antagonism, precum și principalele caracteristici ale interacțiilor biochimice specifice metalelor luate în studiu, în relație cu distribuția în sistemele biologice și efectele induse etc.

Secunda secțiune include, de asemenea, două capitole. În Cap.3 se prezintă date ale cercetărilor întreprinse pe animale de laborator (șobolani linia Wistar) asupra biometalelor Zn și Mn în relație cu homeostazia biochimică tisulară. În Cap.4 se expun cercetări efectuate asupra unui metal cu potențial toxicogen (Al) utilizând, de asemenea, un model experimental animal (leporide). Aceste animale sunt utilizate atât în experimente (biochimie, fiziologie, farmacologie, nutriție etc.), cât și pentru consum alimentar. În cazul acestora s-au studiat aspecte ale homeostaziei biochimice sanguine și tisulare.

Problemele referitoare la metodologia analitică, evaluarea statistică a rezultatelor, particularitățile dishomeostaziei pentru fiecare din metalele luate în studiu, caracterul predictiv al rezultatelor experimentale etc. sunt prezentate detaliat în cadrul tezei.

1. METALE ÎN BIOCHIMIA ANORGANICĂ: BIODISPONIBILITATE, INTERRELAȚII METABOLICE

1.1. CONSIDERAȚII GENERALE

În domeniul chimiei bioanorganice (biochimiei anorganice) sunt aplicate principiile chimiei anorganice, organice și ale biochimiei, în studiul interacțiilor specifice metalelor în sistemele biologice. Chimia biologică și în particular chimia bioanorganică este un domeniu intermultidisciplinar. Cercetătorii din acest domeniu aplică metode de investigație specifice din variate domenii de cercetare, cum sunt: spectroscopia, genetica, biologia moleculară, etc.

Metalele tranziționale joacă un rol esențial în sistemele biologice, însă trebuie avut în vedere și potențialul toxicogen al acestora. Pentru a putea utiliza metalele sistemele biologice, organismele au dezvoltat căi biochimice specifice pentru intrarea acestora în mediul celular, transferul în interiorul celulei, stocarea, detoxifierea, excreția. Aceste căi biochimice, fin reglate, se bazează pe mecanisme homeostazice și homeorezice astfel încât metalele esențiale să fie disponibile în caz de necesitate, dar să nu se producă acumulări care duc la manifestarea proprietăților toxice ale acestora. Înțelegerea homeostaziei biochimice a metalelor, necesită identificarea bioconstituenților organici (lipide, protide, glucide) implicați în interacții, a mecanismelor de reglare, cunoașterea specificității metalelor și modalităților de transfer la nivel celular (Eichhorn 1973; Moller , 2000).

Pentru a face o prezentare a metalelor care intervin în mediile biologice trebuie înțeles felul în care acestea acced în organism din mediul înconjurător, deoarece, plantele, animalele și omul reprezintă segmente ale lanțului trofic în procesul de translocare. În acest cadru micronutrienții metalici din alimentație pot avea repercursiuni biomedicale și/sau economice.

Sursa principală de metale este reprezentată de sol și apă. Metalele au o distribuție ubicuitară în litosferă și hidrosferă, unde sunt neomogene și în forme chimice diferite. Crusta terestră a evoluat continuu de când Terra s-a format acum aproximativ 4,5 milioane de ani. Metalele și alte elemente pătrund continuu din litosferă (ca rezultat al proceselor geologice) în hidrosferă, atmosferă și biosferă. Dintre procesele geologice care realizează această distribuție, cele mai importante sunt două și anume: acela care aduce metalele la suprafața crustei din interiorul pământului și acela care determină redistribuirea metalelor în mediul înconjurător. În mediul înconjurător, toate elementele cuprinse în sistemul periodic al elementelor sunt prezente în diferite concentrații. Acestea sunt concentrate în

minerale, vegetale și animale și efectele lor benefice sau dăunătoare sunt prezente de la începutul evoluției. Este foarte important să se facă diferența între sursele naturale și efectele activității antropogenice la acumularea unui metal în biosferă. De asemenea este important a se cunoaște specificul activităților (e.g. industrie, agricultură, etc.) prin care se contribuie la acest proces. Trebuie să știm de asemenea că natura însăși este un poluator (Selinus et al., 2004).

Un domeniu interdisciplinar care a luat amploare în ultimul timp, geologia medicală, este preocupat de relația între factorii geologici naturali și sănătatea animalelor și omului. În acest sens se urmărește înțelegerea modului în care factorii de mediu determină distribuția geografică a problemelor de sănătate. Relația dintre roci, minerale și sănătatea omului este cunoscută de secole. De fapt texte vechi din China, Egipt, Grecia, Islam, etc., descriu multe din binefacerile mineralelor și rocilor și de asemenea descriu multe din problemele de sănătate pe care acestea le pot genera (Selinus et al., 2004).

Compoziția sistemelor vii este asigurată de 52 de elemente din totalul de 109 elemente din sistemul periodic, cunoscute la ora actuală. Dintre acestea, în mod curent în organismele vii vegetale și animale apar ca esențiale 25 elemente, denumite și bioelemente (Ghizdavu, 2000).

Schema generală privind căile de pătrundere a elementelor minerale în organism este prezentată în figura 1.1.

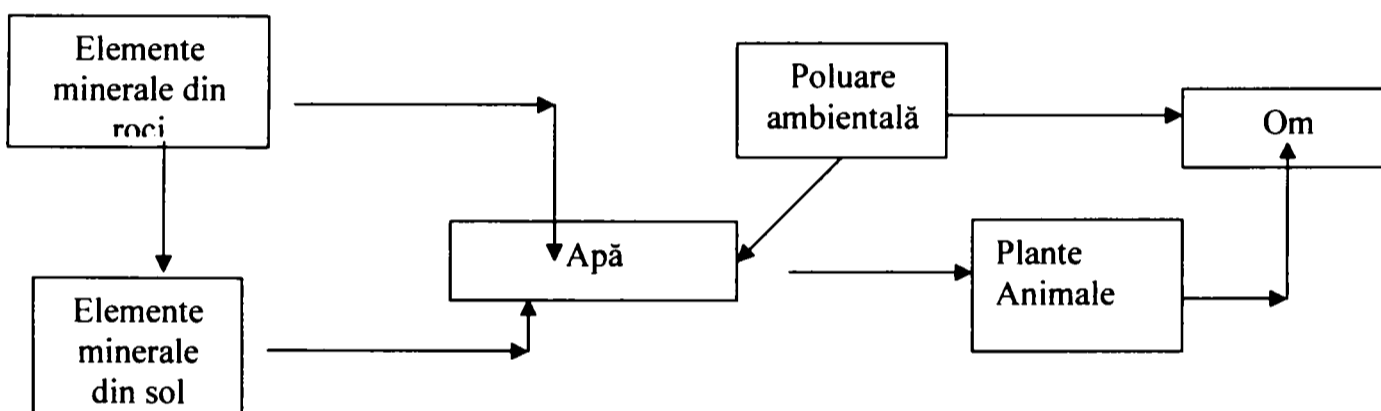


Figura 1-1. Accederea elementelor minerale în organism (schemă generală)

Pe parcursul translocării compușilor anorganici în țesuturile vegetale, animale și în organismul uman, proces care durează de câteva milioane de ani, majoritatea acestor substanțe au devenit bioconstituenți sau efectori biochimici (activatori/inhibitori) ai proteinelor, enzimelor, hormonilor sau a altor componenți esențiali ai organismului. În consecință, deficiența sau excesul acestora în aport, trebuie să fie luate în considerație cu mare atenție (Anke, 2004 - citat de Merian et al., 2004).

Regulile care guvernează formarea moleculelor biologice sunt bine cunoscute și sunt respectate, indiferent că este prezent sau nu un ion metalic. În majoritatea compușilor bioanorganici, ionii metalici se leagă de molecula biologică prin formare de compuși complecși coordinativi (Ghizdavu, 2000). În tabelul

1-1 se prezintă câteva caracteristici generale ale complexșilor ionilor metalici prezenți în sistemele biologice:

Tabel 1-1. Caracteristici generale ale complexșilor ionilor metalici prezenți în sistemele biologice (după Ghizdavu, 2000)

Caracteristici	Na, K	Mg, Ca	Zn, Ni	Fe, Cu, Co, Mo, Mn
Stare de oxidare predominantă	1+	2+	2+	Mai mult decât o stare de oxidare
Stabilitatea complexșilor	Foarte scăzută	Scăzută sau medie	Mare	Mare dar medie pentru Mn, Fe
Atomi donori preferați	Oxigen	Oxigen	Sulf sau azot	Azot sau sulf, oxigen în special în unii complexși ai Fe, Mn
Mobilitatea în mediu biologic	Foarte mobil	Semi-mobil	Ni-static Zn- uzual static	Static (semimobil în cazurile Mn și Fe)

Reacțiile selective, de obicei de complexare prin care plantele își iau biometalele din sol, le stochează și apoi le transferă în regnul animal pentru ca în final ele să fie preluate de către om (Ghizdavu 2000), presupun separarea, fixarea și transportul de către plante a unui ion metalic M^{n+} din mediul înconjurător care decurge după o schemă, din care reiese faptul că selectarea, respectiv încorporarea unui anumit metal M, este determinată de stabilitatea complexșilor ML_1 , ML_2 formați cu liganzii L. Cu cât constanta de stabilitate a unui complex de tip ML este mai mare, cu atât metalul va fi mai bine legat de ligandul biologic. În general, metalele (legate în metaloproteine) au în sistemele biologice următoarele funcții: transportul oxigenului, transferul de electroni, rol structural. Reacțiile la care participă diverse biometale sunt: reacții acido-bazice, reacții cu transfer de electroni, redox catalizate, de coordinare. În tabelul 1-2 se prezintă reacțiile metalelor cu moleculele biologice, în funcție de tipul metalului.

Tabel 1-2. Tipuri de reacții ale metalelor cu moleculele biologice

Specificare	Activitate biologică
Metale alcaline	Neutralizare de sarcină, stabilizare structurală
Metale alcalino-pământoase	Mesageri, activatori ai enzimelor, reglare structurală
Metale tranziționale	Transfer de electroni, redox catalizate, coordinare la biomolecule

Compoziția mediului natural este foarte importantă pentru sănătatea umană iar distribuția, mobilizarea și interacțiile elementelor constituie un subiect important. Una din problemele importante de mediu la ora actuală este, mai ales în țările puternic industrializate, acidificarea în arealul habitual a solului, apei și atmosferei. Concentrația metalelor din stratul superficial al litosferei se schimbă ca urmare a mobilizării acestora în urma acidificării. Elementele minerale cele mai ușor mobilizabile sunt: calciu, magneziu, mangan, aluminiu, nichel, zinc, cadmiu, mercur, plumb și cupru. Când capacitatea de neutralizare exercitată de sol este depășită, ploile acide pot cauza destabilizarea balanței microelementelor în plante și prin acestea, la animalele ierbivore. Există elemente care în condiții acide devin mai puțin solubile, acestea fiind seleniul, fosforul și molibdenul. Preluarea din plante a elementelor minerale în aceste condiții poate duce la modificarea balanței minerale a organelor și țesuturilor animale. Acidificarea surselor de apă poate constitui un risc pentru sănătatea omului, mărind dizolvarea metalelor din solurile și sedimentele cu care vin în contact, pătrunzând ușor pe cale digestivă în corpul animalelor și omului, afectând culturile când este folosită la irigații (Merian et al., 2004). În accepția biologilor, distribuția elementelor chimice în sistemele biologice și esențialitatea lor pentru aceste sisteme este redată sugestiv în figura 1-2 (după Markert, 1994 - citat de Merian et al., 2004).

C		N		Cl		Ca		Fe		Ti		Ce		Nd		Sm
	O		P		Si		K		Al		La		Pr		Pm	
H		S		Br		Mg		Sc		Y		Gd		Dy		Fr
			I		Sr		Cs		V		Eu		Tb		Ho	
					Li,Rb,Be,Ba			Co		Mo		Se,Sn		Tm		
					F,I			Cr				Ge,Te	Actinide		Yb	
				Na												Ra,Po
								Mn	Ni	Cu	Zn	Pt,Au,Ag				
												Nb,Hf,Ta,W, Zr,Re				
														Gaze nobile		

Figura 1-2. Sistemul biologic al elementelor (după Markert, 1994 - citat de Merian et al., 2004)

- Esențiale pentru plante și animale
- Nu li s-a dovedit funcția esențială până în prezent
- Esențial doar pentru animale
- Esențial doar pentru câteva plante și animale
- Esențial doar pentru plante

Există 11 elemente care sunt necesare în cantități mici în organism (trace elements) pentru creștere, dezvoltare și menținerea stării de sănătate. Acestea sunt active prin cinci atribute principale (Flynn, 2004; Ash, 2004) bazate pe:

a) cofactor catalitic pentru reacții enzimatiche: multe reacții necesită un microelement ca și cofactor catalitic. De exemplu: zincul este necesar în mai mult de 200 de reacții, inclusiv reacții de biosinteză a acizilor nucleici și proteinelor.

b) existența ca și centrii de oxidare/reducere în căile respiratorii : câțiva ioni metalici, în special fier, cupru, și mangan care sunt implicați în metabolismul energetic al celulei. Fierul este implicat în transportul electronilor care în final transformă oxigenul în apă. Cuprul participă în transportul electronilor dar și în biosinteza constituenților chimici din fibrele nervilor și în formarea colagenului.

c) legarea de oxigen și transportul acestuia : oxigenul este transportat de eritrocitelor sângelui de la plămâni legat în hemoglobină (care conține fier). Oxigenul este eliberat în țesuturi unde este preluat de proteine, mioglobina, înainte de a accepta electroni și protoni pentru a forma apa.

d) reglare metabolică: fierul, cuprul și zincul pot regla activitatea de sinteză a proteinelor și acizilor nucleici. Un răspuns imunitar potrivit impune de asemenea prezența acestor elemente.

e) părți constituente în structura proteinelor și acizilor nucleici (DNA, RNA): arhitectura tridimensională a proteinelor și acizilor nucleici depinde de zinc și magneziu precum și de fier și cupru. Aceste metale leagă și mențin molecule mari în configurație activă, exemplu: necesitatea zincului pentru activitatea papilelor gustative de pe limbă. Fără zinc (legat de proteine) gustul și mirosul se pierd. Iodul este încorporat de aminoacizi care formează hormonii tiroidieni.

În organismele vii, principalii cationi sunt furnizați de numai patru elemente puternic electropozitive din grupele principale I și II ale sistemului periodic: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , iar principalii anioni sunt: Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} . Cationii împreună cu anionii, mențin neutralitatea electrică a fluidelor și celulelor organismului .

Alt grup de metale strict necesare vieții aparțin metalelor tranziționale prezente în cantități foarte mici, în urme. În concentrații mari sunt toxice. Ionii acestor elemente au o tendință mare de a forma combinații complexe cu liganzi sau grupe moleculare de tipul celor existente în catenele laterale ale proteinelor. Un număr important de metale de exemplu : Zn, Cu, Mn, Mo, Co, Cr, Fe, V sunt constituenți

ai enzimelor, formând metaloenzime. Alți ioni sunt activatori pentru enzime, participând la o varietate largă de procese metabolice. Unele elemente ca Be, Y, Cr, Ni, Cu, Ag, Au, Zn, Cd, Hg, As, Se, Pb, au o acțiune carcinogenetică (Popa, 2004).

În organism, după Venchikov (1974), microelementele acționează în trei zone: zona de acțiune biologică (unitați sau zeci de micrograme) concretizată prin intensificarea proceselor bioenergetice și de răspuns protector al organismului; zona de acțiune farmacotoxicologică - în care elementele în doze mari, produc efecte iritative sau depresive asupra organismului și zona inactivă (zeci sau sute de micrograme) receptată ca o zonă de tranziție între celelalte două, în care efectele oligoelementelor sunt neînsemnate sau absente. Același autor prezintă o sinteză a modului de acțiune și rolului fiecărui mineral :

- cu acțiune biologică necesară menținerii unei bune stări de sănătate ca nutrienți uzuali sau în suplimente alimentare ;
- cu acțiune farmacologică atunci când se utilizează în medicamente chimioterapice în tratarea unor anumite deficiențe minerale (dismineraloze) ;
- cu acțiune toxicologică, cazul în care aportul de mineral depășește necesarul biochimic pentru organismul respectiv.

Cu referire la compușii minerali s-au elaborat diferite clasificări și anume :

- 1) În 1962, Schweigart propune următoarea clasificarea substanțelor minerale
 - a) Minerale principale (constituente)
 - b) Minerale integrative (esențiale)
 - c) Minerale facultative (parțial esențiale sau benefice)
 - d) Minerale indiferente (sau negative)

2) După Ghergariu (1980) clasificarea este:

- a) Macrominerale: calciul, fosforul, carbonul;
- b) Oligominerale:
 - esențiale: vanadiul, cromul, manganul, fierul, cobaltul, nichelul, cuprul, molibdenul, zincul, siliciul, staniul, arsenul, seleniul, fluorul, iodul;
 - neesențiale: plumbul, siliciul, germaniul, etc.
 - toxice: plumbul, cadmiul, mercurul.

3) În funcție de rolul biologic și de concentrația în sistemele vii, bioelementele se clasifică în trei categorii (după criteriile OMS, 1997):

- elemente esențiale majore
 - esențiale în urme
 - elemente posibil esențiale în urme
- a) Elementele esențiale majore- ocupă 99,9% din compoziția sistemelor vii și sunt:
 - de tip nemetale și stau la baza edificiului molecular al materiei vii, 7 elemente: H, C, O, N, P, S, Cl;

- metale alcaline și alcalino-pamâtoase: Na, K, Ca, Mg;

b) Elementele esențiale în urme denumite și microelemente, oligoelemente, oligominerale, trace element (engleză), Spurenelemente (germană), ocupă 0,1% din compoziția sistemelor vii, sunt esențiale vieții dar sunt prezente în concentrații foarte mici în sistemele biologice, de ordinul ppm sau ppb. Acestea sunt :

-metale tranzitionale: Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Cr, V, Ni;

-netranziționale: Se, I, F, B, Si.

c)Elemente în urme posibil esențiale: Br, As, Sn, W.

d)Elemente neesențiale și tolerabile numai între anumite limite: Sb, Hg, Pb, Au, Ag, Bi.

4) După Gârban (1999), bioelementele se pot clasifica în :

a)Macrobioelemente- sodiu, calciu, fosfor;

b)Oligobioelemente- potasiu, magneziu, sulf, clor;

c)Microbioelemente- fier, cupru, zinc, crom, mangan, nichel, vanadiu, litiu, iod, fluor, seleniu.

5)După Popa (2004), elementele minerale se împart astfel:

a)Macrominerale- necesare în organism în concentrații relativ mari (sodiu, potasiu, clorura, calciu, fosfor, magneziu);

b)Microminerale (trace minerals)-necesare organismului în doze mici (seleniu, fier, zinc, cupru, mangan, molibden, crom, arsen, germaniu, litiu, rubidiu, staniu).

6. Una din cele mai recente clasificări, împarte biomineralele astfel (***) Major and trace minerals, 2004) :

a)Macrominerale-mineralele găsite într-un adult în cantități mai mari de 5 g și necesare unui adult în concentrații zilnice mai mari de 100 mg.

b)Microminerale-mineralele aflate în organismul unui adult în concentrații mai mici de 5 g și necesare adultului în concentrații zilnice de 1-100 mg.

c)Elemente în urme (trace elements)- elementele necesare organismului în concentrații mai mici de 1 mg/zi.

Un termen des folosit în clasificările metalelor cu rol biologic este același de oligominerale. După Ghergariu,1980, termenul de oligominerale cuprinde o seamă de elemente chimice existente în natură și care realizează circuitul biologic complet, adică sol-plantă-animal-om, fiind prezente în organismele vii în concentrații infinitezimale.

După Ghergariu (1980), atribuirea calificativului de esențial unui oligomineral a evoluat în decursul timpului. Citându-l pe Schwartz (1974) autorul face următoarele precizări :

-experimentul cu un oligomineral trebuie să producă efecte foarte semnificative;

-trebuie să fie reproductibil într-o serie de teste, în decursul unui interval de timp;

-să se poată stabili o curbă doză-răspuns și să se poată determina o doză minimă eficientă a oligomineralului ;

-să se compare eficiența mai multor compuși chimici ai oligomineralului respectiv;
-efectul să fie fiziologic, adică să se obțină la xconcentrații care există în mod normal în alimente și țesuturi.

În iunie 1990 simpozionul FAO/WHO/IEA Expert Consultation on Trace Elements in Human Nutrition a fost ținut la Geneva. Raportul la aceasta întâlnire publicat cu doi ani mai târziu (1992), de către Organizația Mondială a Sănătății (WHO) a definit ca esențial, elementul chimic din organism pentru care reducerea sub o anumită limită determină depresia unei funcții importante a organismului sau elementul chimic care este parte integrantă a unei structuri organice cu funcție vitală în organism.

Dovedirea esențialității unui element la o specie animală nu presupune esențialitatea la o altă specie decât când numărul de specii la care esențialitatea a fost dovedită este mare (Schrauzer, 1984).

Interesantă este precizarea că definițiile și conceptele nu sunt identice între diverse organizații internaționale. Extensia de la neesențial (sau posibil esențial) la esențial s-a făcut pe parcursul anilor în urma multor experimente de laborator pe animale sau urmărirea în timp a comportării unor grupuri de populații.

Se pot lua în considerare două grupe de elemente minerale esențiale (Anke 2004 - citat de Merian et al., 2004):

1. Esențialitatea confirmată prin mecanisme biochimice:
 - macroelemente: Ca, Mg, P, S, K, Na, Cl
 - microelemente: Fe, I, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Se, Ni
2. Esențialitatea sugerată de efecte fiziologice:
 - ultramicroelemente: F, Cr, Si, As, Tg, Cd, Pb, B, V, Li, Br, Rb, Al, Ti, Sn

După Anke (2004) un element esențial este cel care este necesar organismului pentru a asigura o creștere adecvată, reproducere și sănătate de-a lungul ciclului vieții în condițiile în care ceilalți nutrienți se află la nivel optim. Autorul atrage atenția asupra faptului că în general, elementele necesare celulelor la om sunt aceleași cu cele necesare altor specii vertebrate, putând varia cantitatea necesară pentru o bună funcționare a organismului. În contrast cu esențialitatea lui, orice element din sistemul periodic poate deveni în anumite condiții toxic; este doar o problemă de aport și specie a elementului respectiv. O intoxicație poate produce interacții cu elementele esențiale și poate induce simptome de deficiență. Factorii care sunt importanți pentru reducerea riscului de intoxicație sau de deficiență la om sunt stabiliți pe baza necesarului fiziologic existând date privind aportul, rata de absorbție și excreție, interacțiile dintre elemente, limitele de toleranță ale substanțelor chimice din hrană și apă și standardele de sănătate pentru medicina ocupațională.

În tabelul 1-3 se prezintă o sinteză asupra elementelor chimice prezente în organismele vegetale, animale și organismul omului după Kieffer (1991), Marschner (1995), Anke et al. (2000) - citați de Merian et al. 2004:

Tabel 1-3. Clasificarea elementelor prezente în plante, animale și om

PLANTE	ANIMALE ȘI OM
1. Macroelemente esențiale (macronutrienți): Ca, K, Mg, N, P, S, C, O, H	1. Macroelemente esențiale: Ca, Cl, K, Mg, Na, P, S, C, O, H
2. Microelemente: - cu simptome de deficiență: B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn - elemente benefice: Co, Na, (Se), Si, (Al)	2. Microelemente: - cu simptome de deficiență: (Cr), Co, Cu, Fe, I, Se, Zn - fără simptome de deficiență: Mn, Mo, Ni
3. Ultramicroelemente (funcție insuficient cunoscută): As, Ba, Br, Cd, Cr, F, Hg, I, Li, Nb, Pb, Rb, Sn, Sr, Ti, Tl, U, V, W, Zr	Ultramicroelemente (funcție insuficient cunoscută): Al, As, B, Ba, Br, Cd, F, Hg, Li, Nb, Pb, Rb, Si, Sn, Sr, Ti, Tl, U, V, W, Zr

În plante, fiecare element poate acționa ca un toxic, când se află în concentrație excesivă sau când diminuează eficacitatea altuia. Următoarele elemente au efect toxic foarte redus: As, Al, B, Cd, Co, Cr, Cu, F, Mn, Ni, Pb, Tl. Cele mai importante cauze ale manifestării efectului toxic sunt: înlocuirea unui element esențial din enzime, modificarea chimică a componentilor esențiali ai celulei, schimbări în permeabilitatea membranelor, dizlocuirea unor ioni esențiali. Paracelsus (1493-1541) a definit pentru prima dată "legea" de bază a toxicologiei: "Toate substanțele sunt otrăvuri; nu există nimic care să nu fie otrăvitor. Doza potrivită face diferența dintre otrăvă și remediu." Relația între doză -efect pentru fiecare substanță se poate interpreta astfel (Selinus et al., 2004): creșterea concentrației unui element oarecare în organism, determină creșterea efectelor biologice negative, care poate duce la perturbarea proceselor metabolice și chiar la moarte. Evident, descreșterea concentrației elementelor /substanțelor neesențiale este benefică. Situația pentru elementele esențiale este diferită: efectele biologice negative cresc și cu creșterea și cu descreșterea concentrației. Aceasta poate duce la tulburări metabolice în ambele cazuri. Deci, prea mult sau prea puțin este la fel de dăunător.

În general, elementele vitale pentru celulele din organismul uman sunt aceleași cu cele necesare altor specii vertebrate, putând varia cantitatea necesară. În contrast cu esențialitatea lui, orice element din sistemul periodic poate deveni în anumite condiții toxic; este doar o problemă de aport și specie a elementului respectiv. O intoxicație poate produce interacții cu elementele esențiale și induce simptome de deficiență.

Același mod de tratare a noțiunii de esențialitate și toxicitate îl face Selinus et al. (2004), precizând că toate elementele din sistemul periodic sunt prezente în natură, multe dintre ele esențiale, indispensabile vieții. Acestea sunt: calciul, clorura, magneziul, fosforul, potasiul, sodiul, sulfurul. Elementele esențiale în urme sunt cromul, cobaltul, cuprul, fluorura, fierul, manganul, molibdenul, seleniul și zincul. Elementele cărora nu li se cunoaște un rol biologic sunt denumite neesențiale, având

efecte dăunătoare: cadmiul, arsenul, mercurul și plumbul. În tabelul 1-4 sunt prezentate bolile asociate deficienței sau toxicității unui element dat:

Tabel 1-4. Bolile asociate deficienței sau toxicității unui element dat (Selinus et al., 2004)

Elementul	Deficiența	Toxicitatea
Fierul	Anemie	Hemocromatoză
Cuprul	Anemie	Intoxicație cronică cu Cu
	“ Sway Back”	Boala Wilson și Bedlington
Zincul	Piticism	Febră metalică
	Dezvoltare defectuoasă a gonadelor	Diaree
	Acrodermatită enteropatică	
Cobaltul	Anemie	Infarct miocardic
	Boala ficatului alb	Policitemia
Magneziul	Disfuncția gonadelor	Ataxie
	Convulsii	
	Malformații ale scheletului	
	Urolitiază	
Cromul	Disturbarea metabolismului glucozei	Afecțiuni renale
Seleniul	Necroză hepatică	Distrofie musculară

Parametrii care definesc impactul unui element chimic dat asupra celulei vii (Anke, 2004 - citat de Merian et al., 2004), se pot rezuma la trei reguli esențiale:

- Regula 1 (a disponibilității): elementul trebuie să fie disponibil în celulă pentru reacții biochimice. Aceasta înseamnă în primul rând că elementul trebuie să fi fost produs în trecut în cadrul unei explozii nucleare a unei stele. Probabilitatea ca un element să fi fost produs în aceste condiții scade exponențial cu creșterea numărului lui atomic (Schaifers, 1984 - citat de Anke, 2004). În al doilea rând, elementul trebuie să fie solubil în apă, pentru a putea fi folosit în organism și în al treilea rând, elementul trebuie să poată intra în celulă și să ajungă la o concentrație în citoplasmă suficient de mare și să fie activ.

- Regula 2 (a utilității): un element chimic poate fi considerat un bioelement dacă determină interacții chimice unice în biochimia celulei. Se face deci referire la participarea bioelementului la procesele fiziologice.

- Regula 3 (a toxicității): toți ionii divalenți de metale grele, fie că sunt microelemente sau nu, sunt toxice pentru celule (Nies, 1999 - citat de Merian et al. 2004). Celulele trebuie să mențină statusul homeostaziei între bioelementele metalice și cele cu potențial toxicogen.

Biodisponibilitatea unei substanțe (Popa, 2004) depinde de proprietățile fizico-chimice ale substanței active, ale formei farmaceutice în care s-a administrat cât și de factori fiziologici.

Absorbția substanței nu are loc înainte de dizolvarea acesteia în fluidele tractului gastrointestinal. Fiecare din etapele premergătoare absorbției se desfășoară cu o viteză determinată de natura chimică a substanței, de proprietățile sale fizico-chimice, cât și de caracteristicile formei farmaceutice.

Factorii care intervin în dizolvare sunt:

- suprafața specifică (S) condiționată de mărimea particulelor;
- solubilitatea de saturație (C_s) dependentă de temperatura, pH, felul sării, mărimea particulelor, solvatarea, starea amorfă, forma cristalină, capacitatea de complexare, umectarea;
- coeficientul de difuzie (D) influențat de temperatură, vâscozitate, greutatea moleculară, configurația sterică;
- grosimea stratului de difuzie (h) care poate depinde de mișcarea particulelor și viteza de curgere.

În cazul substanțelor cristaline, dizolvarea este dependentă de natura și de tăria forțelor de coeziune în cristale, de imperfecțiunile cristalelor, de tranziția polimorfă și de otrăvirea cristalelor prin aditivi diverși.

Majoritatea substanțelor medicamentoase sunt acizi slabi sau baze slabe. Solubilitatea electroliților slabi este dependentă de pH. Definierea solubilității în funcție de pH este importantă pentru a prevedea comportamentul lor în diferite regimuri ale tractului gastrointestinal.

Viteza de dizolvare este dependentă în mare măsură de felul sării care conține substanța medicamentoasă administrată. În general, sărurile alcaline ale acizilor slabi (salicilatul de Na) se dizolvă mult mai repede decât acizii liberi corespunzători, într-un mediu cu același pH. Aceasta se explică prin faptul că în cazul sării alcaline, pH-ul stratului de difuzie va fi mai mare decât al lichidului stomacal în comparație cu pH-ul stratului de difuzie dat de acidul liber. Sarea dizolvată va fi ulterior transformată în acid liber, datorită pH-ului stomacal, iar apoi se va absorbi ușor.

În intestin, pH-ul stratului de difuzie va fi egal sau superior celui al fluidului intestinal (disocierea alcalină are o valoare a pH-ului mai mare decât pH-ul intestinal) și ca urmare a ecuației, viteza de dizolvare va fi de asemenea mai rapidă. Viteza de dizolvare a unui acid slab se caracterizează prin variația concentrației în timp.

În cazul unei sări formate dintr-o bază slabă cu acid tare, situația este asemănătoare. Sarea, în stomac va disocia puternic acid iar în intestin va da de asemenea o valoare mai mică a $[H^+]$ în jurul particulelor, ceea ce va mări viteza de dizolvare comparativ cu baza.

Diferența între absorbția unei sări bazice și a bazei libere a acesteia este mică, deoarece în stomac are loc o ionizare a nutrienților și substanțelor medicamentoase și absorbția este întârziată până ce soluția ajunge în intestin. Dacă sarea ajunge nedizolvată în intestin, se va absorbi mai repede decât baza liberă căci va micșora pH-ul stratului de difuzie față de pH-ul sucului intestinal, ceea ce va duce la creșterea solubilității substanței în stratul de difuzie și creșterea vitezei de dizolvare.

Un alt factor care influențează viteza de dizolvare este mărimea efectivă a suprafeței solide care se dizolva. Viteza de dizolvare este direct proporțională cu mărimea suprafeței efective a substanței în

contact cu lichidul în care se dizolvă. De aceea când solubilitatea nutrienților și a substanțelor medicamentoase este redusă, deci dizolvarea este un factor limitant al procesului de absorbție, se poate grăbi procesul prin reducerea mărimii particulelor. Reducerea mărimii particulelor și creșterea vitezei de dizolvare nu este dorită în toate cazurile. În cazul unor substanțe medicamentoase instabile la pH-ul acid al sucului gastric, reducerea mărimii particulelor și deci creșterea vitezei de dizolvare duce și la o creștere a degradării substanțelor medicamentoase. Alteori, mărirea gradului de dispersie poate duce la creșterea toxicității ca urmare a creșterii vitezei de absorbție și a intensității efectului farmacologic.

Forma cristalină a substanței influențează viteza de dizolvare a substanței medicamentoase. Se cunoaște că o anumită specie de molecule se poate prezenta în stare solidă în mai multe forme, cristaline sau amorfe (polimorfism). Deși din punct de vedere chimic formele polimorfe sunt identice, ele diferă sub aspectul unor proprietăți fizice ca: densitate, punct de topire, viteza de dizolvare, solubilitate.

Un alt factor care influențează viteza de dizolvare este solvatarea substanțelor. S-a observat că viteza de dizolvare a formelor anhidre este mai mare decât a formelor hidratate.

Biodisponibilitatea pentru diferite substanțe este influențată și de valență. Diferitele preparate cu fier divalent prezintă absorbție diferită ca și diferențele între Fe (II) și Fe (III). Diferențele pot fi determinate de felul anionului și de ionizarea sa. Felul esterului poate influența de asemenea disponibilitatea.

Metalele se găsesc în organism în celule și/sau în lichide biologice iar o parte din metale se pot găsi ca ioni liberi sau ca și complecși. S-a putut observa că unele dintre metale chiar dacă se găsesc în cantități relativ mari în crusta terestră, nu sunt decelate in vivo, e.g. crom și nichel (Williams, 1971). Explicația poate fi aceea că aceste metale se află legate în minerale, fiind incapabile să tranziteze lanțul trofic: sol, plantă, animal, om. Sunt prezentate în continuare date referitoare la distribuția naturală a metalelor in vivo:

1. Sodiul și potasiul

De cele mai multe ori se găsesc sub forma ionică și formează soluții ionice incolore sau săruri (în formă solidă). Sodiul și potasiul sunt puternic solvatați în apă, sodiul poate lega 4 molecule de apă, potasiul poate lega 4 sau 6 molecule.

În biochimie, clorura de sodiu este sursa formării acidului clorhidric din sucul gastric, iar bicarbonatul de sodiu are rol de tampon în menținerea echilibrului acid/ bază în lichidele biologice și un rol în transportul dioxidului de carbon. Sodiul , ca și clorura de sodiu, este eliminat în mare măsură prin transpirație. Ambele metale se elimină prin rinichi în urină, ca ioni de sodiu și potasiu sau ca și săruri ale acizilor fosforic, sulfuric sau acizi organici cum ar fi acizii uric și lactic.

2. Calciul și magneziul

În soluție apoasă, ambii ioni sunt hidratați de 6 molecule de apă. Este ușor să satisfacem necesarul în aceste două metale a organismului, deoarece se află foarte răspândite în crusta terestră, translocate ușor în plante. Calciul și magneziul sunt răspândite în multe multe minerale.

Din punct de vedere biologic sunt importante fluorura de calciu, care determină o fluorizare naturală a surselor de apă și fosfatul de calciu mineral. Din apa de băut poate proveni carbonatul de calciu, care devine solubil după transformarea în bicarbonat sub acțiunea dioxidului de carbon și a apei.

Magneziul apare în interiorul celulei sub formă complexată cu metaloproteine și nucleoproteine. Enzimele de transfer a fosfatului conțin magneziu.

3. Fierul

Este cel mai răspândit metal tranzițional în natură și probabil cel mai bine cunoscut metal în sistemele biologice. În soluție prezintă două stări de oxidare, feroasă (II) și ferică (III). Ionul feros este mai puțin comun decât cel feric. Soluțiile feroase sunt verde pal, iar cele ferice galbene.

În organism fierul se află în hemoglobină, mioglobină, unele enzime. Administrarea de fier se face în caz de nevoie sub formă de săruri feroase, fiind ușor absorbite în intestin. Injecțiile intravenoase pot folosi fierul ca și ascorbat, citrat sau complex coloidal carbohidrat.

4. Manganul

Este unul din metalele grele cu răspândire destul de mare în natură fiind în schimb unul din puținele metale ce poate exista în 8 stări de oxidare diferite. În biochimie manganul are rol predilect de efector biochimic dar și de bioconstituent al unor metaloenzime.

În vivo doar două din stările de oxidare sunt importante anume Mn^{2+} și Mn^{3+} .

Ionul Mn^{2+} dă sărurilor sale o culoare roz pal. Poate fi penta-, hexa-, hepta- coordinat. În mediu non-apos poate fi chiar tetra- coordinat. Mn^{3+} este instabil în soluții apoase decât dacă este complexat. Este redus rapid la Mn^{2+} în prezența apei, generând oxigen. Mn^{3+} este stabil sub formă complexată.

5. Zincul

Este de 100 de ori mai abundent decât cuprul în natură. În soluție, ionul este coordinat de 4 sau 6 liganzi. Starea de oxidare întâlnită este de Zn (II). Zn este un constituent esențial pentru unele enzime.

6. Cuprul

Este găsit în două stări de oxidare, cupros (I) și cupric (II). Ionul cupros este ușor oxidat la cupric. Complecșii de cupru (I) sunt de obicei incolori. Relativa stabilitate a formei (I) dar și (II) depind de

constanta dielectrică a grupărilor înconjurătoare sau vecine. Cuprul se afla în enzime capabile să asigure transportul oxigenului în sânge. Cantități importante se află în ceruloplasmină, prezentă predilect în ficat.

7. Molibdenul

În crusta terestră se află ca MoS_2 fiind folosit și ca lubrefiant solid. In vivo participă la procese redox. Este cofactor în procese enzimatice din plante. Există în două stări de oxidare și anume Mo (V) și Mo (VI). Aceste două stări de oxidare pot exista doar în soluție ca oxianioni sau complecși. Recent s-au pus în evidență și stările (III) și chiar (IV).

8. Cobaltul

Are două stări comune de oxidare în soluție, ion cobaltos (II), ion cobaltic (III). Soluțiile cobaltoase au culoare roz. În prezența de azot (donor), cobaltul (II) este rapid oxidat de oxigen. Cobaltul (III) este un agent de oxidare puternic și sărurile lui descompun apa. Complecșii au culoare roz, galben, albastru, violet sau roșu și sunt stabili, inerți.

În organism Co există în compoziția vitaminei B_{12} . Cobaltul (II) este folosit în organism ca și activator enzimatic.

Principalii liganzi care complexează în vivo metalele sunt:

1. Aminoacizii

Organismele vii conțin milioane de proteine, acestea fiind formate de combinații care includ în general 20 aminoacizi. La pH fiziologic (i.e. pH izoelectric), gruparea amino este protonată și gruparea carboxil este ionizată. Ambele grupări, amino și carboxil, sunt capabile să reacționeze cu ioni metalici.

Datorită faptului că aminoacizii au caracter amfionic sunt foarte solubili în apă și parțial solubili în solvenți organici. În reacții de chelatare, aceste grupări ionizate participă simultan.

2. Peptidele

Acestea sunt formate prin eliminarea apei între doi sau mai mulți aminoacizi, rezultând lanțuri polipeptidice. Grupările din aminoacizi pot dona electroni unui proton sau ion metalic, formând diverși complecși.

3. Proteine

După rolul biologic și biochimic pe care îl au, proteinele pot fi împărțite în proteine cu rol de transport, cu rol fiziologic major pentru activitatea celulară și proteine catalitice (enzime cu rol în procesele de biosinteză și biodegradare. Funcționarea enzimelor implică de multe ori un ion metallic. Enzimele au o specificitate foarte mare, atât față de substratul asupra căruia acționează dar și față de metalul pe care îl leagă.

4. Carbohidrați, acizi carboxilici și lipide

În procesele metabolice acizii carboxilici rezultă predilect din biodegradarea lipidelor dar și a glucidelor și protidelor. Conversia glicogenului în energie este un proces complicat în care se eliberează acizi carboxilici ca bioproduși. Acizii carboxilici, prin grupele carboxil pot lega ioni metalici. Carbohidrații au grupe alcoolice primare și secundare, ceto grupe care pot funcționa ca și posibili donori de electroni ionilor metalici. Din cauza scăzutei solubilități a lipidelor, cercetările complexilor ion-lipide sunt limitate.

5. Anionii și apa

Este cunoscut de asemenea rolul apei ca ligand. Moleculele de apă complexate pot ușor pierde un proton la pH alcalin, generând produși de hidroliza care conțin ionul hidroxil ca ligand:



Se cunosc diverși liganzi anionici decelați în vivo care includ CO_3^- , HCO_3^- , PO_4^{3-} , HPO_4^- , $H_2PO_4^-$, SO_4 , F^- , Cl^- , Br^- , I^- . Fosfatul, sulfatul și bicarbonatul sunt ioni răspândiți în interiorul celulei, clorura și bicarbonatul în exteriorul său. Clorura de sodiu și iodura de sodiu apar într-o dietă normală. Clorura ajută la formarea sucului gastric, iodura este necesară pentru formarea tiroglobulinei. În chimioterapie se utilizează clorura mercurică Hg_2Cl_2 care poate fi folosită ca și cathartic, iar clorura mercurică, $HgCl_2$ ca și antiseptic. Bromurile de sodiu, potasiu, amoniu pot fi folosite ca sedative. Fluorura este necesară pentru formarea matricei osoase.

Cu privire la condițiile care determină legarea unui ligand de un anumit metal au fost dezvoltate numeroase teorii cu privire la cauzele ce determină legarea într-un mod sau altul a metalelor de diferiți liganzi. Acestea sunt prezentate pe scurt în cele ce urmează (Popa, 2004, Ghizdavu, 2000). Se apelează în acest scop la teoria Brønsted referitor la tăria acizilor și bazelor.

Această teorie poate fi rezumată astfel:

- dacă există o legătură între doi atomi, unul va juca rol de acid iar celălalt de bază;
- electronii de legătură aparțin în egală măsură și unuia și altuia dintre atomi.

Tăria asociată unui acid sau bază este determinată de doi factori:

- tăria legăturii dintre cei doi atomi, ilustrată de constanta de formare a compusului;
- mobilitatea electronilor sau polarizabilitatea speciilor. Dacă electronii sunt legați slab, specia este slabă. Dacă electronii sunt puternic legați, specia este tare. O bază slabă este intens polarizabilă, ușor oxidabilă, electronii de valență sunt slab legați. Un acid tare are dimensiuni mici, nu conține electroni nepereche în stratul de valență. Tabelele 1-5 și 1-6 prezintă clasificarea generală a acizilor și bazelor în funcție de tăria acestora:

Tabel 1-5 . Clasificarea generală a acizilor după Pearson, 1963 - citat de Ghizdavu în 2000 și Popa în 2004

Acid tare (dur)	Acid slab (moale)
H^+, Li^+, Na^+, K^+	$Cu^+, Ag^+, Au^+, Tl^+, Hg^+$
$Be^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Mn^{2+}$	$Pd^{2+}, Cd^{2+}, Pt^{2+}, Te^{4+}, Hg^{2+}, Pt^{4+}$
$Al^{3+}, Sc^{3+}, Ga^{3+}, In^{3+}, La^{3+}$	$Co(CN)_5^{2-}, Tl^{3+}, Ga(CH_3)_3, GaCl_3, GaI_3, RS^+, RSe^+, RTe^+,$
$N^{3+}, Cl^{3+}, Gd^{3+}, Lu^{3+}$	I^+, Br^+, HO^+, RO^+
$Cr^{3+}, Co^{3+}, Fe^{3+}, As^{3+}, CH_3Sn^{3+}$	I_2, Br_2, ICN
$Si^{4+}, Ti^{4+}, Zr^{4+}, Th^{4+}, U^{4+}$	
$Pu^{4+}, Ce^{3+}, Hf^{4+}, WO^{4+}, Sn^{4+}$	
$UO_2^{2+}, (CH_3)_2Sn^{2+}, VO^{2+}, MoO^{3+}$	
$BeMe_2, BF_3, B(OR)_3$	
$Al(CH_3)_3, AlCl_3, AlH_3$	
$I^{7+}, I^{5+}, Cl^{7+}, NC^+, Cr^{6+}, CO_2$	
HX	
Borderline: $Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}, Sn^{2+}, Sb^{2+}, Bi^{3+}, Rh^{3+}, Ir^{3+}, B(CH_3)_3$	$SO_2, NO^+, Ru^{2+}, Os^{2+}, R_3C^+, C_6H_5^+, GaH_3$

Tabel 1-6. Clasificarea generală a bazelor (după Pearson, 1963 - citat de Ghizdavu în 2000)

Bază tare (dură)	Bază slabă (moale)
H_2O, OH^-, F^-	$R_2S, RSH, RS^-, I^-, SCN^-, S_2O_3^{2-}, R_3P, R_3As$
$CH_3CO_2^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}$	$CN^-, RNC, CO, C_2H_4, C_6H_6$
$Cl^-, CO_3^{2-}, ClO_4^-, NO_3^-, ROH, RO^-, R_2O$	H^-, R^-
NH_3, RNH_2, N_2H_4	
Borderline: $C_6H_5NH_2, C_5H_5N, N_3^-, Br^-$,	NO_2^-, SO_3^{2-}, N_2

O legătură puternică se formează între un acid tare ce se combină cu o bază tare sau între un acid slab combinat cu o bază slabă. Tăria unui element crește cu starea de oxidare. Astfel, pentru a stabili un element, metal sau nemetal, în stare de oxidare maximă, trebuie ca acesta să fie înconjurat de baze tari, ca oxizii, hidroxizii, fluorurile.

Pentru a stabili un element în stare de oxidare mică, trebuie ca acesta să fie coordonat de baze slabe ca monoxid de carbon, fosfine, cianuri. Aceste mențiuni sunt importante pentru a înțelege comportamentul redox al metalelor in vivo.

Ionii metalici din sistemele biologice se află cel mai adesea în tranzit între două stări de oxidare deosebite. Starea de oxidare mai scăzută poate fi stabilizată prin adaosul de liganzi slabi, iar starea de oxidare mai ridicată, prin adaosul de liganzi puternici. Acizii slabi care se leagă puternic de grupele tiolice (sulfhidrice) din proteine, neutralizând astfel o mare cantitate de sulf din organism. În același fel, baze foarte slabe ca :cianuri, sulfiți, monoxid de carbon, compuși cu arsenic trivalent, spoliază organismul de metale, legându-se de metalul enzimelor și chiar dizlocându-l complet din enzimă.

Ionii Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} sunt acizi tari și preferă ca liganzi baze tari ca apa (ei sunt puternic solvatați în soluție), oxigenul și azotul, donori de electroni, în forma în care se află în grupe hidroxil în pereții celulelor, carbonați, fosfați, glutamați, oxalați, lactați sau amine.

În cazul metalelor tranziționale ($\text{Fe}^{2+/3+}$, Cu^{+2+} , $\text{Mn}^{2+/3+}$, $\text{Co}^{2+/3+}$), când apar reacții redox, starea de oxidare superioară este stabilizată de un mediu de liganzi "tari". Ionii slabi cum sunt Zn^{2+} , Mo^{2+} , sunt complexați de liganzi slabi cum sunt grupele R-S^- , în enzimele alcool-dehidrogenază sau xantin-oxidază.

1.2. BIODISPONIBILITATEA- PARTICULARIZARE PENTRU BIOELEMENTE ȘI ELEMENTE CU POTENȚIAL TOXICOGEN

1.2..1. CONCEPTUL DE BIODISPONIBILITATE. APLICAȚII ÎN NUTRIȚIE, FARMACOLOGIE ȘI TOXICOLOGIE

Conceptul de biodisponibilitate se definește prin relația care se stabilește între substanțele biologice active și organismul în care acced aceste substanțe. Biodisponibilitatea poate fi considerată o caracteristică dinamică a sistemelor biologice. În această accepție, studiul biodisponibilității se pretează unei abordări complexe alături de metabolism, cronobiochimie, homeostazie și homeorezie, constatându-se că sub raport biochimic și fiziologic există numeroase interferențe.

Se poate înțelege ușor că problema biodisponibilității nu este apanajul strict al compușilor biominerali. Interesul pentru studiul biodisponibilității vizează deopotrivă compușii organici (glucide, lipide, protide) și anorganici (apa și biomineralele).

Noțiunea de biodisponibilitate a fost utilizată pentru prima dată în legătură cu quantumul absorbției vitaminelor din preparatele farmaceutice (Oser et al. 1945, Arnold și Sice, 1976 - citați de Gârban 1999). Alături de această noțiune au mai circulat acelea de “disponibilitate fiziologică” și “disponibilitate biologică” (Danciu et al. 1983). Aceste noțiuni relevă tendințele de extindere a modului de definire și direcțiilor de investigație care se pot aplica în studiul diverselor substanțe biologice active, depășind cadrul circumscris al substanțelor de interes farmaceutic.

În accepția Asociației Farmaceutice Americane - A.P.A (American Pharmaceutical Association), noțiunea de biodisponibilitate este definită prin “cantitatea de principiu activ care ajunge nemodificată în circulația generală după administrarea într-o formă farmaceutică pe cale orală sau pe altă cale care necesită un proces de absorbție și viteza cu care are loc acest proces” (Danciu et al., 1983.)

Privită din punctul de vedere al Administrației pentru Alimente și Medicamente - F.D.A. (Food and Drug Administration), biodisponibilitatea a fost definită prin “viteza și gradul cu care principiul activ este absorbit dintr-un produs medicamentos și care devine disponibil la locul de acțiune” (după F.D.A., 1977- citat de Gârban, 1999).

Alimentația constituie un factor cu acțiune permanentă, care determină desfășurarea proceselor metabolice, deoarece hrana reprezintă izvorul și regulatorul proceselor de schimb.

Menținerea homeostaziei mediului intern al organismului depinde de caracterul alimentației, care influențează funcțiile aparatelor și sistemelor, în special factorii enzimatici și hormonal. Dezechilibrul substanțelor nutritive din dietă, pe o perioadă scurtă de timp, poate fi compensat prin mecanisme fiziologice și biochimice de adaptare. Dereglarea echilibrului pe o perioadă mai lungă determină procese patologice cu manifestări clinice (Mincu, 1993).

Alimentele, cu excepția unor cantități mici de micronutrienți cum sunt vitaminele și mineralele conțin în principal carbohidrați, grăsimi și proteine. Aceste substanțe nu pot fi absorbite în forma lor naturală prin mucoasa gastrointestinală, fără un prealabil proces de digestie (Guyton, 1986). Toți carbohidrații sunt absorbiți de către intestin sub formă de monozaharide excepție făcând un mic procent din acestea, absorbiți ca dizaharide. Transportul monoglucidelor prin peretele intestinal este un proces activ condiționat de:

- Transportul glucidelor, în special al glucozei și galactozei poate fi blocat de inhibitori cum sunt acidul iodoacetic, cianidele, florizina.
- Controlul selectiv al transportului : spre exemplu există o rată maximă de transport pentru fiecare tip de monozaharidă.
- Competiția între monozaharide pentru aceeași cale de transport. De exemplu, dacă o cantitate mare de galactoză trebuie transportată, cantitatea de glucoză transportată simultan este considerabil redusă.

Cele mai multe proteine sunt absorbite sub formă de aminoacizi, printr-un mecanism de transport activ. Procesele care limitează absorbția aminoacizilor sunt:

- Diversitatea aminoacizilor: aceștia vor fi absorbiți selectiv și unele tipuri vor interfera negativ absorbția altora, dacă sistemul de transport este același.
- Prezența inhibitorilor metabolici: aceștia pot bloca absorbția aminoacizilor.
- Rata de absorbție În acest caz absorbția se produce mult mai rapid prin mucoasa intestinală decât se produce digerarea proteinei în lumenul intestinal. În concluzie, rata normală de absorbție este determinată nu de rapiditatea cu care fiecare dintre ei este absorbit ci de rapiditatea cu care sunt eliberați din proteine în decursul digestiei.

Transportul aminoacizilor, ca și cel al glucozei, este posibil doar în prezența simultană a transportului sodiului. Teoretic, sistemul de transport are receptori și pentru aminoacizi și pentru sodiu.

Absorbția grăsimilor se face după transformarea acestora în monogliceride și acizi grași liberi. Procesul de absorbție este puternic influențat de acizii biliari. În prezența unei secreții biliare abundente se absorb 97% din grăsimi. În absența acizilor biliari doar 50 % din grăsimi se absorb.

Din punct de vedere nutrițional, Alpers et al. (2002), au evidențiat faptul că mineralele importante în nutriție se pot clasifica în trei grupe:

1. Stocate în organism în cantități mari : Na, K, Ca, Mg, P
2. Prezente în urme cu rol în nutriție : Fe, Zn, Cu, I, F, Se, Cr

3. Prezente în urme, decelate la animalele de laborator, dar al căror rol în nutriția umană este incert :
Mo, Cd, As, Si, V, Ni.

În ce privește absorbția ionilor, absorbția sodiului este foarte importantă. Acest ion joacă un rol important în absorbția glucidelor și aminoacizilor dar și în menținerea echilibrului acido-bazic și osmotic al organismului. Dacă organismul pierde cantități mari de sodiu (e.g. stări diareice), rezervele de sodiu ale organismului scad într-atât încât se poate ajunge la moarte. În mod normal, sodiul este excretat și reabsorbit continuu cu doar 1 mEq pierdere prin fecale zilnic.

Ionul de calciu este activ absorbit în special prin duoden și este controlat de activitatea parathormonului care activează vitamina D. Calciul se absoarbe în cantități crescute în prezența vitaminei D activate.

Ionii de potasiu, magneziu, fosfat și probabil alți ioni pot fi activ absorbiți prin mucoasa intestinală. În general ionii monovalenți sunt absorbiți mai ușor și în cantitate mai mare (Guyton, 1986).

Studiind relația între minerale și sănătate, Schauss (1995) arată că se poate menține balanța optimă a acestora în fiecare țesut, celulă și organ al corpului. Același autor specifică faptul că macro- și microelementele aflate în cantități echilibrate în hrană, pot avea chiar un rol antioxidant. De asemenea în doze optime, aceste elemente se ajută unul pe altul (efect sinergic) în procesul de similitudine dar și acționează ca protector împotriva elementelor cu potențial toxic.

Cu toate că pentru om alimentele reprezintă principala sursă de elemente metalice esențiale pentru sănătate, există totuși și factori legați de dietă care limitează statusul microelementelor (Flynn, 2004; Ash, 2004; Ivy, 2004; *** - Major and trace minerals) și anume disponibilitatea, solubilitatea, transportul, reglarea. Rolul acestor factori se discută în continuare:

- Disponibilitatea : Cele mai multe meniuri nu conțin cantități adecvate de microelemente. Acestea pot fi completate cu suplimente nutriționale, necesare obligatoriu mai ales celor care optează pentru o dietă vegetariană.

Cea mai prudentă strategie nutrițională combină o balanță echilibrată cu o suplimentare corespunzătoare. Poate fi dificil pentru un individ să ajungă la doza zilnică recomandată în elemente metalice într-un regim zilnic normal. Din aceste considerente, suplimentarea trebuie luată în considerare (Strause și Saltman - citați în [www.superlife.co.uk/health life.htm](http://www.superlife.co.uk/healthlife.htm), 2002). Însă și megadoze de microelemente pot fi periculoase, fie datorită supradozării, fie prin blocarea acțiunii altor metale.

- Solubilitatea : forma (compus anorganic, compus organic) în care metalul este prezent în dietă îi influențează solubilitatea. Coplecșii metalelor cu carbohidrați și aminoacizi sunt cel mai bine absorbiți.

Multe interacții între metale implică solubilitatea. De exemplu prezența unor cantități mari de calciu, fitați și fibre în dietă, determină formarea de complecși insolubili cu Fe, Zn, Cu, făcându-i insolubili. Pe de altă parte se știe că elementele minerale din suplimentele nutriționale aflate în stare ionică sunt foarte susceptibile de legare cu acid fitic din alimente, care le face inutilizabile. Este obligatoriu ca acestea să fie

consumate în timpul mesei pentru ca să se poată lega de proteinele din dietă și să fie ușor absorbite prin peretele intestinal (Mister GreenGenes Nutrition Center Online.htm, 2002). Aceste metale se numesc metale non-alimentare (non food metals). Proteina atașată protejează de asemenea metalul împotriva oxidării, acționând ca antioxidant.

- Transportul : Unii complecși ai metalelor traversează peretele intestinal mai rapid comparativ cu alții către vasele de sânge. Acest fapt este dependent și de natura cationului.

- Reglarea : Microelementele, în particular fierul și cuprul nu sunt eliminați efectiv. Acestea pot cauza toxicitate prin acumulare.

Produsele alimentare de protecție abordează o orientare nouă în industria alimentară și în nutriție. Acest aspect a fost abordat în colaborarea dintre Clinica de Nutriție și Boli Metabolice IMF București și Universitatea din Galați, care a permis realizarea unor produse cu valoare nutritivă ridicată și acțiune terapeutică. Ele sunt bogate în substanțe biologic active în special proteine, vitamine, minerale și chiar produși cu efect terapeutic, urmând să fie folosiți ca adjuvanți în tratamentul unor maladii sau ca produse de bază în profilaxia bolilor la diferite persoane sau grupe de indivizi cu un coeficient ridicat de risc pentru anumite maladii. Spre deosebire de alimentația dietetică cu rol pasiv, alimentele de protecție au un spectru mult mai larg prin caracterul profilactic și caracterizează spiritul nou al medicinei, acela de a preveni boala nu numai de a o trata. Promovarea alimentelor de protecție prezintă următoarele avantaje: - realizarea unei game de produse intermediare între medicament și aliment care să completeze disponibilitățile terapeutice ale medicinei să poată fi utilizate îndelungat fără efecte secundare și să fie mai bine agreate de către bolnavi, fără reacții psihologice adverse existente față de medicamentul clasic (Mincu,1985).

Referindu-ne la aplicațiile în farmacie ale biodisponibilității, că efectul farmacologic activ rezultă din interacțiunea substanței medicamentoase cu receptorii celulari, specificitatea acțiunii fiind dependentă de particularitățile structurale ale substanței medicamentoase, de afinitatea sa fata de receptori. Efectul intrinsec al medicamentului este însă pluricondiționat de proprietățile biofarmaceutice ale substanței active care conferă moleculei o anumită biodisponibilitate, un comportament farmacocinetic particular, influențând vehicularea sa la nivelul receptorilor, debutul, intensitatea și durata răspunsului (Gârban,1999).

Proprietățile fizico-chimice ale unui medicament guvernează potențialul acestuia de a fi absorbit dar de asemenea forma în care a fost dozat (care depinde de design și manufactură) poate determina biodisponibilitatea acestuia. Echivalența chimică a medicamentelor se referă la produse care conțin același compus în aceeași cantitate. În acest caz pot diferi ingredientele inactive în medicament. Bioechivalența se referă la echivalența chimică a medicamentului când este administrat la aceeași persoană și în aceeași doză și când este regăsit în aceeași proporție în sânge și țesuturi. Echivalența terapeutică se referă la produsele medicamentoase care administrate la aceeași persoană și aceeași doză.

dezvoltă același efect terapeutic sau toxicitate. În 1991, Wellig et al., menționează că produsele bioechivalente se așteaptă să fie și terapeutic echivalente. Uneori, echivalența terapeutică se poate obține în ciuda diferenței de biodisponibilitate dintre două produse medicamentoase.

Se admite că în structura moleculară a substanțelor medicamentoase se pot diferenția două ansambluri tipice: unul cu semnificație bioactivă, care determină activitatea biologică intrinsecă, interacțiunea cu receptorul farmacologic denumit „centru activ”, „grup terapogen”, „grup farmacofor”, dar mai adecvat „entitate cu încărcare bioactivă” și altul cu semnificație biocinetică, important în manifestarea proprietăților biofarmaceutice, influențând pătrunderea, distribuția, metabolizarea și eliminarea substanței (Danciu et al., 1983).

Cunoașterea relațiilor calitative structură – activitate și a relațiilor cantitative este foarte importantă. Modularea ansamblului implicat în manifestarea proprietăților biofarmaceutice trebuie condusă în acel fel încât entitatea bioactivă să nu fie modificată. Modificări aparent minore în aceasta parte a moleculei pot conduce la compuși cu eficiență diferită, la antagonisme și chiar la pierderea activității. Alimentele pot interveni în farmacodinamica produselor medicamentoase printr-o acțiune farmacologică directă sau influențând prin propriul catabolism cele patru etape clasice ale farmacocineticii și anume: absorbția, distribuția, biotransformarea, excreția (Gârban ,1999).

Nutrienții din alimente interacționează cu medicamentele într-o măsură mai mare sau mai mică. Un prim aspect îl reprezintă metabolizarea medicamentelor la persoanele în vârstă și interacțiunea cu substanțele nutritive. Vârsta modifică numeroase funcții ale organismului, ceea ce se reflectă asupra farmacodinamiei medicamentelor. Un alt aspect al interacțiunii medicament - aliment, este faptul ca medicamentele pot produce o depleție în substanțe nutritive din organism, proces care poate evolua pe mai multe căi: prin inducerea malabsorbției, interacțiunea cu substanțe nutritive (Wellig et al., 1991).

Cauzele unei biodisponibilități reduse în cazul unei substanțe de interes chimioterapic pot fi:

a) Solubilitatea compușilor : când un medicament se dizolvă rapid și trece repede prin membrane, absorbția tinde să fie completă. Absorbția medicamentelor administrate oral nu este întotdeauna completă. Înainte de a ajunge în vena cavă, un medicament traversează tractul gastrointestinal și trece în ficat, sediul metabolismului acestuia. Deci un medicament poate fi metabolizat înainte de a putea fi măsurat în circulația sistemică. Pentru medicamentele la care metabolizarea se realizează rapid, consecința terapeutică în prima fază de metabolizare depinde de efectele dorite și nedorite ale medicamentului și metaboliților acestuia.

b) Biodisponibilitatea scăzută este întâlnită în cazul administrării orale a medicamentelor mai ales la cele cu solubilitate mică în apă. Absorbția scăzută sau incompletă este influențată de mai mulți factori decât cea rapidă și completă, deci o absorbție incompletă duce la răspunsuri terapeutice variate.

c) Timpul insuficient de tranzitare a tractului gastrointestinal este o cauză răspândită a biodisponibilității scăzute. Medicamentele ingerate sunt prezente în tractul intestinal 1-2 zile, dar în

intestinul subțire nu petrec mai mult de 2-4 ore. Dacă medicamentul nu se dizolvă rapid sau nu poate tranzita membrana epitelială timpul în punctul de absorbție poate fi insuficient. În acest caz, biodisponibilitatea prezintă o variație crescută respectiv scăzută. Vârsta, sexul, activitatea desfășurată, fenotipul genetic, stresul, diferite boli sau operații ale tractului gastrointestinal pot afecta biodisponibilitatea.

c) Interacțiile din tractul digestiv. Reacțiile care concură cu absorbția pot reduce biodisponibilitatea. Acestea sunt reacții de formare de complecși, hidroliza acidă la nivelul stomacului sau hidroliza enzimatică în intestin, reacții de conjugare în peretele intestinal, adsorbția altor medicamente și metabolizarea datorată microflorei luminale.

Cauzele unei biodisponibilități crescute sunt prezentate în cele ce urmează:

a) Viteza de absorbție. Pentru determinarea maximului de biodisponibilitate al unui medicament, se stabilește maximul concentrației medicamentului în plasmă, în ce moment apare acesta și aria picului. Concentrația plasmatică a medicamentului crește cu avansarea absorbției. Picul se obține când rata de eliminare a medicamentului egalează rata de absorbție. Metoda maximului de concentrație plasmatică poate să nu arate realitatea pentru că medicamentul se poate elimina înainte de a ajunge în fluxul sanguin. Cea mai des întâlnită metodă este cea a maximului de timp. Această metodă poate fi însă afectată de frecvența de recoltare a probelor de sânge.

b) Modul de administrare al chimioterapicelor. Biodisponibilitatea poate crește după o administrare unică sau multiplă a medicamentului. Cele mai multe informații despre rata de absorbție se obțin după o singură doză administrată decât după mai multe doze. În orice caz, administrarea în doze multiple este mai obișnuită în situațiile clinice și concentrațiile plasmatică înregistrate sunt de asemenea mai mari. Biodisponibilitatea mai poate fi apreciată prin măsurarea concentrației medicamentului în urină, prin colectarea acesteia într-un interval de 24 ore.

În contextul general se poate discuta interrelația între nutrienți și xenobiotice de interes alimentar și de interes farmaceutic. În acest context se poate remarca faptul că observațiile privind cauzele scăderii sau creșterii biodisponibilității prezintă similitudini la nutrienți și chimioterapice. Nutrienții (glucide, lipide, etc.) și xenobioticele (compuși organici, anorganici, aditivi alimentari, unele medicamente) acced în organism fapt care implică un schimb transmembranar. Prin urmare, substanțele de proveniență exogenă (toxici, medicamente, aditivi alimentari, poluanți) trebuie să traverseze una sau mai multe membrane biologice înainte de a ajunge la centrul activ. Cunoașterea căilor de pătrundere a toxicelor în organism are o deosebită importanță, căci de acestea depinde, în mare măsură, ritmul absorbției, care condiționează concentrația la nivelul receptorilor (Cotrău, 1978 ; Popa, 2004). Astfel, substanțele toxice pătrunse pe cale orală străbat mucoasele tractului gastrointestinal, toxicele gazoase și volatile trec din aerul inhalat prin mucoasa căilor respiratorii, unele substanțe toxice aplicate pe tegumente sau mucoase traversează straturile acestora. Traversarea membranelor este condiționată de: natura chimică și structura moleculelor

constitutive ale membranei; proprietățile fizico-chimice ale toxicului; structura fizico-chimică a moleculelor mediului de o parte și de alta a membranei. Calea de pătrundere are influență atât asupra gradului de toxicitate. În general, toxicitatea crește cu cât se asigură o trecere mai rapidă în circulație (Gavrilă et al., 1986). Aceste probleme cu trimitere la toxicologia generală interesează prin similitudine, problema metalelor cu potențial toxicogen.

Alimentația joacă un rol important în protejarea față de toxici, sau dimpotrivă, în accentuarea toxicității. Exemplele de mai jos vin în sprijinul celor afirmate:

- Aportul protidic - calitatea și cantitatea proteinelor scade sau mărește toxicitatea, în funcție de substanța exogenă (Cotrău, 1978) și de doza acesteia (Suschelet et al., citați de Cotrău, 1978);

- Aportul lipidic - poate crește sau scade toxicitatea, existând o corelație între substanță și doză. Efectul depinde și de conținutul lipidic al regimului;

- Aportul de glucide - modifică utilizarea proteinelor ca sursă de energie. În deficiența proteică, viteza de absorbție a glucidelor determină utilizarea lor optimă, astfel, glucidele cu absorbție lentă sunt superioare celor cu absorbție rapidă (Cotrău, 1978).

- Aportul vitaminic - unele vitamine sunt cofactori de enzime și deficiența lor dereglează anumite căi metabolice.

- Aportul de minerale - poate crea efecte sinergice sau antagonice. Efectul se poate produce între minerale sau între acestea și alte substanțe exogene sau endogene.

- Aportul altor substanțe - administrarea simultană a mai multe substanțe scade sau mărește efectul toxic.

- Aportul substanțelor accidentale (poluanți, aditivi alimentari) - acestea pot avea repercursiuni alimentare reunite sub denumirea de "toxicitate indirectă" și au ca efect distrugerea unor factori nutritivi în tubul digestiv, interferează metabolismul compușilor indispensabili, se opun stocării compușilor indispensabili în unele organe.

Alți factori care influențează metabolizarea substanțelor exogene de către organismul în care pătrund sunt ritmul circadian și factorii genetici. Există mari diferențe individuale în efectul unei substanțe exogene, de la o zi la alta sau diferă chiar cu ora din zi. Ritmul circadian al proceselor metabolice influențează statusul homeostaziei funcției nervoase, al excreției urinare, al concentrației plasmatice de hormoni, precum și metabolizarea substanțelor exogene.

1.2.2. VARIABILELE BIODISPONIBILITĂȚII

În materie de biodisponibilitate, factorii care influențează homeostazia oligoelementelor au un rol important în relația între aportul total de oligoelemente și menținerea acestora în limite necesare pentru

asigurarea stării de sănătate. Principalele variabile care influențează biodisponibilitatea și utilizarea oligoelementelor sunt prezentate mai jos. O înțelegere a mecanismelor de acțiune și a factorilor care influențează biodisponibilitatea pentru oligoelemente poate ajuta la identificarea regimurilor alimentare principale și stările fiziologice susceptibile la riscurile de carență sau de exces. Se poate prevedea cu destulă eficacitate influența variabilelor alimentare, de mediu și de altă natură asupra acestui risc (Gârban 1999).

1.2.2.1. VARIABILE INTRINSECI (FIZIOLOGICE)

A. Mecanisme de absorbție în cadrul cărora se discută aspecte legate de : alterarea absorbției, de la vârsta copilăriei la bătrânețe și reglarea homeostatică.

Numeroase studii pe animale de laborator indică că intestinul imatur al unui nou născut nu este capabil să realizeze o reglare homeostatică a absorbției în cazul multor oligoelemente. Se știe că absorbția de cadmiu, cupru, fier și plumb poate ajunge și la 80% pe parcursul primelor zile de viața la șobolan. Absorbția acestor elemente sub formă complexată metal-proteină se produce prin pinocitoză în celulele din mucoasa intestinală. Eficacitatea absorbției cuprului, zincului și a altor oligoelemente par să nu fie legate de statutul tisular al acestor elemente la animalul tânăr. În stadiul precoce de dezvoltare, absorbția unui număr mare de oligoelemente esențiale sau toxice poate fi de 10-40 ori mai importantă ca după instaurarea “ blocajului intestinal”. Invers, eficiența absorbției intestinale a unui număr de oligoelemente, scade la persoanele în vârstă chiar și în bună stare de sănătate (Gârban, 2005).

B. Interacții metabolice/funcționale.

În cadrul interacțiilor metabolice au fost remarcate două aspecte particulare și anume : interdependența proceselor și interrelațiile metabolice. În cadrul interdependenței studiată în raport cu stocarea de elemente și metabolizarea acestora, s-a constatat că există fenomene de interdependență între oligoelemente și alți metaboliți sau între oligoelemente luate ca atare. Problema interrelației metabolice interesează cazurile particulare ale pierderii sau reducerii cantității de oligoelemente stocate, sau a eliberării din sistem a elementelor stocate (Gârban, 2005).

1.2.2.2. VARIABILE EXTRINSECI (NUTRIȚIONALE)

A. Solubilitatea și dimensiunile moleculelor speciilor portante ale oligoelementelor

În evaluarea biodisponibilității sunt importante studiile asupra solubilității și dimensiunii moleculelor care conțin oligoelemente și sunt prezente în produsul alimentar, dar și produșii de digestie intestinală care influențează absorbția la nivelul mucoaselor.

Relația inversă constatată între statutul preexistent al oligoelementului și eficacitatea absorbției elementelor se pune în evidență prin descrierea cazurilor concrete, cel mai adesea studii legate de fier. Consecința acestei relații face posibilă interpretarea și aplicarea datelor asupra biodisponibilității biologice potențiale a surselor de fier.

Eficacitatea absorbției de zinc se poate lega de aportul actual de zinc și statutul preexistent. Retenția și absorbția zincului administrat oral, se situează între 5 -95% în funcție de statutul preexistent al zincului.

Absorbția cuprului este de asemenea corelabilă cu aportul sau statutul cuprului, ceea ce poate explica o mare parte a variabilității .

Există compuși care activează absorbția (Gârban, 1999) e.g.: citrații, histidina activează absorbția Zn; ascorbatul modifică antagonismul Fe/Cu generând unele efecte sinergice. De asemenea există substanțe care mențin statusul transportului oligoelementelor în cadrul mobilității sistemice. Astfel de acțiuni au transferinele și albuminele care în general sunt estimate ca fiind substanțe cu rol de lianți plasmatici importanți în ionoforeza diferitelor oligoelemente.

B. Efectele sinergice se pot descrie prin două substanțe A și B care acționează în același sens. Efectul global poate fi:

a) egal sau mai mic decât suma efectelor lui A și B luate separat (adiție sau sumă) și are loc când substanțele acționează asupra aceluiași tip de receptor: tetraclorură de carbon+ dicloretan, morfină+scopolamină, adrenalină+ noradrenalină, etc.

b) mai mare decât suma efectelor lui A și B luate separat (*potențare*) și are loc când substanțele acționează asupra unor receptori diferiți: cianamidă de calciu+alcool etilic, toluen +acetat de butil, apă oxigenată+bioxid de sulf, cocaină+adrenalină, etc.

C. Efectele antagonice se pot descrie prin două substanțe A și B care acționează în sens contrar, rezultând un efect global micșorat, nul sau inversat. În relația antagonică se deosebesc: agonistul - orice substanță biologică activă (toxic sau farmacologic); antagonistul - substanța care micșorează, anulează sau inversează efectul agonistului.

Antagonistul poate acționa prin:

a) mecanism chimic propriu-zis: anihilarea acțiunii agonistului. De exemplu: calciu și citrat de calciu; metale grele și substanțe tiofore. Această formă de mecanism nu este nici selectivă, nici specifică.

b) mecanism biochimic; se disting:

b¹) antagonism competitiv, când antagonistul, având structură asemănătoare agonistului, acționează asupra aceluiași receptor (dar în sens contrar) Acest metabolism este de obicei specific și selectiv;

b²) antagonism necompetitiv, când antagonistul reacționează cu alți centri activi ai receptorului , acest tip este specific sistemelor enzimatic și când reacționează cu receptori diferiți, perturbând efectul agonistului. De obicei nu sunt specifice, dar pot fi selective.

Efectele antagonice se manifestă în două feluri și anume prin diminuarea solubilității elementelor în tractul gastrointestinal și prin realizarea unei competiții antagonice între oligoelemente.

1.2.3. COMPUȘII MINERALI ȘI BIODISPONIBILITATEA

Numai simpla detectare chimică a unor oligominerale nu poate exprima integral și capacitatea organismelor vii de a le folosi în interacțiile specifice metabolismului. Se pune prin urmare problema biodisponibilității, adică a gradului în care compușii sub forma cărora oligomineralele există în sol și în plante, pot fi folosiți în procesele metabolice (Ciupercescu, 1984).

Abordarea problemei biodisponibilității în studiul compușilor biominerali este justificată și de extinderea cercetărilor fundamentale și aplicative cu referire la utilizarea biomineralelor sub forma așa-numitelor suplimente alimentare sau sub forma unor produse chimioterapeutice (Gârban, 1999). Nutriția minerală reprezintă un ansamblu de interacții metabolice cu rol activ în menținerea echilibrelor acido-bazice, osmotice și oncotic. Rolul biochimic al elementelor minerale este extrem de divers. Viața fiecărei celule este indisolubil legată de interacțiunea dintre componentele organice și anorganice, iar funcționalitatea acestor combinații determină creșterea, dezvoltarea, producția, reproducția și în general, starea de sănătate. Elementele minerale nu pot fi sintetizate în organism. Acestea pot genera frecvent tulburări nutriționale de tipul dismineralozelor, fie prin exces, fie prin carență. La acestea se adaugă și existența unor relații interminerale de tip antagonic sau sinergic, impunându-se cunoașterea unor limite de toleranță pentru fiecare element mineral (Grecu et al., 1982 ; Mogoș, 1997; Pop, 1999; Gârban, 2000; Gârban, 2005).

Studiindu-se biodisponibilitatea la compușii biominerali s-a constatat că există cauze biochimice, biofizice, fiziologice și chiar genetice care influențează homeostazia bioelementelor. În mod curent se evaluează relația dintre aportul total de bioelemente și menținerea acestora în "limite fiziologice" pentru a asigura starea de sănătate (Mogoș, 1997). Biodisponibilitatea este tributară efectului tuturor mecanismelor fizico-chimice și fiziologice care influențează ceea ce se produce în organism cu un nutrient ingerat, în cursul proceselor anabolice și catabolice.

Biodisponibilitatea în raport cu compușii biominerali cationici – utilizați ca micronutrienți de natură metalică a fost studiată pornind de la diverși compuși care pot elibera fragmentul biologic activ (în speță

ionii metalici). În acest scop se utilizează compuși salifiați de tipul succinat, fumarat, maleat, α - cetoglutarat s.a. sau compuși chelatici de tipul aminoacizilor metalo-chelatați (Gârban, 1999). Acești compuși prin aportul ionic au tendința de a restabili homeostazia în metabolismul hidro-electrolitic.

Nutrienții minerali sunt compuși ce conțin bioelemente metalice (Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, etc.) și nemetalice (P, S, Se, I, etc.). Între bioelemente, metalele au o importanță majoră, intervenind în procese metabolice, jucând un rol important în menținerea homeostaziei. Metalele sunt de asemenea implicate în funcționarea optimă a sistemului imunitar - sistemul de apărare împotriva agenților dăunători din mediul intern și extern. De fapt, rolul fiziologic al mineralelor este mult mai complex și divers, vizând (Neamțu, 1980; Pop, 1999) :

- activitatea unor glande endocrine, e.g. iodul pentru tiroidă;
- structura și activitatea unor vitamine, e.g. cobaltul în vitamina B₁₂; sulfurul în vitamina B₁;
- structura hemoglobinei, e.g. fierul – ion central al macroionului porfirinic care formează hemul;
- stimularea funcției digestive, e.g. clorul sub formă de acid clorhidric în activitatea pepsinogenului;
- în metabolismul metaloproteinelor, e.g. cuprul în ceruloplasmină, fierul în feritină;
- funcția de reproducere e.g. zincul, manganul, seleniul, iodul, cuprul, cobaltul, fosforul;
- structura clorofilei, e.g. Mg ca ion central al macrociclului forbinic.

Concentrația elementelor minerale în organism se menține prin mecanisme neuroendocrine, ca urmare a stimulării osmoreceptorilor și chemoreceptorilor celulari și tisulari. Bioelementele intervin în:

- procesul de polarizare al membranelor celulare;
- întreținerea excitabilității neuromusculare, în raport cu concentrația diferiților ioni din plasmă;
- menținerea pH-ului umorilor și în general a lichidelor biologice;
- menținerea presiunii osmotice și a echilibrului hidrodinamic;
- activitatea diferitelor sisteme enzimatic.

Pornind de la acestea, în nutriția umană, farmacologie și implicit în nutriția parenterală s-a realizat gruparea nutrienților minerali în două categorii: macroelemente - necesare în dieta umană în cantități mai mari de 100 mg/zi; microelemente - necesare în dieta umană în cantități mai mici de 100 mg/zi (Contrea și Contrea, 2000).

Atribuirea termenului de microelement se bazează pe trei criterii fiziologice, care prevăd următoarele condiții: carența de microelement - în carența a unui anumit microelement, organismul să nu își poată desfășura procesele fiziologice, specificitatea acțiunii microelementului - acțiunea microelementului să fie specifică și să nu poată fi înlocuită de un alt element, acțiunea microelementului asupra organismului - microelementul să aibă o acțiune directă asupra organismului.

În decursul evoluției vieții, natura a selectat din totalul elementelor chimice existente aproximativ 52 de elemente care intră în alcătuirea materiei vii. Dintre acestea numai 40-43 apar în mod constant în orice

organism vegetal sau animal și sunt denumite bioelemente, implicate însă în mod esențial în structura și funcționalitatea organismelor vii sunt însă numai 25 de elemente.

În natură, elementele urmează un anumit geociclu, care a fost și este influențat de activitățile umane. În epoca noastră, caracterizată de o intensă activitate industrială, biosfera este din ce în ce mai contaminată de cei mai diverși poluanți și supusă unei redistribuiri posibil nocive a sărurilor și ionilor metalici, care pot intra alături de substanțele toxice și de poluanți, în ciclurile biologice.

Ținând seama de răspândirea elementelor în scoarța terestră, elementele esențiale organismelor vii se încadrează între cele frecvent răspândite, ceea ce înseamnă că selecția naturală a înlăturat dependența organismelor vii de elementele mai puțin accesibile (Neamțu et al., 1982). Concentrația metalelor în organism diferă în funcție de specie, organ, țesut, vârstă, stare fiziologică, alimentație, habitat, gradul de poluare, etc. Prin modelarea activităților biochimice din organism, sărurile minerale intervin în adaptarea organismului la mediul înconjurător. Prezența unei stări de sănătate bune impune acest lucru și multe din reacțiile de răspuns la solicitările din mediul ambiant depind de existența unor concentrații minime de elemente minerale. Insuficiența acestora afectează rezistența corpului omenesc și poate cauza producerea anumitor boli - dismineraloze. Pe de alta parte, depășirea anumitor concentrații considerate optime generează afecțiuni la fel de periculoase ca și cele obținute prin carența acestora.

1.3. SINERGISMUL ȘI ANTAGONISMUL ÎN RELAȚIA BIOELEMENTE-ORGANISM

Metalele ajung în organism prin: alimente, suplimente alimentare, aer, apă, contact cu medii poluate, etc. Fiecare organism necesită o concentrație optimă dintr-un element dat, peste care sau sub care nu se mai dezvoltă corespunzător (Neamțu et al., 1982). Există numeroase produse alimentare care conțin substanțe care reduc gradul de utilizare al metalelor de către organism. De asemenea o mare parte din minerale se pierd prin procesele de rafinare sau pregătire culinară a alimentelor. Chiar și între substanțele minerale rezultate din digestia hranei se exercită fenomene de sinergism și antagonism, care modelează gradul absorbției intestinale (***) - MAFF, 1997). Astfel, după cum am prezentat în subcapitolele anterioare, în cazul prezenței concomitente sau succesive (la intervale scurte) a doi sau mai mulți nutrienți sau în cazul prezenței unui xenobiotic alături de anumiți nutrienți din alimente se pot genera diverse interacții. Acțiunea xenobioticelor poate evidenția trei circumstanțe și anume (Gârban, 2005) :

1. Sinergism – acțiunea a două substanțe are același sens;
2. Antagonism – acțiunea a două substanțe are sens contrar, rezultând un efect global micșorat, nul sau inversat;
3. Anergism – definește situația în care acțiunea a două substanțe se desfășoară independent una de alta, fără a avea loc o influențare.

1.3.1. SINERGISMUL ȘI ANTAGONISMUL LA MACROBIOELEMENTE ȘI OLIGOELEMENTE

O succintă prezentare a macro- și oligoelementelor prezintă interes pentru discutarea ulterioară a aspectelor de sinergism- antagonism.

Macrobioelementele (elementele macrobiogene) reprezintă cca. 99,70% din constituenții materiei vii. Între aceștia se include macrobioelementele cuaternare: oxigen, carbon, hidrogen, azot și două elemente discutate curent în cadrul compușilor biominerali: calciul și fosforul.

Oligobioelementele (elementele oligobiogene) - se află în proporție mai redusă, reprezentând 0,05-0,75%. În grupa acestora se includ sodiul, potasiul, magneziul, sulful și clorul.

În continuare se face o prezentare generală a macro- și oligoelementelor cu evidențierea interrelațiilor de interes biochimic.

A. Sodiul în sistemele biologice

a) Date generale

Cationii grupelor 1 și 2 împreună cu anionii: Cl^- , HPO_4^{2-} , HCO_3^- , sunt electroliți de bază ai sistemelor vii. Abateri, chiar mici de la concentrațiile normale pentru om sunt indicii ale unor simptome de disfuncții și complicații patobiochimice. După Williams (1971), rolul elementelor chimice – sodiu, potasiu, clor - este foarte important în următoarele procese vitale: controlul osmotic; echilibrul și circulația electroliților; stabilitatea polielectroliților de tipul acizilor nucleici DNA, RNA, de tipul proteinelor membranare, ș.a.; interacții ale metaboliților organici.

Prin urmare există un sistem interactiv de transmitere de mesaje “ feed-back” în multe procese celulare, iar în organismele mai dezvoltate acesta se extinde la comunicari celulă-celulă, organ- organ. În organismul animal raportul $\text{Na}_2\text{O} : \text{K}_2\text{O} = 1:1$. În organism sodiul are distribuție prioritar în lichidele biologice și spațiul extracelular, iar potasiul în spațiul intracelular. Animalele și omul necesită sodiu în special în cazul unui regim vegetarian. În cazul unei alimentații bazate exclusiv pe produse din carne, necesarul de sodiu este nul.

b) Interrelațiile sodiului cu alte elemente

Sodiul este un element cu repartiție preponderent extracelulară, fiind prezent în diverse lichide ale organismului, intervenind în menținerea presiunii osmotice și deci în metabolismul hidromineral. Sistemul enzimatic implicat în transportul ionilor este reprezentat de ATP-ază, activată de ionii de sodiu și potasiu (Ghizdavu, 2000). Participă de asemenea în reglarea echilibrului acido-bazic, în asigurarea funcției sistemului neuro-muscular (strânse relații cu ionii de calciu și magneziu, intervine în neutralizarea conținutului ruminal și activitatea unor fermenți, împreună cu potasiul în adenzin trifosfataza membranei celulare . S-a stabilit demult că animalele și omul necesită sodiu mai ales în cazul unui regim alimentar vegetarian. În cazul unei alimentații exclusiv carnate, această necesitate poate fi redusă la zero (Scvorțov,1951). Toxicitate (hipernatremia), apare la ingestie de exces de Na, administrare de soluții hipertone. Deficiența apare în general în caz de deshidratare a organismului (Alpers et al., 2002).

B. Potasiul în sistemele biologice

a) Date generale

Potasiul este un ion preponderent intracelular. Împreună cu sodiul și calciul potasiul este responsabil de menținerea potențialului electric al membranei celulare. Potasiul ajută la reglarea

contractiilor neuromusculare ca urmare a formării glicogenului, sinteza proteinelor și echilibrul acido – bazic.

b) Interrelațiile potasiului cu alte elemente

Potasiul, macroelement mineral necesar organismului prezintă relații metabolice strânse cu sodiul și clorurile (Pop,1999 ; Ghizdavu, 2000). Acest aspect rezultă și din faptul că ele nu se pot stoca în organism fiind de asemenea necesar un aport continuu. O cantitate mai mare de săruri de potasiu sporește necesitatea de săruri de sodiu. Sărurile de potasiu având acțiune diuretică elimina din organism sărurile de sodiu. Fosfații de potasiu suferă o reacție dublă cu clorura de sodiu și atât fosfatul de sodiu cât și clorura de potasiu sunt eliminate prin rinichi (Scvorțov, 1951). Rezultă din acestea că sodiul și potasiul sunt antagoniști. Ionul de calciu împiedică fenomenele generate de ionul de potasiu, adică oprirea cordului în diastolă la administrarea intravenoasă a potasiului. În unele cazuri se administrează simultan calciu și magneziu (în rigiditate potasică când excitabilitatea nervilor și mușchilor scade). Sărurile de sodiu administrate intravenos nu sunt toxice (comparativ cu cele de potasiu). Soluțiile concentrate administrate în doze mari, pot provoca manifestări morbide ale sistemului nervos central. Ionul de potasiu ia parte activă în reglarea debitului glucozei prin epiteliul renal. Scăderea cantității ionilor de potasiu sau mărirea ionilor de calciu din sânge, duce la o sporire însemnată a cantității de glucoză eliminată prin rinichi.

Sodiul și potasiul au acțiune sinergică cu vitamina B₁₂. Sodiul împreună cu magneziul potențează activitatea vitaminei B₆. La ierbivore, starea de sănătate este influențată doar când raportul K:Na este mai mare de 10:1 (Pop, 1999).

O interesantă constatare este aceea referitoare la ionul de taliiu. Acesta având raza apropiată de aceea a potasiului, poate intra în celulă via canale de K⁺ și îl poate înlocui pe acesta în diferite procese biochimice, cel mai important fiind în Na⁺/K⁺ ATP-aza (Alpers et al., 2002).

Toxicitatea (hiperkalemia) se manifestă datorită unei prea largi distribuții intracelulare a K. Cauzele : disfuncții renale, aport prea mare de K, peniciline cu conținut de potasiu. Tratamentul constă în administrarea de gluconat de Ca, glucoză sau insulină, bicarbonat de sodiu, hemodializă în cazuri grave. Deficiența este rar întâlnită (Gârban, 1999, Alpers et al., 2002) .

C. Calciul în sistemele biologice

a) Date generale

În organism calciul se află în oase ca și cristale de hidroxiapatită și fosfat tricalcic amorf (Williams,1971). Restul se află în lichidul extracelular, mușchi, rinichi, plasma. Calciul are rol complex în organism: în transmisia nervoasă; contractia musculară; echilibrul electrolitic; coagularea sângelui.

În complexii formați cu aminoacizi, proteine și enzime calciul dă reacții de substituție cu câteva ordine de mărime mai rapid decât ionul de magneziu.

b) Interrelațiile calciului cu alte elemente

Calciul în exces devine inhibitor al propriei sale absorbții (Mincu et al., 1985). Calciul determină diminuarea solubilității în cazul asocierii Ca/Zn/fitați (conform raportului OMS, 1997). Antagonismul calciului cu plumbul este foarte cunoscut, plumbul întârzie apariția nucleelor de osificare. Această proprietate este folosită în cazul intoxicațiilor cu plumb, când se administrează intravenos soluții conținând calciu, provocând o excreție rapidă a plumbului din sânge și organele ușor accesibile (Ghizdavu, 2000; Altura et al., 1994). Între calciu și potasiu există un antagonism funcțional. Când raportul K:Ca este de 2 în organism se desfășoară o activitate normală, iar când raportul este superior, pot să apară aritmii și sincopă cardiacă. Calciul în doze mici este sinergic cu magneziul (raport 1Mg:2Ca) (Pop, 1999).

Lipidele saturate scad biodisponibilitatea absorbției calcice (Ghizdavu, 2000) absorbția calciului fiind condiționată și de corelația între acesta și "proteina Wassermann". Stronțul este capabil să substituie calciul și provoacă manifestări similare rahitismului. Administrarea unei medicații alcaline, a unei alimentații hiperlipidice, carențele în vitamina A și D sau hipersecrețiile biliare favorizează eliminarea calciului (Pop, 1999). Absorbția calciului este condiționată de un aport optim Ca/P= 1,3-1,8 (conform raportului OMS, 1997), metabolismul fosfocalcic aflându-se sub control endocrin și vitaminominal. Acidul citric formează cu calciul chelați solubili și difuzabili prin pereții intestinali (***) - RDA, 1993-1997); Vitamina D, A, C, E, favorizează absorbția calciului, lisina și arginina determină creșterea absorbției calciului intestinal. Calciul acționează ca și antagonist al fierului când sunt administrați în aceeași dietă (Kannan, 1998).

Toxicitatea aluminiului asupra scheletului a fost evidențiată de multe studii din care reiese relația antagonică pe care calciul o are cu aluminiul. Studiile au relevat descreșterea formării osoase (osteomalacie), scăderea conținutului de calciu în os, cu creșterea calciului seric (Parkinson, 1979). Efectul de protecție asupra aluminiului din apa potabilă este asigurat doar de apele care au o duritate totală medie de 1,7 mmol/l (Kannan, 1998).

Efectul galiului în procesul de mineralizare osoasă este semnificativ începând cu anumite valori. Galiul urmează aceleași căi biochimice cu calciul în procesul de creștere al cristalelor (raport WHO- IPCS INCHEM, 2002). Cadmiul este foarte toxic deoarece el poate înlocui calciul din oase (Ghizdavu, 2000).

Toxicitatea calciului se manifestă în caz de supradozare și poate duce la disfuncții renale și calcifiere metastatică (Gârban et al., 2003). Deficiența este foarte des întâlnită și este determinată de un aport insuficient de Ca, dietă cu conținut bogat de fibre, P, proteine, deficiență de vitamina D (Alpers et al., 2002).

D. Magneziul în sistemele biologice

a) Date generale

După sodiu, potasiu și calciu, magneziul este cel de al patrulea cation ca și concentrație prezent în organism. Magneziul se regăsește în proporție de 60% în oase, restul fiind distribuit egal între mușchi și alte țesuturi moi. Mai puțin de 5% din magneziu se află distribuit extracelular. În organism, magneziul participă la mai mult de 300 de reacții enzimatică, care implică transferul grupelor fosfatice, acilarea coenzimei A, hidroliza fosfatului și pirofosfatului și sinteza acizilor nucleici.

b) Interrelațiile magneziului cu alte elemente

Magneziul este un element esențial vieții a cărei comportare biologică este reprezentată prin două comportamente principale: participarea sa în reacțiile biochimice cu compuși care conțin ionul fosfat și în metabolismul fosfatului și al doilea este legarea sa în pigmentii de clorofilă. În organism, Mg (II), alături de calciu, sodiu și potasiu are rol fundamental în conducția electrică a pulsațiilor inimii și în contractabilitatea celulelor cardiace. Carența de ioni de magneziu și potasiu favorizează aritmiile, iar carența de magneziu și calciu determină o creștere a excitabilității nervoase și musculare, adică spasmofilie (Ghizdavu, 2000).

Ghizdavu, 2000, arată că în clorofile, care sunt compuși de coordonare a ionului de Mg (II) cu 4 atomi de azot pirolici ai ligandului porfirinic, Mg (II) este ușor înlocuit chiar în mediu slab acid de ioni metalici tranziționali (II), ca: cuprul, cobalt, zinc, fier. Vitamina B₁₂ stimulează regenerarea nervilor periferici la șobolan. Vitamina B₁₂ nu acționează bine decât în prezența cobaltului și mai ales, după cercetări recente, în prezența magneziului și cuprului (Valnet, 1986).

Antagonic cu calciul, reducerea ingestiei de magneziu duce la mărirea absorbției de calciu (conform raportului OMS, 1997). Magneziul este antagonic cu aluminiul, deoarece aluminiul inhibă enzimele ce au ca și cofactor magneziul. În general în sistemele biologice, aluminiul va fi competitiv ca magneziul, mai mult decât cu calciul. Ambii ioni, Al⁺³ și Mg⁺² caută liganzi donori de oxigen, în special grupe fosfatice. Oriunde este un proces care implică magneziul, există posibilitate de interferență pentru aluminiul (Macdonald et al., 1988- citat de Nicolini et al., 1991). Competiție între zinc și magneziu în bacterii (zincul este un antiseptic iar magneziul este esențial activității metabolice a bacteriilor și fungiilor). Celuloza, hemiceluloza, pectinele scad absorbția de magneziu (Kannan, 1998).

Sinergismul magneziului se manifestă și cu fosfații, care sunt sursa de energie universală în sistemele biologice. Reacția (exoergică) de hidroliză a ATP-ului se desfășoară în prezența ionului de magneziu care are rol de cofactor enzimatic (Pop, 1999). Excesul de potasiu reduce valorificarea magneziului din furaje, mărinnd eliminarea lui prin fecale. Carența de magneziu determină scăderea fosfolipidelor serice, trigliceridelor. Proteinele cu valoare biologică mare cresc absorbția de magneziu. Magneziul, alături de calciu ajută la utilizarea vitaminei C în organism. Vitamina A, D cresc absorbția de magneziu. Calciul și

fitina reduc absorbția de magneziu (conform raportului OMS, 1997). Acidul fitic, fitații în general, reduc absorbția de magneziu. Toxicitatea (hipermagneziemia) apare în blocaj renal și eclampsie, cetoacidoză diabetică. Deficiența apare în caz de pierderi intestinale, renale, supradozare în Ca (Alpers et al., 2002).

E. Fosforul în sistemele biologice

a) Date generale

Fosforul este un macrobioelement nemetalic prezent în sistemele vii, fiind indispensabil funcțiilor vitale. În organismul omului matur există cca 550-850 g fosfor, majoritatea în schelet, dinți apoi în mușchi, nervi și sânge. În organism fosforul se află sub forma de compuși ai acidului ortofosforic și chiar pirofosforic. Se disting fosfați anorganici primari, secundari, terțiari, formați cu diverși cationi ai unor biometale: sodiu, potasiu, calciu, magneziu și în unele cazuri și cu cationi ai metalelor cu potențial toxicogen plumb, stronțiu, etc.

b) Interrelațiile fosforului cu alte elemente

Efectul antagonic se manifestă cu calciul după depășirea raportului optim Ca/ P (conform raport OMS 1997 ; Alpers et al., 2002). Metabolismul calciului și fosfatului sunt interdependente. Reglarea balanței calciului și fosfatului este în mare măsură influențată de nivelul circulant al hormonului paratiroidian, vitamina D și hormonul calcitonină. Calciul și fosforul anorganic sunt legate prin abilitatea acestora de a reacționa chimic unul cu celălalt pentru a forma fosfatul de calciu. S-a estimat că produsul concentrațiilor de calciu și fosfat în mEq/l in vivo este în mod normal de 60. Când valoarea depășește 70, crește riscul de precipitare al cristalelor de fosfat de calciu în țesuturile moi. Arterioscleroza este o consecință a precipitării fosfatului de calciu în țesutul vascular (conform raport OMS, 1997).

Creșterea conținutului de fosfor din alimente scade calciuria în funcție de raportul Ca/ P. Excesul de fosfor și un aport redus de magneziu determină hipomagneziemie și intervine în apariția tetaniilor nutriționale. Vitaminele A, D, F, îmbunătățesc absorbția de fosfor (Mincu, 1985). Toxicitate (hiperfosfătemia) apare la pacienți cu insuficiență renală, hiperparatiroidism asociat cu demineralizare osoasă. Deficiența apare în malabsorbție intestinală, alcoolism, aport ridicat de Ca. Activitatea parathormonului este puternic influențată de doze mari de P ingerate.

F. Sulfurul în sistemele biologice

a) Date generale

Sulfurul este un macroelement necesar organismului, care participă sub formă de sulfați la diverse reacții metabolice. Sulfurul este necesar pentru sinteza microbiană de tioaminoacizi (metionină, cistină, cisteină) (Pop, 1999).

Sulfații anorganici prezenți în organismul uman rezultă din oxidarea la nivel hepatic a sulfului prezent în aminoacizii prezentați anterior.

În organismul uman, sulfurul are un important rol în procesul de morfogeneză dar și în procesele fiziologice. Acest oligoelement intervine în procesele legate de dezvoltare, creștere, regenerare (în special sub formă de tioaminoacizi). De asemenea, sulfurul participă la procese de detoxifiere a organismului prin formarea de sulfoconjuzați cu diferite substanțe toxice rezultate în cadrul proceselor catabolice. Sulfurul este implicat în metabolismul glucidic, lipidic și protidic (Gârban, 1999).

b) Interrelațiile sulfurului cu alte elemente

Sulfurul, fosforul și molibdenul formează același tip de anioni. Prezența sulfaților și fosfaților din alimentație, afectează metabolismul molibdenului. Biochimia molibdenului în interiorul celulei este determinată de formarea legăturilor molibden-sulf (Ghizdavu, 2000).

G. Clorul în sistemele biologice

a) Date generale

Clorul este un oligobioelement nemetalic prezent în organismele vegetale și animale. Se află sub formă de cloruri sau chiar sub formă de acid clorhidric. În organism clorul intervine în menținerea presiunii osmotice, a echilibrului acido-bazic, a balanței hidrice dintre diversele compartimente tisulare și umorale. Sub raport metabolic, tranzitarea clorului între hematii și plasmă facilitează fixarea oxigenului de către hemoglobină, respectiv eliberarea dioxidului de carbon. De asemenea, clorul concurează la formarea acidului clorhidric din sucii gastrici și intervine în activarea amilazei salivare (Gârban, 1999).

b) Interrelațiile clorului cu alte elemente

Clorul este strâns legat metabolic de sodiu, sub formă de clorură de sodiu. După absorbție, clorurile trec în lichidele spațiului extracelular, contribuind alături de sodiu la menținerea presiunii osmotice a lichidelor biologice (Pop, 1999).

1.3.2. SINERGISMUL ȘI ANTAGONISMUL LA MICROBIOELEMENTE

În acest subcapitol se prezintă aspecte legate de principalele funcții ale microelementelor în organism, precum și interrelațiile antagonice sau sinergice pe care acestea le stabilesc între ele dar și cu alți nutrienți și anume lipide, glucide, protide, vitamine, etc. Sunt prezentate de asemenea și aspecte privind condițiile în care acestea au rol esențial în funcționarea organismului, dar și efectele dishomeostazice pe care le determină atunci când sunt prezente în exces, respectiv sunt carentiale în organism.

A. Zincul în sistemele biologice

a) Date generale

Zincul este prezent într-un număr mare de enzime sau are funcție de stabilizator a structurii moleculare a constituenților membranei celulare. Zincul participă la sinteza și degradarea glucidelor, lipidelor și proteinelor precum și a acizilor nucleici. De curând s-a descoperit că joacă un rol esențial în transcripția și transferul polinucleotidelor și deci în mecanismele de exprimare genetică. Zincul este prezent în toate lichidele și țesuturile organismului. Conținutul de zinc al organismului este de aproximativ 2 g. Nu există rezervă de zinc în sensul strict al cuvântului. În condițiile resorbției osoase și a catabolismului tisular, zincul poate fi eliberat și într-o mare măsură reutilizat. Studiile experimentale pe om având un regim sărac în zinc, arată că zincul plasmatic circulant și activitatea enzimelor conținând zinc pot fi menținute între limite normale pe parcursul mai multor luni de zile, ceea ce indică că o anumită cantitate de zinc este disponibilă (Gârban, 1999).

Concentrația totală de zinc în organism îl situează într-o poziție intermediară printre oligominerale, în sensul că ea este de câteva zeci sau chiar sute de ori superioară celei a cuprului sau a manganului și cu aproximativ 50% inferioară concentrației fierului.

b) Interrelațiile zincului cu alte elemente

Conținutul de fitați ai rației alimentare afectează în anumite condiții în mod negativ absorbția zincului. Sensibilitatea la fitați ca antagonist al zincului nu este semnificativă decât la regimurile alimentare bazate pe cereale nerafinate și când aportul calcic este ridicat. Regimul alimentar strict vegetarian este sărac în calciu și bogat în fitați. Invers, creșterea aportului de calciu prin creșterea consumului de lapte nu înseamnă că este obținută pe seama potențializării efectului inhibitor al fitatului (conform raportului OMS, 1997).

La animale calciul în exces devine un antagonist al zincului, dar și în prezența în exces a fosforului. Un astfel de efect lipsește la om. La om, influența calciului asupra biodisponibilității zincului este controversată, calciul poate deveni în anumite condiții un antagonist al zincului (Kannan, 1998). Cuprul în exces inhibă absorbția de zinc (Ghergariu, 1980; Ghizdavu, 2000).

Cadmiul este un antagonist cunoscut al zincului, îi inhibă nu numai transferul din peretele intestinal spre sânge, dar interferează și în alte secvențe metabolice, după cum și zincul protejează de toxicitatea cadmiului ([www. Mister Green Genes Nurtition Center Online.htm](http://www.MisterGreenGenesNurtitionCenterOnline.htm), 2002). Compușii zincului au o acțiune antiseptică, astringentă și antifungică, ca urmare a unui mecanism competitiv al zincului cu magneziul și manganul, esențiali activității metabolice a bacteriilor și fungiilor (Scvorțov, 1951).

Furnizarea îndelungată de suplimente cu fier, în special sub formă apoasă, poate induce un dezechilibru fier/zinc. De asemenea, excesul de suplimente cu zinc, afectează negativ absorbția de fier (Kannan, 1998). Zincul scade absorbția de crom (Ghergariu, 1980). Oxalații, fibrele alimentare, EDTA, polifenoli (tanin) reprezintă substanțe cu rol de inhibiție a absorbției de zinc (Kannan, 1998). Plumbul este un antagonist cunoscut al zincului (Ghergariu, 1980).

Proteinele animale îmbunătățesc absorbția zincului într-un regim bogat în fitați (conform raportului OMS, 1997) iar zincul ajută la absorbția vitaminei A (Valnet, 1986). Un conținut ridicat de aminoacizi (în special histidina și cisteina) conținuți în laptele natural, determină creșterea absorbției zincului conținut de acesta. Toxicitatea este rar întâlnită, oricum ingestia a mai mult de 150 mg/zi poate interfera cu metabolismul Cu și Fe. A fost observată de asemenea schimbarea raportului LDL/HDL colesterol (Ahmadi-Vincu et al., 2000). Deficiența apare în unele boli ca : acrodermatită enteropatică, alcoolism sever, nutriție parenterală, arsuri, traume, în caz de lipsă a răspunsului organismului la glucoză, diaree prelungită.

B. Cuprul în sistemele biologice

a) Date generale

Cuprul are o distribuție largă în țesuturile biologice, unde este prezent sub formă de complecși organici, în majoritate metaloproteine cu funcție de enzime. Acestea sunt implicate în diverse reacții metabolice cum ar fi utilizarea oxigenului în cursul respirației. Cuprul intervine în sinteza de compuși esențiali cum sunt proteinele complexe din țesutul conjunctiv al scheletului și vaselor sanguine și într-un ansamblu de compuși neuroactivi cu rol în funcționarea țesutului nervos. Corpul uman conține între 50-120 mg de cupru, cu o medie de 80 mg (Gârban, 1999).

b) Interrelațiile cuprului cu alte elemente

Excesul de suplimente de fier și zinc scad absorbția de cupru (conform raportului OMS, 1997), doze mari de cupru interferează cu zincul, care este necesar în formarea enzimelor digestive -

www.chemicalbalance.com/copper.htm. Acidul ascorbic în cantități mai mari de 1500 mg/zi determină o scădere a absorbției intestinale a cuprului (conform raportului OMS, 1997). Raportul Ca/P mai mare de 2g/zi crește pierderile de cupru prin fecale. Concentrații mari de calciu în dietă interferează negativ absorbția de cupru (Hansen, 1983, www.chemicalbalance.com/copper.htm). Cadmiul este unul din antagoniștii cuprului ([www. Mister Green Genes Nutrition Center Online.htm](http://www.MisterGreenGenesNutritionCenterOnline.htm), 2002). Drogurile și medicamentele antiacide scad absorbția de cupru. Fibre/fitați- efecte determinate la animale dar neconfirmate la om (conform raportului OMS, 1997). Conform altor surse, fitații pot fi cauza unui conținut scăzut de cupru în organism (<http://alternativemedicineandhealth.com/minerals/minerals.htm>, 2004). Fierul scade utilizarea cuprului la nou-născuți, depinde de aportul de zinc și de calciu (conform raportului OMS, 1997). Nivelul crescut de fier în alimentație poate scădea absorbția cuprului (Sandstrom, 2001). Relația antagonică între cupru și plumb a fost evidențiat la animale de laborator, nu este confirmat la om (Ghergariu, 1980). Excesul de cupru în alimentație determină hipoglicemie (Tapiero et al., 2003). Dietele ce favorizează formarea în partea de sus a tubului digestiv a sulfurilor, când și nivelul de molibden este ridicat evidențiază că cuprul este antagonist cu molibdenul (conform raportului OMS, 1997). Mercurul este antagonic cu cuprul iar manganul, B₆, acidul folic în exces sunt antagoniști cu cuprul, îl chelatează sau îl leagă (Hansen, 1983, www.chemicalbalance.com/copper.htm). Aportul ridicat de proteine crește biodisponibilitatea cuprului, acționând sinergic cu acesta (Gârban, 1999). Între cupru și cobalt există relații a căror natură nu a fost suficient elucidată. Zalewska et al. (1965), citați de Ghergariu, 1980, descriu o carență de cobalt, respectiv de vitamina B₁₂ la ovine, care se corectează prin administrarea de cupru. Controlul hormonal al stării cuprului a fost semnalat de Johnson et al., 1959, citați de Ghergariu, 1980, atrag atenția că estrogenii controlează cupremia, observație care a condus ulterior la utilizarea estrogenilor în tratamentul bolii Wilson la om. Există relații între cupru și vitamine, astfel vitamina A crește concentrația hepatică și miocardică de cupru la șobolani, scăzând-o pe cea intestinală (Peterson, 1975).

După Ghergariu (1980), Vitamina D deplasează cuprul din ficat în oase, splină, miocard și creier. Tiamina, la rândul ei, concentrează cuprul în ficat, diminuându-l în splină, pulmon, rinichi și suprarenale). Relațiile dintre cupru și acidul ascorbic sunt bine cunoscute. Antagonismul dintre această vitamină și cupru au fost puse în evidență. Calciul în exces inhibă absorbția de cupru prin creșterea pH-ului mediului digestiv. Autorul afirmă că cianurile și tiocianații inhibă absorbția cuprului. Ei formează in vitro complexe insolubile care se pare că in vitro înrăutățesc captarea cuprului de către mucoasa digestivă.

Asocierile de microelemente în anumite limite sunt sinergice (Valnet, 1986).

- Cu-Au-Ag- în stări infecțioase, afecțiuni degenerative, acționează ca un adevărat antibiotic;
- Cu-Ni-Co- în tratament endocrin;
- Mn-Cu- în antiinfecțios, antiinflamator, oboseală cronică, boli aparat respirator;
- Mn-Cu-Co- în astenii, anemii;

Fierul, zincul, manganul și vitamina B₆ în anumite proporții acționează ca sinergiști ai cuprului. Cuprul se administrează împreună cu vitamina C care îi mărește gradul de absorbție. Cuprul și acidul pantotenic sunt răspunzători de culoarea părului conform aceluiași autor.

Dishomeostazia cuprului : În doze mari Cu determină inhibarea activității enzimei glucozo-6-fosfat dehidrogenaza. În boala Wilson, Cu hepatic este foarte ridicat. Deficiența de Cu duce la creșterea nivelului tisular de Fe, apare în malnutriție și osteoporoză (Alpers, 2002)

C. Fierul în sistemele biologice

a) Date generale

Fierul este metalul tranzițional cel mai abundent în scoarța terestră și este găsit în multe proteine și enzime în natură. În organismul uman fierul este reprezentat în următoarele componente mari: în plasma sub forma de hemoglobină, în țesuturi ca mioglobina, în celulele din măduva osoasă depozitat sub formă de feritină, sub formă de complecși ca: Fe²⁺-enzime, Fe³⁺-transferină.

Există două forme de fier în alimente, fierul hemic și non- hemic. În alimentele vegetale, fierul există sub formă de fier non- hemic. Față de fierul hemic, fierul non-hemic este mai sensibil față de antagoniști sau sinergiști ai absorbției acestuia (Gârban ,1999).

b) Interrelațiile fierului cu alte elemente

Un raport de fier:zinc de 2:1 determină scăderea absorbției de fier (OMS, 1997) iar excesul de cupru determină eliminarea de fier (Ciupercescu, 1984 ; Ghergariu, 1980). La subiecții având o hemoglobină normală dar o feritina serică scăzută, o carență moderată în fier triplează absorbția de cadmiu.Reducerea fierului alimentar crește absorbția de plumb, în condițiile în care alimentația conține fitați și calciu (OMS, 1997). La animalele de laborator, o cantitate mică de fier în alimentație, crește absorbția și retenția de cobalt și mangan, pe lângă cadmiu și plumb. Nivelul crescut de fier în alimentație inhibă absorbția de cupru (www.chemicalbalance.com/copper.htm; Schumann, 2001).

Excesul de fier în dietă scade absorbția acestuia în organism. Aportul scăzut de fier crește toxicitatea staniului (**<http://www.mcponline.org/content/vol4/issue6/aindex.shtml>, 2006). Calciul acționează ca antagonist al fierului când se administrează la aceeași masă (Kannan, 1998). Polifenolii prezenți în multe legume includ acizi fenolici, flavonoide și produșii lor de polimerizare. Acești compuși formează complecși cu fierul de tipul fier-tanin și astfel inhibă absorbția fierului. Fibrele alimentare leagă fierul, micșorându-i biodisponibilitatea ([www. Mister Green Genes Nutrition Center Online.htm](http://www.MisterGreenGenesNutritionCenterOnline.htm), 2002; Ghergariu, 1980). Se recomandă folosirea separată în dietă a produselor ce conțin calciu, fibre, magneziu deoarece scad absorbția de fier. Acidul citric, malic, tartric și lactic formează cu fierul complecși care trec prin membrana celulară, crescând absorbția acestuia. Acidul ascorbic, mai ales când este consumat în același timp cu fierul crește absorbția de fier; când hrana este menținută la căldură, acidul ascorbic este

oxidat și absorbția fierului este mult diminuată (***) - U.S.AID, 1997). Când se asociază dimineața efectul sinergic este foarte puternic (Milman et al., 2003).

Fierul crește absorbția de calciu când se consumă separat, nu în același aliment. Aminoacizii, în special cisteina favorizează absorbția de fier (Gârban, 1999). Implicația fierului în metabolismul lipidelor este incomplet explicat. În orice caz, sideropenia determină o creștere a trigliceridelor la șobolani și pui (Amine et al., 1971- citat de Ghergariu, 1980), colesterolul și fosfolipidele fiind puțin influențate. Fierul hepatic catalizează peroxidarea lipidelor. Carența de fier duce la scăderea masei corporale, a hemoglobinei, a glicemiei și a proteinemiei iar la pui, acumularea de lipide în ficat, colesterolul și fosfolipidele fiind puțin influențate. S-a observat că suplimentul de citrat de fier de 2500-4000 ppm la viței determină o scădere semnificativă a sporului de creștere, a consumului și a fosforului anorganic din sânge, proporțională cu mărirea dozei de fier (Markus et al., 1970, citați de Ghergariu, 1980). Administrarea de fierdextroză este deosebit de periculoasă la porci, o doză intraperitoneală provoacă miodistrofie și o depleție musculară de potasiu care duce la hiperkaliemie (Chua și Morgan, 1996).

D. Cromul în sistemele biologice

a) Date generale

Cromul este un mineral care potențează acțiunea insulinei și influențează de asemenea metabolismul glucidelor, lipidelor și proteinelor. Natura relației dintre crom și insulină nu a fost elucidată. Forma biologic activă a cromului (factor de toleranță la glucoză) este un complex care conține crom, acid nicotinic și probabil glicina acidă amidată, cisteina și acid glutamic. Rezerva de crom a țesuturilor nu se poate pune în concordanță cu cromul sanguin. De asemenea nici cromul din plasmă nu este un bun indiciu pentru statusul cromului în organism.

Cromul (III) nu este toxic pentru organism. Cromul (VI) este toxic destul de puternic, deoarece prin dizolvare în apa din organism formează acid cromic, extrem de caustic. Riscul unor acumulări crescute de crom în organism la marii fumători este foarte mare. De asemenea incidența cancerului de plămân este ridicată la aceștia. Consumul de țigarete crește sinergic riscul de expunere la acumulare de arsenic, cadmiu (Dartmouth Toxic Research, 2005). Organismul pare să aibe un mecanism de protecție împotriva efectelor toxice ale cromului (Gârban, 1999).

b) Interrelațiile cromului cu alte elemente

Ascorbatul și glutatationul acționează ca antagoniști pentru Cr^{6+} , reducându-l la Cr^{3+} , netoxic. Suplimentarea în apă cu 5 ppm de crom a unei rații hipercolesterolemice la șobolani are ca urmare reducerea colesterolului cu 23% în 35 de zile (Staub et al., 1969, citați de Gergariu, 1980). S-a menționat că în carența de crom se constată instituirea unei balanțe negative de azot (Underwood, 1977).

E. Molibdenul în sistemele biologice

a) Date generale

Este un microelement esențial pentru multe plante, animale superioare și om, fiind cunoscut în special pentru rolul său; component al enzimelor flavoproteice participante la reacțiile redox cu mare importanță în sistemele biologice; component al nitrogenazei-enzima implicată în chimia biologică a azotului; factor determinant în buna funcționare a țesutului conjunctiv și creșterea unor specii de mamifere. În țesuturile animale și umane molibdenul este conținut de trei enzime și anume:

- xantin dehidrogenaza/oxidaza;
- aldehyd oxidaza;
- sulfit oxidaza.

Xantin dehidrogenaza/oxidaza este o enzimă ce intervine în transformarea purinelor tisulare în acid uric. În mod normal, enzima funcționează ca o dehidrogenază dar întrucât ea reacționează cu oxigenul, declanșează o serie de reacții din care rezultă radicali liberi bogați în oxigen și foarte reactivi, care determină apariția unui număr mare de toxine și un exces de molibden. Activitatea acestei enzime este diminuată dacă aportul de proteine este scăzut. Invers, activitatea sa crește dacă aportul de proteine este ridicat și dacă aportul de vitamina E este scăzut (conform raportului OMS, 1997). Molibdenul influențează sensibilitatea câtorva forme de cancer. Incidența ridicată a cancerului de esofag la populația Bantu din Africa de Sud este asociată cu un deficit de metal în alimentație. S-a constatat că smalțul dentar acumulează molibden și dinții sunt relativ bogați în acest element. Compușii cu molibden hexavalent sunt mai ușor absorbiți în aparatul digestiv. El provine din molibdații din apă și probabil din molibdenul conținut în legumele verzi. Molibdenul intervine în metabolismul lipidelor și acizilor nucleici. Molibdenul în exces determină o intoxicație, numită molibdenoză. Cele mai mari cantități de molibden în organism sunt conținute de ficat și rinichi. Anemiile feriprive sau cele care însoțesc cancerul sunt caracterizate de carență de molibden. În acest caz terapeutic se administrează molibden și crom pe lângă fier (Holzinger et al., 1998).

b) Interrelațiile molibdenului cu alte elemente

Sulfații și fosfații anorganici din alimentație sunt antagoniști ai molibdenului (Underwood, 1977). Antagonismul cu cuprul este bine cunoscut tiomolibdatul este un bun agent de precipitare pentru cupru (Pop, 1999).

Acțiunea antagonistă a molibdenului față de cupru este anihilată prin intervenția manganului. Vitamina E scade absorbția de molibden (Ghergariu, 1980).

F. Cobaltul în sistemele biologice

a) Date generale

Cobaltul este un microelement esențial a cărui activitate biologică se manifestă prin rolul său în seria de coenzime B₁₂ precum și a vitaminelor B₁₂. Vitamina B₁₂ este importantă în hematopoeză, fiind indispensabilă în sinteza hemoglobinei; este un factor antianemic, antipernicios.

În organism cobaltul se găsește în cantități reduse, dar are o activitate extrem de intensă. Nivelul cobaltului în organism este dependent de aportul exogen în mai mare măsură decât nivelul altor minerale, neexistând țesuturi care să-l acumuleze în mod obișnuit. Totuși, concentrații mai mari se află în ficat, rinichi și oase (Gârban, 1999).

Este folosit în combinații cu alte minerale pentru tratarea unor afecțiuni (Valnet, 1986):

Cu-Ni-Co-tratament endocrin;

Mn-Co- dereglări vasosimpatice, tulburări circulatorii de membre inferioare, stări neuroartrite;

Mn-Cu-Co-astenii și anemii.

b) Interrelațiile cobaltului cu alte elemente

Cuprul, fierul, funcționează ca și antagoniști ai cobaltului însă în anumite situații, antagonismul cu cuprul este discutabil. Există date care arată o cale comună de absorbție a cobaltului și fierului. Nu numai că excesul de cobalt reduce absorbția de fier și cobalt dar și excesul de fier reduce absorbția de fier și cobalt (Valberg et al., 1983). Injectarea de endotoxine coli reduce absorbția de fier și cobalt. Cobaltul din hrană este corelat negativ cu concentrația de seleniu în cord și în mușchiul scheletic la oi. Există relații interesante între cobalt și titanu. S-a concluzionat că titaniul și cobaltul se află în organism în anumite raporturi care pot fi perturbate prin excesul unuia dintre ei. Cuprul, fierul, zincul în anumite concentrații sunt sinergiști ai cobaltului (***)<http://www.mcponline.org/content/vol4/issue6/aindex.shtml>, 2006). Administrarea intravenoasă de eritropoetină crește absorbția de fier și de cobalt. Suplimentarea în dietă a cobaltului, scade aportul de mercur în ficat și rinichi (Flora et al., 1982).

G. Vanadiul în sistemele biologice

a) Date generale

Vanadiul este un microelement probabil esențial care ocupă multe din preocupările oamenilor de știință din nutriție. De curând s-a emis ipoteza că vanadiul poate juca un rol în reglarea schimbului ionic Na⁺/K⁺ în care intervine ATP-aza. Rolul posibil al ionului vanadil ca și cofactor enzimatic precum și rolul în metabolismul hormonilor, glucozei, lipidelor, osului dentar este demult discutat. Există enzime vanadiu dependente în organismele inferioare. Nu s-a dovedit esențialitatea la om, se apreciază totuși că necesarul este de 10 mcg/zi (Ghizdavu, 2000).

b) Interrelațiile vanadiului cu alte elemente

Se cunoaște faptul că acidul ascorbic, cromul, proteinele, ionul feros, clorura și hidroxidul de aluminiu pot reduce toxicitatea vanadiului.

Ghergariu (1980) precizează o serie de relații pe care le stabilește vanadiul în organism și anume faptul că vanadiul poate înlocui parțial moliibdenul, dar numai în condiții de deficit de moliibden, în fixarea azotului de către *Azotobacter*. Nielsen et al.- citați de Ghergariu, relevă că efectele carenței de vanadiu la pui sunt diferite în funcție de concentrația de metionină, cistină et alină din hrană. Metabolismul lipidelor este influențat de vanadiu care crește oxidarea fosfolipidelor in vitro. Vanadiul reduce de asemenea sinteza tisulară de colesterol. Carența de vanadiu determină creșterea concentrației plasmatice de trigliceride. În privința efectului asupra sintezei colesterolului, vanadiul este antagonist cu manganul. Deficitul de vanadiu determină o creștere a sideremiei și a concentrației de fier din oase.

H. Siliciul în sistemele biologice

a) Date generale

Funcția esențială a siliciului (Werner,1977, citat de Nicolini et al., 1990) a fost demonstrată de cercetători pe experiențe cu animale de laborator. Stimularea creșterii la șobolani după administrarea de siliciu nu a fost determinată decât după îmbogățirea cu 250-500 mcg siliciu/g a unui regim sintetic pe bază de acizi aminați cristalini săraci în siliciu (sub 5 mcg siliciu/g hrană). A fost demonstrată importanța elementului în dezvoltarea normală a țesutului conjunctiv și a osului la pui și șobolani. Carența de siliciu a determinat în toate cazurile deformații osoase periferice caracterizate prin articulații insuficient formate, o creștere osoasă endocondrală defectuoasă și un conținut redus al cartilajelor articulare în hexozamină, collagen și apă.

Modul de acțiune al siliciului este legat de formarea osului și poate avea loc prin două mecanisme:

- facilitarea formării de glicozaminoglicani și collagen a matricii osoase ca urmare a rolului său de constituent al enzimei prolilhidroxilaza; formare a complexilor glicozaminoglicani și glicozaminoproteine: el intervine asupra formei de silanolat în mucopolizaharide, fixând mucopolizaharidele acide de proteine.

Siliciul poate fi decelat în cantități mici de os la osificare în primele faze de mineralizare. Conținutul în siliciu în țesutul tânăr osteoid crește semnificativ în același timp cu conținutul de calciu, în stadiile mai avansate de formare osoasă. Când calcifierea s-a produs, conținutul în siliciu scade pentru a subzista doar în urme.

În țesutul conjunctiv siliciul face parte din mucopolizaharidele acide, combinat ca ester (Carlisle,1974 -citat de Ghergariu, 1980). Se știe că concentrația de siliciu în arterele umane scade cu vârsta, odată cu apariția arterosclerozei iar tratamentul cu siliciu intravenos sau oral reduce incidența acestei boli la pacienții cu colesterolemie.

Forma de manifestare a toxicității siliciului este silicoza.

b) Interrelațiile siliciului cu alte elemente

Aluminiul este cel mai cunoscut antagonist al siliciului. Când aluminiul, acidul silicic și fosfatul sunt prezente împreună în soluție, se modifică capacitatea de legare a aluminiului de către fosfat. În condiții de prezență a fosfatului, aluminiul poate reduce biodisponibilitatea fosfatului, dacă acidul silicic este în cantitate mică. În sistemele biologice un rol important al acidului silicic este de a inhiba legarea fosfatului de către aluminiu (Werner, 1977- citat de Nicolini et al., 1990).

Calciul este sinergic cu siliciul în procesul de formare osoasă. El este implicat în stadiile timpurii ale formării osului, exercitând efecte asupra oaselor care sunt independente de vitamina D (Ghergariu, 1980).

I. Seleniul în sistemele biologice

a) Date generale

Este un element esențial al organismelor vii, care participă în special în procesele de creștere și fertilitate. Recent a intrat în uz tratamentul cu Na_2SeO_4 asociat cu vitamina E și coenzima Q în prevenirea și tratarea cancerului, bolilor infecțioase și cardiovasculare. Prezența în cantități mari în sânge provoacă selenoza (Dejica, 2000).

Multe enzime conținând seleniu au fost decelate în plante. La mamifere, seleniul este parte componentă a enzimei glutatation-peroxidaza, care împreună cu vitamina E, catalaza și superoxid-dismutaza, compun unul din sistemele antioxidante de apărare a organismului. De curând s-a identificat selenoproteina-P fără a se cunoaște funcționarea ei la animal și om. Maladia Keshan este o cardiomiopatie endemică sensibilă la seleniu care afectează populația dintr-o anumită regiune din China. Aceasta se datorează unui conținut redus de seleniu în solul regiunii (conform raportului OMS, 1997).

Seleniul este un oligoelement nemetalic decelat și ca și constituent al glutatation -SH- peroxidaza, enzima care este importantă în prevenirea efectelor nocive ale peroxidării lipidelor cu conținut ridicat de acizi grași nesaturați (Dejica, 2000).

b) Interrelațiile seleniului

Seleniul este un posibil catalizator al oxidării grupelor sulfhidril, ceea ce constituie o bază a efectului sau inhibitor asupra sintezei de proteine. Cobaltul din alimente este corelat negativ cu concentrația de seleniu din ficat și rinichi. Toxicitatea argintului este contracarată de seleniu. Seleniul micșorează toxicitatea mercurului și a cadmiului. Gradul de absorbție al plumbului scade în prezența seleniului. Seleniul reduce acțiunea nocivă a arsenului. Relațiile seleniului cu cuprul sunt sinergice. Arsenul și telurul reduc eliminarea seleniului prin respirație și urină. A fost demult remarcat sinergismul seleniului cu vitamina E și faptul că aceștia se pot substitui în rolul lor de protecție celulară față de

efectele nocive ale peroxidilor. S-a constatat recent că utilizarea eficace a iodului depinde de o enzimă care conține seleniu. Metabolismul seleniului are multe relații cu cel al sulfatului (conform raportului OMS, 1997).

J. Manganul în sistemele biologice

a) Date generale

Microelement esențial în viața plantelor și animalelor, manganul se găsește în scoarța terestră sub formă de oxizi, insolubili. Importanța manganului în sistemele vii este considerabilă, cel mai mare rol avându-l ca și centru activ al fotosistemului II, unde are loc oxidarea apei la dioxid. Manganul este foarte larg implicat și în multe funcții biologice, fiind component al unor manganenzime și manganproteine. Asemănător Fe II, Mn II exercită un rol de control în producerea enzimelor, proteinelor, sinteza aminoacizilor, în acidul citric, etc (Gârban, 1999).

La om nu a fost depistată carența de mangan dar există în literatura de specialitate câteva cazuri. Un pacient refractar la insulină injectabilă răspunde bine la mangan administrat oral într-o soluție de glucoză. În alt caz s-a semnalat o diminuare a concentrației sanguine de mangan în epilepsie (Scvorțov, 1951; Ghizdavu 2000).

Manganul este considerat în general cel mai puțin toxic dintre elementele administrate pe cale orală. Manganul poate deveni toxic prin inhalare de pulbere. Manganul sanguin cât și cel urinar pot servi la evaluarea statusului manganului în corp (Gârban, 1999).

b) Interrelațiile manganului cu alte elemente

Aportul crescut de calciu (din formulele pentru nou-născuți) poate reduce aportul de mangan (conform raportului OMS, 1997; Anke, 1987; Anke, 1993). Absorbția de mangan poate fi redusă prin administrare de fier. Apar fenomene de competiție în absorbția prin mucoasa intestinală (Expert Group on Vitamins and Mineral Meeting 2002). Fibrele alimentare și fitații au efect negativ asupra absorbției de mangan. Cuprul este antagonist cu manganul. Nivele crescute de mangan interferează absorbția de cupru iar nivelul de mangan în oase crește semnificativ la șobolani hrăniți cu hrană saracă în calciu și magneziu (Expert Group on Vitamins and Mineral Meeting, 2002). O hrană deficitară în magneziu crește semnificativ absorbția de mangan. Aportul de mangan duce la creșterea absorbției și excreției de magneziu (Davidsson et al., 1991). S-a demonstrat că un quantum ridicat de fibre alimentare, calciu, fosfor și fitat determină o creștere a necesarului de mangan, probabil datorită formării unor complecși insolubili (Mertz W., 1987). Manganul potențează activitatea vitaminelor B₁, C și E (Valnet, 1986). Deficiența de mangan a fost observată în relație cu deficiența de vitamina K (Flynn, 2003). Poate exista un sinergism între fier și mangan, depinde de concentrație. Aceasta este concluzia unui studiu efectuat de Chua și Morgan (1996) care au stabilit că manganul și fierul interacționează în timpul transferului din plasma către creier și alte organe iar interacția este mai degrabă sinergică decât antagonică. Posibil sinergism cu fosforul deoarece

s-a stabilit că administrarea unei diete sărace în fosfor, duce la instalarea la șobolani la așa zisul “rahitism de mangan” (Expert Group on Vitamins and Mineral Meeting, 2002). Zincul poate crește nivelul de mangan din plasmă. Etanolul determină o creștere a toxicității manganului pentru organismul uman (Baly et al., 1985 ; Denison et al.,1994).

K. Nichelul în sistemele biologice

a) Date generale

Nichelul este un microelement esențial care intră în constituția unor nichelenzime din clase de oxidoreductaze și hidrolaze. Organismele superioare au nevoie de o cantitate foarte redusă de nichel și anume în compoziția urezei, enzima necesară pentru păstrarea echilibrului uree: NH_3 în ciclul ureogenezei. De fapt, rolul nichelului în corp nu este bine cunoscut. Semne de carență la animale s-au observat des. La oameni, dermatita de contact este forma cea mai des întâlnită ca manifestare a toxicității nichelului. Alimentele de proveniență animală conțin cantități reduse de nichel, produsele vegetale îl conțin în cantități relativ ridicate. Conținutul de nichel în urină și sânge poate fi folosit pentru a evalua nichelul din corp (Anke, 1982).

b) Interrelațiile nichelului cu alte elemente

Acidul ascorbic, fierul în exces scade absorbția de nichel (Anke , 1995).

L. Iodul în sistemele biologice

a) Date generale

Iodul în organism este constituent principal al hormonilor tiroidieni, tiroxine. Principalul rol al iodului în nutriție este dat de prezența lui în hormonii tiroidieni care au rol important în creșterea și dezvoltarea organismului la om și animale (Ghergariu, 1980). De fapt este singurul oligomineral integrat în structura unui hormon .

b) Interrelațiile iodului cu alte elemente

Este posibil un antagonism al iodului cu cobaltul, fluorul, arsenul (www. Mister Green Genes Nutrition Center Online.htm, 2002).

Activitatea iodului depinde de o enzima ce conține seleniu. Seleniul este component al unei enzime care convertește tiroxina în triiodotironina. Este posibil ca utilizarea sistemică a iodului să fie afectată la pacienții cu deficit de seleniu (Arthur and Becket, 1989, citați de Gârban ,1999).

Calciul în exces este un antagonist metabolic al iodului, la fel și nitriții, fenolii și tiouree - tiouracil (Pop,1999).

Dishomeostazia iodului : temenul de gușă este utilizat pentru a desemna efectul carenței în iod. Efectul unui aport excesiv de iod se manifestă tot prin apariția unei gușe și a unei hipertiroidii endemice. Substanțele gușogene se găsesc în numeroase alimente de bază în țările în curs de dezvoltare ca maniocul și patatele dulci. Acestea sunt derivate de glicozidecianogene, capabile de a elibera o mare cantitate de cianură prin hidroliză. Cianura este extrem de toxică pentru organism și de asemenea și tiocianatul, metabolit al organismului care este gușogen (conform raportului OMS, 1997).

M. Fluorul în sistemele biologice

a) Date generale

Fluorul este un microbioelement nemetalic prezent în organismele plantelor și animalelor. În organismul uman, se află cantități mici de fluor, localizat aproape integral în oase și în dinți sub formă de fluoroapatită. Fluorul pătrunde în organism prin alimente și apă, în special.

Indispensabil în procesul de osificare, fluorura intervine în transformarea fosfatului de calciu osos în apatită, principalul compus mineral al țesutului scheletic. De asemenea, intervine în formarea și structurarea colagenului și a glicozaminoglicanilor din sistemul vascular, piele și alte țesuturi (Gârban, 1999).

b) Interrelațiile fluorului cu alte elemente

Fluorul acționează ca și inhibitor al metabolismului glucidic și al oxidării acizilor grași (Gârban, 1999).

Fluorura este un bun ligand pentru Al^{3+} , însă destul de slab. Formarea complexului AlF_4^- este împiedicată de menținerea unui nivel ridicat de Ca^{2+} . Același efect îl are și Mg^{2+} însă nu atât de pronunțat ca și Ca^{2+} . În apa mărilor, aproape jumătate din totalul de F^- este legat ca și MgF^+ (Nicolini et al., 1991).

Fluorul exercită un efect protector împotriva efectelor toxice ale aluminiului. Efectele fluorului par a fi bazate pe antagonismul reciproc în competiția pentru absorbția intestinală (Florence, 1995).

2. CARACTERISTICI ALE INTERACȚIILOR SPECIFICE ELEMENTELOR METALICE LUATE ÎN LUCRU : ZINC, MANGAN, ALUMINIU

2.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Problemele referitoare la distribuția elementelor chimice în natură, în sistemele biologice și organismul uman sunt discutate mai detaliat pentru trei oligoelemente: zincul, manganul și aluminiul.

Datele analitice prezentate în această lucrare reprezintă rezultatele cercetărilor întreprinse asupra efectelor induse de Zn, Mn, Al asupra homeostaziei biochimice la nivel tisular. Pentru aceasta s-au conceput modele experimentale pentru studii pe animale de laborator, în speță șobolani (*Rattus norvegicus*) linia Wistar pentru zinc și mangan și iepuri de casă (*Oryctolagus cuniculus*) pentru studiul acțiunii aluminiului.

În anumite condiții orice element mineral esențial care pătrunde în organism poate deveni toxic. Există însă multe elemente minerale care pătrund în organism prin diferite căi și a căror esențialitate nu a fost dovedită, manifestarea toxicității lor fiind condiționată de substanță, organism și mediu, deci este o condiționare plurifactorială.

Unul din microelementele minerale care nu îndeplinesc condițiile de esențialitate este aluminiul. Expunerea organismelor la aluminiul aflat în mediu este foarte complexă, fiind dependentă în mare măsură de pH, care determină forma chimică în care se găsește aluminiul și în ultimă instanță condiționează biodisponibilitatea lui. Altfel spus, chiar dacă aluminiul este un metal cu mare răspândire în scoarța terestră într-o formă puțin asimilabilă pentru organism, condițiile determinate de poluarea excesivă, îl pot face ușor asimilabil, de asemenea, componentele rației alimentare (în special acizii) duc la obținerea de forme chimice cu biodisponibilitate mare.

Zincul și manganul sunt elemente metalice cu esențialitate dovedită, implicate în numeroase procese biologice. Aceste metale sunt constituenți ai multor enzime, având rol structural în interiorul celulelor și de control și reglare (zincul). De asemenea pot avea rol de efectori biochimici participând activ în metabolismul proteinelor, polizaharidelor, glicoproteinelor, reacții de oxido-reducere celulară. Acțiunea acestor metale se întâlnește în diverse procese fiziologice, e.g.: hematopoieză, osificare, etc.

2.2. ZINCUL

2.2.1. PREZENTARE SINOPTICĂ

Zincul este utilizat în industrie în principal la galvanizări metalice și la aliaje metalice. Compușii cu zinc au și multe aplicații comerciale ca și intermediari chimici, catalizatori, pigmenți, activatori la vulcanizare, acceleratori în industria cauciucului, stabilizatori UV și supliment în alimentația animalelor și fertilizatori. De asemenea, sunt utilizați în domeniul manufacturii, obținerea de bombe cu fum, în compoziția vopselelor, conservant pentru lemn, inhibitori ai mucegaiului, deodorante, produși antiseptici și astringenți (Lloyd, 1984). În plus, fosfitul de zinc este utilizat ca și rodenticid (conform raportului ATSDR, 1989).

Zincul este un element esențial aportul zilnic acceptabil (AZA) este cuprins între 5 mg pentru copii și 15 mg pentru bărbații adulți, conform limitelor stabilite de NRC - National Research Council (1989).

La oameni, dozele orale acute toxice ale zincului cauzează grețuri, vomă, diaree, crampe abdominale și în unele cazuri sângerări gastrice (Moore, 1978; Elinder, 1986). Ingerarea clorurii de zinc poate cauza arderea mucoasei bucale și a gâtului, vomă, faringită, esofagită, hipocalcemie, și activitate ridicată a amilazei care indică pancreatită (Chobanian, 1981). Fosfitul de zinc, care eliberează fosfină gazoasă în condițiile de aciditate din stomac, poate cauza grețuri, anorexie, dureri abdominale, letargie, hipotensiune, aritmii cardiace, colaps circulator, edem pulmonar, disfuncționalități renale, leucopenie, comă și deces în câteva săptămâni (Mack, 1989).

Doza fatală estimată este de 40 mg/Kg. Dozele administrate oral animalelor cu compuși ai zincului duc la pancreatită, leziuni hepatice și gastrointestinale, și nefroză difuză.

Leziunile gastrointestinale au fost raportate și la indivizi cărora li s-a administrat zilnic suplimente nutritive cu zinc, pentru o perioadă de 6 săptămâni (Samman și Roberts, 1987). La animale leziunile hepatice și cele gastrointestinale (Allen et al., 1983), leziunile pancreatice (Maita et al., 1981), anemia (Fox și Jacobs, 1986) și nefroza difuză (Maita et al., 1981; Allen et al., 1983) au fost observate ca urmare a expunerilor orale subcronice. Conform autorilor citați, administrările cronice orale de zinc au ca rezultat anemia microcitică hipocromică asociată cu hipoceruloplasminemia, hipocupremia, și neutropenia la unii indivizi. Anemia și pancreatita au fost efectele adverse majore observate în urma studiilor pe animale cu boli cronice. Efectele teratogene nu au fost depistate la animalele expuse la administrare de zinc. Totuși, doze orale mari pot afecta reproducerea și creșterea fetală.

2.2.1.1. PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE GENERALE

Zincul este utilizat cu precădere la galvanizări metalice. În plus, diferite săruri anorganice de zinc au numeroase utilizări comerciale. Oxidul de zinc este folosit în industria cauciucului ca activator de vulcanizare și accelerator, pentru a reduce oxidarea, și de asemenea, ca și agent de consolidare, conductor de căldură, pigment, stabilizator UV, supliment alimentar pentru furaje la animale și fertilizator, catalizator, inhibitor al mucegaiului. Sulfatul de zinc este folosit în agricultură, acoperiri cu zinc și liant în domeniul materialelor de construcții. Clorura de zinc este folosită la fabricarea bombelor fumigene, la cimenturi, la conservanți ai lemnului; în industria hârtiei, la fabricarea mătăsii artificiale; la vopsirea fibrelor textile, ca deodorant, antiseptic și astringent (www.intox.org/databank/index.htm, 2006). Cromatul de zinc este folosit ca și pigment la vopsele, vopsele pe bază de ulei (Lloyd, 1984). În plus, fosfitul de zinc este folosit ca și rodenticid iar cianura de zinc este folosită la acoperiri galvanice. Toxicitatea celor din urmă compuși se datorează în principal anionului format.

Zincul este un element esențial. Necesarul zilnic de zinc este de 15 mg pentru adulți bărbați și de 12 mg la femei, 15 mg la gravide, 19 mg la femei care alăptează în primele 6 luni și de 16 mg în următoarele 6 luni, 10 mg la copii cu vârste de peste 1 an și 5 mg la copii cu vârste cuprinse între 0–1 an (conform National Research Council, 1989).

2.2.1.2. SURSE DE EXPUNERE

Doza de referință pentru expunerile orale cronice la zinc sunt revizuite de după raportul făcut de U.S.EPA- United States Environmental Protection Agency, (1992a); aceeași sursă stabilește doza curentă acceptată pentru expunerile cronice și subcronice este de 0,2 mg/Kg/zi bazată pe date clinice ce demonstrează deficiența cuprului indusă de zinc și anemia la pacienții ce au luat zilnic sulfat de zinc pentru tratamentul anemiei. De asemenea doza cronică orală de fosfit de zinc este de 0,0003 mg/Kg/zi iar cea subcronică este de 0,003 mg/Kg/zi.

În cazul expunerilor profesionale la inhalarea compușilor cu zinc (în special fumul de oxid de zinc) rezultă o anumită condiție numită „febra fumului de zinc”, caracterizată prin iritarea căilor nazale, tuse, raluri, dureri de cap, gust alterat, febră, slăbiciune, dureri în piept și picioare, leucocitoză, volum pulmonar redus, și capacitate scăzută de difuziune a monoxidului de carbon (Bertholf, 1988). Inhalarea clorurii de zinc poate duce la iritarea mucoasei nazale și a gâtului, dispnee, tuse, dureri în piept, dureri de cap, febră, amețeli și greață (Nemery, 1990), disfuncționalități respiratorii ca și pneumonia și fibroza pulmonară (conform ITII- International Technical Information Institute, 1988). Inflamarea pulmonară și modificarea funcțiilor plămânilor au fost de asemenea, observate pe studii efectuate pe animale (Amur et al., 1982).

Deși „febra fumului de metal” apare la expuneri profesionale, este în primul rând un efect acut și reversibil care nu apare în mod obișnuit la expuneri cronice în condiții în care concentrația de zinc din aer este mai mică de 8 – 12 mg/m³ (conform raportului ATSDR, 1989). Deficiențele gastrointestinale, la fel ca modificările enzimatică evidențiate prin disfuncții ale ficatului, au fost de asemenea raportate la expuneri profesionale la zinc (Stokinger, 1981b; Badawy et al., 1987). Totuși nu sunt definite clar efectele toxice ce pot fi identificate ca urmare a absorbției pulmonare în urma inhalării unor doze cronice scăzute. Nu sunt disponibile rezultate efectuate pe animale privitor la inhalări de doze cronice.

Nu au fost prezentate studii de caz sau evidențieri epidemiologice care să sugereze faptul că zincul are efect carcinogen la oameni prin administrare orală sau pe calea inhalării. Studiile prezentate de raportul U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency (1992a), efectuate pe animale funcție de conținutul de sulfat de zinc din apă sau oleatul de zinc folosit în dietă efectuată pe șoareci pe o perioadă de 1 an de zile nu duc la o creștere statistică semnificativă a limfoamelor maligne, adenoame pulmonare.

2.2.2. ZINCUL ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Zincul alături de alte elemente minerale, sunt incluse în lista elementelor indispensabile pentru buna funcționare a organismului animal și uman. Elementele minerale, prin păstrarea unui potențial bioelectric potrivit, sunt factori activatori ai unor enzime și vitamine. Mai mult din 90% din totalul zincului din organism apare în mușchi și oase. Zincul este parte din numeroase proteine care participă la biosinteza hormonilor și enzimelor. Rolul zincului în organism, după Ciubotariu et al., 2005:

- prezent în mai mult de 200 de enzime;
- necesar pentru sinteza proteinelor;
- păstrează stabilitatea membranelor;
- răspunzător de simțul mirosului și gustului;
- participă la metabolizarea alcoolului;
- păstrarea imunității organismului
- are rol important în replicarea genelor și în formarea eritrocitelor.

Zincul determină multe acțiuni importante la nivelul sistemului nervos central (Christine și Choi, 1990), incluzând modularea transmisiei sinaptice și aportul neurotransmițătorilor. La pacienții suferind de delirium tremens s-a constatat un nivel scăzut al zincului plasmatic (Banach și Morasiewicz, 1994 - citați de Ciubotariu et al., 2005).

Zincul este un component esențial al superoxid-dismutazei, un antioxidant enzimatic important în legarea radicalilor liberi și prevenirea peroxidării lipidice. Mecanismul care implică rolul zincului în

funcția testiculelor este slab cunoscut însă s-a determinat că deficiența de zinc este asociată cu afectarea tuturor stadiilor spermatogenezei prin creșterea în ser și testicule, apoptoza și reducerea producției de testosteron (Omu et al., 2005).

Multe enzime au ca și cofactor zincul, cum ar fi RNA- polimerazele, alcool-dehidrogenaze, anhidraza carbonică, fosfataza alcalină. S-a demonstrat că zincul influențează apoptoza (în sensul prevenirii acesteia), activitatea proteinn-kinazei C, integritatea membranei celulare, nucleul și cromatina - zincul este esențial în biosinteza DNA și proliferarea celulară, etc. Homeostazia zincului rezultă din reglarea coordonată de unele proteine implicate în aport, excreție, stocare intracelulară, transport. Aceste proteine sunt transportori membranari, din clase de proteine din care fac parte și metalotioneinele.

Agenții intracelulari care reglează apoptoza, includ proteaze, fosfataze și kinaze, produși ai metabolismului lipidic, cationi de Ca^{+2} și Zn^{+2} . Efectul protector al Zn a fost atribuit inhibării de către acesta a endonucleaze Ca^{+2} și Mg^{+2} dependente, inhibându-se astfel fragmentarea DNA. Deficiența de zinc nu determină doar stres oxidativ și afectarea a DNA, dar compromite și capacitatea celulei de a-și reveni. Zincul are efect de stabilizare a membranei, activitate antibacteriană și antioxidantă în plasma seminală.

2.2.3. EFECTELE ZINCULUI ASUPRA PLANTELOR ȘI ANIMALELOR

În țări ca Olanda, Finlanda, Guyana, este semnalată carența primară în zinc la animale ca urmare a sărăciei solului în acest element. Anumite nutrețuri, obținute din plante furajere, pot conține cantități importante de zinc, ca urmare a îmbogățirii plantelor prin translocarea acestuia din sol. Porumbul pastă poate conține 25 ppm de Zn, melasa 17 ppm, paietele de grâu 5 ppm, paietele de orz 8 ppm, porumbul boabe 20 ppm (Pop, 1999).

Efectele toxice acute ale zincului au fost observate la animale atât pe teren cât și în laborator. La oile care consuma zilnic zinc (în doze necuantificabile) ca rezultat al contaminării din mediu poate apărea proteinurie, diaree, leziuni intestinale, degenerarea celulelor pancreatice (Allen et al., 1983). Studiile de laborator au arătat că leziunile hepatice și pancreatice pancreatita apar după administrarea timp de 13 zile la oi, a 33 mg Zn/Kg/zi -sub formă de sulfat de zinc (Allen et al., 1983). Pancreatita, nefroza difuză, hemoragia intestinală și anemia au fost observate după administrarea a 850 mg Zn/Kg/zi (ca și oxid de zinc, în diete) pentru 9 – 13 zile (Straube et al., 1980). Această doză a fost letală la 1 din 3 animale. O doză de 425 mg Zn/Kg/zi pentru 7 – 21 zile de asemenea duce la pancreatită și anemie, la fel ca infiltrațiile de grăsime în ficat. O doză de 142 mg Zn/Kg/zi pentru 6 luni, nu are efecte adverse.

Maita et al., (1981) arată că efectele gastrointestinale induse de zinc au fost raportate într-un număr mare de studii efectuate pe animale. Administrarea de sulfat de zinc la șobolani și șoareci (510 mg Zn/Kg/zi și respectiv 1.120 mg Zn/Kg/zi) timp de 13 săptămâni au dus la ulcer Leziunile pancreatice au fost raportate în urma administrării a 510 mg Zn/Kg/zi (ca i sulfat de zinc) la șobolani timp de 13 și la pisici cărora le-a fost administrată 266,6 mg Zn/Kg/zi (ca și oxid de zinc) timp de 3 – 53 săptămâni .

Anemia a fost observată la șoareci, șobolani, și oi expuse la administrare orală a oxidului de zinc, a oleatului de zinc sau a sulfatului de zinc (Fox și Jacobs, 1986). Anemia survine ca urmare a hemoragiei intestinale.

Efectele adverse asupra rinichiului au fost observate la șoareci cărora li s-a administrat 1.120 mg Zn/Kg/zi (ca și sulfat de zinc) timp de 13 săptămâni (Maita et al., 1981). Leziunile histopatologice asociate cu mărirea în greutate a ficatului, rinichiului și creierului au fost observate la șobolani cărora li s-a administrat 200 – 500 ppm fosfit de zinc timp de 13 săptămâni (Bai et al., 1980). Aberațiile cromozomiale au fost observate în celulele osului medular la șoareci care au avut o dietă cu conținut mic de calciu și o administrare de 650 mg/Kg/zi clorură de zinc timp de 1 lună (Deknudt, 1982). Alopecia a fost observată la animalele cărora li s-a administrat zinc și este considerată a fi efectul secundar al deficienței de cupru indusă de zinc (Mulhern et al., 1986).

Scăderea adaptabilității pulmonare a fost observată la porcii de Guineea expuși la 1 mg oxid de zinc/m³ pentru 1 oră (Amur et al., 1982). Expunerea acestora la 5 mg/m³ pentru 3 ore/zi timp de 6 zile duce la scăderea adaptabilității plămânului, scăderea capacității de difuziune, inflamarea alveolelor și a tractului alveolar, îngroșarea interstițială, și creșterea numărului de macrofagi pulmonari și neutrofili (Lam et al., 1985). Șobolani expuși la oxid de zinc 15 mg/m³ timp de 84 zile, 8 ore/zi, au prezentat modificări histologice minore ale plămânului, însă testele pulmonare funcționale au arătat inflamarea cronică pulmonară (Elinder, 1986).

2.2.4. EFECTELE ZINCULUI ASUPRA ORGANISMULUI UMAN

Absorbția gastrointestinală a zincului la om este variabilă (20-80%) și depinde de proprietățile chimice ale compusului, de cantitatea de zinc din organism, de nivelul din dietă al celorlalți nutrienți (raportul U.S.EPA- United States Environmental Protection Agency, 1992b). Nivelul ridicat în hrană de fitat, calciu sau fosfor reduc absorbția, dar măresc acumularea de proteine conform ATSDR, 1989. La indivizi cu valori normale de zinc în organism, absorbția intestinală este de 20-30 %. Informațiile asupra absorbției pulmonare sunt limitate și condiționate de potențialul de absorbție gastrointestinal.

Zincul este prezent în toate țesuturile, dar cea mai mare concentrație se găsește în prostată (Bertholf, 1988). Concentrațiile din rinichi, ficat, cord și pancreas sunt de asemenea ridicate (Stockinger, 1981a).

După absorbția în organism, zincul se leagă de complexii proteici, cel mai important compus fiind metalotioneină, care acționează ca un mecanism transportor (Stockinger, 1981b). Ca element, zincul nu este metabolizat per se; totuși, este un component vital al multor metaloenzime cum ar fi anhidraza carbonică, care regularizează schimbul de CO₂ (Stockinger, 1981a). Alte sisteme enzimatică în care zincul joacă un rol important, sunt polimeraza RNA, superoxidismutaza, carboxipeptidaza, dehidrogenaza isocitrică, dehidrogenaza alcolică și ceruloplasmina.

Mecanismele homeostatice controlează absorbția și excreția zincului. Metalotioneina din celulele mucoasei gastrointestinale se leagă de zinc și reglează acumularea în organism (raport ATSDR, 1989). În condiții de exces fiziologic de zinc, complexul metalotioneină-zinc este eliminat din corp odată cu eliminarea celulelor din mucoase. Studiile asupra echilibrului masic arată că cea mai mare parte din zinc este eliminat prin fecale, cu mici cantități prin urină, transpirație și lichid spermatic (Schroeder et al., 1966). Totuși, o importantă cantitate este pierdută prin transpirație în zonele calde de pe glob.

Stresul gastrointestinal este un simptom comun al expunerii orale acute la compuși cu zinc cu precădere la ingerarea de săruri minerale de zinc (Stockinger, 1981a). Intoxicația accidentală a apărut ca rezultat al utilizării terapeutice a suplimentelor pe bază de zinc precum și din contaminarea alimentară datorită recipientilor care au fost galvanizați cu zinc. Simptomele dezvoltate pe parcursul a 24 ore includ grețurile, vomă, diareea, și crampele abdominale (Stockinger, 1981b; Elinder, 1986). Concentrația zincului din apă la care apare efectul de vomă este de 675 – 2.280 ppm (Stockinger, 1981b).

Severe efecte toxice au fost raportate în cazul ingerării clorurii de zinc. O singură doză cauzează arsuri în cavitatea bucală și gât, vomă, faringită, esofagită, hipocalcemie și activitate amilazică crescută; următoarele modificări ducând la pancreatită (Chobanian, 1981). Hiperamilazemia s-a raportat la ingerarea a 12 g zinc elementar (150 mg/Kg) timp de două zile.

Modificările clinice minime observate la indivizi care au ingerat sulfat de zinc sunt reducerea nivelului seric de HDL- colesterol la doze zilnice de 2.3 mg Zn/Kg/zi pentru 5 – 6 zile (Hooper et al.,

1980) și o scădere a nivelului de cortizol din plasmă ca urmare a unei singure doze de 25, 37.5, sau 50 mg Zn (Brandao-Neto et al., 1990).

Unul din compușii anorganici ai zincului printre cei mai toxici sunt fosfitul de zinc utilizat ca rodenticid, care eliberează fosfină gazoasă în condițiile acide din stomac. Otrăvirea cu aceste substanțe duce la vomă, anorexie, dureri abdominale, letargie, hipotensiune, aritmii cardiace, colaps circulator, edem pulmonar, probleme renale, leucopenie, comă și moarte pe parcursul a câtorva zile până la săptămâni (Mack, 1989). Doza fatală estimată este de 40 mg/Kg.

Dovezile asupra afectării sistemului imunitar datorat excesului de zinc sunt limitate. Chandra (1984) a arătat că sulfatul de zinc, în doze de 4.29 mg Zn/Kg/zi timp de 6 săptămâni, afectează sistemul imunitar măsurat prin răspunsul mitogenic al limfocitelor periferice din sânge precum și prin răspunsul chemotactic și fagocitic a leucocitelor polimorfonucleare. Studiile *in vitro* conduse de Baginski (1990) au arătat o capacitate fagocitică a leucocitelor polimorfonucleare și reacții inflamatoare datorate unei creșteri a speciilor toxice a oxigenului în prezența ionilor de zinc.

Expunerea cronică orală la zinc poate duce la anemie sideroblastică sau hipocromică (Broun et al., 1990) asociată cu hipoceruloplasminemia, hipocupremia, și neutropenia (raport U.S.EPA- United States Environmental Protection Agency, 1984).

Expunerea la inhalarea concentrațiilor ridicate a unor compuși cu zinc poate duce la efecte toxice asupra sistemului respirator. Inhalarea fumului de oxid de zinc a fost asociată cu „febra fumului metalic” (Bertholf, 1988) caracterizată prin iritarea nazală, tuse, raluri, dureri de cap, gust alterat, slăbiciune, dureri de picioare și piept, volum pulmonar redus, scăderea capacității de difuziune a monoxidului de carbon. Simptomele generale pot apare deja la concentrații de 15 mg/m³. O concentrație de 600 mg Zn/m³ pentru câteva minute duce la efecte adverse peste câteva ore. Regenerarea durează 6 – 48 ore (Elinder, 1986). Unii pacienți au prezentat modificări anormale la radiografierea pulmonară (infiltrări nodulare difuze) și reducerea volumului pulmonar (Malo et al., 1990). Leucocitoza este un efect secundar raportat în cazul „febrei fumului metalic” conform aceluiași autor.

Inhalarea clorurii de zinc poate cauza iritarea gâtului și nasului, dispnee, tuse, dureri de pipt, dureri de cap, febră, pneumotorax, greața, vomă, pneumonie acută (Nemery, 1990). Alte efecte adverse mai severe sunt modificările edematoase și avansate în membrana mucoasă, hemoragie subpleurală, fibroză pulmonară avansată. Decesul a apărut în unele cazuri de expunere accidentală (Elinder, 1986; Hjortso et al., 1988).

Efecte non-carcinogene au fost prezentate în cazul expunerilor profesionale. Muncitorii expuși la compuși ai zincului au prezentat simptome gastrointestinale incluzând anorexia, amețeala, voma, discomfort epigastric, pierderea greutateii, modificări respiratorii, leucocitoză și hipocalcemie (Stokinger, 1981a). De vreme ce multe din aceste reacții sunt specifice „febrei fumului metalic” este posibil ca acestea să se datoreze, cel puțin în parte, expunerii profesionale la diferite nivele.

Unele studii au sugerat o corelare între concentrația de zinc din aer și modificările enzimatică ale funcțiilor ficatului (Badawy et al., 1987). În plus, unii muncitori expuși la zinc au avut o incidență mărită a anomaliilor cromozomiale din leucocite (Badawy et al., 1987). Concomitent expunerea la alte substanțe toxice pot contribui la aceste efecte; totuși, studiile in vitro au arătat că clorura de zinc poate cauza aberații cromozomiale în limfocitele umane (Elinder, 1986).

Sunt puține informații cu privire la influența toxicității compușilor anorganici cu zinc asupra dezvoltării și reproducerii la om. Studiile efectuate asupra unui lot de femei gravide care lucrează într-o metalurgie, de către Pietrois et al. (1991), nu au evidențiat cazuri de avort spontan.

Organele țintă ale acumulării de zinc sunt prezentate în cele ce urmează, în funcție de calea de pătrundere în organism:

La expunere orală, organele afectate cu precădere sunt:

1. Sângele : zincul în exces poate determina deficiență de cupru și anemie microcitică hipocromică la oameni expuși cronic, fapt dovedit și la animale de experiență.
2. Pancreas : pancreatită la oamenii expuși cronic și la animalele expuse cronic, subcronic și acut.
3. Tractul gastrointestinal: ingerarea accidentală de zinc poate determina vomă, diaree, crampe, și posibile sângerări urmând expunerile acute și subcronice a oamenilor.
4. Sistemul imunitar : pot apărea posibile modificări la oameni ca urmare a expunerii subcronice.
5. Rinichi : se pot produce leziuni ale rinichilor la animale ca urmare a expunerii acute sau subcronice.
6. Efecte asupra dezvoltării : reducerea dezvoltării fătului.
7. Pielea : pierderea părului ca urmare a expunerii subcronice la fosfitul de zinc.

La expunere prin inhalare, organele afectate în primul rând sunt:

1. Plămânul: se produce congestia pulmonară, infiltrarea leucocitară (oxid de zinc), pneumonie, ulcer, hemoragie subpleurală, fibroză (clorura de zinc) la expunerile profesionale a muncitorilor, cu precădere ca urmare a expunerilor acute.
2. Sânge: leucocitoza, hipocalcemia la om, ca urmare a expunerii acute.
3. Tractul gastrointestinal : pot apărea posibile ulcerații la expunerile profesionale a muncitorilor.
4. Ficat: sunt posibile modificări ale enzimelor hepatice ca urmare a expunerilor profesionale a muncitorilor.

Un număr mare de cancere gastrice a fost raportat la un lot de oameni din zona Marii Britanii ce aveau în solul din grădină, un raport mare de zinc: cupru. Totuși, alte studii au exemplificat un număr scăzut de cazuri de cancer gastric în zone cu un raport similar Zn: Cu (Phillip et al., 1982).

Numeroase studii epidemiologice au examinat mortalitatea cauzată de cancer la muncitorii expuși profesional la zinc, precum și la cei care locuiesc în zone cu contaminate cu zinc. Nu s-au putut efectua corelări între mortalitate cauzată de cancer și expunerea la zinc a muncitorilor angajați în industrii care

realizează acoperiri pe bază de zinc și cupru; analizarea datelor a fost limitată și de numărul scăzut al morții muncitorilor expuși la inhalare de zinc (Logue et al., 1982). Mortalitatea cauzată de cancer pulmonar a fost observată în zonele miniere, cu conținut ridicat de plumb/zinc, dar nu s-au făcut asocieri cu nivelul zincului din atmosferă (Neuberger și Hollowell, 1982).

2.3. MANGANUL

2.3.1. PREZENTARE SINOPTICĂ

Manganul este conținut în crusta terestră în proporție de 0,10% iar ca și abundență ocupa al 12-lea loc. Oxizii și peroxizii sunt folosiți în industrie ca și oxidanți, iar manganul metalic este folosit la obținerea de aliaje, cărora le conferă duritate și rezistență la coroziune.

2.3.1.1. PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE GENERALE

Manganul face parte din grupa a VII a Sistemului Periodic al Elementelor, cu o masă atomică de 64,9. În natură este asociat cu fierul în minerale ca piroluzita, manganita, etc. Poate fi găsit în natură în mai multe stări de oxidare, de la Mn^{-3} la Mn^{+7} cea mai frecventă valență fiind cea de Mn^{+2} . Valența Mn^{+4} este întâlnită în MnO_2 ; Mn^{+7} în permanganat, iar în sistemele biologice valența Mn^{+3} apare în enzima superoxid - dismutază și este de asemenea forma în care manganul se leagă de transferină și probabil valența cu care interacționează cu fierul (ILSI, 1994).

2.3.1.2. SURSE DE EXPUNERE LA MANGAN

O sursă majoră de mangan o constituie alimentele, manganul fiind prezent în numeroase produse vegetale în special cereale și nuci. Biodisponibilitatea manganului pare să fie destul de scăzută în special datorită slabei sale solubilități. Conținutul dietei are o mare influență asupra absorbției manganului. S-a constatat că concentrații mari de fibre, calciu, fosfor și fitați pot forma complecși care scad absorbția intestinală a manganului (ILSI, 1994). Un conținut scăzut de fosfor în dietă generează manifestări tipice carenței de mangan și anume: creștere întârziată, afectarea mineralizării osoase. Se pare că proteinele nu

influențează balanța manganului. Calciul și cuprul pot scădea nivelul plasmatic al manganului, pe când zincul determină creșterea acestui nivel (Lin, 1991, citat în EVM/99/22.REVISED AUG2002)

Manganul poate descrește absorbția de magneziu și îi crește excreția, poate lua locul acestuia în câteva enzime (Watts, 1987). Autorul face observația că mușchiul inimii animalelor expuse la doze mari de mangan, conține mult mai puțin magneziu decât al animalelor cu conținut mic de mangan în dietă.

Numeroase studii au arătat efectele negative ale alcoolului în sensul creșterii toxicității manganului asupra organismului. Expunerea concomitentă a șobolanilor la etanol și clorură de mangan în apa potabilă, duce la creșterea nivelului de mangan în creier și ficatul acestora, comparativ cu animalele expuse doar la clorură de mangan (EVM/99/22.REVISED AUG2002).

Există o strânsă relație între fier și absorbția de mangan prin mucoasa intestinală, din cauza unei presupuse competiții pentru siturile de absorbție între cele două microelemente (Carter, 1980 - citat în EVM/99/22.REVISED AUG2002). De asemenea se menționează faptul că administrarea concomitentă a 15 mg de mangan sub formă de clorură de mangan cu 3 mg fier sub forma de sulfat, reduce absorbția de mangan cu 34%, într-un studiu efectuat pe subiecți umani, voluntari. Autorii emit concluzia ca se produce o inhibare a absorbției intestinale a manganului în același punct în care crește absorbția fierului. Chua și Morgan, 1996, au arătat că manganul și fierul interacționează în timpul transferului de plasmă la creier și alte organe și interacția este mai degrabă sinergică decât antagonică. Autorii sugerează că aportul excesiv al celor două metale poate accentua riscul de afectare a creierului și a altor organe față de administrarea unui singur metal. De asemenea s-a emis ipoteza că cele mai susceptibile la acumulare tisulară de mangan, sunt cele care au ingerat și cantități mari de fier. Deci concluzia generală este că la doze de expunere nu prea ridicate, fierul și manganul sunt antagonici iar la doze ridicate acționează sinergic.

Conform unui raport CRN (Council for Responsible Nutrition) din anul 1999, se recomandă un nivel maxim de siguranță pentru mangan de 15 mg/zi pe termen lung și de 20 mg/zi pe termen scurt. Principalele surse de expunere la mangan sunt următoarele:

O sursă importantă de mangan pentru organism o constituie apa potabilă. Nivelul de mangan conținut în apa potabilă poate varia între 1 și 100 $\mu\text{g/L}$, cel mai frecvent se întâlnesc concentrații de 10 $\mu\text{g/L}$ (conform raportului WHO, 1996). Suplimente nutriționale reprezintă o altă cale importantă de a accede la manganul în organism. Manganul, ca și glicerofosfat sau sulfat, poate fi inclus în comprimatele folosite ca suplimente nutritive. Doza zilnică recomandată este de 1 mg/zi de mangan elementar (EVM/99/22.REVISED AUG2002). S-au raportat cazuri de intoxicație cu mangan datorită excesului de suplimente cu acest microelement.

Manganul este un microelement esențial pentru om, care poate determina manifestări toxice după expunere prelungită la doze mari administrate oral sau prin inhalatie. În sistemele biologice este întâlnit cel mai frecvent cu starea de oxidare +2. Datorită mării biodisponibilități a manganului din apa potabilă s-au calculat doze de referință separat pentru apă și hrană. Astfel, s-a calculat ca un aport de 0,005 mg/kg/zi

Manganul este un microelement esențial pentru om, care poate determina manifestări toxice după expunere prelungită la doze mari administrate oral sau prin inhalatie (Ahmadi-Vincu, 2004a). În sistemele biologice este întâlnit cel mai frecvent cu starea de oxidare +2. Datorită mării biodisponibilități a manganului din apa potabilă s-au calculat doze de referință separat pentru apă și hrană. Astfel, s-a calculat ca un aport de 0,005 mg/kg/zi din apă și de 0,14 mg/kg/zi din hrană este doza care pentru om nu determină apariția de efecte adverse (EPA, 1994). Cerințele normale ale organismului în mangan sunt asigurate prin dieta și în mai mică măsură prin apă și aer. NRC, 1989 recomandă un aport de 2-5 mg/kg pentru un adult.

2.3.2. MANGANUL ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Importanța manganului în sistemele vii este considerabilă, cel mai mare rol avându-l ca și centru activ al fotosistemului II, unde are loc oxidarea apei la dioxid. Manganul în combinațiile sale prezintă toate stările de oxidare, de la Mn^{+2} (cea mai stabilă în soluții acide) la Mn^{+7} (cea mai stabilă în soluțiile alcaline). Manganul este implicat în multe funcții biologice, fiind component al unor manganenzime și manganproteine. Biochimia manganului se tratează în funcție de starea lui de oxidare. Manganul II se comportă în sistemele biologice ca un acid Lewis de clasă a, comparabil cu Mg (II), Ca (II), Zn (II). Manganul în stare de oxidare (III) și (IV) are rol de catalizator al reacțiilor de oxidare, asemănător cu Fe (III) și Cu (II) (Ghizdavu, 2000).

În organismul uman, având în vedere bogăția de manganenzime existente, importanța manganului este mare în sinteza proteinelor, polizaharidelor, glicoproteinelor. De asemenea, manganul participă la reacții de oxidoreducere celulară, hematopoeză, osificare, intervine în funcția antitoxică hepatică, potențează vitaminele B₁ și C, are efect hipoglicemiant pentru diabetici (Ghizdavu, 2000).

Manganul este un element esențial pentru om și animale și este cunoscut ca având efect atât protector cât și toxic, depinde de concentrație. Este un element tranzițional care poate fi în sistemele biologice găsit în diverse stări de oxidare, Mn^{+2} ; Mn^{+3} ; Mn^{+7} , care îi conferă manganului calități atât prooxidante cât și antioxidante. Tranziția manganului divalent la mangan trivalent, conduce la creșterea capacității oxidante a metalului, care determină apariția speciilor reactive ale oxigenului, peroxidării lipidice cu afectarea membranei celulare. Expunerea prelungită la Mn^{+2} , duce prin formarea SRO (specii reactive ale oxigenului), la distrugerea sistemului antioxidant al organismului (Dejica, 2000).

La nivelul celulei, Mn^{+2} dezvoltă diverse efecte în fiziologia celulei. În urme, are rol de cofactor în activarea unor enzime, Este component esențial al enzimei superoxid-dismutaza. Complecșii dintre bicarbonat, aminoacizi și mangan, dezvoltă activitatea catalazei (Stadtman et al., 1990 - citat de Munteanu et al., 2005) și are rol de protecție a celulelor endoteliale de toxicitatea H_2O_2 format în timpul stresului

oxidativ. O expunere de lungă durată la o concentrație relativ mare de Mn^{+2} , duce la acumulare intracelulară, în general și în hepatocite în special. Ficatul este organul principal implicat în procesele de metabolizare și detoxificare și se știe că este foarte afectat de poluare în special de metale grele. Stresul oxidativ apare ca rezultat al prezenței xenobioticelor, care perturbă sistemul enzimatic antioxidant, datorită formării SRO (specii reactive ale oxigenului), adică: 1O_2 ; $O_2^{\cdot-}$; OH^{\cdot} ; RO^{\cdot} ; ROO^{\cdot} .

Glutathionul redus (G-SH) conține grupe tiol, fiind implicat în protejarea celulei împotriva efectelor toxice ale metalelor grele. Glutathionul este capabil să complexeze cationii metalelor grele imediat după pătrunderea în celulă, acesta fiind primul pas în apărarea împotriva citotoxicității metalelor grele. Acumularea de metale grele în celule, poate determina reducerea disponibilității glutathionului, ca urmare a oxidării sau legării acestuia. În același timp s-a demonstrat că metale cum sunt Cd^{+2} , Hg^{+2} , Pb^{+2} pot crește concentrația de G-SH în țesuturile mamiferelor, sugerând faptul că tratamentul în vivo în caz de intoxicație cu aceste metale, poate interfera cu metabolismul G-SH. Sensibilitatea celulei la oxidanți este redusă de enzimele antioxidante cum sunt: catalaza, superoxid-dismutaza, glucozo-6-fosfat dehidrogenaza, glutathion reductaza, glutathion peroxidaza, glutathion - S – transferaza.

Producția celulară de specii reactive ale oxigenului poate apare din surse enzimatică și nonenzimatică. S-a determinat prin studiu că Mn^{+2} se acumulează în matricea mitocondrială, probabil prin generarea unei cantități mari de apă oxigenată. Manganul penetrează celula, trece în mitocondrii unde afectează transportul electronilor în interiorul membranei mitocondriale, afectând fosforilarea oxidativă. Activitatea catalazei s-a constatat că crește.

S-a arătat că concentrații mici de Mn^{+2} protejează celulele de stresul oxidativ (Varani et al., 1991 - citat de Munteanu et al., 2005). Acest efect de protecție se pare că provine din faptul că Mn^{+2} poate cataliza dismutarea anionului superoxid și apa oxigenată în condiții fiziologice. Există studii în care s-a dovedit că Mn-SOD poate fi produsă în cursul stresului oxidativ (Denise et. al., 2004 - citat de Munteanu et al., 2005).

2.3.3.EFECTELE MANGANULUI ASUPRA PLANTELOR ȘI ANIMALELOR

S-a observat că în anumite țesuturi ale plantelor există depozite foarte mari de mangan, sub formă de $Mn_2P_2O_7$ alături de depozite de Ca. Se cunosc bacterii care depozitează mangan sub formă de MnO_2 . Se presupune că inițial bacteriile preiau săruri de mangan II solubile, care ulterior sunt depozitate prin precipitare și hidroliza acestuia la pH biologic. În mod similar și la melcii de grădină s-au depistat granule intracelulare formate din săruri de mangan II alături de săruri ale altor metale prezente și în mediul înconjurător.

Studii experimentale au evidențiat schimbări biochimice în creierul rozătoarelor după administrarea a 1 mg/ml de clorură de mangan tetrahidrat în apa potabilă (Lai et al., 1981). Diversele forme sub care a fost administrat manganul poate afecta aminele biogenice în creierul șobolanilor și manifestări neurologice la animalele expuse.

La oile expuse unei doze ridicate de mangan în dietă, s-a constatat o reducere a hemoglobinei. Aceasta observație este bine corelată cu efectele observate la om (Stokinger 1981a). Același autor remarcă manifestări neurologice la maimuțele expuse la doze mari de mangan în aerosoli.

S-a constatat experimental că manganul este mult mai toxic dacă este administrat prin injecții intraperitoneale sau intramusculare, comparativ cu administrarea prin gavaj.

Modificări histologice ale plămânilor au fost remarcate la șobolanii cărora li s-a administrat 40 mg/kg de dioxid de mangan (Stokinger 1981a). Același autor observă deteriorări la nivelul creierului la șobolanii la care s-a administrat mangan direct în creier. Administrarea de mangan injectabil determină scăderea dopaminei și acumulare de calciu dependentă de timp. Animalele injectate intraperitoneal cu 40 mg/kg clorură de mangan, au devenit hiperglicemice la interval de 2 ore. Creșterea concentrației sanguine de glucoză a fost acompaniată de descreșterea insulinei plasmatică, concentrarea rapidă a manganului în ficat și pancreas (Ahmadi-Vincu, 2003).

La șobolani, absorbția de mangan tinde să atingă destul de rapid nivelul de saturație, datorită unei mari afinități a sistemelor de transport pentru mangan (Garcia-Aranda et al., 1983 - citat de EVM/99/22.REVISED AUG 2002). Sistemul de reproducere poate fi afectat de mangan. Astfel s-a constatat în studii pe șobolani o descreștere a fertilității după o expunere cronică la mangan. La șobolani cărora li s-a administrat oxid de mangan în dieta zilnică în doze mari, de până la 300 mg/kg (Carter et al., 1980 - citat de EVM/99/22.REVISED AUG 2002), s-a înregistrat o scădere a ovulației, descreșterea numărului de spermatozoizi viabili, precum și scăderea nivelului de testosteron la masculi. De asemenea, sistemul hematopoetic poate fi puternic afectat datorită unei puternice interferențe a manganului cu metabolismul fierului căruia manganul îi reduce absorbția intestinală, manganul putând induce anemie feriprivă, în urma unui aport excesiv. În urma unui studiu efectuat pe șobolani cărora li s-au administrat doze mari de mangan (până la 2000 mg/kg g.c.) sub formă de sulfat în hrana zilnică (raportul NTP, 1993) s-a constatat după 13 săptămâni că greutatea corporală nu a fost afectată de tratament de asemenea nici cantitatea de hrană consumată nu a scăzut. În schimb s-a constatat o scădere în greutate a ficatului la toate animalele, același efect observându-se și în cazul pulmonului. Numărul de neutrofile a fost considerabil ridicat la animalele tratate, pe când numărul de limfocite a fost redus comparativ cu lotul martor. O creștere mica dar semnificativă s-a înregistrat la hematocrit și numărul eritrocitelor.

Manganul în creier poate interacționa cu alte elemente esențiale și poate cauza stres oxidativ în zonele țintă ale creierului (Wei Zheng et al., 1999). Zheng et al. (1999) remarcă faptul că după

administrare orală, clorura de mangan intră rapid în circulația sistemică, cu o biodisponibilitate orală absolută de 13%, la o doză de mangan administrată prin gavaj de 6 mg/kg g.c. În urma unui studiu experimental autorul a constatat o rapidă creștere a manganului în plasmă după numai o singură doză administrată prin gavaj și specifică faptul că manganul are o biodisponibilitate mai mare la șobolani decât la om.

2.3.4.EFECTELE MANGANULUI ASUPRA ORGANISMULUI UMAN

S-a estimat că doar 3-10 % din totalul manganului ingerat este absorbit prin intestin și că acest proces este puternic influențat de statusul fierului în organism. Absorbția manganului ingerat are loc în intestinul subțire. Eficiența absorbției este destul de scăzută, după cum s-a menționat anterior, datorita slabei solubilități a manganului în fluidele digestive. Manganul este probabil absorbit ca și Mn^{2+} , în cantități dependente de conținutul de microelement în dietă. (Leach și Lilburn, 1978 - citat de EVM/99/22.REVISED AUG 2002). Autorii menționează că absorbția este ridicată în cazul unei diete sărace în mangan și că excesul de mangan îi limitează absorbția. Finley et al. (1994) - citat de aceeași sursă, a arătat într-un studiu pe subiecți umani că femeile absorb mult mai mult mangan din sucurile de fructe decât bărbații, la aceeași cantitate de lichid ingerat.

Absorbția manganului pe cale respiratorie este influențată de mărimea particulelor inhalate. Odată absorbit, manganul este transportat în organele cu celule bogate în mitocondrii, în particular: ficat, pancreas, glanda pituitară, în care este rapid concentrat. În sângele portal, manganul este legat de α_2 -macroglobuline. Chiar dacă se găsește în stare liberă, în stare divalentă sau legat de α_2 -macroglobuline, este eficient îndepărtat din sânge de către ficat. O mică parte a manganului absorbit se leagă de transferină și intră în circulația sistemică, fiind transportat la țesuturi. Legarea de transferină nu se poate face fără prezența unui agent oxidant și se pare că oxidarea este asigurată de ceruloplasmină. Aceeași autori consideră că manganul din plasma sanguină este legat atât de albumină, de asemenea de transferină și α_2 -macroglobuline. În raportul ILSI (1994), se precizează faptul că odată intrat în ficat, manganul intră în unul din cele cinci pooluri metabolice: lizozomi (prin care manganul intră în ficat), mitocondrii, fracția nucleară a celulelor, sinteza de noi proteine și manganul liber. În interiorul celulelor, manganul este sechestrat de mitocondrii, de aceea, acumularea se face preferențial în țesuturile bogate în aceste celule, în special ficat și pancreas.

Acumularea manganului în sistemul nervos central are loc cu viteză mică însă efectele sunt de cele mai multe ori ireversibile. S-a constatat că ingestia cronică de mangan din apa potabilă duce la acumulare în creier și măduva spinării (Lai et al., 1981).

Homeostazia manganului este asigurată de balanța dintre aport și excreția care se produce pe cale hepatică și intestinală, excreția urinară este scăzută. În organism are numeroase funcții care l-au

Homeostazia manganului este asigurată de balanța dintre aport și excreția care se produce pe cale hepatobiliară și intestinală, excreția urinară este scăzută. În organism are numeroase funcții care l-au consacrat ca și element esențial: activator sau cofactor în diverse enzime implicate în metabolismul energetic, digestiv, lipidic și protidic (Orten și Neuhaus, 1975). Poolul normal al unui adult este de 20 mg și este menținut de către ficat, iar excesul de mangan este excretat în intestin prin bilă. Nivelul urinar de mangan este un bun indicator al supraexpunerii la acest metal (Stokinger 1981a). Referitor la mecanismul toxicității manganului s-au emis mai multe ipoteze. Acestea includ formarea de radicali liberi prin reducerea glutatationului, descreșterea activității enzimei glutatation peroxidaza, auto-oxidarea ireversibilă a dopaminei prin reducerea Mn^{+3} la Mn^{+2} , inhibarea respirației mitocondriale, metabolismul degenerat al glucidelor. Mn^{+2} poate cauza neurotoxicitate, atâta timp cât înlocuiește Ca^{+2} . Alte teorii privitoare la mecanismul neurotoxicității manganului includ formarea de radicali liberi de hidroxil prin autooxidarea hidrazinei, în care manganul joacă rol de catalizator al oxidării. Mn^{+2} determină disfuncții mitocondriale care pot duce la apoptoză. Efectele manganului asupra creierului s-ar putea datora de asemenea și afinității mari a manganului pentru neuromelanină (Mergler, 1996).

După cum s-a arătat în prezentarea generală, organele țintă pentru acumularea de mangan sunt:

La expunere orală:

1. Sistemul nervos central (SNC): manganul în exces determină oboseală, insomnie, dezorientare, pierderi de memorie. Îndepărtarea subiectului de la sursa de mangan permite revenirea la normal, fără persistența simptomelor. O expunere cronică la mangan afectează SNC în mod ireversibil, determinând tremur generalizat, dificultăți la mers și reflexe generalizate asemănătoare bolii Parkinson.

Prin studii epidemiologice pe om, s-a determinat ca un aport de 0,8 mg/kg/zi din apa potabilă și 0,34 mg/m³ din aer reprezintă dozele cele mai mici care determină efecte adverse asupra sistemului nervos central. La aceleași doze și la expunere prelungită din aer, s-au constatat efecte asupra reproducției la om și animale.

La expunere prin inhalare:

1. Sistemul nervos central: în caz de afectare apar aceleași simptome ca și în cazul aportului cronic oral la persoanele expuse ocupațional la inhalare de mangan. La muncitorii expuși apare așa numitul „manganism”. Dozele la care apare acest sindrom nu este cert, dar probabil este cuprins între 0,1-1 mg/m³(raportul WHO, 1996).

2. Sistemul respirator: se constată o creștere a sensibilității la răceli, bronșite și pneumonii. Se pare că la aceleași doze inhalate în aceeași perioadă de timp, șobolanii nu sunt atât de sensibili ca și subiecții umani (raportul WHO, 1999).

3. Sistemul de reproducere: descreșterea fertilității la expunere prelungită.

4. Pancreas: s-a constatat că manganul alterează producerea de insulină datorită concentrării în pancreas, interferând astfel metabolismul glucidic.

5. Sistemul imunitar: se înregistrează o scădere a imunității organismului expus la mangan, cu creșterea incidenței infecțiilor respiratorii.

Studii întreprinse de Schroeder et al. 1966, au demonstrat că un aport zilnic de mangan variază între 2,3-8,8 mg/zi. Dietele vegetariene pot fi mai bogate în mangan dar nu sunt considerate sigure pentru organismul uman.

Au fost raportate cazuri de toxicitate datorate manganului din apa potabilă când manganul a depășit doza de 0,8 mg/kg/zi pentru un adult de 70 kg, care consuma zilnic 2 l de apa, la care s-au înregistrat afecțiuni ale sistemului nervos central cu manifestare de tonus muscular ridicat, tremur, și disfuncții mentale. Prima diferență observată între expunerea cronică și subcronică este aceea că simptomele de afectare a sistemului nervos central sunt reversibile la expunerea subcronică.

Inhalarea prafului conținând particule de mangan duce la manifestarea așa numitei febre de mangan, care nu se mai manifestă după încetarea expunerii (Proctor et al., 1988).

Prima diferență observată între expunerea cronică și subcronică este aceea că simptomele de afectare a sistemului nervos central sunt reversibile la expunerea subcronică.

2.4. ALUMINIUL

2.4.1. PREZENTARE SINOPTICĂ

Reprezentând 8% din crusta terestră, aluminiul este conținut în minerale, fiind cel mai abundent dintre metale și al treilea dintre cele mai răspândite elemente după oxigen și siliciu. În crusta terestră apare în diverse combinații și anume: ca oxid în bauxită iar în complecșii aluminosilicatici ca mică și feldspați. În schimb, în apa oceanelor concentrația este sub 1 mcg/L. Majoritatea apelor naturale conțin cantități insignifiante de aluminiu exceptând unele regiuni vulcanice. Al^{3+} este în mod obișnuit depozitat în sedimente sub formă de hidroxid. În condiții de ploi acide, aluminiul ca și alte metale (e.g. mercurul, plumbul), este eliberat din depozitele minerale și pot apărea în apele naturale.

Compușii aluminiului erau cunoscuți încă din cele mai vechi timpuri. Olăria nu făcea decât să prelucreze argilele, care sunt combinații ale aluminiului cu siliciul și oxigenul.

În 1742, J.H. Pott, chimistul german care descoperise bismutul, arăta că aluminiul este prezent în pământurile argiloase. Mai târziu, Lavoisier își dă seama că alumina trebuie să conțină un metal nou (1789). Aluminiul a fost izolat pentru prima dată în anul 1825 de către cercetătorul danez Hans Christian Oersted care a folosit un procedeu bazat pe utilizarea amalgamului de potasiu. Între anii 1827 și 1845, Friederich Wöhler, un chimist german, a îmbunătățit procesul lui Oersted folosind o sare metalică de potasiu, stabilind totodată densitatea aluminiului și scoțând în evidență luminozitatea acestuia. În 1854 Henri Sainte-Claire Deville a obținut metalul prin reducerea clorurii de aluminiu cu sodiu. La Expoziția de la Paris din 1855 a expus pentru prima oară aluminiul pur ([@1997-2005](http://encarta.msn.com)).

Anul 1886 devine anul decisiv al industriei aluminiului. Charles Martin Hall, chimist din Statele Unite, descoperă procedeul de fabricație industrială a aluminiului prin electroliza aluminei topite împreună cu criolitul (Sever- Banciu, 1981).

2.4.1.1 PROPRIETĂȚI FIZICO- CHIMICE GENERALE

Aluminiul este un metal de culoare albă-argintie, foarte maleabil și ductil: la 600°C devine sfărâmicos. Are o densitate foarte mică (2,7 g/cm³) în raport cu celălalte metale uzuale. Aluminiul se topește la 660°C. Este bun conducător de căldură și de electricitate. În aer aluminiul se acoperă la suprafață cu un strat subțire, protector de oxid de aluminiu. Din cauza mării sale afinități pentru oxigen,

aluminiul este un bun reducător pentru oxizii metalelor, proprietate folosită în aluminotermie ca metodă de preparare a fierului, cromului, manganului, titanului, etc. Aluminiul se combină ușor cu clorul și bromul iar la cald și cu iodul, formând halogenurile respective. Se combină la cald cu sulfurul și la temperaturi foarte mari cu azotul. Aluminiul descompune foarte greu apa. Soluțiile alcaline dizolvă aluminiul la rece reacția fiind puternic exotermă. Acizii anorganici reacționează cu acest metal cu formare de săruri și hidrogen (***) - Aluminum Compounds, 2000).

2.4.1.2. SURSE DE EXPUNERE

Aluminiul este întrebuințat pe scară mare la fabricarea vaselor de bucătărie. În foi subțiri servește în industria alimentară la ambalarea diverselor produse iar rezistența aluminiului la soluții saline îl face deosebit de util în industria alimentară. Cea mai importantă utilizare însă o are aluminiul la obținerea aliajelor. Aluminiul pur sau sub formă de aliaje se întrebuințează în electricitate, pentru confecționarea conductelor și a pieselor pentru aparate electrice, condensatoare radio, etc. Metalul mai este folosit pentru dezoxidarea oțelului, oțelurile care conțin aluminiu au proprietatea de a se cementa în bune condiții. În industria materialelor de construcție, aluminiul este folosit la fabricarea BCA (beton celular autoclavizat), cu bune proprietăți izolatoare termice. Datorită densității sale mici, este un metal foarte apreciat în construcția de avioane.

După Walton (1995), surse potențiale de aluminiu biodisponibil sunt:

- Apa potabilă tratată cu sulfat de aluminiu;
- Aditivi alimentari: agent de curgere în sare, agent de dospire în pudrele de copt, agent de întărire pentru fructele zaharisite;
- Medicamente chimioterapice, e.g.: antiacide gastrice, aspirină tamponată;
- Abraziv în pastele de dinți;
- Recipienți metalici pentru bere și sucuri (rășina cu care este tratat interiorul este dizolvată în timp din cauza atacului acid);
- În procesarea și prepararea alimentelor, precum și în depozitarea acestora, e.g.: folii de aluminiu pentru uz alimentar, vase de gătit din aluminiu și ustensile de bucătărie, aparatura de obținere a băuturilor carbonatate, componenți cu aluminiu în percolatori de cafea;
- Anozii de aluminiu în aparate de încălzit apă;
- Chirurgie maxilofacială e.g. implanturi de aluminiu (faciale, stomatologice) ;
- Medicină internă e.g. tratamente medicale- hemoragii, prolaps rectal;
- Cosmetice e.g. cele mai multe deodorante ;
- Vaccinuri (aluminiul se adaugă pentru creșterea răspunsului);
- Utilizări diverse : pulberi de aluminiu, creioane, pudra pentru mănușile de cauciuc, prezervative, alte bunuri sanitare ;

Un articol deosebit de interesant apărut în revista "Science et vie" în 1999 (Labbe și Recosens) prezintă ca cele mai importante căi de pătrundere a aluminiului în organism, ca fiind următoarele: antiperspirantele, apa potabilă, alimentele acide, aditivii și coloranții, antiacidele gastrice.

a) Antiperspirantele

Conțin aproximativ 20% clorură de aluminiu. S-a constatat că aluminiul trece prin piele mult mai repede decât se absoarbe prin ingerare. Pielea pe care se aplică antiperspirantul suportă o concentrație locală ridicată de aluminiu. Puține studii s-au focalizat însă pe aportul transdermal al aluminiului. Se știe că keratina este un bun mediu de intrare în organism pentru sărurile aplicate pe piele. Activitatea antiperspirantă a aluminiului se bazează atât pe precipitarea proteinelor din transpirație cât și pe acțiunea directă asupra glandelor sudoripare din piele (Lansdown, 1995). Experimente recente făcute pe șoareci la care s-a prelevat piele după aplicarea de antiperspirant pe bază de săruri de aluminiu au dovedit că pielea de șoarece nu constituie o barieră față de absorbția aluminiului ba dimpotrivă, la aceste animale s-a constatat o acumulare de aluminiu la nivelul hipocampusului, în creierul acestora (Anane et al., 1995; Anane et al., 1997). În primă fază s-ar putea spune că poate fi făcută legătura dintre antiperspirant și boala Alzheimer (Graves et al., 1990) însă șoarecilor le lipsesc glandele sudoripare funcționale astfel că șoarecii nu constituie un bun model de studiu al tranzitului și acumulării de aluminiu prin piele la om (Day, 1991; Day, www.keele.ac.uk/depts/ch/grpups/aluminum/Jpdabs.htm, 2003). Deoarece capacitatea de trecere prin piele a aluminiului depinde de tipul sării, o idee ar putea fi înlocuirea clorhidraților de aluminiu cu hidroxialuminosilicați. Aceștia pot combina potențialul antiperspirant al fazei hidroxilice cu biodisponibilitatea redusă față de clorură (Birchall et al., 1989; Exley et al., 1997).

b) Apa potabilă

Cercetările epidemiologice legate de demența senilă de tip Alzheimer, au dovedit tot mai mult legătura dintre încărcarea apei potabile cu aluminiu și boala Alzheimer. În zonele în care apa potabilă conține mai mult de 100μg/l, riscul apariției maladiei este de două ori mai mare. Dacă apa conține și siliciu, riscul scade mult (Howe, 1995). Explicația poate fi că aluminiul și siliciul formează complecși de tip aluminosilicați, cu solubilitate foarte mică. Apa acidă crește biodisponibilitatea aluminiului în organism, aluminiul trecând mai ușor prin bariera intestinală spre plasma sanguină. Oricum, apa reprezintă doar 5% din aportul total de aluminiu ingerat de om. Aluminiul este în general folosit pentru a îndepărta suspensiile din apă. Nu s-a stabilit însă clar nici o doză de flocculant care să poată fi asociată cu boala Alzheimer (Martyn et al., 1989). Același autor afirmă că aluminiul total ingerat din apă zilnic este de 0,5 mg iar cel provenit din hrană este de 5-20 mg. S-au studiat potențialele surse de aluminiu, care includ: sucuri 100-2000 μg/l, băuturi alcoolice 100-3000 μg/l, produse alimentare 50-90.000 μg/kg (Skhenk et al., 1989). Oricum, aportul zilnic de aluminiu nu reflectă totalul disponibil pentru absorbție, deoarece aceasta va depinde de alți constituenți ai dietei care o pot influența.

De asemenea apa dură manifestă un efect de protecție față de aluminiu în sensul că la o duritate medie de 1,7 mMol/l aluminiul va fi mai puțin absorbit de organism decât aceeași cantitate dintr-o apă moale, sau o apă cu duritate peste valoarea dată (Schroeder , 1966).

În apa de adâncime și de rețea, solubilitatea aluminiului în echilibru cu faza solidă de hidroxid de aluminiu este dependentă de pH. În condiții de pH acid dar și pH alcalin, solubilitatea este accentuată. Speciile trivalente sunt predominante la pH <5 iar hidroxilul predomină la pH >6,2 care este punctul de solubilitate maximă. În apă, aluminiul apare în diferite forme, în suspensie sau dizolvată. Poate fi legat de liganzi organici sau anorganici sau poate exista ca ion liber. Poate exista ca monomer în apele naturale dar cu timpul poate tinde să polimerizeze. În general poate fi considerat că cantitatea de aluminiu în apă depinde de pH, cantitatea de carbon organic din apă, fluor, sulfat, fosfat și materiile în suspensie. Aluminiul dizolvat în ape în condiții de pH neutru este în general mic, de 1-50 μg/l. Acesta poate crește la 500-1000 μg/l în cele mai multe din apele acide. Complecșii de aluminiu anorganic mononuclear prezenți în apă sunt mai toxici decât complecșii organici atât pentru organismele acvatice cât și pentru speciile de plante terestre (Niebort, 1995).

c) Alimentele acide

Câțiva acizi, cum ar fi acidul citric, cresc solubilitatea aluminiului prin intestin. Ionii de aluminiu legați de moleculele de apă se așază între celulele intestinale sau le traversează prin absorbție la nivelul vilozităților și apoi trec în sânge. Alimentele consumate pot conține cantități variabile de siliciu (Bowen și Peggs, 1984) cuprinse între 10-1200 mg/zi. Această cantitate depinde mult de conținutul de cereale al rației alimentare care conțin siliciu. Siliciul provenit din apa potabilă împreună cu cel din alimente vor limita biodisponibilitatea aluminiului. S-a descoperit de mult că asocierea aluminiului cu băuturi crește mai mult solubilitatea (absorbția) acestuia decât asocierea cu hrana (Gergen, 2005). Sucul de lămâie determină cea mai mare creștere (1700%) urmată de suc de portocale (1260 %). Cafeaua, suc de roșii și vinul cresc de asemenea semnificativ absorbția de aluminiu din apă (Walton, 1995). Carnea (vită) și cerealele produc o modestă inhibare a absorbției de aluminiu. Aceasta deoarece cerealele conțin cantități importante de acid fitic și siliciu care complexează ionii trivalenți de aluminiu. Din totalul de aluminiu ingerat zilnic se estimează că 10-25 mg este preluat din hrană și cam 0,15 mg din apa potabilă (Greger, 1985).

d) Aditivi și coloranți alimentari

Fructele confiate, alimentele pe bază de praf de ou conțin cantități apreciabile de aluminiu;

e) Alimente și ambalaje

În stare naturală, alimentele conțin, în general mai puțin de 5 mg aluminiu/kg. Există însă vegetale cum ar fi: busuiocul, spanacul, linte care au un conținut mult mai mare, ajungând la 2 g aluminiu/kg; Mobilizarea aluminiului din solurile acide crește disponibilitatea acestuia de a fi reținut în plante. Aluminiul este acumulat în plante în special de rădăcini. Ceaiul conține cantități mari de aluminiu (5 mg/l)

legat de liganzi polifenolici care inhibă absorbția metalului (Powell et al., 1993). Sucul de portocale proaspăt conține în mod normal cam 26 mg/l. Dacă sucul concentrat este diluat cu apă ce conține alaun, acidul citric și ascorbic conținut de suc vor crește absorbția de aluminiu din apă cu 1260 %, (Moore, 1998). Este recomandat ca hrana acidă cu ar fi cârnații picanți, roșiile, să nu fie gătite sau ținute în vase de aluminiu.

Prin coroziunea provocată de băuturile acide asupra ambalajelor se elimină o mare cantitate de aluminiu. Aceste băuturi conțin de 5 ori mai mult aluminiu decât aceeași băutură în ambalaj de sticlă;

f) Antiacidele gastrice

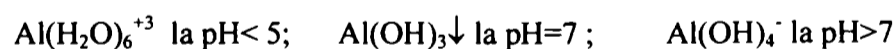
Medicamentele antiacide (antacide) conțin săruri de aluminiu care neutralizează hiperaciditatea gastrică. Din aceste medicamente, se absoarbe zilnic chiar și 1 g aluminiu/zi. Absorbția este favorizată de pH acid și de starea mucoasei gastrice. Într-un studiu experimental efectuat de Walton et al. (1994) s-a administrat șobolanilor concentrații egale de aluminiu sub formă de soluție de alaun sau ca hidroxid de aluminiu provenit din pulverizarea de tablete antiacide dizolvate în apă. Aluminiul provenit din alaun s-a absorbit cu 2500 % mai mult decât cel din soluția antiacidă.

2.4.2. ALUMINIUL ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

În sistemele biologice chimia ionului aluminiului Al^{3+} este relativ simplă. El reacționează de 10^7 ori mai repede decât Cr^{+3} și este mult mai solubil decât Fe^{+3} . Aluminiul metalic este prea reactiv pentru a se găsi liber în natură.

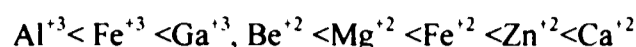
Raza ionică a aluminiului este apropiată de cea a fierului și magneziului, fiind mult mai mică decât a calciului. Din acest motiv în sistemele biologice Al^{+3} va fi în competiție cu Mg^{+2} mai mult decât cu Ca^{+2} . Magneziului, aluminiul va prefera liganzi donori de oxigen în special grupe fosfatice.

Hidroliza aluminiului depinde de valoarea pH-ului și speciile predominante la diferite valori este reprezentată mai jos:



În general aceste specii pot fi luate în considerare în orice soluție în care apare aluminiul (Nicolini et al., 1991).

Un aspect important al problemei liganzilor pentru aluminiu in vivo o reprezintă rata de schimb a ligandului. Aceasta este importantă pentru aluminiu pentru că are loc cu viteză mică și sistemele pot să nu fie la echilibru. Față de alte metale, este prezentat acest aspect în continuare:



Fiecare semn de inegalitate indică o creștere de aproximativ 10 ori în rate constante de la $1,3 \text{ sec}^{-1}$ (Nicolini et al., 1991).

Numărul de coordinare al complexșilor Al^{+3} în multe sisteme biologice rămâne incert, mai ales când mai mult decât un tip de ligand leagă aluminiul. Când numărul de coordinare este mic, capacitatea de schimb a Al^{+3} poate crește dar oricum rămâne cu mult mai scăzut decât a altor metale prezentate.

Se poate spune deci că aluminiul preferă mediile donoare de oxigen: carboxil, cateolat și fosfat sunt cei mai buni liganzi pentru aluminiu. În schimb aminele, bazele azotate ale DNA și RNA, grupele sulfhidril (metalotioneina) nu leagă aluminiul.

Se discută în continuare principalii compuși implicați în activitatea biochimică a aluminiului:

A) Fosfatul

În sistemele biologice este cel mai frecvent ligand al aluminiului. Tăria legăturii cu fosfatul este dependentă de natura grupării fosfat. S-a constatat că cea mai mare stabilitate o are chelatul care se formează între aluminiu și ADP și ATP în comparație cu DPG și AMP. Reacțiile de fosforilare și defosforilare se produc în mod normal în celulă. Grupele fosfatice ale oricărei proteine fosforilate reprezintă o sursă de bazicitate și în conjuncție cu carboxilul sau alte grupe fosfatice reprezintă un ligand puternic al aluminiului.

B) Citratul

S-a dovedit prin numeroase studii că citratul facilitează încorporarea Al^{+3} în organism la mamifere. Concentrații ridicate de aluminiu s-au decelat în creier și oase de șobolani hrăniți cu citrat de aluminiu sau chiar numai cu citrat. În mod evident, citratul chelatează urmele de aluminiu din dietă, dar alterează și balanța altor metale. În cazul unor pacienți care au ingerat concomitent hidroxid de aluminiu și citrat s-a instalat rapid encefalopatie, urmată de blocaj renal (Walton, 1994). Mai mult, la adulții sănătoși care consumau medicamente antiacide pe bază de $\text{Al}(\text{OH})_3$ asociat cu citrat sau acizi de fructe s-a constatat o creștere a nivelului de aluminiu în sânge și urină (Walton, 1995). În plasmă, majoritatea citratului se află sub forma de complex de calciu iar aluminiul înlocuiește calciul din citrat. Citratul solubilizează aluminiul fie că acesta este $\text{Al}(\text{OH})_3$ sau AlPO_4 . În aceste condiții se recomandă evitarea consumării de hrană bogată în citrați atunci când aportul de aluminiu nu poate fi evitat. Având în vedere faptul că Al^{3+} înlocuiește Ca^{2+} din citrat se recomandă ca la pacienții uremici ingestia de Al^{3+} să fie riguros evitată. În loc se poate folosi o altă sare de calciu, de exemplu acetat de calciu. Cea mai mare parte din citratul din plasmă este legat de către Ca^{2+} și Mg^{2+} iar aceste metale pot fi ușor înlocuite de către Al^{3+} .

Citratul de aluminiu nu este decât relativ solubil comparativ cu alți compuși ai aluminiului dar citratul crește absorbția gastrointestinală a aluminiului, paralel cu excreția urinară a acestuia în condițiile unei funcționări normale a rinichiului (Domingo et al., 1988, Abstract in Medline). S-a constatat recent că și alți acizi alimentari cum sunt acidul succinic și tartric cresc de asemenea biodisponibilitatea gastrointestinală a aluminiului fără a mări excreția urinară a acestuia (Zatta, www.bio.unipd.it/~zatta/aluminum.htm, 2005).

Citratul la concentrații de 0,1 mM în plasma sanguină este cea mai importantă moleculă mică care leagă Al^{3+} . A fost semnalată creșterea absorbției aluminiului în tubul digestiv în prezența citratului (Bakir et al., 1989, Nordal et al., 1988, citați de Greger 1993). Greger și Powers, 1992, citați de Greger, 1993, au constatat creșterea retenției de aluminiu în oase la șobolani în prezența citratului și aluminiului în rație, timp de 28 zile. La indivizii cu funcție renală normală, nu se constată creșteri semnificative ale concentrației aluminiului în plasma sanguină (Llobet, 1987, Abstract Medline ; Llobet et al., 1995). Risc crescut de absorbție și distribuție a aluminiului după expunerea la citrat prezintă indivizii cu insuficiență renală (Walker et al., 1990).

Rata absorbției aluminiului în prezența citratului depinde de forma în care se găsește aluminiul, de concentrația acestuia și a citratului (Weberg și Berstad, 1986, Slanina et al., 1986, citați de Powell și Thompson, 1998), dar și de pH-ul mediului, favorabil fiind cel scăzut (Martin, 1986).

La pH scăzut, așa cum este în stomac, complexul citrat-aluminiu este favorizat de unele formațiuni oxalat-aluminiu, la un pH de 2-3 (***) - Aluminum Compounds, 2000). Referitor la modul în care citratul favorizează absorbția de aluminiu, s-au indicat mai multe mecanisme:

1. Creșterea solubilității aluminiului - la pH 2,5 - 5,5, domeniu de pH în care aluminiul în stare normală și singur nu este solubil, citratul formează cu aluminiul un complex neutru, solubil, capabil să traverseze membranele celulare prin transport pasiv (Koo și Kaplan, 1988 ; Powell et al., 1999).

De asemenea, autorii presupun că nu solubilizarea aluminiului de către citrat ar fi mecanismul prin care citratul favorizează absorbția aluminiului alimentar, ci dimensiunea redusă a compușilor de citrat de aluminiu, care permite o absorbție ușoară.

2. Chelatarea aluminiului - citratul îl transportă activ în celulele mucoasei intestinale (Van der Voet, 1986).
3. Deschiderea joncțiunilor epiteliale: prin chelatarea calciului se produce contractarea citoscheletului celular și ca urmare, mărirea spațiului intracelular (Paloma- Martinez et al., 1980- citați de Greger 1993, Molitoris et al., 1989, citați de Lote și Saunders, 1991).

C) Transferina

Transferina este proteina predominantă purtătoare de fier dar și de aluminiu în plasmă. În mod normal este saturată doar în proporție de 30% cu fier. Alte surse arată că transferina poate transporta și Ti

(Messori et al., 1999) sau Ga (Farrar et al., 1990). Experimente recente confirmă concluzia că citratul este specia cu molecula cea mai ușoară iar transferina este specia cu molecula cea mai grea care transportă Al^{3+} în plasmă la șobolani (Martin, 1991).

Receptorii transferinei se află în capilarele creierului dar nu și în alte țesuturi (Jefferies et al., 1984). Acești receptori facilitează trecerea aluminiului transferin-legat prin bariera hemato- encefalică în țesutul cerebral.

Experimentele sugerează că receptorul transferinei nu este Fe^{3+} ci chiar transferina însăși și că Al^{3+} și Fe^{3+} au căi comune de transport către creier. Feritina din creierul șobolanilor reține Al^{3+} . Feritina din creierul victimelor bolii Alzheimer conține mai mult Al^{3+} și Fe^{3+} comparativ cu pacienții din lotul de control cu vârsta înaintată (Fleming și Joshi, 1987, citat de Martin, 1991).

Cea mai mare parte din aluminiu după absorbție în fluxul sanguin este rapid legat de proteine în vederea transportului prin rețeaua vasculară (Day, Barker et al., 1991, citați de Walton, 1995).

În tabelul 2-1 este reprezentat procentual modul de legare al aluminiului în sânge după Day, Barker et al., 1991 - citați de Walton, 1995.

Tabel 2-1. Modul de legare al aluminiului în sânge

Specificație	Aluminiu legat (%)
Fracțiuni cu greutate molară mare:	
Transferină	80
Albumină	10
Altele	5
Fracțiuni cu greutate molară mică	
Citrat/liber/etc.	5

Aluminiul este de asemenea excretat din sânge în bilă și returnat în intestin (Klein et al., 1983).

D) Fluorura

Fluorura este un bun ligand pentru Al^{3+} , însă destul de slab. Formarea complexului AlF_4^- este împiedicată de menținerea unui nivel ridicat de Ca^{2+} . Același efect îl are și Mg^{2+} însă nu atât de pronunțat ca și Ca^{2+} . În apa mărilor, aproape jumătate din totalul de F^- este legat ca și MgF^+ (Nicolini et al., 1991).

Fluorul exercită un efect protector împotriva efectelor toxice ale aluminiului. Efectele fluorului par a fi bazate pe antagonismul reciproc în competiția pentru absorbția intestinală (Florence, 1995). O sursă de fluor o constituie fluorinarea apei (***-Aluminum Toxicity, 2005). Chiar și la un exces molar de fluor, complexe de aluminiu fluor există doar la $pH < 6,5$. Complexele de aluminiu-silicat-fluor pot exista și la $pH > 6,5$.

Rapoartele aceleiași surse bibliografice arată că fluorajii cresc absorbția de aluminiu la iepuri, cresc toxicitatea aluminiului asupra citoscheletului neuronal și amplifică inhibarea activității enzimatică de către aluminiu.

S-au descoperit leziuni neuronale cerebrale mai mari la șobolanii tratați cu AlF_3 , decât la cei tratați cu NaF (**www.oehha.ca.gov/water/phg/pdf/Alumin.pdf, 2000).

Influența aluminiului asupra formării oaselor, care poate fi inhibitoare, ducând la osteomalacie sau stimulative (Gomez-Alonso et al., 1999), poate fi afectată de interacțiunea cu fluorul.

În prezența unei cantități mici de aluminiu, fluorura formează ionul AlF_4^- , în care un ion de Al^{3+} este înconjurat de patru ioni F^- . Se pune tot mai mult problema în ce măsură dozele de aluminiu și fluorură la care suntem expuși pot cauza probleme patologice la om se arată în raportul WHO (2001-2004).

Complecșii alumino-fluorurați sunt considerați de puțin timp ca o clasă nouă de analogi ai fosfatului în investigațiile de laborator. Aceștia pot minimiza sau potența acțiunea a numeroase semnale extracelulare și afectează puternic răspunsul celular. Complecșii aluminofluorurați pot acționa cu puternică eficacitate farmacologică. Creșterea în mediul înconjurător și în hrană a conținutului de aluminiu și fluorură, crește posibilitatea de a acumula date care să dovedească pericolul acestor complecși pentru sănătatea omului.

O explicație extrem de interesantă privind modul de acțiune al complecșilor alumino-fluorurați este dată de Connet în 1999, pornind de la faptul că hormonii sunt mesagerii chimici. Hormonii liposolubili au abilitatea de a traversa membranele celulare fără greutate. În interiorul celulei ei găsesc o proteină (receptor) de care se leagă. Această combinație se atașează DNA-ului, determinând o schimbare de gene și deci apariția unei noi proteine în celulă. Hormonii aqua-solubili nu pot traversa membrana celulară așa că vor trebui să-și trimită mesajul din exterior, combinându-se cu receptorii din afara celulei. Această combinație atrage o schimbare a proteinei G (proteina care se strânge în jurul membranei) care conduce la activarea sau eliberarea unui al doilea mesager (de obicei AMP ciclic sau Ca^{2+}) în interiorul celulei. Proteina G conține o moleculă numită GDP (guanozin difosfat) care este atașată de riboză și două grupe fosfatice. Hormonul se atașează de receptor cândă treia grupă fosfat se alătură celorlalte două și proteina G este activată. În prezența ionului AlF_4^- , proteina G reacționează ca în fața unei grupe fosfat, datorită asemănării de structură între ioni. Așa că, atunci când fluorura înconjurată de aluminiu apare în mediu, aceasta se combină cu GTP-ul în proteina G și fără nici o participare a hormonului transmite un mesaj. Această confuzie poate determina serioase probleme țesutului afectat. De fapt se trimite un mesaj greșit într-un moment nepotrivit.

Fluorura în prezență de aluminiu inhibă multe enzime ca ATP-aze, fosfataze și fosforilaze, ceea ce afectează de fapt procesele de transformare a energiei, afectând de fapt metabolismul energetic al întregului organism (Lunardi et al., 1988).

E) Alți compuși:

Compușii carboxilici, amoniul, aminoacizii, encefalina, lactatul, catecolaminele prezintă legături in vivo slabe cu aluminiul.

Este din ce mai mult vehiculată supoziția că Al^{3+} leagă DNA în nucleul celulei. Studii in vivo și in vitro au aratat că aluminiul a fost depistat în regiunea nucleului celulelor neuronale din creier care conțin neurofibrile dezordonate atât la bolnavii de Alzheimer cât și la locuitorii Guamului care suferă de scleroză laterală amiotrofică și de boala Parkinson (Mc Lachlan, 1996).

2.4.3. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA PLANTELOR, ANIMALELOR, PEȘTELOR

Cuantumul aluminiului în scoarța terestră este destul de mare (8%), acesta are însă răspândire limitată în regnul vegetal și animal, esențialitatea lui pentru aceste regnuri este controversată.

S-a dovedit că mici cantități de aluminiu stimulează creșterea plantelor. Există plante care acumulează cantități mari de aluminiu, în special plantele cu toleranță mare la mediile acide (ploi acide). În urma unor cercetări experimentale s-a dovedit că plantele de ceai pot acumula în frunze cantități mari de aluminiu, ajungând ca în frunzele îmbătrânite să fie descoperite 3000-4000 ppm de aluminiu în substanța uscată sau chiar mai mult.

În concentrații ridicate aluminiul poate inhiba distribuția majorității nutrienților din plante. În același timp, această acumulare poate produce un deficit de fosfor prin precipitarea fosfaților din sol și depozitare la nivelul rădăcinilor plantelor.

De asemenea, aluminiul inhibă mitoză în celulele meristemele din rădăcină prin fixarea în nuclee de DNA precum și a lipidelor și pectinelor în peretele celular. Acest fapt are repercursiuni și asupra metabolismului magneziului.

În cazul animalelor experiențele pe șobolani masculi din linia Sprague-Dawley tratați zilnic prin gavaj (6 zile/săptămână) cu 100 mg aluminiu/ kg corp sub formă de hidroxid de aluminiu (9 săptămâni), citrat de aluminiu (4 săptămâni), acid citric (4 săptămâni) și apă potabilă (9 săptămâni, lot control) s-a arătat cât de dependentă de tipul sării în care se administrează este acumularea de aluminiu în organism. Nu s-au înregistrat modificări importante privind nivelul de aluminiu în creier și oase în cazul administrării de hidroxid de aluminiu însă rezultatele au fost surprinzătoare în cazul administrării de citrat de aluminiu sau chiar numai citrat de sodiu (Slanina et al., 1984).

Anke et al., au publicat în 1993 rezultatele obținute în urma experimentelor pe capre care au fost hrănite cu o dietă semipurificată de aluminiu pe parcursul a patru ani. Observațiile au arătat că inițial caprele care au avut o dietă privată de aluminiu au consumat mai multe furaje și au produs cantități mai mari de lapte comparativ cu grupul de control, dar feții au avut o greutate foarte mică la naștere. Deficiența de aluminiu nu a afectat performanțele reproductive ale caprelor dar mortalitatea după 4 ani a fost de 100 % la caprele cu deficit de aluminiu comparativ cu cele care au avut o dietă normală, la care mortalitatea a fost doar de 75%. Pe de altă parte pe parcursul celor 4 ani de studiu experimental, la animalele cu deficiență de aluminiu s-a observat tulburări locomotrice la nivelul membrilor. Datele obținute și prezentate mai sus se referă la un deficit experimental cronic de aluminiu, dar nu există observații cu privire la un deficit natural la animale. Pe baza acestor date aluminiul a inclus aluminiul în grupul ultraelementelor minerale esențiale.

Un alt studiu experimental s-a făcut pe rumegătoare și s-a observat că cantumul aluminiului la aceste animale este foarte diferit. Astfel, sursa principală de aluminiu pentru rumegătoare sunt particulele de sol și aditivii din furaje. Pe de altă parte toleranța rumegătoarelor la aluminiu este foarte mare și depinde de solubilitatea compușilor de aluminiu și în mare măsură de concentrația de fosfor.

Acizii tricarboxilici, de exemplu acidul citric, la șobolani, influențează absorbția de aluminiu precum și concentrația lui în serul sanguin și în țesuturi.

Stole et al. în 1991 au analizat concentrația aluminiului în serul sanguin la oi și a obținut următoarele valori: 0,21 $\mu\text{mol/L}$ cu limite cuprinse între 0 și 0,42. Autorii au făcut un studiu comparativ cu valorile concentrației de aluminiu din serul sanguin care au fost în medie de 0,19 $\mu\text{mol/L}$ cu limite cuprinse între 0,02 și 0,32 sau 0,98 $\mu\text{mol/L}$.

Ciappellano et al. (1991) a demonstrat că la administrarea orală a unei soluții de aluminiu în doze de peste 15 ppb crește liniar concentrația de aluminiu din plasmă, creier, rinichi, oase (e.g. femur), în special atunci când este asociat cu acidul citric. De asemenea, toxicitatea aluminiului ridică noi și noi semne de întrebare pentru diverse specii de animale. Astfel, Llobet et al., (1995) au tratat șoareci de sex masculin cu azotat de aluminiu în concentrație de 0; 50; 100; 200 mg de azotat/kg corp per zi timp de 4 săptămâni. Autorii au observat scăderea ratei de fecunditate la femelele care au primit 100 și 200 mg de aluminiu. În finalul experimentului s-a observat o scădere a consumului de furaje, a greutății testiculare, dar și o depresie a numărului de spermatozoizi. Leziunile s-au transformat în final în necroze la nivelul testiculelor. Conform celor prezentate de autorii experimentului și cercetărilor efectuate, "limita la care nu s-a observat nici un efect advers" în cazul administrării parenterale de aluminiu, este de 50 mg aluminiu/kg corp/zi.

La suinele de sex feminin dintr-o crescătorie de porci, s-a putut observa că la o depozitare greșită a unei mari cantități de soluție de sulfat de aluminiu 8% s-a contaminat sursa de apă. Consecințele rezidă în perturbări de metabolism mineral, inclusiv metabolismul aluminiului. Efectele adverse au constat în

creșterea mortalității și scăderea greutății corporale, infertilitate, tulburări de comportament (mers necoordonat, letargie la porcii de sex masculin, șchiopătare) etc.

Allens et al. (1980) au încercat să studieze efectele aluminiului la rumegătoare. Autorii au observat că în conținutul ruminal al vacilor care au murit de tetanie hipomagnezică, nivelul de aluminiu a fost de 5 ori mai mare decât la vacile sănătoase și anume de 2373 ppm. Bazându-se pe cele observate, autorii studiului au administrat 4-8 g de aluminiu/kg în furajele destinate îngrășării taurilor și au observat o depreciere a magneziului seric cu 32% pe parcursul a doar 4 zile. Se poate ca aceste rezultate să ofere sugestii pentru alți autori care sunt deopotrivă interesați de implicațiile aluminiului în patologia tetaniei hipomagnezice. Toleranța la aluminiu a animalelor este variată. De fapt, Valvidia în 1978 a notat rezultatele și efectele care apar la administrarea orală a aluminiului în concentrație de 405 ppm. Doze mai mari, cum sunt cele de 810 ppm de aluminiu sub formă de sulfat nu a avut efect patogenic în experimentul pe oi. Conform celor obținute de Schenkel et al. (1986), doar doze mai mari de 1000 ppm pot induce efecte notabile de toxicitate a aluminiului asupra sănătății și comportamentului la bovine. Apele cu pH cuprins între 5 și 6 sunt corelate cu o toxicitate mare a aluminiului la pești, în special hidroxid de aluminiu. Aceste baze-hidroxidul de aluminiu- precipită și determină moartea peștilor prin asfixie (Torud, 1993).

Poleo (1995), a propus o ipoteză conform căreia toxicitatea aluminiului la pești este datorată fie polimerizării compușilor cu aluminiu în detrimentul precipitării hidroxidului de aluminiu solid, fie datorită ionilor de Al^{3+} . pH-ul optim de polimerizare este cuprins între 5 și 6. Conform acestei ipoteze sarcinile încărcate pozitiv ale hidroxizilor de aluminiu se leagă de părțile cu sarcini negative ale unor suprafețe care apoi acționează ca niște nuclee de polimerizare. Creșterea polimerilor, precum și hiperproducerea de mucus în spațiile intracelulare conduc la asfixie. Concentrații mici de fluor (aproximativ 100 $\mu\text{g/l}$) pot contracara efectele patobiochimice și fiziopatologice asupra peștilor expuși la ape acide cu aluminiu (Hamilton și Haines, 1995).

2.4.4. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA ORGANISMULUI UMAN

În prezent, aluminiul este folosit în medicină ca și constituent al unor medicamente, în special din categoria antiacide gastrice. Aportul total de aluminiu din diverse surse exogene este extrem de mic, aceasta reflectând relativa non-biodisponibilitate în circumstanțe biologice. Schimbări de natură fiziologică în organism cu ar fi diminuarea funcției renale pot duce la creșterea absorbției de metal în organism. Aportul de aluminiu prin plămâni sau tractul digestiv nu vor determina neapărat o supraacumulare la nivelul celulei. Este evident faptul că legarea de proteine a aluminiului va ajuta la îndepărtarea aluminiului disponibil din circulație, astfel concentrația metalului va fi mai ridicată în eritrocite decât în plasma sanguină, cu o concentrație în sângele total cu 8% mai mare decât în plasmă (Moore, 1998). Se estimează că 70-90 % din aluminiu este legat de proteine, în primul rând de transferină dar și de albumine. Concentrația în țesuturi este în general mică, cca. de 2mg/kg corp (0,075 mmoli/kg substanță uscată) cu cele mai mari concentrații găsite în os, ficat și plămân.

Echilibrul este menținut pentru că aluminiul este eliminat prin fecale și urină. Materiile fecale vor conține aluminiu neabsorbit, iar rinichii vor constitui calea principală de eliminare a aluminiului absorbit. La pacienții sănătoși se elimină zilnic prin rinichi în jur de 3-8 mg de aluminiu. Chiar dacă aluminiul este ubicuitar în mediul înconjurător și expunerea este mare datorită folosirii tot mai frecvente a containerelor de folie de aluminiu, aditivi alimentari și medicină este evident că nici una din aceste surse nu contribuie la o creștere exagerată de aluminiu în țesuturi (Stobart, 1986). Trei sisteme din organism sunt clar implicate în caz de intoxicație cu aluminiu: sistemul hematopoietic, sistemul nervos și sistemul osos. Trei categorii de populație sunt clar expuse riscului de intoxicație cu aluminiu: cei a căror funcție renală este compromisă, copiii născuți prematur și cei expuși prin natura ocupației (Greger,1993; Greger,1997; Altman, 1999).

Căile principale de pătrundere în organism a aluminiului sunt: calea digestivă (prin apă, hrană, medicamente), respiratorie (mai ales expuneri profesionale), cutanată, parenterală (intravenoasă) în terapiile cu soluții de dializă, contaminate cu aluminiu.

În cazul organismelor sănătoase, absorbția aluminiului prin toate căile naturale este redusă, deoarece mucoasa intestinală, bronhială și pielea constituie bariere biologice extrem de eficiente (Brown et al., 1987-citați de Lote și Saunders, 1991).

Metalele ingerate pot fi clasificate în două categorii: cele solubile în condițiile de pH existente în lumenul gastrointestinal: Na, Mg, Ca și cele susceptibile la hidroxipolimerizare (denumite metale hidrolitice), ca: Al, Cu, Fe, Mn, Zn, care sunt solubile în acid, ceea ce sugerează că absorbția aluminiului ar avea loc în stomac (Fleming et al., 1989 - citați de Powell și Thompson, 1998).

Aceiași autori subliniază că cele mai multe forme de aluminiu ingerat sunt cel puțin parțial și gradual solubile în acid, deci o anumită cantitate de aluminiu va fi solubilizată și absorbită în stomac. Mucoasa gastrică poate fi străbătută doar de particule de dimensiuni nanometrice (Mwokolo et al., 1992- citați de Powell și Thompson, 1998). Când conținutul stomacal ajunge în duoden, acesta este rapid neutralizat de secrețiile biliare și pancreatice și orice formă solubilă de aluminiu precipită într-o formă de hidroxofosfat, care nu este absorbabilă (Fleming et al., 1989 - citați de Powell și Thompson, 1998).

Duodenul, cunoscut ca cel mai important secretor de liganzi endogeni, dintre care cel mai important este mucina, este sediul major al absorbției metalelor. Pentru a susține ipoteza că aluminiul nu se absoarbe în stomac, se mai poate adăuga: suprafața absorbtivă mică, (Weberg și Berstad, 1986 - citați de Powell și Thompson, 1998), stratul gros de mucus gelatinos, aderent și tamponat care este impermeabil pentru absorbția nutrienților, inclusiv ioni metalici. Stomacul pregătește doar metalele ingerate pentru absorbția în alte segmente ale tractului gastrointestinal.

Atât la animale cât și la om a fost demonstrată absorbția în duodenul proximal, înainte de precipitare la pH perineutral, teorie care ar explica absorbția redusă a aluminiului (Steward 1989 - citat de Lote și Saunders 1991).

Walton (1995) susține că aluminiul ar putea fi absorbit oriunde în tractul digestiv, chiar și în colon, jejunul prezentând cea mai mare rată a absorbției.

Din datele bibliografice se poate trage concluzia că cei mai importanți factori care influențează absorbția aluminiului sunt: factori dependenți de substanță-doza; factori dependenți de substanță și individ: biodisponibilitatea aluminiului și factorii care o determină (forma chimică, chimismul gastrointestinal, structura rației), factori dependenți de individ: starea de sănătate, plenitudinea tractului digestiv.

Lote și Saunders, (1991) susțin că ingerarea dozelor orale mai mari de 10 mg/kg m.c. determină creșterea apreciabilă a absorbției, demonstrată prin creșterea nivelului plasmatic și urinar de aluminiu, dar eliminarea prin urină a acestuia nu este o măsură bună a absorbției, deoarece aluminiul se acumulează în diverse organe și țesuturi.

Pe de altă parte, există autori (Greger și Bayer, 1983- citați de Powell și Thompson, 1998) care au remarcat reducerea absorbției gastrointestinale a aluminiului concomitent cu creșterea dozei.

Studiile de biodisponibilitate a aluminiului se fac folosind izotopul Al^{26} a cărui măsurare se face prin spectrometrie accelerată gravitațional, la nivel de 10^{-16} g (Priest et al., 1995).

Studiile făcute privind absorbția cu izotopii Al^{26} și Al^{27} au evidențiat că absorbția aluminiului administrat per os este foarte scăzută, în jur de 1% și este dependentă de cantitatea ingerată (Fleming și Joshi, 1991).

Evaluarea factorilor chimici și biologici care intervin în procesele de absorbție este dată (după Lote și Saunders, 1991) în tabelul 2-2.

Tabel 2-2. Factori care influențează absorbția aluminiului

Factorii de influență- Specificație		Efectele asupra absorbției aluminiului
Factori chimici	citratul	crește
	acidul silicic	scade
	fierul	neelucidat
	fluorul	scade
	pH	modificările față de neutru cresc absorbția
	calciul	scade
Factori fiziologici	parathormonul	crește
	1,12-Dihidroxitamina D	crește
Factori fiziopatologici	uremia	crește

Menținerea în stare biodisponibilă, solubilă a metalelor hidrolitice și deci și a aluminiului chiar și la valori de pH aproape neutre este datorată mucinei solubile (gastroferina) din stomac, precum și liganzilor endogeni din intestin, citratul, lactatul, piruvatul, albumina, lactoferina și mucina (Powel et al.,1998).

Absorbția din stratul de mucus și trecerea prin mucoasa intestinală se produce membranar (în eritrocite) sau paracelular (prin joncțiunile dintre eritrocite) (Powell et al.,1998). Autorii apreciază faptul că calea paracelulară este puțin eficientă, fiind specifică metalelor polivalente neesențiale, care nu au sisteme de transport propriu și pentru care eficiența poate fi mărită prin chelatarea calciului intracelular cum este citratul, sau care se metabolizează rapid (glucoza), și care produc contracția citoscheletului și mărirea spațiului paracelular. Din aluminiul ajuns în celulele mucoasei intestinale, doar o parte mică ajunge în circulația sanguină (Van der Voet et al.,1986).

Mecanismul saturabil de absorbție este vitamina D-dependent și pentru acest mecanism de absorbție, aluminiul concurează cu calciul (Adler et al.,1986). Absorbția aluminiului este inhibată de către blocații căilor calciului și este crescută de către activatorii căilor calciului (Greger, 1993).

Powell și Thompson (1998), susțin că aluminiul nu poate avea aceeași cale de transport cu calciul din cauza dimensiunilor mici a ionilor de Al^{3+} , care nu poate înlocui ionul de Ca^{2+} de dimensiuni mult mai mari.

Dintre factorii endogeni, impactul cel mai mare îl au vitamina D și parathormonul. S-a constatat la iepuri existența unei corelații directe între nivelul aluminiului absorbit și nivelul calcitriolului, metabolit fiziologic activ al vitaminei D_3 . Implicarea posibilă a hormonului paratiroidian în variațiile aluminiului absorbit pe cale digestivă a constituit subiect de controverse.

Comportamentul Al^{3+} în lichidele biologice a fost comparat cu al fierului. Ioni metalici pot exista în mediile biologice în următoarele forme: ioni liberi, complexe cu greutate moleculară mică, complexe macromoleculare reversibile, complexe macromoleculare ireversibile (legați ireversibil de metaloproteine).

După absorbția din tractul gastro-intestinal, aluminiul intră în fluxul sanguin, fiind legat de proteinele plasmatiche. Principalul ligand al aluminiului în sânge poate fi considerat a fi transferina, urmat de albumine și molecule mici (e.g. citratul, fosfatul, hidroxidul, Harris et al., 1996).

Calea de accesare a aluminiului (orală, respiratorie sau injectabilă) poate afecta legarea aluminiului în plasmă. După absorbție, aluminiul ajunge în curentul sanguin, de unde este distribuit în diferite organe și țesuturi sau este eliminat. Aluminiul este vehiculat în organism sub formă de complexe aluminoproteice (e.g. transferină), formă sub care este recunoscut de către receptorii celulari ai transferinei (Ghegariu, 1996 ; Sun et al., 1998).

Trebuie menționat faptul că așa cum s-a arătat mai devreme, elementele metalice cu caracter cationic intervin în diverse procese biologice. Metalele, în general se pot lega prin legături ionice de alți compuși, dar cei mai des întâlniți compuși care conțin ioni metalici sunt formați prin legături coordinative.

Tabel 2-3. Valori normale de aluminiu în fluide biologice și țesuturi, după Alfrey, 1991

Fluide biologice	Valoare ($\mu\text{g/l}$) = medie \pm 1 SD
Plasmă	2.4 ± 0.4
Lichid cerebrospinal	6.8 ± 4.5
Bilă	3.0 ± 1.0
Urină	7.1 ± 1.0
Țesuturi biologice	Valoare (mg/kg masă uscată)
Creier	2.2 ± 1.3
Inimă	1.0 ± 0.8
Mușchi	1.2 ± 1.2
Ficat	4.1 ± 1.7
Splină	2.6 ± 2.1
Pulmon	43.0 ± 44.0

Aluminiul ionic Al^{3+} poate interveni în metabolismul proteic și astfel poate schimba caracteristicile biologice și eventual genetice ale unui lanț polipeptidic. Studiile experimentale au arătat că bazele azotate din DNA și RNA nu leagă Al^{3+} . În prezent prin experimentele întreprinse de diverși autori se încearcă găsirea unor explicații cât mai convingătoare referitoare la toxicitatea aluminiului și eventuala legătură dintre aceasta și aspectele genetice (Martin et al., 1991). După Alfrey (1991), totalul de aluminiu în corpul omenesc este în jur de 35 mg și nu crește cu vârsta.

3. CONTRIBUȚII LA INVESTIGAREA ACȚIUNII ZINCULUI ȘI MANGANULUI ASUPRA HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE A UNOR BIOELEMENTE LA ANIMALE DE LABORATOR

3.1. CARACTERISTICI ALE MODELULUI EXPERIMENTAL PENTRU INVESTIGAȚIA BIOCHIMICĂ

În cercetarea științifică din domeniul biochimiei și biologiei experimentale se folosesc modele experimentale realizate pe animale de laborator. Pe astfel de modele se efectuează cercetări cu caracter biochimic, nutrițional, farmacologic, biofizic, toxicologic, etc. Rezultatele obținute pot oferi un cadru teoretic și aplicativ pentru corelarea în diverse domenii ale științelor vieții, ajutând la explicarea multor aspecte din nutriție, farmacologie, medicină, toxicologie, etc.

La alegerea animalelor de experiență pentru acest studiu, s-au avut în vedere mai multe criterii condiționate de complexitatea experimentului și anume : specia animalului, rasa, greutatea corporală, sexul, vârsta, starea fiziologică ș.a.. Pentru cercetările experimentale întreprinse cu referire la acțiunea zincului și manganului asupra homeostaziei biochimice au fost utilizați șobolani (*Rattus norvegicus*), linia Wistar.

Un aspect important în stabilirea metodologiei experimentale l-a reprezentat cunoașterea tehnicilor de conținere a animalelor, a relațiilor doză- efect, a modului de prelevare și de conservare a probelor biologice recoltate. Conținerea animalelor presupune realizarea unor condiții cât mai blânde pentru a reduce la minim stresul animalelor știut fiind faptul că pe fondul stresului se pot produce modificări ale homeostaziei biochimice la enzimele sanguine, lipide, glucide, etc., În astfel de situații este posibilă obținerea de rezultate experimentale eronate.

Prelevarea probelor de organe și țesuturi trebuie urmată de conservarea probelor, deoarece acțiunea microorganismelor poate duce la modificarea caracteristicilor majorității metaboliților. În cazul țesuturilor și organelor prelevate, se respectă cerințele prevăzute de metodele de analiză folosite ulterior, care să evite contaminarea probelor cu ioni metalici proveniți de la instrumentele de disecție sau de la recipientii folosiți la conservare. Dacă probele se analizează în interval de 24 ore de la prelevare, se pot păstra în frigider la 2-4°C, iar dacă prelucrarea acestora are loc după un interval mai lung de timp, se congelează.

Pentru realizarea experimentelor s-au ales animale de laborator șobolani din specia *Rattus norvegicus*, linia Wistar, de sexe diferite și cu caracteristici somatice cât mai asemănătoare. S-a urmărit greutatea corporală, talia, stadiul de dezvoltare, să nu prezinte afecțiuni ale organelor vitale sau leziuni vizibile, femelele să nu fie gestante, etc.

În experimente s-a utilizat metoda gavajului, pentru administrarea compușilor salini și anume : clorura de zinc și clorura de mangan sub formă de soluții, la șobolani linia Wistar.

Prima etapă la începutul experimentului pe animale de experiență a fost formarea grupurilor (loturilor) de animale și anume un grup de control (C) și patru grupuri experimentale (E_i). În fiecare grup au fost alese 10 animale - șobolani linia Wistar, de sex masculin și feminin, așezate în cuști separate, pentru a nu avea în lucru animale gestante. După alegerea animalelor și formarea grupurilor experimentale s-a trecut la marcarea tuturor animalelor din cele cinci grupuri. Nu s-a procedat la marcarea animalelor cu vopsea, deoarece aceste substanțe pot conține mici cantități de elemente metalice. Individualizarea s-a realizat prin tăierea urechilor animalelor în formă de V, și a unghiilor membrelor anterioare și posterioare. Animalele au fost lăsate un timp de trei zile după formarea grupurilor pentru acomodare și omogenizare din punct de vedere al alimentației și a condițiilor de mediu.

La începutul experimentului animalele au fost cântărite pentru a putea avea un control și din punct de vedere al statusului ponderal pe parcursul experimentului și pentru a putea observa eventualele modificări de greutate care pot fi datorate substanțelor administrate pe parcursul experimentului.

În a patra zi a experimentului s-a realizat prima administrare a compușilor salini studiați, cloruri de zinc și mangan, iar în a șaptea zi a doua administrare. Sacrificarea animalelor s-a realizat în a paisprezecea zi a experimentului.

Înainte de realizarea propriu-zisă a gavajului s-a recurs la o anestezie prealabilă a animalului. Substanța folosită pentru anestezie a fost Ketamina (soluție de 1 ml ketamină reprezintă 40 UI de anestezic). Denumirea comercială a anestezicului folosit a fost "Calypsol" (flacon de 10 ml Calypsol cu 500 mg clorhidrat de ketamină) produs de firma "Gedeon Richter Ltd.", Budapesta-Ungaria, cu o concentrație de 50 mg/ml ketamină și cu administrare injectabilă intramuscular. Pentru fiecare animal s-a calculat cantitatea de anestezic administrată, astfel că s-a folosit o soluție de ketamină 50 mg/ml, astfel că 1 ml să corespundă la 125 g greutate corporală.

Starea de narcoză a animalelor de experiență s-a instalat la 10-15 minute de la administrarea anestezicului și a durat circa 1 oră. Administrarea ketaminei s-a făcut cu seringi de unică folosință. După anestezie s-a procedat la administrarea soluției, după intubarea oro-esofagiană, direct în stomac.

Pentru realizarea gavajului s-a ales o sondă de plastic specială pentru astfel de investigații, care avea închisă extremitatea terminală a zonei, pentru a nu produce leziuni mecanice. Foarte aproape de extremitate, există un orificiu lateral, nu foarte mare, care permite trecerea soluției în stomac. Volumul de soluție s-a introdus lent în stomac, cu siringa atașată la capătul care a rămas în afara cavității bucale.

Administrarea soluțiilor de lucru s-a făcut în ziua a patra și a șaptea de la începerea cercetărilor, la grupul de control administrându-se apă potabilă. Astfel s-a realizat o identitate a procedurilor protocolului experimental

Pentru administrarea compușilor salini, respectiv a clorurilor, s-a convenit să se utilizeze săruri de mangan și zinc, în două concentrații diferite în raport cu doza zilnic recomandată (Recommended Daily Intake) și anume: dublul dozei recomandate pe zi (prescurtat $RD\text{I}\times 2$) și respectiv cvadruplul dozei recomandate zilnice ($RD\text{I}\times 4$).

S-a luat ca referință pentru acest studiu un necesar zilnic de 12-15 mg/zi sau 0,171-0,214 mg/Kg corp/zi de mangan, respectiv 12-15 mg/zi sau 0,171-0,214 mg/Kg corp/zi de zinc (Expert Group on Vitamins and Minerals Meeting- Nutrition Unit A, JFSSGMAFF- Review of Manganese, 2002). Soluțiile de administrat s-au obținut pe baza dozei maxim recomandate și anume: 15 mg/zi respectiv 0,214 mg/Kg corp/zi pentru mangan și 15 mg/zi respectiv 0,214 mg/Kg corp/zi pentru zinc.

Astfel, pentru prima doză ($RD\text{I}\times 2$) de Mn administrată s-a preparat o soluție de 1,550 mMol/L MnCl_2 iar pentru a doua doză ($RD\text{I}\times 4$), o soluție de 3,110 mMol/L MnCl_2 . Pentru prima doză ($RD\text{I}\times 2$) de Zn administrată s-a preparat o soluție de 1,316 mMol/L de ZnCl_2 , iar concentrația soluției pentru a doua doză administrată a fost 2,633 mMol/L de ZnCl_2 .

S-a preferat administrarea de cloruri, pentru că au o solubilitate mai mare în mediul intern al organismului și în special în stomac, unde pH-ul acid al stomacului favorizează absorbția ulterioară sărurilor.

S-au ales zincul și manganul pentru administrare și pentru studiul fenomenelor dishomeostazice pe care le creează aportul în exces deoarece zincul și manganul sunt biometale esențiale pentru organism, dar în anumite condiții pot deveni toxice.

Imediat după fiecare administrare, animalele au fost urmărite din punct de vedere al comportamentului și nu s-au înregistrat fenomene deosebite.

3.2. PRINCIPII METODOLOGICE DE INTERES BIOLOGIC ȘI ANALITIC

3.2.1. PRELEVAREA PROBELOR

Procedura experimentală instituită a fost continuată prin urmărirea efectelor produse de administrarea sărurilor de mangan și zinc, respectiv clorură de mangan și clorură de zinc în concentrații care depășesc doza zilnică recomandată (Recommended Daily Intake- RDI) la animale de experiență-șobolani linia Wistar. Un al doilea efect urmărit a fost legat de timpul de acțiune și de aceea soluțiile testate s-au administrat în ziua a patra și a șaptea, iar prelevarea probelor de la animale s-a făcut în ziua a paisprezecea, cu prelevarea de organe pentru analiza metalelor, respectiv ficat, mușchi, creier.

Recoltarea organelor s-a făcut cu instrumente sterile și cu lame de bisturiu bine ascuțite. Probele recoltate au fost puse imediat în sticle cu dop (în prealabil spălate și uscate) care au fost etichetate. Pe etichete s-au înscris date referitoare la numărul animalului de la care s-a recoltat proba, grupul, data recoltării și greutatea probei recoltate. Sticlulele cu organe s-au depozitat în congelator la temperaturi de -18°C , până când acestea au fost mineralizate, în vederea determinării metalelor prin spectrofotometria cu absorbție atomică. Aparatul AAS a fost de tipul Analyst 800, cu efect Zeeman de corecție a zgomotului de fond și încălzire transversală a tubului de grafit produs de firma Perkin-Elmer. Cuptorul de mineralizare cu microunde, care s-a făcut aducerea în soluție a țesuturilor a fost produs de firma Milestone iar programul de mineralizare (conform cărții tehnice a aparatului) se pretează la probe cu conținut mare de substanțe organice și grăsimi.

3.2.2. ANALIZA PRIN SPECTROSCOPIE DE ABSORBȚIE ATOMICĂ

Pregătirea probelor pentru analiza metalelor cu AAS, presupune aducerea în soluție prin mineralizare cu acizi a țesuturilor. În vederea analizării acestora, au fost decongelate, îndepărtat excesul de sânge cu hârtie de filtru și cântărite. Cântărirea s-a făcut pe o balanță analitică de tip Mettler-Toledo cu precizie de

0,1 mg, rezultatul cântării exprimatându-se cu trei zecimale. După cântărirea direct în flacon de teflon al mineralizatorului cu microunde, s-au adăugat apă bidistilată 5 ml, acid azotic conc. 65% 10 ml și perhidrol 30% 1 ml, pentru a asigura oxidarea completă a substanțelor organice din țesut, care ar fi interferat determinarea metalelor în absorbție atomică. Pentru prepararea soluțiilor de reactivi și probe, s-a folosit apă distilată deionizată și dublu distilată.

Mineralizarea s-a făcut în cuptor cu microunde de tip Millestone, folosind un program de mineralizare specific probelor cu conținut mare de substanțe organice și grăsimi.

Fierul, magneziul, și zincul din soluții s-au determinat cu un aparat AAS de tip Analyst 800 (Perkin Elmer) folosind tehnica atomizării în flacără (aer-acetilenă) și absorbție atomică, iar pentru cupru și manganu prin atomizare electrotermală în cuptor de grafit.

3.2.3. INTERPRETAREA STATISTICĂ A DATELOR

Pentru calibrare s-au folosit soluții etalon de bază de 1000 mg/L produse de firma Merck, care au fost diluate corespunzător cu apă bidistilată pentru fiecare metal în parte. Controlul calibrării s-a făcut prin recitirea standardelor ca probe și metoda etalonului extern, folosind o soluție multielement (Merck), verificând precizia și acuratețea determinărilor, cu ajutorul unor diagrame de control.

Evaluarea statistică a rezultatelor s-a făcut în scopul determinării mediei aritmetice a concentrațiilor de metal a seriei aparținând unui anumit grup (grup de control și experimentale), obținute după analiza țesuturilor, precum și a intervalului de încredere atașat mediei (95%) cu un program de statistică descriptivă din EXCELL. În general, numărul de cifre semnificative al mediei a fost stabilit conform regulilor statistice, astfel încât ultimele două cifre semnificative din valoarea mediei să aibă același ordin de mărime cu al primelor două cifre a intervalului de încredere. Deoarece s-a observat că intervalul de încredere de 95% este apropiat de abaterea standard medie a valorilor, în tabele s-a reprezentat rezultatul ca medie aritmetică \pm deviație standard ($\bar{X} \pm D.S.$). Eliminarea valorilor aberante din șirurile individuale de valori au fost îndepărtate cu testul Q. Pentru a compara variațiile de concentrație pe loturi față de lotul de control respectiv, s-a aplicat testul t, asociindu-se fiecărei valori medii de la loturile experimentale valoarea probabilității p. Valorile medii care s-au deosebit semnificativ față de lotul martor ($p > 0,05$), au fost evidențiate în tabele prin asocierea unei stelute. Analiza corelațiilor între sânge și organe sau a organelor între ele, s-a făcut cu un program statistic de comparare în EXCELL.

3.3. EFECTUL ZINCULUI ASUPRA HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE TISULARE

În cadrul acestor subcapitol se vor prezenta datele experimentale obținute prin analizarea organelor prelevate de la șobolani Wistar și anume mușchi, ficat și creier, la grupul de control (C) și cele două grupuri experimentale, în cazul cărora s-a administrat $ZnCl_2$ în doză dublă (grup E_1) și respectiv cvadruplă (grup E_2) față de doza zilnic recomandată.

După cum am arătat în prezentarea cu specific morfologic, zincul este un metal esențial, component al mai mult de 200 enzime, constituent structural al multor proteine, hormoni, neuropeptide, receptori hormonal și posibil polinucleotide. Datorită rolului său în diviziunea și diferențierea celulară, apoptoză, transcripția genelor, funcționarea biomembranelor, zincul este considerat un element important pentru organism încă din primele momente de viață ale embrionului, până în perioada de senescență.

3.3.1. EFECTUL ASUPRA MUȘCHILOR

Mai mult din 90% din totalul zincului din organism apare în mușchi și oase. În cazul experimentului s-a cercetat variația concentrației de biomicroelemente din mușchiul longissimus dorsi după administrare de $ZnCl_2$, care este ilustrată în tabelul 3-1.

Tabel 3-1. Concentrația de microelemente în mușchi în $\mu g/g$ țesut umed după administrare de $ZnCl_2$

Specificație	Zn $\bar{X} \pm D.S.$	Mn $\bar{X} \pm D.S.$	Cu $\bar{X} \pm D.S.$	Fe $\bar{X} \pm D.S.$	Mg $\bar{X} \pm D.S.$
Grup control C apă potabilă	15,8±0,6	0,192±0,007	1,26±0,17	22,2±0,8	264±11
Grup E_1 $ZnCl_2$ RDIx2	19,9±1,7	0,248±0,026*	0,992±0,110*	20,2±2,23*	262±9
$\Delta \bar{X}_1$	+ 4,1	+ 0,056	- 0,268	- 2,0	- 2
Grup E_2 $ZnCl_2$ RDIx4	22,5±1,4*	0,132±0,024*	1,02±0,11*	16,0±1,2*	268±10
$\Delta \bar{X}_2$	+ 6,7	- 0,060	- 0,24	- 6,2	+ 4

* $p < 0,05$

Se observă că distribuția metalelor în mușchi la grupul de control este :

$$\text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn}$$

Magneziul se află în concentrația cea mai mare, comparativ cu alte biometale cercetate. Concentrația magneziului în diferite tipuri de celule, respectiv organe, înregistrează importante variații, fiecare tip de celulă având un anumit conținut de magneziu. Creșterea sau scăderea magneziului intracelular dintr-un organ nu este întotdeauna paralelă cu concentrația magneziului din plasmă sau alte organe. Concentrația de magneziu eritocitar pare să fie reglată genetic și nu este corelată cu rezerva de magneziu din alte țesuturi. Nivelul magneziului muscular la om, de exemplu, variază între 7-9 mM (108-216 mg/kg țesut proaspăt), dar scăderea lui nu apare decât în cursul unei carențe severe și prelungite de magnezi. Deși datele sunt contradictorii, magneziul muscular poate fi folosit ca și marker al deficitului de magneziu (Miu și Drăgătoiu, 2000). Din aceleași surse redăm concentrația de magneziu în mușchiul cardiac la șobolani Wistar care este $1,003 \pm 0,09$ mg/100 mg țesut uscat.

În experimentul nostru, nu se înregistrează variații semnificative ale magneziului muscular, ca urmare a administrării de clorură de zinc, așa cum se poate vedea din tabelul 3-1. De obicei, zincul și magneziul pot varia simultan în sensul că se pierd cantități importante, la indivizii cu activitate fizică și psihică intensă. Pierderea de zinc din mușchi poate fi exacerbată de exercițiile fizice intense și de lungă durată, în condiții de aport insuficient. În aceleași condiții poate apare și o depleție de magneziu (Brilla și Conte - <http://www.snac.com/research.htm>, 2006).

Variația cuprului în mușchi la loturile experimentale comparativ cu lotul de control se poate observa în tabelul 3-1. Studii experimentale arată că metalotioneina conținută în mucoasa stomacului favorizează absorbția zincului. Cuprul se leagă la metalotioneină mult mai puternic decât zincul însă atunci când apare un exces de zinc, este scăzută absorbția de cupru. În general, absorbția de zinc este favorizată de proteinele animale și de compuși cu masă moleculară mică, așa cum sunt tioaminoacizii și hidroxiaminoacizii. Deficiența de zinc asociată cu pierderea de proteine apare la pacienții cu enteropatie cu pierdere de proteine, arsuri, traume. Se cunoaște că 20% din zincul din organism se află în piele, de aceea arsurile severe duc la deficiență de zinc (Alpers, 2002). Anemia rezultată ca urmare a excesului de zinc se datorează în mod obișnuit deficienței de Cu ca urmare a competiției în absorbția gastrointestinală dintre zinc și cupru (Zinc, <http://www.intox.org/databank/index.htm>, 2006).

În experimentul prezent, aceste teorii sunt confirmate de scăderea semnificativă a cuantumului de cupru la grupurile experimentale E_1 și E_2 , probabil datorită unei competiții între zinc și cupru. Modificările manganului sunt interesante pentru că, după un aparent efect sinergic între mangan și zinc după administrarea de la lotul E_1 , manganul scade sub nivelul lotului de control la administrarea unei doze mai mari de zinc (figura 3-1).

Administrarea de zinc în doză $RD \times 2$ duce la creșterea cu 29% a manganului în mușchi, la doze mici zincul părând să acționeze sinergic cu manganul, probabil datorită activării enzimelor Zn-Mn dependente

iar administrarea de zinc la doza maximă utilizată în experiment, scade concentrația de mangan în mușchi, acționând la concentrații mari, ca și antagonist al acestuia

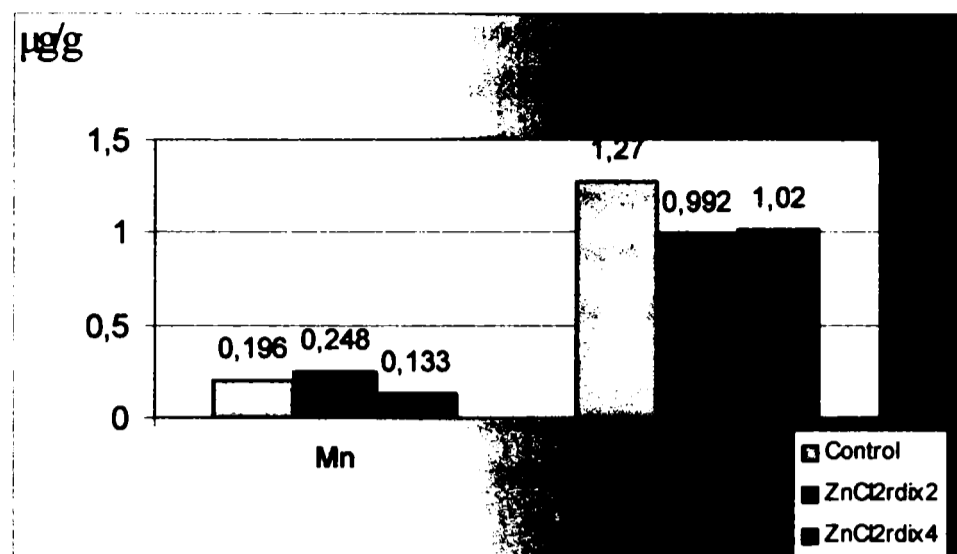


Figura 3-1. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (musculare) a cuprului și manganului sub acțiunea zincului

Este evidentă acumularea de zinc în mușchi la loturile experimentale E₁, E₂ față de control, scăderea fierului în mușchi odată cu creșterea zincului, sugerând un antagonism între cele două metale. Antagonismul dintre cele două metale a fost dovedit, excesul de suplimente cu zinc, afectând negativ absorbția de fier (Kannan, 1998).

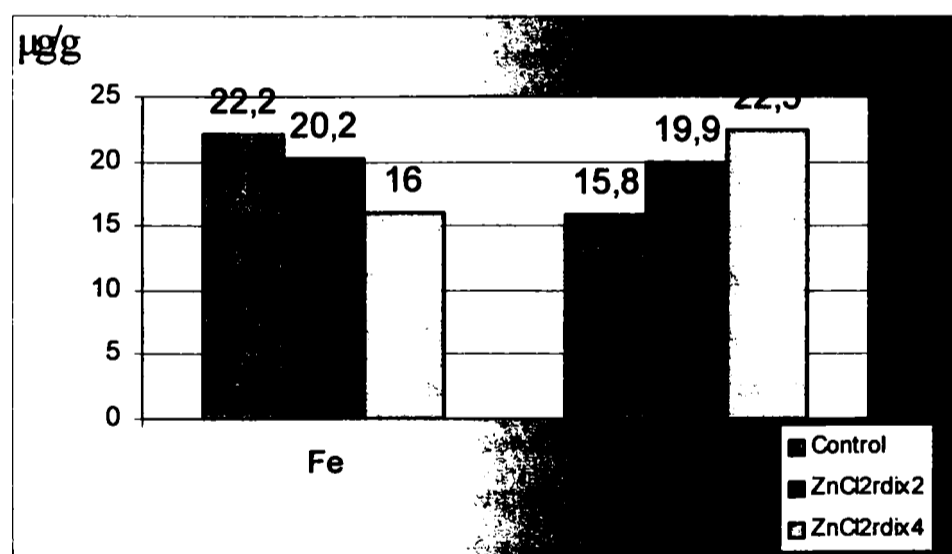


Figura 3-2. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (musculare) a fierului și zincului sub acțiunea zincului

Putem presupune că zincul, aflat în concentrație mare în mușchi, se acumulează ca urmare a legării acestuia de proteinele musculare la ambele loturi experimentale, așa cum se vede din figura 3-2

Cu referire la zinc și importanța acestuia pentru mușchi, Ghergariu (1980) arată că DNA tisular este afectat de carența de Zn la porci și constată scăderea zincului și RNA tisular. Carența de zinc implică reducerea sintezei de colagen muscular și cutanat, conform aceluiași autor. De asemenea subliniază efectul zincului asupra metabolismului proteic și implicit asupra creșterii. De asemenea se face o corelație interesantă și anume, pornind de la faptul că creșterea se realizează prin mărirea numărului de celule și a dimensiunilor celulare, rezultă că deficitul de zinc afectează sinteza de DNA, sau mai degrabă în inhibarea sintezei acestuia.

În general nu există multe cazuri de intoxicare datorate unui aport de zinc în exces. Cele mai expuse specii de animale la intoxicare cu zinc în caz de exces sunt bovinele, ovinele, cabalinele. Șobolanii au o toleranță mare la zinc (Ghergariu, 1980).

Rosowska și Nakamoto (1993) arată legătura antagonică dintre zinc și calciul muscular, într-un experiment pe șobolani în cursul căruia s-a administrat în hrană clorură de zinc ca și supliment. Ulterior experimentului s-au prelevat sânge, creier, inimă, ficat și mușchi, pentru a se determina efectul excesului de zinc asupra concentrației de zinc și calciu muscular. S-a constatat acumularea de zinc în mușchi, în restul organelor studiate acumularea nu a fost semnificativă. Concluzia studiului este că zincul joacă un rol important în funcția celulară, prin alterarea distribuției intracelulare a calciului în mușchiul scheletic.

Putem emite concluzia că în experimentul nostru, la administrare de zinc în exces, se produce acumularea acestuia în mușchi, fiind observate și efecte asupra altor biometale cum sunt Cu, Fe, Mn, care poate fi rezultatul modificărilor în activitatea enzimelor în care zincul este implicat alături de acestea sau fenomenelor de competiție (antagonism) în momentul absorbției gastrointestinale.

Cu referire la modificările induse prin administrarea de $ZnCl_2$ în mușchi se pot remarca mai multe aspecte : administrarea de zinc în exces duce la acumularea acestuia în mușchi la administrarea dozei duble față de RDI cu 26% comparativ cu controlul și crește la creșterea dozei administrate la cvadruplul RDI cu 42% față de control. Se mai poate observa că zincul acționează ca antagonist al cuprului și fierului în mușchi. Creșterea zincului muscular cu 26% la primul lot experimental, determină scăderea cuprului cu 21% și a fierului cu 9%. Mărirea dozei de zinc administrate la $RDI \times 4$, determină scăderea accentuată a fierului cu 28% față de control în condițiile în care cuprul nu se modifică. De asemenea administrarea de zinc în doză $RDI \times 2$ duce la creșterea cu 29% a manganului în mușchi, la doze mici zincul părând să acționeze sinergic cu manganul, probabil datorită activării enzimelor Zn-Mn dependente iar administrarea de zinc la doza maximă utilizată în experiment, scade concentrația de mangan în mușchi, acționând la concentrații mari, ca și antagonist al acestuia posibil datorită fenomenelor de competiție in vivo.

3.3.2. EFECTUL ASUPRA FICATULUI

Funcția hepatică extrem de activă face ca acest organ să fie capabil de detoxifiere prin excreție biliară a numeroase substanțe, de proveniență exogenă care prin ingerare, inhalare, administrare parentală, administrare prin intubare, etc. ajung în sânge, apoi în ficat. Celulele hepatice (hepatocitele) constituie un mediu de reacție extrem de activ, în care procesele metabolice foarte intense împart substraturi materiale și energetice de la o cale metabolică la alta, asigurând biodegradarea/biosinteza a multiple substanțe care sunt transportate în diferite zone ale corpului. Unul din procesele în care ficatul este implicat este stocarea fierului. Pe lângă fierul din hemoglobină, cea mai mare cantitate de fier din organism este stocată sub formă de feritină în ficat. Celulele hepatice conțin cantități mari de apoferitină, o proteină capabilă să lege cantități mai mici sau mai mari de fier. Astfel, când fierul este prezent în fluidele extracelulare în cantități prea mari, acesta este combinat de apoferitină și stocat în ficat, până este necesar un supliment de fier în altă parte, situație în care apoferitina eliberează excesul.

Tabel 3-2. Concentrația de microelemente în ficat în $\mu\text{g/g}$ țesut umed după administrare de ZnCl_2

Specificație	Zn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Cu $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Fe $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mg $\bar{X} \pm \text{D.S.}$
Grup control C apă potabilă	24,1 \pm 1,5	1,43 \pm 0,25	4,10 \pm 0,25	121 \pm 9	233 \pm 10
Grup E ₁ ZnCl ₂ RDIx2	30,0 \pm 1,6*	1,25 \pm 0,14*	4,05 \pm 0,19	130 \pm 12*	224 \pm 8*
$\Delta \bar{X}_1$	+ 5,9	- 0,18	- 0,05	+ 9	- 9
Grup E ₂ ZnCl ₂ RDIx4	43,7 \pm 1,8*	1,14 \pm 0,11*	3,38 \pm 0,13*	405 \pm 11*	240 \pm 10
$\Delta \bar{X}_2$	+ 19,6	- 0,29	- 0,72	+ 284	+7

- $p < 0,05$

Se observă că distribuția hepatică a biometalelor studiate, la lotul de control este următoarea:

$$\text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn}$$

După absorbția în organism, zincul formează complexii proteici, mai important fiind metalotioneina, care acționează ca un sistem transportor (Stockinger, 1981). Expunerea cronică orală la zinc poate duce la anemie sideroblastică sau hipocromică asociată cu hipoceruloplasminemia, hipocupremia, și neutropenia (Broun et al., 1990). Se știe că în cantități excesive zincul ingerat prin hrană sau suplimente, poate afecta absorbția de fier (Kannan, 1998). Mobilizarea fierului din depozite, crește semnificativ fierul nehemetic hepatic (Nordmann et al., 1990). Fierul stocat reversibil în ficat are rol important în inițierea și catalizarea variatelor reacții ale SRO, contribuind la leziunile tisulare induse de oxigen (Aust et al. 1985, citat de Dejica, 2000). În afară de reacția Haber-Weiss care determină generare de hidroxil din superoxid, fierul liber poate reacționa cu superoxidul și peroxidul de hidrogen, producând alti oxidanți și are un rol aditiv în lipoperoxidare, accelerând descompunerea lipoperoxizilor în radical peroxil și alcoxil care extrag ionul de hidrogen și stimulează lipoperoxidarea. Fierul se găsește fiziologic depozitate sub formă de feritină, nereactivă chimic. Complexele de fier liber, neferitinic, capabile să inițieze in vivo formarea de SRO (specii reactive ale oxigenului) sunt atașate de agenți care pot lega metale (ATP, ADP, GTP) sau citrat, ori sunt prezente în membranele microzomale (Miotti, 1989, citat de Dejica, 2000).

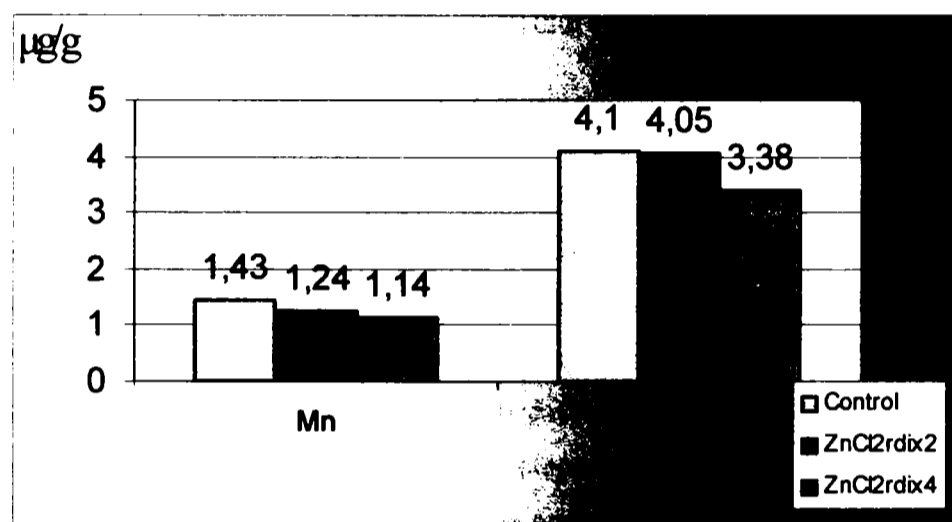


Figura 3-3. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (hepatice) a cuprului și manganului sub acțiunea zincului

Rezultă clar din cele prezentate că excesul de zinc poate interfera cu metabolismul fierului, ceea ce poate explica creșterea acumulării de fier în ficat ca urmare a celor două administrări. Creșterea este spectaculoasă după administrarea de ZnCl₂ în doză RDx4, ceea ce se poate datora eliberării fierului din depozite și acumularea lui în organism sub acțiunea excesului de Zn.

Zincul este un component esențial al superoxid-dismutazei (Cu-Zn), un antioxidant enzimatic important care intervine în legarea radicalilor liberi și prevenirea peroxidării lipidice (Omu et al., 2005). Superoxid-dismutazele Cu - Zn, au formula generală Cu₂Zn₂SOD și sunt formate din două subunități

Enzimele SOD catalizează disproporționarea ionului superoxid, cu formare de apă oxigenată., generatoare de radicali liberi prin oxidare. Dismutarea este accelerată de prezența ionilor de Cu și Zn, astfel încât, orice modificare a cantității acestor ioni reacției, duce la afectarea reacției.

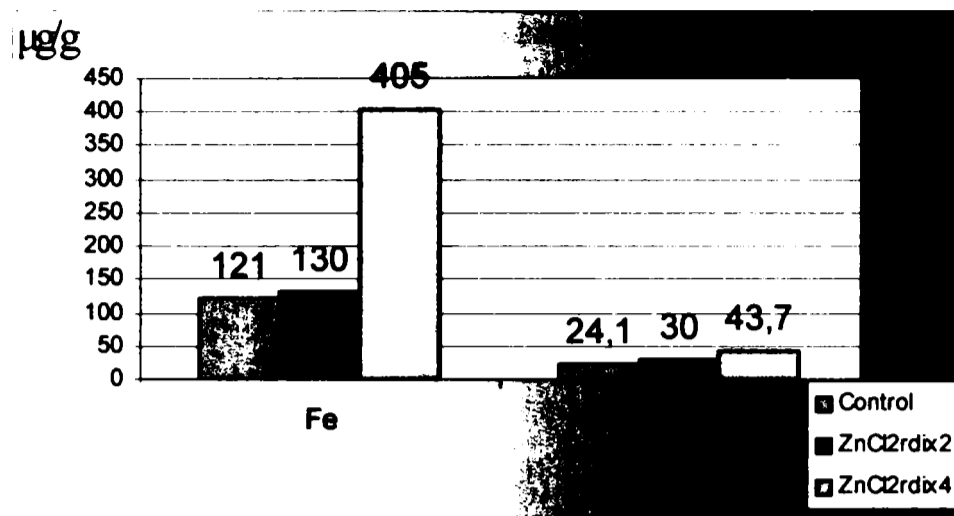


Figura 3-4. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (hepatice) a fierului și zincului sub acțiunea zincului

Putem presupune faptul că variația semnificativă de cupru (figura3-3) la administrarea dozei mai mari de ZnCl₂, poate fi determinată de modificări enzimatică la nivelul enzimelor cu rol de protecție față de stresul oxidativ creat de Zn în ficat. Se observă în tabelul 3-2, că zincul crește semnificativ la ambele loturi experimentale comparativ cu lotul martor (fapt explicabil prin protocolul experimental), importantă fiind corelarea și observarea efectelor sinergice sau antagonice cu alți ioni metalici (Pup et al., 2006a).

Cuprul acționează în ficat împotriva fibrozei hepatice în cazul bolilor cronice ale acestui important organ din corp, intervenind în special în sinteza de colagen. În ciroza hepatică calciul, magneziul, fosforul și zincul din ser descresc, în timp ce cantumul de cupru crește. La pacienții cu hepatită acută calciul, magneziul, zincul seric descresc, iar fosforul, fierul și cuprul descresc de asemenea. Se observă că în multe situații de afectare hepatică, anomaliile observate la microelemente, pot reflecta situații patologice diverse ca disfuncții hepatice, colestază, fibroză, sau chiar procese de regenerare hepatică.(Suzuki et al., 1996, <http://www.truehealth.org/arefer02.html>).

Se remarcă faptul că sub acțiunea zincului se modifică în ficat conținutul în Mn, Cu, Fe și Zn, care toți fac parte din structura unor superoxid-dismutaze, respectiv: CuZnSOD, MnSOD, FeSOD, putem concluziona prin faptul că prin administrarea de Zn în exces, cu siguranță sistemul antioxidant de protecție a organismului este afectat, prin modificarea concentrației acestor ioni în ficat (Ahmadi, Pup et al., 2005).

Date concluzive preliminare asupra modificărilor homeostaziei biochimice tisulare la nivel hepatic induse de administrarea de ZnCl₂ evidențiază următoarele aspecte : la creșterea dozei de zinc administrate,

acesta se acumulează în ficat la ambele loturi experimentale față de control, cu 24% și respectiv 81%. Aportul în exces de zinc determină scăderea concentrației hepatice de Cu, Mn, acționând ca antagonist al acestor micrometale iar creșterea concentrației fierului hepatic la aport în exces de zinc duce la concluzia unui sinergism între cele două metale, însă acumularea de fier în ficat poate duce la intensificarea proceselor de oxidare celulară (stres oxidativ). La administrare de zinc în doză RDIx4, fierul hepatic crește cu 235%.

3.3.3. EFECTUL ASUPRA CREIERULUI

Zincul este un component esențial al superoxid-dismutazei, un antioxidant enzimatic important în legarea radicalilor liberi și prevenirea peroxidării lipidice. Multe enzime au ca și cofactor zincul, cum ar fi RNA- polimerazele, alcool-dehidrogenaza, anhidraza carbonică, fosfataza alcalină. S-a demonstrat că zincul influențează apoptoza, activitatea protein-kinazei C, menținerea integrității membranei celulare. Cromatina nucleară are în constituție cantități mari de zinc, zincul fiind esențial în sinteza DNA, și proliferarea celulară, etc. Homeostazia zincului rezultă din reglarea coordonată de unele proteine implicate în aport, excreție, stocare intracelulară, transport. Aceste proteine sunt transportori membranari, din clase de proteine din care face parte și metalotioneinele. Principala funcție a acestora este de a asigura chelatarea zincului (Omu et al., 2005). Tabelul 3-3 prezintă quantumul bioelementelor studiate în creier, la lotul de control și la loturile experimentale.

Tabel 3-3. Concentrația de microelemente în creier în $\mu\text{g/g}$ țesut umed după administrare de ZnCl_2

Specificație	Zn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Cu $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Fe $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mg $\bar{X} \pm \text{D.S.}$
Grup control C apă potabilă	13,7 \pm 0,5	0,601 \pm 0,024	2,25 \pm 0,08	31,9 \pm 1,6	209 \pm 5
Grup E ₁ ZnCl ₂ RDIx2	12,7 \pm 1,1*	0,593 \pm 0,025	2,99 \pm 0,30*	30,1 \pm 2,5	193 \pm 15*
$\Delta \bar{X}_1$	- 1,0	- 0,008	+ 0,74	- 1,8	- 16
Grup E ₂ ZnCl ₂ RDIx4	12,4 \pm 1,3*	0,583 \pm 0,021*	4,40 \pm 0,54*	31,5 \pm 2,2	197 \pm 14*
$\Delta \bar{X}_2$	- 1,3	- 0,018	+2,15	- 0,4	- 12

- $p < 0,05$

În creier, zincul este alături de fier unul din metalele aflate în concentrație mare. Nivelul maxim de zinc se află în hipocampus și în retină. Zincul joacă un rol important în transmisia axonală și sinaptică și este necesar în metabolismul acizilor nucleici și în fosforilare. Carența de zinc este implicată în afectarea structurii chimice și activității biologice la DNA, RNA și în biosinteza de proteine pe parcursul dezvoltării cerebrale (Pfeiffer și Braverman, 1982). Toxicitatea este rar întâlnită, oricum ingestia a mai mult de 150 mg/zi poate interfera cu metabolismul cuprului și fierului (Alpers, 2002).

Se observă că distribuția cerebrală a biometalelor studiate, la lotul de control este următoarea:

$$\text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn}$$

Se constată că la creșterea dozei de zinc administrate, apar modificări mici ale cantității de zinc din creier, chiar dacă diferențele față de lotul de control sunt semnificative. Fierul se păstrează constant la loturile experimentale în cursul administrărilor față de control. Dacă așa cum am arătat în prezentarea sinoptică a zincului, acesta intră în organism în relație de antagonism cu fierul, micșorându-i absorbția, în cazul creierului, se pare că situația este diferită. Zincul nu se absoarbe la administrare în exces în dozele din prezentul experiment, iar variația fierului este nesemnificativă.

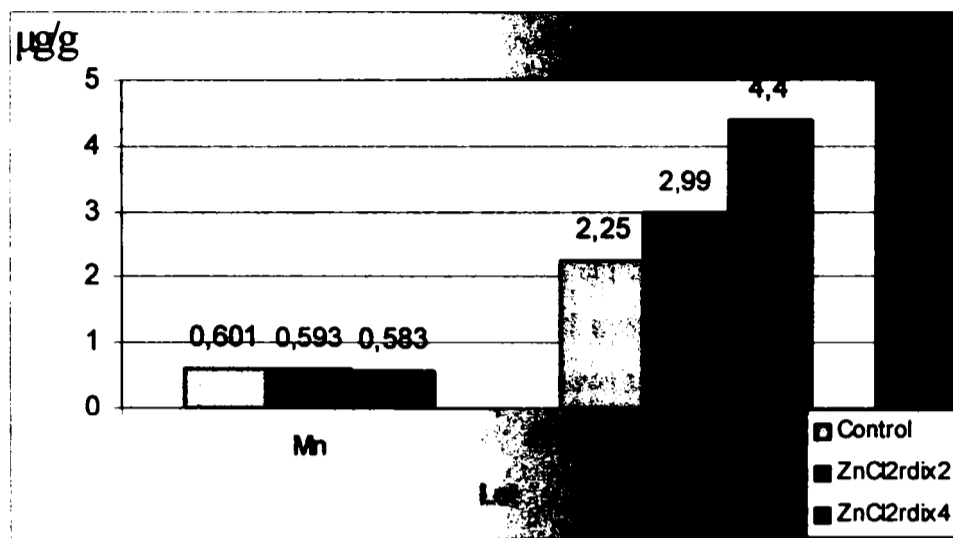


Figura 3-5. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (cerebrale) a cuprului și manganului sub acțiunea zincului

Modificări semnificative se înregistrează în cazul manganului, chiar dacă variațiile de concentrație la grupurile experimentale nu sunt în limite largi față de grupul de control.

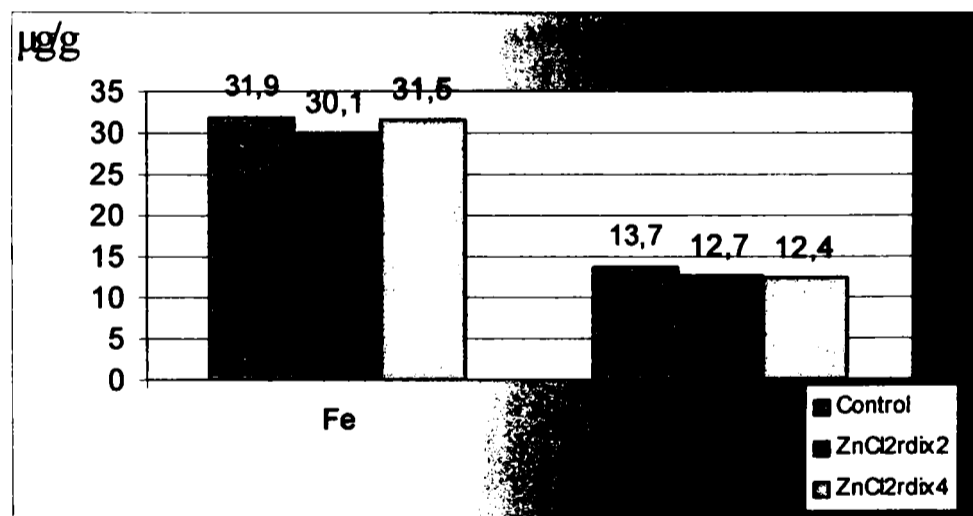


Figura 3-5. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (cerebrale) a fierului și zincului sub acțiunea zincului

Doza de zinc administrată influențează îndeosebi cuprul, situație care se datorează probabil unor modificări la nivelul enzimelor cu conținut de Zn și Cu. Se pare că acțiunea de protecție exercitată de bariera hemato-encefalică este eficientă în cazul prezentului experiment. Putem face comparație cu ficatul în care biometalele analizate variază în limite mult mai largi.

Se știe că cuprul acționează în organism atât ca antioxidant (ca și cofactor al Cu-Zn-SOD), dar și ca prooxidant, când favorizează apariția de radicali liberi (prin aceleași mecanisme ca și Fe) și putând duce în timp la dezvoltarea unor boli degenerative ca Alzheimer și posibil displazie cervicală (Copper, www.umm.edu, 2004).

Semnificativ dar în limite restrânse variază quantumul magneziului în creier, la ambele loturi experimentale față de lotul martor. După unii autori, deficitul de magneziu poate avea un oarecare rol în acumularea unor metale toxice (Al, Mn, Pb, chiar și Ca) în țesuturile nervoase, favorizând apariția unor boli neurodegenerative ca: Alzheimer, Parkinson, scleroza amiotrofică laterală (Miu și Drăgotoiu , 2000). Aceiași autori, specifică că există o relație între zinc și magneziu la nivel cerebral și anume zincul blochează canalele receptorului de glutamat (principal neurotransmițător din creier) și anume NMDA (N-metil-D-aspartatul) în mod voltaj independent, spre deosebire de Mg care produce un blocaj voltaj dependent.

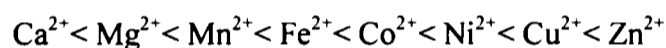
Concluziile asupra modificărilor la nivelul creierului induse prin administrarea în gavaj a clorurii de zinc se pot rezuma la următoarele aspecte: la administrare de zinc în exces, nivelul cerebral de zinc nu se modifică semnificativ, ducând la constatarea eficienței barierei hemato-encefalice față dozele de de zinc administrate în experiment. De asemenea, în condițiile experimentale date, zincul în exces nu produce modificări importante ale nivelului de fier și mangan din creier în timp ce cuprul variază crescător la creșterea dozei de zinc administrate, ceea ce poate duce la intensificarea proceselor de oxidare celulară, știind că cuprul în exces poate acționa ca prooxidant în aceste procese, determinând stres oxidativ.

3.4. EFECTUL MANGANULUI ASUPRA HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE TISULARE

În cadrul acestui subcapitol se vor prezenta datele experimentale obținute prin analizarea organelor prelevate de la șobolani Wistar și anume mușchi, ficat și creier, la grupul de control și la două grupuri experimentale, ca urmare a administrării de $MnCl_2$ în doză dublă (E_1) și respectiv cvadruplă (E_2) față de doza zilnic recomandată, succesiv analizei grupurilor E_1 și E_2 după administrarea de soluții de $ZnCl_2$

3.4.1. EFECTUL ASUPRA MUȘCHILOR

Datorită configurației electronice stabile a Mn^{2+} , acesta este mult folosit în studii, mai ales RMN, efectuate atât pe mangan-enzime cât și pe alte metalo-enzime (cu Zn^{2+} și Ca^{2+}) în care aceste metale divalente au fost înlocuite cu Mn^{2+} (Ghizdavu, 2000). Competiția Mn^{2+} față de Zn^{2+} și Cu^{2+} , este o consecință a poziției acestora în seria Irving-Williams. Astfel s-a reprezentat prima oară descreșterea razei în serie, de la dreapta la stânga, determinată de contracția volumului atomic al metalelor tranziționale, care are ca efect creșterea tăriei legăturii metal-ligand, adică creșterea stabilității complexilor. Această preferință a unor ioni divalenti din prima serie a metalelor tranziționale, pentru un ligand dat, și care determină seria de stabilitate, este următoarea:



Se poate trage concluzia din cele prezentate că în sistemele biologice, complexii Mn^{2+} (mangan-proteine, mangan-enzime, în general sisteme donoare de O), au o tărie mai mare decât complexii cu Cu^{2+} , Zn^{2+} și Fe^{2+} și mai slabă decât a Mg^{2+} . Creșterea numărului de grupe donoare de O în complex, mărește stabilitatea acestor complecși.

Pornind de la aceste observații, s-au analizat în mușchi (*longissimus dorsi*), metalele cu care manganul intră în competiție în sistemele biologice. În tabelul 3-4 este prezentată variația concentrației de Mn, Cu, Zn, Fe și Mg, în urma administrării de $MnCl_2$ în doze reprezentând de două ori (E_1), respectiv de patru ori (E_2) doza zilnic recomandată.

Tabel 3-4. Concentrația de microelemente în mușchi în $\mu\text{g/g}$ țesut umed după administrare de MnCl_2

Specificație	Mn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Cu $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Fe $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Zn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mg $\bar{X} \pm \text{D.S.}$
Grup control C apă potabilă	0,192 \pm 0,007	1,26 \pm 0,17	22,2 \pm 0,8	15,8 \pm 0,6	264 \pm 11
Grup E ₁ MnCl_2 RDIx2	0,196 \pm 0,008	1,25 \pm 0,10	22,3 \pm 1,2	16,0 \pm 1,2	264 \pm 14
$\Delta \bar{X}_1$	+ 0,004	- 0,01	+ 0,1	+ 0,2	0
Grup E ₂ MnCl_2 RDIx4	0,325 \pm 0,081*	1,18 \pm 0,09*	20,7 \pm 2,9	16,6 \pm 1,5	258 \pm 7
$\Delta \bar{X}_2$	+ 0,133	- 0,08	- 1,5	+ 0,8	- 6

- $p < 0,05$

Se observă că distribuția musculară a biometalelor studiate, la lotul de control este următoarea:

$$\text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn}$$

Reprezentarea grafică a variațiilor de concentrație a Mn și Cu în mușchi la loturile experimentale față de lotul de control este prezentată în figura 3-7.

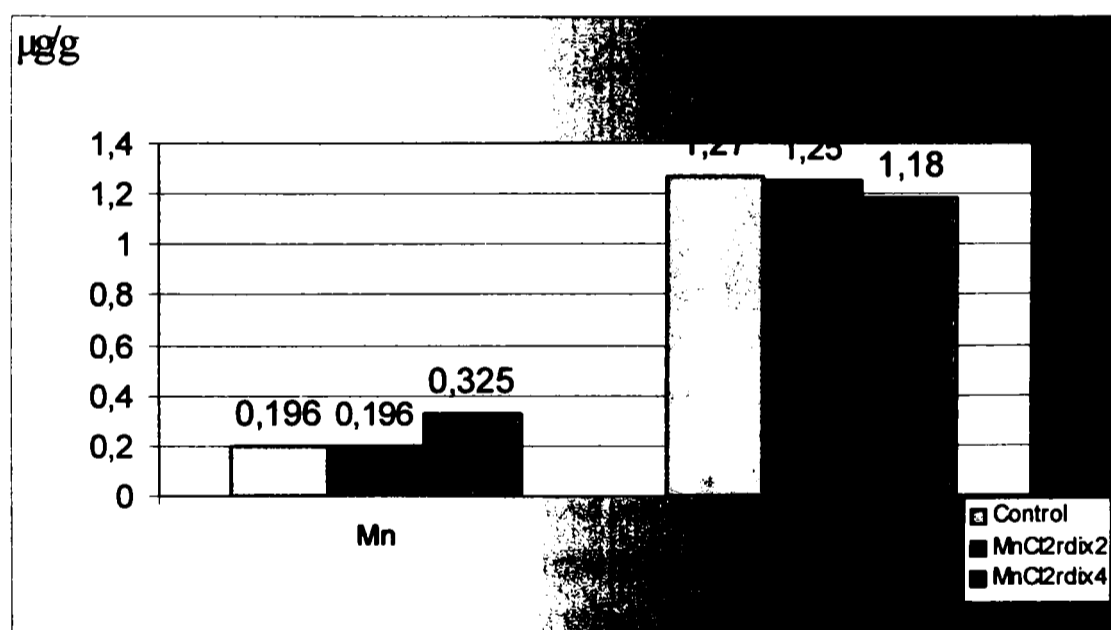


Figura 3-7. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (musculare) a manganului și cuprului sub acțiunea manganului

Se poate constata că în mușchi nu se produce o modificare semnificativă a manganului și cuprului ca urmare a administrării MnCl_2 RDIx2 (figura 3-7). În schimb se poate remarca creșterea concentrației de

Mn în mușchi ca urmare a administrării de Mn în doză de $MnCl_2$ RDIx4, și scăderea slabă dar semnificativă a conținutului de Cu (Ahmadi, 2004a). Administrarea de $MnCl_2$ în ambele doze la grupurile experimentale nu duce la modificări ale concentrației celorlalte metale studiate.

Variația nesemnificativă a concentrației musculare de Mn la cea mai mică doză administrată, poate fi explicată prin faptul că manganul este relativ netoxic atunci când este ingerat, datorită faptului că absorbția a acestuia este redusă. Având în vedere și faptul că administrarea soluțiilor de $MnCl_2$ s-a făcut la interval relativ mare prin gavaj și doza administrată nu a fost mare, putem concluziona că în prezentul experiment, la doza minimă administrată, $MnCl_2$ nu determină modificarea semnificativă a biometalelor studiate.

Privitor la concentrația de Fe în mușchi, aceasta nu se modifică la administrarea de exces de mangan în condițiile prezentului experiment. De asemenea, nici concentrația de zinc nu se modifică.

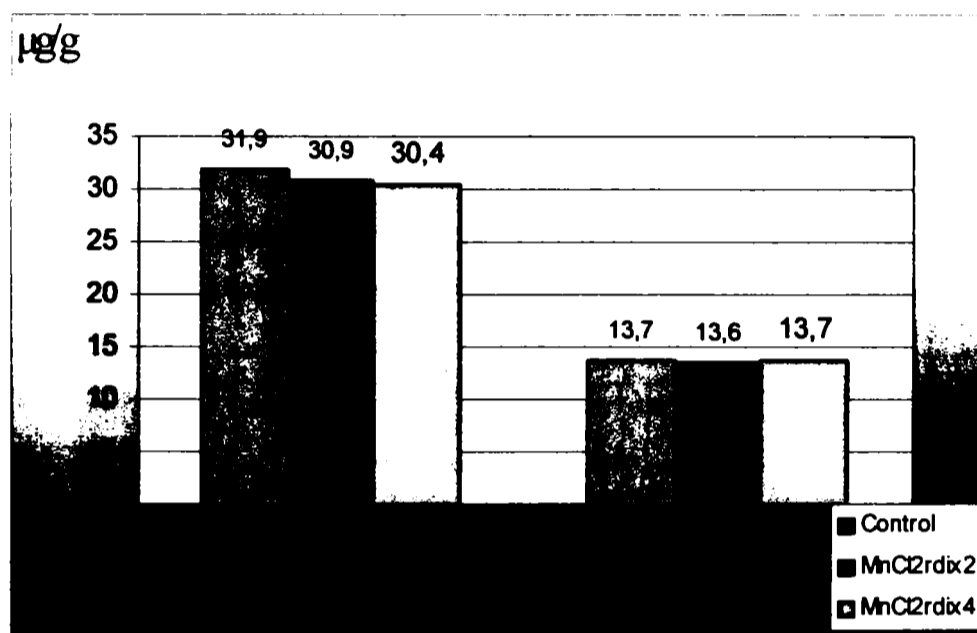


Figura 3-8. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (musculare) a fierului și zincului sub acțiunea manganului

Se poate trage concluzia că în condițiile prezentului protocol experimental, la dozele de mangan administrate nu se produc variații musculare ale concentrației de fier și zinc. La administrare de exces de mangan de RDIx2, concentrația de mangan în mușchi nu variază semnificativ, însă după aport de mangan în doză de RDIx4, manganul crește cu 70% .

3.4.2. EFECTUL ASUPRA FICATULUI

Manganul este un element esențial pentru om și animale și este cunoscut ca având efect atât protector cât și toxic, depinde de concentrație. Este un element tranzițional care poate fi găsit în diverse stări de oxidare, +2;+3;+7, care îi conferă manganului calități atât prooxidante cât și antioxidante. Tranziția manganului divalent la mangan trivalent, conduce la creșterea capacității oxidante a metalului, care determină apariția speciilor reactive ale oxigenului, peroxidării lipidice și afectarea membranei celulare. Expunerea prelungită la Mn^{+2} , duce prin formarea SRO (specii reactive ale oxigenului), la distrugerea sistemului antioxidant al organismului.

În studii experimentale s-a demonstrat faptul că organismul este protejat de efectele toxicității manganului datorită absorbției scăzute și a rapidei eliminări a acestuia de către ficat, prin intermediul secreției biliare. Posibilitatea de acumulare a excesului de mangan este mai mare atunci când manganul este furnizat organismului pe cale parenterală comparativ cu calea orală (Greger, 1998).

Într-un studiu întreprins de Vezer et al., (2005) în care s-au administrat la 12 animale pe parcursul a 10 săptămâni, doze subcronice de $MnCl_2$, respectiv 15 și 59 mg/kg corp., prin gavaj, de 5 ori pe săptămână, la sfârșitul perioadei de administrare, s-a constatat la cei care au primit doza maximă, scăderea masei corporale precum și acumularea de mangan în probele de țesut parenchimal.

Tabel 3-5. Modificarea nivelului de mangan din ficat la administrarea de doze variabile de $MnCl_2$ după (Vezer et al., 2005)

Grup	Concentrația de Mn μg/g țesut umed
CONTROL	2,1748
15 mg/kg	2,5650
59 mg/kg	3,9834

Administrarea orală de $MnCl_2$ la dozele descrise mai sus, a determinat acumulare masivă de Mn în organele interne, în primul rând la doze de expunere cele mai mari, așa cum au indicat și evaluările de Mn din sânge. Odată absorbit, Mn alterează turnoverul Mn existent în țesuturi, probabil printr-un mecanism legat de fluxul calciului. Țesuturile preferate pentru depunere sunt cele bogate în mitocondrii, cum este ficatul și pancreasul.

În experimentul prezent, la administrare de $MnCl_2$ în doze diferite, variația concentrației de biometale în ficat este ilustrată în tabelul 3-6.

Tabel 3-6. Concentrația de microelemente în ficat în $\mu\text{g/g}$ țesut umed după administrare de MnCl_2

Specificație	Mn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Cu $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Fe $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Zn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mg $\bar{X} \pm \text{D.S.}$
Grup control C apă potabilă	1,43±0,25	4,10±0,25	121±9	24,1±1,5	233±10
Grup E ₁ MnCl_2 RDIx2	1,61±0,19*	5,01±0,46*	323±14*	36,0±1,4*	238±9
$\Delta \bar{X}_1$	+ 0,18	+ 0,91	+ 202	+ 11,9	+ 5
Grup E ₂ MnCl_2 RDIx4	2,10±0,09*	4,82±0,50*	123±12	38,3±2,5*	244±14
$\Delta \bar{X}_2$	+ 0,67	+ 0,72	+ 2	+ 14,2	+ 11

- $p < 0,05$

Se observă că distribuția hepatic a biometalelor studiate, la lotul de control este următoarea:

$$\text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn}$$

Se observă modificarea semnificativă a concentrației tisulare de Mn, Cu, Fe și Zn la loturile experimentale comparativ cu lotul martor, însă variațiile Cu, Zn și Fe nu confirmă antagonismul acestor biometale cu Mn, ca la celelalte țesuturi analizate. Pentru găsirea unei explicații plauzibile care să explice comportamentul manganului și a celorlalte biometale studiate se poate porni de la rolul pe care îl joacă Mn în fiziologia celulei, unde Mn^{+2} dezvoltă diverse efecte și anume: în urme, manganul are rol de cofactor în activarea multor enzime. Este component esențial al enzimei superoxid-dismutaza. Complexii dintre bicarbonat, aminoacizi și mangan, dezvoltă activitatea catalazei (Stadtman et al., 1990- citati de Munteanu et al., 2005) și are rol de protecție a celulelor endoteliale de toxicitatea H_2O_2 format în timpul stresului oxidativ. O expunere de lungă durată la o concentrație relativ mare de Mn^{+2} , duce la acumulare intracelulară, în general și în hepatocite în special. Ficatul este organul principal implicat în procesele de metabolizare și detoxificare și se știe că este foarte afectat de poluare în special de metale grele. Stresul oxidativ apare ca rezultat al prezenței xenobioticelor, care perturbă sistemul enzimatic antioxidant, datorită formării SRO (specii reactive ale oxigenului), adică: $^1\text{O}_2$; O_2^- ; OH^\cdot ; RO^\cdot ; ROO^\cdot (Munteanu et al., 2005). Multe studii au examinat mecanismul prin care manganul duce la afectarea țesuturilor bogate în mitocondrii. Mitocondriile reprezintă cel mai important situu al fosforilării oxidative și de producere a ATP, necesar pentru metabolismul celular normal. Acumularea excesivă de mangan în mitocondrii, poate afecta căile biochimice de producere a energiei. S-a constatat experimental faptul că manganul se acumulează în sânge, creier și ficat la pacienții care au primit suplimente de mangan pe cale parenterală (Fell et al., 1996).

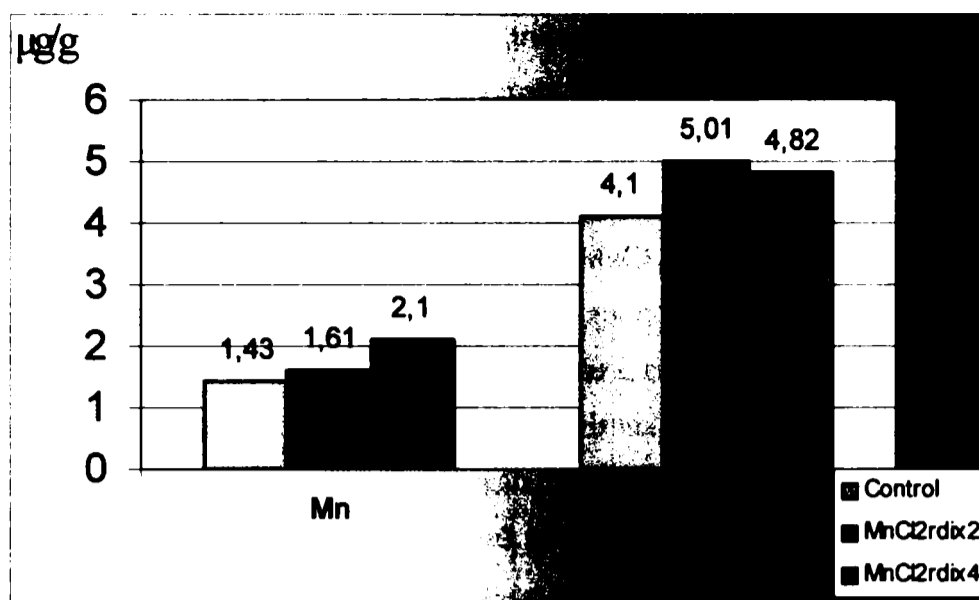


Figura 3-9. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (hepatice) a manganului și cuprului sub acțiunea manganului

Toxicitatea manganului poate fi legată de asemenea de afinitatea acestuia pentru grupele sulfhidril pentru care manganul are afinitate mare, grupe care se află în compoziția multor enzime și coenzime cheie în căile biochimice de producere a energiei. Legarea de mangan poate duce la reducerea activității acestora și astfel, afectarea celulei (acest fapt a fost confirmat în 1993 în NTP Technical Report).

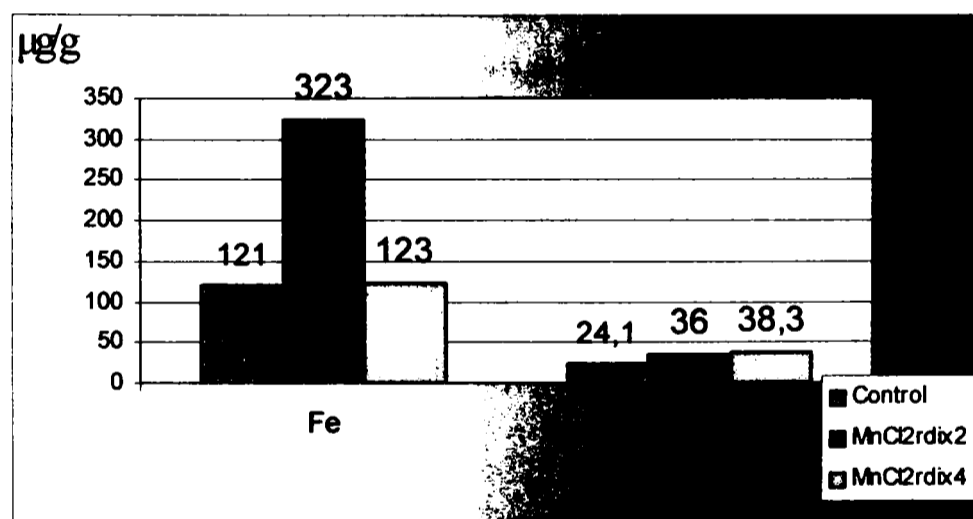


Figura 3-10. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (hepatice) a manganului și cuprului sub acțiunea manganului

S-a arătat în schimb că la concentrații mici, Mn^{+2} protejează celulele de stresul oxidativ (Varani et al., 1991, citat de Munteanu et al., 2005). Acest efect de protecție se pare că provine din faptul că Mn^{+2} poate cataliza dismutarea anionului superoxid și apa oxigenată în condiții fiziologice. Există studii în care s-a dovedit că Mn-SOD poate fi produsă în cursul stresului oxidativ (Denise et. al., 2004, citat de Munteanu et al., 2005).

Observând figura 3-10, se poate vedea că la o doză de $MnCl_2$ RDIx2, nivelul de fier din ficat crește cu aproximativ 200% față de lotul de control și scade la un aport dublu de mangan ($MnCl_2$ RDIx4), la o valoare aproape egală cu cea a lotului de control. În primă fază, creșterea se poate datora unei mobilizări a fierului din depozitele din organism, cunoscut fiind antagonismul dintre fier și mangan (Ghergariu, 1980). Există o strânsă relație între fier și absorbția de mangan prin mucoasa intestinală, din cauza unei presupuse competiții pentru siturile de absorbție între cele două microelemente (EVM/99/22.REVISED AUG2002). Ghergariu (1980), arată că manganul și cuprul în exces reduc absorbția fierului, fapt care poate explica concentrația de fier mult mai mică din ficat la aport mare de mangan.

Sintetizând rezultatele obținute privitoare la modificările induse de administrarea de $MnCl_2$ în ficat putem trage următoarele concluzii parțiale: manganul se acumulează în ficat ca urmare a administrării în exces, cu 12% după aport RDIx2 și 47% după aport RDIx4, față de control. Se constată o variație în același sens cu a manganului la zinc, sugerând un sinergism între cele două elemente metalice în condițiile experimentale date. Zincul crește cu 49% și respectiv 59% după administrarea excesului de mangan. De asemenea, nu se constată modificări ale cuprului din ficat, la administrarea excesului de mangan. Se poate observa că manganul poate acționa diferi față de fier, în funcție de doză (antagonic, sau sinergic). Demobilizarea fierului din depozite și acumularea acestuia în ficat este vizibilă după administrarea dozei RDIx2 de mangan, când acesta crește cu 167% față de control. Fierul în exces în ficat poate determina intensificarea proceselor oxidative. Magneziul nu înregistrează variații semnificative în condițiile experimentale date.

3.4.3. EFECTUL ASUPRA CREIERULUI

Manganul în cantități de micrograme este un microelement esențial. La expunere excesivă, poate determina efecte asupra stării de sănătate, inclusiv afecțiuni neurodegenerative. Expunerea omului la Mn poate cauza apariția sindromului Parkinson, sau dezvoltare psihomotorie defectuoasă.

Administrarea la 12 șobolani Wistar pe parcursul a 10 săptămâni de $MnCl_2$, respectiv 15 și 59 mg/kg m.c., prin gavaj, de 5 ori pe săptămână a dus la sfârșitul perioadei de administrare la constatarea că cei care au primit doza maximă, s-a înregistrat scăderea masei corporale precum și acumularea de mangan în cortex și hipocampus. La sfârșitul perioadei de posttratament, nivelul de Mn a revenit la normal în sânge și creier, dar nu și în alte țesuturi (Vezer et al., 2005).

Tabel 3-7.Modificarea concentrației de Mn în creier, la administrarea de doze variabile de $MnCl_2$
(după Vezer et al., 2005)

Țesut cerebral	Grup	Mn $\mu\text{g/g}$ (țesut umed)
Cortex	CONTROL	0,3134
	15 mg/kg corp	0,3220
	59 mg/kg corp	0,442
Hipocampus	CONTROL	0,4604
	15 mg/kg corp	0,4680
	59 mg/kg corp	0,6813

La oamenii expuși la Mn s-au observat de asemenea alterări ale activității cortexului. Doze mari de Mn în creier, reduce activitatea acetilcolintransferazei. În studii mai vechi, s-a demonstrat că activitate corticală este o bună măsură a intoxicației cu Mn sau alte metale grele. (Pecze et al., 2005).

În experimentul nostru, s-au determinat în creier următoarele valori de concentrație ale biometalelor studiate și care sunt prezentate în tabelul 3-8.

Tabel 3-8. Concentrația de microelemente în creier în $\mu\text{g/g}$ țesut umed după administrare de MnCl_2

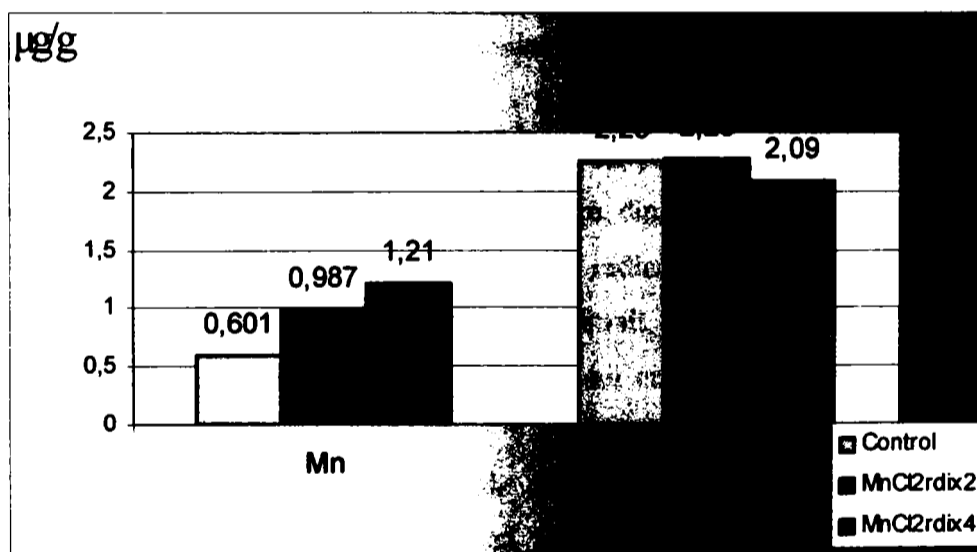
Specificație	Mn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Cu $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Fe $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Zn $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Mg $\bar{X} \pm \text{D.S.}$
Grup control C apă potabilă	0,601 \pm 0,024	2,25 \pm 0,08	31,9 \pm 1,6	13,7 \pm 0,5	209 \pm 5
Grup E ₁ MnCl_2 RDIx2	0,987 \pm 0,212*	2,28 \pm 0,16	30,9 \pm 1,7	13,6 \pm 1,6	197 \pm 17
$\Delta \bar{X}_1$	+ 0,386	+0,03	- 1,0	- 0,1	- 12
Grup E ₂ MnCl_2 RDIx4	1,21 \pm 0,16*	2,09 \pm 0,16*	30,4 \pm 1,7*	13,7 \pm 1,0	205 \pm 11
$\Delta \bar{X}_2$	+ 0,609	- 0,16	- 1,5	0	- 4

* $p < 0,05$

Se observă că distribuția cerebrală a biometalelor studiate, la lotul de control este următoarea:

$$\text{Mg} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn}$$

Din reprezentarea grafică a modificărilor de concentrație în creier, figura 3-11, se poate constata o situație diferită față de mușchi, care confirmă faptul că, chiar și la doze mici, administrate discontinuu, creierul este un organ țintă al acumulării de Mn (Ahmadi, Pup et al., 2004).



Fierul Figura 3-11. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (cerebrale) a manganului și cuprului sub acțiunea manganului

Se observă o evoluție crescătoare, semnificativă, a acumulării de mangan în creier, ca urmare a celor două administrări. Cuprul variază în limite reduse, dar semnificativ la administrarea dozei mai mari de Mn, evidențiindu-se și în acest caz antagonismul Mn-Cu.

În plus, scade slab, dar semnificativ concentrația de fier în creier, în condițiile în care cuantumul de zinc rămâne constant, după cum reiese din reprezentarea grafică prezentată în figura 3-11.

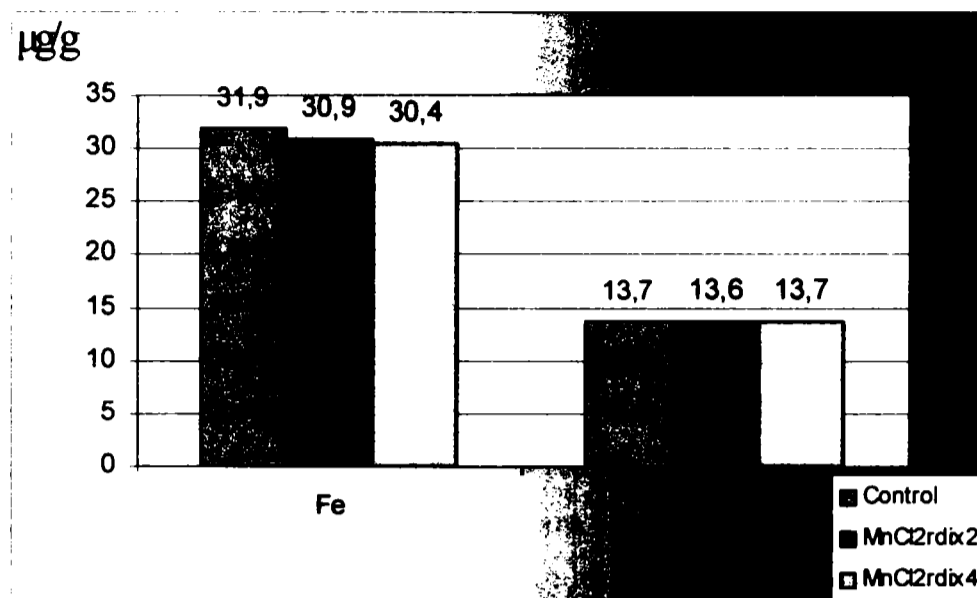


Figura 3-11. Reprezentarea diagramatică (prin histograme) a modificărilor homeostaziei biochimice tisulare (cerebrale) a fierului și zincului sub acțiunea manganului

Într-un experiment efectuat pe șobolani de Sukakidze și colaboratorii săi, s-au studiat efectele administrării de MnCl₂ tetrahidrat, în doze de 10, 20, 50 mg/kg/zi, timp de 30 zile, constatându-se afectarea procesului de învățare și memorare la șobolani adulți. În acest experiment pe termen scurt se arată că afectarea procesului de învățare este dependent de doză și tot doza determină ireversibilitatea acestor fenomene. (Sukakidze et al., 2005).

Trebuie subliniat faptul că, în situația ecologică prezentă, probabilitatea ca populația să fie constant intoxicată cu doze mici de mangan este din ce în ce mai mare, din cauza poluării aerului.

Ionul de Mn²⁺ este promotor potent al oxidării și formării radicalilor liberi. Aceștia catalizează reacțiile Fenton și Haber- Weiss generând formarea de radicali hidroxil, inițierea reacțiilor în lanț de peroxidare lipidică și producția de radicali peroxid. În caz de intoxicare cu mangan, toate aceste fenomene duc la degenerarea și moarte celulară.

Producția celulară de SRO (specii reactive ale oxigenului) poate apare din surse enzimatică și neenzimatică. S-a determinat în studiul anterior că Mn²⁺ se acumulează în matricea mitocondrială, probabil prin generarea unei cantități mari de apă oxigenată. Manganul penetrează celula, trece în mitocondrii unde afectează transportul electronilor în interiorul membranei mitocondriale, afectând fosforilarea oxidativă.

S-a arătat de asemenea că manganul din creierul șobolanilor poate interacționa cu alți ioni esențiali și să cauzeze stres oxidativ în zonele țintă ale creierului (Wei Zeng et al., 2000, http://www.healthsciences.purdue.edu/faculty/zheng/Zh00_ToxSc54p295to301.pdf).

În comparație cu alte organe, sistemul nervos este cel mai vulnerabil la stresul oxidativ (Hall, 1989, Evans, 1993, citați de Dejica, 2000). Aceasta se explică prin unele particularități biochimice, fiziologice și anatomice ale sistemului nervos și anume:

- activitate metabolică oxidativă intensă;
- concentrație ridicată de substanțe rapid oxidabile (acizi grași polinesaturați care fac parte din structura lipidică a membranei neuronilor);
- capacitate antioxidantă redusă;
- generare endogenă de radicali liberi prin reacții neurochimice specifice (oxidarea dopaminei);
- suprafață mare de membrane celulare în raport cu volumul citoplasmatic;
- vulnerabilitate ridicată la distrucție rezultată din structura anatomică a rețelei neuronale.

De asemenea expunerea directă a sistemului nervos la contactul cu hemoglobina favorizează generarea radicalilor liberi. Pe lângă faptul că hemoglobina este o sursă importantă de fier, metal implicat în reacțiile chimice generatoare de SRO (specii reactive ale oxigenului), hemoglobina se autooxidează, contribuind la supraproducția de anioni superoxid (Dejica, 2000).

Ținând cont de cele expuse mai sus și având în vedere modificarea în experimentul nostru a Mn, Cu, Fe, care intervin în procesele de oxidare celulară, putem presupune că aceste modificări se datorează de fapt modificărilor sistemelor enzimatică răspunzătoare de protecția antioxidantă a organismului (catalaza, superoxid-dismutaza).

Sintetizând observațiile produse de administrarea de $MnCl_2$ în creier putem concluziona că manganul se acumulează în creier la administrare în exces față de doza zilnic recomandată cu 64% după doza $RD_{I \times 2}$ și cu 100% după $RD_{I \times 4}$, față de control și faptul că cuprul, fierul, zincul și magneziul nu înregistrează modificări importante în creier la administrare de mangan în exces chiar și în cazul unor diferențe semnificative față de control la loturile experimentale

3.5 ANALIZA COMPARATIVĂ A EFECTELOR PRODUSE DE ADMINISTRAREA ÎN EXCES DE MANGAN ȘI DE ZINC, ÎN DIFERITE ORGANE

În acest subcapitol se va analiza efectul pe care administrarea de $ZnCl_2$ și de $MnCl_2$ în doze duble respectiv cvadruple față de doza zilnic recomandată a avut-o asupra homeostaziei unor microelemente metalice în organele studiate, și anume mușchi, ficat și creier de șobolan Wistar.

Atât zincul cât și manganul în exces înregistrează creșteri de concentrație în țesuturile analizate la grupurile experimentale comparativ cu grupul martor. Spre deosebire de zinc, manganul în exces nu produce în mușchi și creier modificări ale cuprului, zincului și manganului. Modificări semnificative se înregistrează la concentrațiile de zinc și mangan din ficat ca urmare a excesului de mangan administrat. Efectul sinergic observat între mangan și zinc în ficat duce la presupunerea că zincul activează activitatea Mn-Zn-SOD, care este cel mai bine reprezentată în ficat, influențând astfel procesele de oxidare celulară ce au loc în ficat. O altă dovadă că putem presupune apariția unui stres oxidativ în ficat la administrare de exces de Mn, este faptul că la un moment dat se produce o creștere foarte mare a fierului care intensifică procesele de oxidare celulară, prin reacțiile de oxido-reducere pe care le catalizează.

Administrarea de zinc în exces, produce mai multe efecte asupra microelementelor metalice studiate în țesuturile analizate decât excesul de mangan (tabelele 3-9; 3-10; 3-11). Antagonismul dintre zinc și cupru precum și cel dintre zinc și mangan, care a fost dovedit de multe studii experimentale de diverși autori, este vizibil în mușchi și ficat. Sinergismul dintre Cu și Zn în creier duce la ipoteza unei posibile activări a unor enzime Zn-Cu dependente (SOD), cel mai bine reprezentate în creier. Lipsa efectului zincului asupra Mn și Fe din creier se poate observa din tabelul 3-11 și putem face observația că cel puțin în acest experiment, creierul este organul cel mai puțin afectat de administrarea de zinc, reieșind eficacitatea barierei sânge-creier, cel puțin la dozele administrate în condițiile date. Modificarea cantumului de Mn din creier, la aceleași doze administrate ($RD1 \times 2$, $RD1 \times 4$) duce la presupunerea că țesutul cerebral este mult mai predispus la acumulare de Mn decât de Zn (tabelul 3-11).

În orice caz, exceptând creșterea în proporție mai mare a fierului și în special la administrare de Mn, nu putem spune că homeostazia biomicroelementelor studiate a fost puternic disturbată de dozele de Zn și Mn administrate, chiar dacă modificările la grupurile experimentale față de cel de control au fost semnificative.

Experimentul mai pune în evidență disponibilitatea mai mare a creierului de a acumula mangan decât zinc, la aceeași doză administrată, avertizând asupra neurotoxicității bine cunoscute a manganului.

4. CONTRIBUȚII LA INVESTIGAREA ACȚIUNII ALUMINIULUI ASUPRA HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE LA LEPORIDE

4.1. MODELUL EXPERIMENTAL PENTRU INVESTIGAȚII BIOCHIMICE CU ASOCIERI DE FACTORI

În cercetările experimentale pe animale de laborator interesând domeniile biochimiei, nutriției, farmacologiei, toxicologiei, etc., se folosesc mai multe căi de administrare a compușilor chimici. La expunerea prin inhalare de pulberi conținând aluminiu unde s-au observat efecte asupra tractului respirator și efecte asupra sistemului nervos central la doze mari de expunere. Administrarea prin injecție de soluții de aluminiu se poate realiza intraperitoneal, intracerebral, intracisternal, intravenos. În aceste cazuri s-au putut observa cel mai bine efectele în funcție de doza administrată. În cazul administrării orale în concentrații ridicate în raport cu quantumul existent în mediu, în forme cu biodisponibilitate, ridicată s-au observat modificări ale activității neuromotorii.

Cercetarea experimentală s-a efectuat pe patru grupe de animale aparținând speciei *Oryctolagus cuniculus* (iepurele de casă): un grup de control și trei grupuri experimentale E_I, E_{II} și E_{III}, fiecare grup fiind alcătuit din opt animale. Cu titlu informativ se menționează că experimentele asupra iepurilor care au și denumirea generică de “leporide” (denumire taxonomică *Lepus europaeus*) pot fi considerate ca și cercetări pe animale de laborator dar în același timp și cercetări pe animale domestice, destinate producției de carne. Animalele utilizate în experiment provin dintr-un grup de dublii hibridi tripopulaționali, obținuți prin încrucișarea dintre două linii din rasa Chinchilla mare și Alb Neozeelandez, ambele rase fiind rase de iepuri de casă, pentru consum de carne. Greutatea medie a animalelor a fost 700-800 g.

La începutul experimentului animalele au fost cântărite pentru a putea avea un control și din punct de vedere al statusului ponderal pe parcursul experimentului și pentru a putea observa eventualele modificări de greutate care pot fi datorate substanțelor administrate pe parcursul experimentului. În cazul datelor de morfologie în mod curent numite "date somatometrice" se pot face evaluări asupra taliei, înălțimii, a unor circumferințe, etc.- acestea reprezentând datele somatometrice "staturale". Alături de acestea se pot face investigații privind datele somatometrice ponderale urmărind variația în timp a greutății corporale. Experimentul s-a desfășurat pe parcursul a 10 zile și anume zilele 1-5 pregătire și zilele 6-10 experimentul propriu-zis.

În cercetările pe modele experimentale animale, în funcție de obiectivele urmărite, se iau în studiu date de morfologie și biochimice. În cazul studiat de noi, observând evoluția animalelor - în faza de prospectare a modelului experimental - s-a procedat la instituirea unor etape experimentale cu specific de biologie în care s-au efectuat determinări somatometrice ponderale în zilele 1- 5.

Animalele au fost cântărite înainte de fiecare injecție, precum și înainte de sacrificare.

S-a ales modul de administrare subcutan, în regiunea cervicală, datorită relativei ușurințe în administrare, a posibilității de a administra volume de soluții relativ mari (aproximativ 2 ml) și pentru considerentul că zona dintre piele și mușchi este relativ bine vascularizată și absorbția în sânge a soluțiilor administrate este rapidă.

La cele trei grupuri experimentale s-au administrat subcutan următoarele soluții :

- grup control C- 2 ml ser fiziologic
- grup experimental E_I - AlCl₃ în concentrație de 50 mg/kg corp conținuți în 2 ml soluție ;
- grup experimental E_{II} - AlCl₃ în concentrație de 50 mg/kg corp și 2% m/v citrat/kg corp din acid citric, conținuți în 2 ml soluție ;
- grup experimental E_{III}- AlCl₃ în concentrație de 50 mg/kg corp și 2 mg fluorură/ kg corp de NaF, conținuți în 2 ml soluție .

Injecțiile au fost administrate în ziua întâi și a treia a experimentului. Sacrificarea animalelor s-a făcut în ziua a cincea, după o prealabilă anestezie cu tampon de vată îmbibat în cloroform.

După anestezie, animalele au fost decapitate și s-au recoltat probe de sânge în recipiente de plastic, pentru analizele de sânge total și în vacutainere heparinizate pentru analizele de plasmă. După disecția animalelor, s-au prelevat probe de organe. Recoltarea organelor s-a făcut cu instrumente sterile și cu lame de bisturiu bine ascuțite. Probele recoltate au fost puse imediat în sticle cu dop (în prealabil spălate și uscate) care au fost etichetate. Pe etichete s-au înscris date referitoare la numărul animalului de la care s-a recoltat proba, lotul, data recoltării și greutatea probei recoltate. Sticlulele cu organe s-au depozitat în congelator la temperaturi de -18°C, până când acestea au fost mineralizate, în vederea determinării metalelor cu AAS (spectrofotometru cu absorbție atomică). Aparatul AAS a fost AAnalyst 800, cu efect Zeeman de corecție a zgomotului de fond și încălzire transversală a tubului de grafit produs de firma

Perkin-Elmer. Cuptorul de mineralizare cu microunde, cu care s-a făcut aducerea în soluție a țesuturilor a fost de tipul produs de firma Millestone iar programul de mineralizare conform cărții tehnice a aparatului se pretează la probe cu conținut mare de substanțe organice și grăsimi.

După disecție, s-au prelevat următoarele organe : rinichi, creier, splină, ficat, os, mușchi, pulmon, cord.

Metalele determinate în soluțiile de țesut mineralizat au fost: Ca, Mg, Na, K, Cu, Mn, Fe, Zn, Al. Rezultatele obținute s-au exprimat în $\mu\text{g/L}$ și respectiv în $\mu\text{g/g}$ după raportarea concentrației în soluție a metalului la masa de țesut umed analizat.

4.2. INVESTIGAREA ANALITICĂ A METABOLIȚILOR

Cercetările întreprinse în cadrul experimentelor efectuate au urmărit determinări ale unor metaboliți sanguini de natură glucidică, lipidică, protidică și a unor bioelectroliți. De asemenea au fost efectuate determinări asupra metalelor din diverse organe prelevate prin necropsie.

4.2.1. METODE DE DOZARE A UNOR METABOLIȚI SANGUINI

Investigațiile asupra metaboliților sanguini au urmărit determinarea la animalele din lotul de control și din loturile experimentale a unor parametri care pot oferi informații asupra statusului homeostaziei biochimice. În acest context s-au efectuat determinări asupra unor metaboliți lipidici : triacilgliceroli (TAG), colesterol (COL), lipide cu densitate crescută și colesterolul din acestea (HDL-Col), lipide cu densitate scăzută și colesterolul din acestea (LDL-Col), acestea din urmă, determinându-se prin calcul (formula Friedewalds). De asemenea au fost determinate unele proteine sanguine : proteinele totale, albuminele și unele enzime, i.e. : alaninaminotransferaza (ALAT), aspartataminotransferaza (ASAT), fosfataza alcalină. Dintre metaboliții glucidici s-a determinat glucoza. Totodată au fost determinate bioelemente metalice: Na, K, Mg, Ca, Fe. Alături de acesta din urmă s-a determinat și capacitatea de legare a fierului. Dintre bioelemente s-a determinat fosforul. În continuare se prezintă date generale privind specificul metodelor analitice.

Analiza sângelui a vizat determinarea unor parametri biochimici care să permită evaluarea homeostaziei biochimice la lotul de control, instalarea dishomeostaziei la loturile experimentale ca urmare a administrărilor de clorură de aluminiu. De asemenea s-au urmărit corelațiile între parametri sanguini și statusul micrometalelor la organele țintă pentru acumularea de aluminiu.

În scopul determinărilor analitice a unor metaboliți sanguini s-a utilizat un analizor automat Hitachi-La Roche. Reactivii folosiți în determinări, au fost livrați în kituri de către firma Roche.

Trigliceridele - s-au determinat cu metoda Wahlefeld, folosind o lipoproteinlipază din microorganisme pentru o rapidă și completă hidroliză a trigliceridelor în triglicerol, urmată de oxidarea la dihidroxiacetonfosfat și apă oxigenată, care a reacționat cu 4- aminofenazonă și 4- clorofenol sub acțiunea catalitică a peroxidazei.

Colesterolul - s-a dozat prin determinarea Δ^4 - colescenona după transformarea enzimatică a esterului de colesterol de către colescesterază, conversia colesterolului în colescesteroxidază și măsurarea prin metoda Trinder a hidrogenului format.

HDL - colesterol- împreună cu VLDL sunt precipitate din ser cu un amestec de acid fosfotungstic și soluție de clorură de magneziu și îndepărtate prin centrifugare. Concentrația HDL din supernatant poate fi măsurată.

LDL - colesterolul poate fi calculat cu formula Friedewalds :

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - \text{Trigliceride}/5 - \text{HDL-colesterol}$$

Fierul s-a determinat cu metoda FerroZine fără deproteinizare.

Capacitatea de legare a fierului este evaluată după saturarea transferinei cu o soluție conținând fier și adsorbția excesului de fier pe carbonat de magneziu. După centrifugare, fierul poate fi măsurat în supernatant.

Albuminele s-au dozat plecând de la faptul că la pH 4,1 albumina are un caracter cationic suficient de puternic pentru a se lega de verde de bromcrezol, cu care formează un complex albastru-verde. Intensitatea culorii este direct proporțională cu concentrația albuminei care se stabilește prin analiză fotometrică.

ALAT (GPT) catalizează transformarea L-alanin și 2- oxoglutaratului la pH optim. Piruvatul eliberat în reacție este transformat de lactatdehidrogenază în prezența coenzimei NADH/NAD în L- lactat, în timp ce procesul de oxidoreducere a sistemului NADH/NAD indică o scădere prin măsurare la 340 nm. Modificarea absorbției este corelată cu activitatea serică a ALAT.

ASAT (GOT) catalizează reacția dintre L-aspartat și Oxoglutarat. Cu ajutorul coenzimei NADH/NAD, malatdehidrogenaza conținută de reactiv catalizează transformarea oxalacetatului eliberat în prima reacție. Procesele de oxidoreducere a NADH/NAD este indicat de o descreștere în valoare a absorbției la 340 nm. Lactatdehidrogenaza din mediu, contracarează efectul perturbator al piruvatului conținut în probă.

Fosfataza alcalină se determină pornind de la faptul că în prezență de ioni de Mg și Zn, p-nitrofenil fosfatul este hidrolizat de fosfatază, cu formare de fosfat și p-nitrofenol. P-nitrofenolul eliberat este proporțional cu activitatea fosfatazei alcaline și se măsoară fotometric.

Glucoza se dozează cu un test colorimetric enzimatic. Sub influența glucozoxidazei, glucoza este oxidată de oxigenul din aer la gluconolactonă și apă oxigenată. Apa oxigenată formată reacționează cu amino-4-fenazona și fenolul cu formarea unui derivat colorat în roșu. Intensitatea culorii este proporțională cu concentrația glucozei și se măsoară fotometric.

Proteinele totale s-au determinat colorimetric, bazându-se pe reacția dintre Cu^{2+} și proteine în mediu alcalin, cu formarea de colorație purpurie (reacția biuretului). Intensitatea culorii este proporțională cu concentrația proteinei și se evaluează fotometric.

Fosforul se determină colorimetric, după reacția fosforului cu molidat de amoniu, când se formează o colorație albastră, intensitatea acesteia fiind proporțională cu concentrația de fosfor din ser.

Magneziul în soluție alcalină, formează un complex de culoare roșie cu albastru de xilidil, o sare de diazoniu. Concentrația de magneziu este măsurată fotometric după descreșterea absorbției dată de albastrul de xilidil consumat în reacție.

Calciul s-a determinat colorimetric, prin măsurarea intensității culorii roșii a complexului de o-crezolftalein de calciu format după complexarea calciului cu o-crezolftaleina.

Sodiul, potasiul și clorura s-au determinat cu ajutorul unui electrod ion-selectiv.

Clorul s-a determinat de asemenea cu ajutorul unui electrod ion-selectiv specific.

4.2.2. METODE DE DOZARE A METALELOR DIN ORGANE

Prelevarea de organe după disecție s-a făcut cu bisturiu și pense din material inoxidabil, inert, pentru a evita contaminarea cu urme de metale a probelor. Organele proaspăt prelevate s-au depozitat în flacoane de plastic inscripționate și păstrate în congelator. În vederea analizării acestora, au fost decongelate, îndepărtat excesul de sânge cu hârtie de filtru și cântărite. Cântărirea s-a făcut pe o balanță analitică de tip Mettler-Toledo cu o precizie de 0,1 mg, rezultatul cântării exprimat cu trei zecimale. În general, s-au luat în lucru cantități de 0,500 g de țesut umed.

După cântărirea direct în flacon de teflon în acestea s-au adăugat 5 ml apă bidistilată, 10 ml acid azotic conc. 65% și 1 ml perhidrol 30%, pentru a asigura oxidarea completă a substanțelor organice din țesut, care ar fi interferat determinarea metalelor în absorbție atomică. Pentru prepararea soluțiilor de reactivi și probe, s-a folosit apă distilată deionizată și dublu distilată.

Mineralizarea probelor de țesut s-a făcut prin metoda umedă în cuptor cu microunde de tip Milestone, folosind un program de mineralizare specific probelor cu conținut mare de substanțe organice și grăsimi.

Fierul, calciul, magneziul, și zincul s-au determinat din soluții cu ajutorul unui aparat AAS de tip Analyst 800 (Perkin Elmer) folosind tehnica atomizării în flacără (aer-acetilenă) și absorbție atomică.

Cuprul, aluminiul și manganul prin atomizare electrotermală în cuptor de grafit, cu același instrument.

Sodiul și potasiul s-au determinat prin atomizare în flacără (aer-acetilenă), în emisie.

4.2.3. INTERPRETAREA STATISTICĂ A DATELOR

Pentru calibrare s-au folosit soluții etalon de bază de 1000 mg/L produse de firma Merck, care au fost diluate corespunzător cu apă bidistilată pentru fiecare metal în parte, astfel încât să se obțină o dreaptă etalon (domeniul liniar al curbei). Controlul calibrării s-a făcut prin recitirea standardelor ca probe și „metoda etalonului extern”, folosind o soluție multielement (Merck), verificând precizia și acuratețea determinărilor. Incertitudinea datorată curbei de calibrare s-a transferat astfel în valoarea rezultatului probei.

Evaluarea statistică a rezultatelor pe grupe experimentale s-a făcut în scopul determinării mediei aritmetice a concentrațiilor de metal a seriei aparținând unui anumit grup (grup de control și experimentale), obținute după analiza țesuturilor, precum și a intervalului de încredere atașat mediei (95%) cu un program de statistică descriptivă din EXCELL. În general, numărul de cifre semnificative al mediei a fost stabilit conform regulilor statistice, astfel încât ultimele două cifre semnificative din valoarea mediei să aibă același ordin de mărime cu al primelor două cifre a intervalului de încredere. Deoarece s-a observat că intervalul de încredere de 95% este apropiat de abaterea standard medie a valorilor, în tabele s-a reprezentat rezultatul ca medie aritmetică \pm deviație standard ($\bar{X} \pm D.S.$). Eliminarea valorilor aberante din șirurile individuale de valori s-a făcut cu testul Q. Pentru a compara variațiile de concentrație pe grupuri față de grupul de control respectiv, s-a aplicat testul t, asociindu-se fiecărei valori medii de la grupurile experimentale valoarea probabilității p. Valorile medii care s-au deosebit semnificativ față de grupul martor ($p < 0,05$), au fost evidențiate în tabele prin asocierea unui asterix. Analiza corelațiilor între sânge și organe sau a organelor între ele, s-a făcut cu un program statistic de comparare în EXCELL.

4.3. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE SANGUINE ȘI TISULARE

Problema homeostaziei biochimice interesează biochimia fiziologică dar și nutriția, prin aportul de nutrienți care în procesele metabolice conduc la metaboliți.

Specificul homeostaziei mediului intern la om este mai evident exemplificată prin compoziția sa minerală, dovadă extrem de sugestivă pentru ipoteza că viața își are originea în mare. Analize comparative între apa de mare, lichidul extracelular al organismului uman și umorile organismului diverșilor pești și mamifere terestre au arătat asemănări frapante în rapoartele diverșilor ioni anorganici. Posibilitatea participării fiecărui ion anorganic în metabolismul uman depinde, într-o anumită măsură de solubilitatea sa. Poziția predominant intra- sau extracelulară a ionilor este determinată, într-o anumită măsură, de mobilitatea lor diferită și de efectul favorizant pe care îl are încărcătura electrică a membranelor celulare asupra acestei mobilități (Duncan, 1966).

Reiterând problema conceptului de homeostazie, despre care s-a discutat în capitolul introductiv, acesta poate fi ilustrat pentru o varietate largă de variabile. Conceptul de „zonă de confort fiziologic” a fost oferit ca alternativă. Variabilele fiziologice pot lua orice valoare în limitele zonei de confort fiziologic, fără a cauza reacții compensatorii din partea organismului. Când o variabilă este perturbată până la extrem și depășește limita zonei de confort, intră în joc mecanisme compensatorii și variabila este adusă înapoi la starea inițială. Când însă variabilele fiziologice sunt puternic perturbate, de exemplu în condiții de stres, un efort mult mai mare este necesar pentru corectarea schimbării. Organismul implică mecanisme de protecție compensatorii mai puternice pentru a reface stabilitatea mediului intern și pentru a evita dezvoltarea unei stări patofiziologice. Termenul de homeostazie este folosit pentru a descrie o formă de reglare fiziologică care permite alternări mari în felul în care organismele își exploatează resursele între stări fiziologice distincte (Currie, 1988).

Conceptul de homeostazie a fost introdus în vederea unui control al sistemelor care operează pentru păstrarea echilibrului mediului intern al organismului. Trei sisteme fiziologice cheie - cardiovascular, respirator și renal - joacă un rol dominant în păstrarea mediului intern, față de influențele externe. Toate sistemele sunt în principal controlate de sistemul nervos, cu ajutorul mecanismelor endocrine. Circulația sanguină este cea care realizează legătura dintre sistemele anatomo-fiziologice amintite.

4.3.1. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA SÂNGELUI

Sângele este mediul lichid folosit la transportul prin organism a oxigenului, dioxidului de carbon, a nutrienților asimilați și altor produși ai metabolismului. Ca și alte țesuturi, sângele este constituit din celule (hematii, leucocite, trombocite) și un material intracelular, diferit de alte țesuturi. Celulele sângelui se deplasează în sistemul cardiovascular. Lichidul interstițial în sânge este plasma, iar la țesuturile solide fluidul interstițial similar plasmei din sânge este format de continua scurgere a unui filtrat de plasmă care tranzitează prin capilare. Acest fluid este colectat continuu de sistemul limfatic și readus în circulația sanguină. În acest proces respectivul lichid devine limfă.

4.3.1.1. BIOELEMENTE METALICE

În tabelul 4-1 sunt prezentate valorile normale ale unor electroliți sanguini la iepuri, conform BSAVA - British Small Animal Veterinary Association (2003).

Tabel 4-1. Valorile normale ale unor electroliți sanguini la iepuri, după BSAVA

Specificare	Na mmol/L	K mmol/L	PO ₄ ⁻ mmol/L	Ca mmol/L	Mg mmol/L	Fe mmol/L	Cl ⁻ mmol/L
Valori mmol/L	134-150	3,3-5,7	1,0-2,2	2,2-5,6	0,8-1,2	33-40	92-120
Valori mg/dL	-	-	-	8,8-22,4	1,9-2,9	-	-

În tabelul 4-2 se prezintă valorile normale ale unor electroliți sanguini la iepuri după Falcă (2004).

Tabel 4-2. Valorile unor electroliți sanguini la iepuri, după Falcă, 2004

Specificare	Na mg %	K mg %	Ca mg %	Mg mg %	Fe mg %	Cl ⁻ mg %
Valori	280	211	7	6	43	290

În tabelul 4-3 este prezentată variația concentrației de metale alcaline și alcalino-pământose în ser la lotul martor și cele trei loturi experimentale.

Se poate observa o variație nesemnificativă a sodiului ($p>0.05$) în loturile experimentale față de lotul de control. Studiul statistic al corelațiilor nu a evidențiat o posibilitate de a lega această variație slabă a sodiului de nici o modificare a vreunui alt parametru sanguin.

Se constată în schimb variații semnificative ale potasiului în loturile experimentale E_I și E_{II} , cu care sodiul are relații cunoscute de antagonism, mai ales la nivel celular.

Tabel 4-3. Concentrația electroliților din ser sanguin la iepuri, din grupele de animale cercetate

Specificare	Metale alcaline (mg/dL)		Metale alcalino-pământoase (mg/dL)		
	Na $\bar{X} \pm D.S.$	K $\bar{X} \pm D.S.$	Ca seric $\bar{X} \pm D.S.$	Ca ionic $\bar{X} \pm D.S.$	Mg seric $\bar{X} \pm D.S.$
Grup C	135,92±15.50	5.68±0.85	13.06±0.61	6.54±0.33	3.52±0.11
Grup E_I	144.12±2.55	8.04±0.58*	15.60±1.58*	7.6±0.72*	4.59±0.87*
$\Delta \bar{X}$	+8.20	+2.36	+2.54	+1.06	+1.07
Grup E_{II}	137.92±4.74	6.91±0.23*	12.45±0.70	6.64±0.36	3.46±0.19
$\Delta \bar{X}$	+2.00	+1.23	-0.61	+0.10	-0.06
Grup E_{III}	140.42±2.48	5.94±0.06	13.93±1.54	7.62±0.70*	3.56±0.06
$\Delta \bar{X}$	+4.50	+0.26	+0.87	+1.08	+0.04

* $p<0.05$

Administrarea de clorură de aluminiu are un efect de creștere a concentrației calciului seric și ionic în sânge cu același efect asupra magneziului seric. Prezența citratului alături de clorura de aluminiu, menține contrar așteptărilor, valorile Ca seric, Ca ionic, Mg seric aproximativ la aceleași valori cu cele din lotul de control, același rezultat obținându-se și la administrarea clorurii de aluminiu cu fluorură de sodiu, în lotul E_{III} . Din analiza statistică, în toate loturile experimentale există corelație pozitivă între Ca seric și Ca ionic (r pozitiv), exceptând lotul E_I unde valorile celor doi parametri nu se corelează. Dozarea sodiului și potasiului este utilă în cazurile în care se urmărește reanimarea rapidă a unui bolnav. Variațiile sanguine ale potasiului se datorează unei lipse de aport dar și unei stări patologice și anume boli cu hipocalcemie sau boli cu hipercalcemie, când hipercalcemia arată de fapt o pierdere de potasiu (Tănăsescu și Costescu 1966).

Figura 4-1 prezintă variația electroliților serici sub formă de histogramă. Se poate observa ordinul de mărime al concentrației acestora, sodiul aflându-se în concentrația cea mai mare în ser în raport cu ceilalți ioni determinați.

Practic, ionii Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Na^+ ; K^+ , sunt interdependenți la nivel celular. Hunger (2005) prezintă legătura dintre cei patru ioni, arătând că Mg^{2+} are o rază ionică mică, ceea ce îi permite un acces mai facil în interiorul celulei. Poate concura din acest motiv la situurile de legare a calciului, care are o rază ionică

mai mare, ceea ce poate duce la descreșterea activității Ca ATP-azelor. La concentrații mari de magneziu, Ca ATP-aza poate fi blocată aproape complet și este activat schimbul celular Na/Ca și astfel mai mult sodiu în Na/K ATP-ază. Raportul Na/K este condiționat de concentrația de K din ser. La deficiență de ATP, un exces de sodiu permite creșterea calciului seric, ceea ce duce la hipertensiune.

Sinteza de proteine este de asemenea influențată de magneziu. Magneziul și calciul sunt antagoniști; concentrațiile mari de magneziu și scăzute de calciu, inhibă sinteza de proteine și invers, concentrații scăzute de magneziu și crescute de calciu, o stimulează. La concentrații mici de magneziu, poate apărea o afectare a glicolizei, disfuncții mitocondriale (ceea ce generează deficit de ATP), deficiență de oxigen, etc. În același timp însă, sinteza de proteine este crescută datorită creșterii conținutului de calciu și a stocării acestuia.

În prezentul experiment însă, variațiile serice ale Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Na^+ ; K^+ chiar și în cazurile în care sunt semnificative, nu produc modificări mari în concentrația acestora la loturile experimentale.

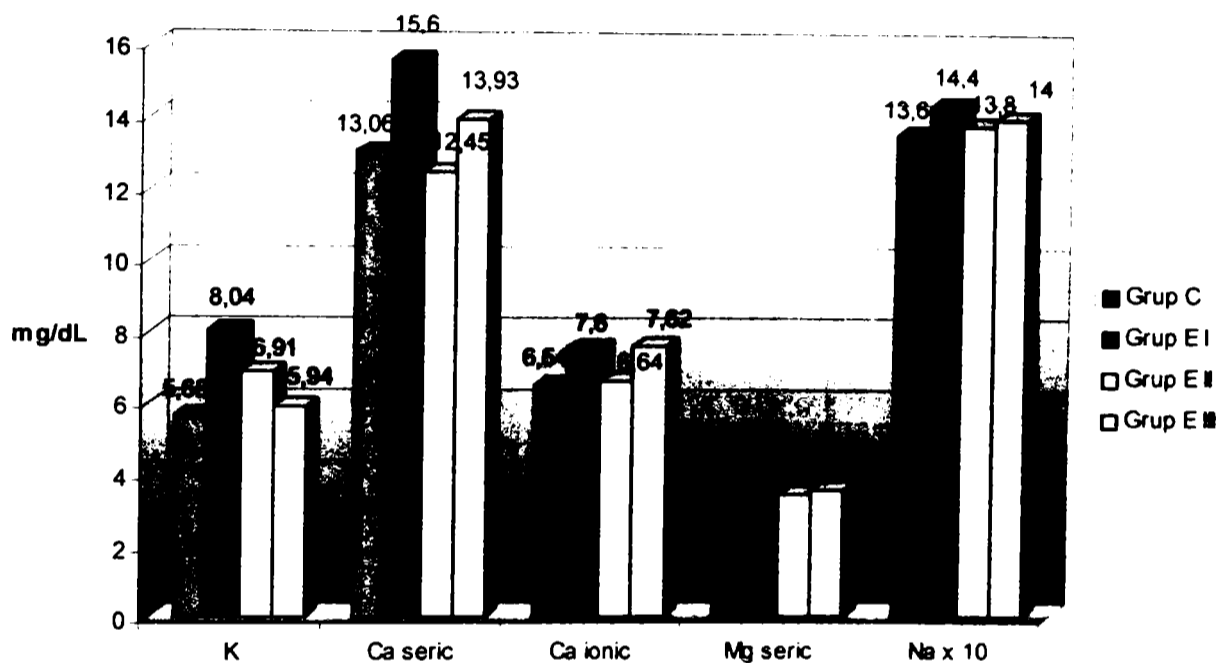


Figura 4-1. Variația unor electroliți serici, la grupul martor și grupurile experimentale

Balanța fosfo-calcică este un bun indicator a homeostaziei celor doi ioni în ser. Este cunoscut faptul că osteomalacia este una din consecințele acumulării cronice de aluminiu. În osteomalacie țesutul osos este înlocuit cu un țesut osteoid, incapabil să fixeze fosfor și calciu pe matricea proteică. În această boală se întâlnește o hipocalcemie, hipofosfatemie, și hiperfosfatazemie alcalină. Metabolismul fosfocalcic este cercetat la nivelul sângelui, prin determinarea calciului total și fosforului mineral, ambele dozări fiind făcute în strânsă legătură cu evaluarea fosfatazelor alcaline. Dozarea calciului și fosforului urinar nu este concludentă datorită variației mari a celor doi ioni. În cazul bolilor prin defect de absorbție

fosfocalcică, determinările clinice arată hiperfosfatazemie alcalină, o hipofosfatemie și o calcemie normală sau scăzută (Tănăsescu și Costescu, 1966). Nu este cazul experimentelor noastre, administrarea de aluminiu s-a făcut într-un interval redus de timp iar variația arată tendința spre creștere a celor doi indicatori.

Analizând comparativ variația calciului și fosforului seric se observă o bună corelație a acestor doi parametri la lotul de control C și lotul E_{II}.

Fosfataza alcalină în ser consistă din patru genotipuri structurale: tipul ficat - os - rinichi, tipul intestinal, tipul placentar și tipul provenind din celulele germenilor (Greiling și Gressner, 1995). Fosfataza alcalină apare în osteoblaste, hepatocite, rinichi, splină, placentă, prostată, leucocite și intestinul subțire. Tipul ficat - os - rinichi este în mod sigur cel mai important. O creștere a fosfatazei alcaline se înregistrează în toate afecțiunile în care există o activitate crescută a osteoblastelor. O scădere a fosfatazimei alcaline sau o concentrație normală se produce în intoxicația cu beriliu, când se produce înlocuirea ionului magneziu, activatorul fosfatazei, când activitatea enzimei scade foarte mult. Hipo- sau afosfatazemia este însoțită de modificări importante în metabolismul Ca și P (Tănăsescu și Costescu, 1966). La nivelul sângelui, scăderea fosforului seric se poate datora administrării de citrat, oxalat și EDTA (Willard, 2004).

Tabel 4-4. Date comparative privind calciul, fosforul și fosfataza alcalină din serul sanguin

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Ca seric	mg/dL	13.06 ±0.61	15.60 ±1.58*	+2.54	12.45 ±0.70	-0.61	13.93 ±1.54	+0.87
P seric	mg/dL	5.28 ±0.39	11.12 ±1.29*	+5.84	7.52 ±1.16*	+2.24	7.41 ±1.26*	+2.13
Fosfataza alcalină	U/L	345.8 ±35.0	435.2 ±34.7*	+89.4	259.0 ±19.6*	-86.8	298.8 ±11.0*	-47.0

*p<0.05

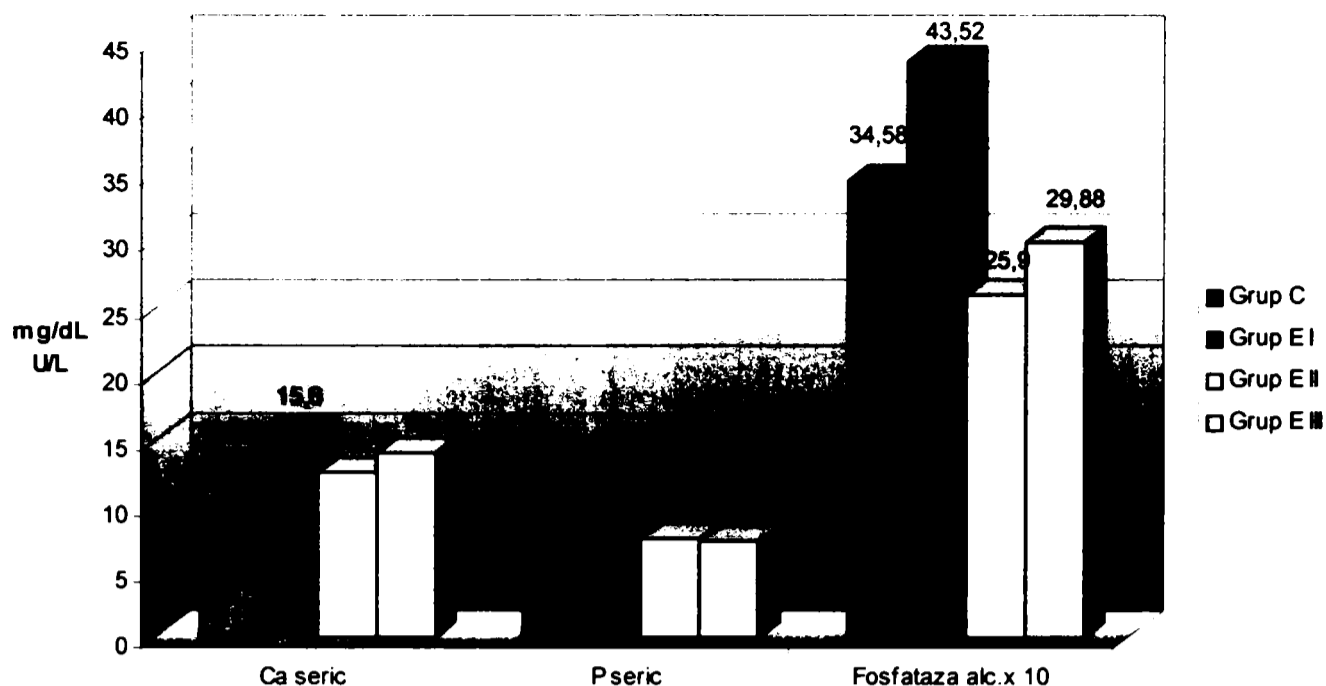


Figura 4-2. Variația concentrației de calciu și fosfor seric, comparativ cu modificarea activității fosfatazei alcaline

Scăderea fosfatazei la lotul E_{II} de la 345.8 U/L la 259.0 U/L poate fi rezultatul efectului de complexare pe care citratul îl poate avea asupra magneziului și zincului din constituția enzimei și eliminarea metalelor respective, însoțită de scăderea activității fosfatazei. Se observă de asemenea efectul de menținere a concentrațiilor de calciu și fosfatază alcalină la lotul E_{III} la nivelul lotului martor, care se poate datora limitării mobilității aluminiului de către fluorura administrată concomitent (figura 4-n₃).

Studiind figura 4-3 se observă creșterea concentrației de magneziu în ser la lotul E_I de la 3.52 mg/dL la 4.59 mg/dL (creștere de 30%) este însoțită de creșterea la același lot a nivelului de fosfor de la 5.28 mg/dL la lotul de control la 11.12 mg/dL (creștere de 79 %) și a fosfatazei alcaline de la 345.8 U/L la control la 435.2 U/L (creștere de 26%). Mobilizarea magneziului (activator al fosfatazei, are rol structural) și a fosforului (constituent al fosfatazei) de către aluminiu se pare că determină o creștere în activitatea acestuia. Reprezentarea grafică a variației celor trei parametrii biochimici se poate vedea și din figura 4-3.

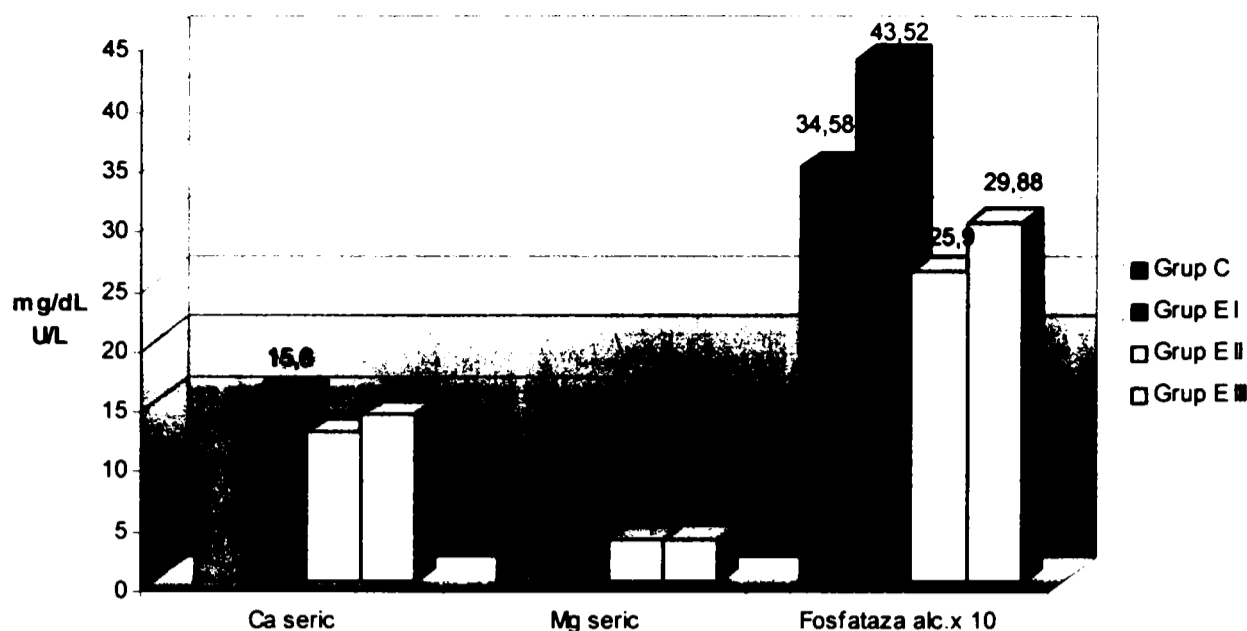


Figura 4-3. Variația concentrației de calciu și magneziu în ser, comparativ cu variația fosfatazei alcaline

Se știe că metabolismul fierului interacționează cu cel al aluminiului, în ce privește absorbția intestinală, transportul în plasma sanguină și inducerea lipoperoxidării și a distrugerii celulare. De asemenea, s-a dovedit că suplimentarea dietei cu citrat crește absorbția ambelor metale și că prezența unui aport mărit de fier și aluminiu în dietă duce la acumularea excesivă a acestor metale în corp. Dieta deficitară duce la deficiență de fier în șobolani după cum dieta suplimentată în fier, duce la acumularea acestui metal. Suplimentarea dietei cu aluminiu crește concentrația acestuia în rinichi, ficat și femur, dar în general când hrana conține și citrat. Suplimentarea hranei cu aluminiu și citrat nu are efect asupra concentrației de fier nonhemic în ficat, rinichi sau creier (Morgan et al.1998).

În tabelul 4-5 se poate observa evoluția pe grupe experimentale a fierului și a capacității sale de legare, determinate în sânge. O depresie de 52% a fierului față de lotul de control se poate observa la fierul din grupul E₁ ca urmare a administrării de clorură de aluminiu. Există dovezi rezultate din studii experimentale care explică acest fenomen de depleție a fierului la administrare de aluminiu, pornind de la faptul că după absorbție, aluminiul este legat de către transferină în proporție de 90-95% (Ghizdavu, 2000) și de asemenea de albumină (conform datelor World Health Organisation, 1997) în plasmă și ajunge la organele țintă prin intermediul receptorilor transferinei din celule. Încercarea de descifrare a mecanismelor de reacție ale Al³⁺ cu biomoleculele l-a determinat pe Aramini în 1996 citat de Ghizdavu (2000), să dovedească prin studii RMN faptul că Al³⁺ se leagă preferențial la un fragment al transferinei din ser.

Tabel 4-5 . Determinarea concentrației de fier și a capacității de legare a fierului

Specificație	Fe		Cap. de legare a fierului
	UM	$\bar{X} \pm D.S.$	$\bar{X} \pm D.S.$
Grup C	$\mu\text{g/dL}$	298.0 \pm 27.8	258.2 \pm 11.3
Grup E _I	$\mu\text{g/dL}$	143.8 \pm 15.1*	359 \pm 27.0
$\Delta \bar{X}$		-154.2	+100.8
Grup E _{II}	$\mu\text{g/dL}$	93.2 \pm 18.1*	481 \pm 31.2*
$\Delta \bar{X}$		-204.8	+222.8
Grup E _{III}	$\mu\text{g/dL}$	101.6 \pm 4.2*	340 \pm 43.0
$\Delta \bar{X}$		-196.4	+118.2

*p<0.05

Ghizdavu (2000) face precizarea că complexul Al^{3+} -transferrină este fixat de receptorii transferrinei aflați în celule, într-o manieră asemănătoare cu complexul Fe_2^{3+} -transferrină. Din acest motiv, compusul Al^{3+} -transferrină interferează cu transferul intracelular al fierului din compusul Fe_2^{3+} -transferrină. Odată format, Al^{3+} -transferrină poate interfera cu homeostazia normală a fierului din celule și anume poate să deranjeze în final procesele celulare dependente de fier.

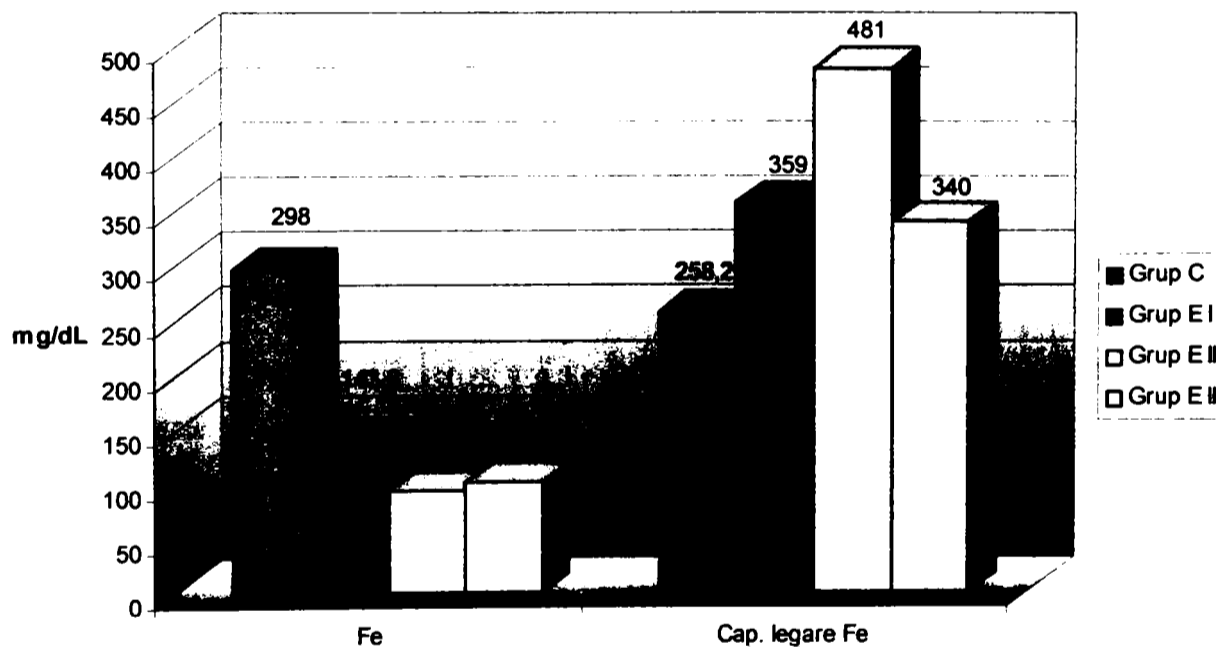


Figura 4-4. Variația concentrației de fier și a capacității de legare a fierului din sânge

Brown și Schwartz în 1992, au efectuat un studiu pentru a releva ipoteza că absorbția și acumularea de aluminiu este inversă cu a fierului, pornind de la faptul că Al^{3+} și Fe^{3+} au raze ionice și densități de sarcină similare, aceleași relații de dependență între pH și solubilitate și aceleași afinități pentru liganzi cum ar fi citratul și transferina. În condiții de deficiență sau supradozare a hranei șobolanilor cu Fe, s-a administrat la fiecare lot: 1,2% $AlCl_3$; 1,2% $AlCl_3$ +3,5% Na citrat. Descreșterea fierului în organism, confirmată de măsurarea hemoglobinei, hematocritului, Fe seric, a capacității sale de legare, determină creșterea concentrației de Al în ser, ficat, splină, la toate grupele hrănite cu $AlCl_3$, dar creșterea a fost semnificativă doar când s-a administrat concomitent și citrat. De asemenea, Chih-Hung Guo et al. (2004), după administrare intraperitoneală la șobolani a 27 mgAl/kg.g.c. timp de 3 săptămâni zilnic, constată o descreștere a hematocritului, hemoglobinei și a nivelului plasmatic al fierului, în condițiile în care concentrația eritocitară de Al, Zn, Fe, au fost găsite semnificativ crescute față de lotul de control.

În experimentul nostru, volumul eritocitar, hemoglobina și hematocritul nu înregistrează variații semnificative față de control. Modificarea comună a experimentului nostru cu alte experimente este faptul că fierul seric scade neobservându-se aceleași modificări ale unor parametrii sanguini ca în cazul unor intoxicații cronice.

Se poate observa că în grupul E_{II} nivelul fierului din ser scade cu aproximativ 69%, aceasta poate fi o consecință a unui fenomen de îndepărtare a fierului complexat de către citratul administrat. Scăderea fierului în grupul E_{III} este tot în jur de 70% față de control și se pare că fluorura administrată concomitent cu clorura de aluminiu are efect asupra fierului. Variația capacității de legare a fierului este semnificativă ($p < 0.05$) doar pentru grupul E_{II} când concomitent cu scăderea nivelului de fier se înregistrează o mărire a capacității de legare a proteinei transportoare, ca urmare a eliminării fierului prin complexare cu citratul administrat.

4.3.1.2. METABOLIȚI LIPIDICI

Analiza parametrilor lipidici din ser relevă modificări semnificative în general, în toate cele trei grupuri experimentale în comparație cu grupul de control. Valorile normale ale acestor parametrii sunt redate în continuare în tabelul 4-6 și 4-7, folosind date din literatura de specialitate:

Tabel 4-6. Valori normale ale unor parametrii biochimici în sânge la iepure, după BSAVA

Specificație	Trigliceride	Colesterol	Glucoză	Proteine
Valori	1,4-1,76	0,62-1,68	6-8,9	5,6-6,25
mmol/L		0,1-2,0	4,2-8,3	

Se prezintă de asemenea, după Falcă (2004), valori ale unor parametrii biochimici în ser, în tabelul 4-7.

Tabel 4-7. Valori normale ale unor parametrii în sânge de iepure, după Falcă, 2004

Specificație	Proteine g %	Albumine g %	Lipide mg %	Glucoză mg %	Proteine g/L
Valori	5,4-6,0	4,2	72	103	2,5

Se observă o bună corelație a unor parametrii sanguini între datele prezentate din diferite surse și experimentul nostru, la care valorile obținute la grupul martor și grupurile experimentale sunt prezentate în tabelul 4-8.

Tabel 4-8. Concentrația lipidelor totale, trigliceridelor, colesterolului din sânge la iepuri la lotul de control și loturile experimentale

Specificație	UM	Grup C	Grup E _I	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II}	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III}	$\Delta \bar{X}$
		$\bar{X} \pm D.S.$	$\bar{X} \pm D.S.$		$\bar{X} \pm D.S.$		$\bar{X} \pm D.S.$	
Lipide tot.	mg/dL	504.8±53.5	341.6±34.1*	-163.2	555.4±71.6	+50.9	412.8±2.2*	-92.0
Trigliceride	mg/dL	175.8±34.0	79.6±8.9*	-96.2	159.2±6.7	-16.6	157.6±1.8	-18.2
Colesterol	mg/dL	111.2±3.8	80.0±9.2*	-31.0	135.4±18.6*	+24.2	74.6±0.5*	-36.6
HDL-col.	mg/dL	32.8±1.8	33.4±5.2	+0.6	37.8±1.9*	+5.0	24.0±0.7*	-8.8
LDL-col.	mg/dL	42.1±1.5	32.0±7.8*	-10.1	68.0±12.1*	+25.9	18.4±0.5*	-23.7

*p<0.05

După administrarea de clorură de aluminiu în grupul E_I, se observă o puternică descreștere a lipidelor totale (32%), trigliceridelor (55%), colesterolului (28%) și LDL-colesterolului (24%). Modificări ale acestor parametrii biochimici la administrare de aluminiu au fost observate de numeroși autori (Gutteridge et al., 1985; Dejica, 2001) și concluzia acestora a fost că se produce o lipoperoxidare a lipidelor serice. Aluminiul este cunoscut pentru atracția lui pentru grupele fosfatice (Gârban, 1999) și în sistemele biologice va fi frecvent complexat de acestea. Descreșterea lipidelor totale în grupul E_I poate fi pusă pe seama complexilor formați între Al³⁺ și grupele fosfat din lipoproteine, Al³⁺ fiind puternic atras de oxigenul din aceste grupe. Distrugerea moleculelor de lipoproteine duce la descreșterea conținutului de acizi grași în sânge. Într-un experiment realizat pe două grupe de câte 52 șobolani Long-Evans fiecare, în 1996, Schroeder și colectivul său au tratat animalele cu sulfat dublu de Al și K, în doză de 0-5 mg/L Al în apa potabilă, pe tot parcursul vieții, neobservând nici un efect asupra colesterolului seric.

În cazul experimentului nostru, doza de aluminiu a fost de 10 ori mai mare, ceea ce a dus la modificarea importantă a colesterolului, chiar dacă administrarea a fost făcută pe o perioadă scurtă de timp (Pup et al., 2005b).

Se știe că ionul Al^{3+} produce o alterare în structura membranei celulare, care facilitează peroxidarea lipidică (Gutteridge et al., 1985). Efectul Al^{3+} în peroxidarea lipidică a fost demonstrat și de Ferretti et al., în 2003, când autorul a scos în evidență modificarea proprietăților fizico-chimice ale lipoproteinelor de densitate mare (HDL-colesterol) izolate din plasma sanguină umană. Rezultatul experimentului a fost că Al^{3+} crește lipoperoxidarea HDL-ului uman fapt determinat de creșterea concentrației de hidroperoxizi lipidici în toate probele de HDL tratate cu aluminiu, față de lotul martor de HDL. Efectul este mai puternic la valori scăzute de pH. De asemenea s-a făcut precizarea că Al^{3+} ar putea induce descreșterea ordinului molecular la suprafața lipoproteinei, determinând modificări structurale ale HDL apoproteinei.

Jianu et al. (2004), face precizarea că metalele grele acționează în particular asupra funcționării lipidelor nesaturate. De asemenea autorul specifică faptul că ionii metalici au o acțiune prooxidantă prin formarea de complecși coordinați instabili, cu alchil-peroxi radicalii, urmată de transferul de electroni și formarea de radicali liberi. Eficiența unui ion metalic ca prooxidant depinde de capacitatea de coordinare și de potențialul redox al metalului în complex. Inhibarea sau prevenirea acestei peroxidări poate fi făcută prin obținerea unui complex puternic (coordinare maximă) sau prin stabilizarea valenței.

În experimentul nostru s-a înregistrat doar o mică variație a HDL după administrarea de clorură de aluminiu singură sau asociată cu citrat. Interesantă este evoluția LDL-colesterolului, valoarea acestuia crește la administrare de clorură cu citrat de la 42.1mg/dL în lotul martor la 68.0 mg/dL (61%) în condiții de scădere a LDL la administrare de clorură de aluminiu, când variația este de la 42.1 mg/dL la 32.0 mg/dL (scădere de 24%) sau clorură de aluminiu cu fluorură, când scăderea este de la 42.1mg/dL la control la 18.4 mg/dL la lotul E_{III} (scădere de 56%) .

În experimentul nostru, o creștere semnificativă dar nu în limite largi a HDL- colesterolului este vizibilă în grupul experimental E_{II} comparativ cu grupul de control, dar și cu E_I , ceea ce duce la concluzia unei afectări hepatice în sensul că ficatul nu poate asigura conversia LDL-colesterol în HDL-colesterol și acesta crește. HDL-colesterolul scade mai mult la lotul E_{III} , respectiv 25% față de control, se pare că fluorura determină modificări ale parametrilor lipidici din ser. Descreșterea nivelului de HDL-colesterol este asociat în general cu un risc crescut de arteroscleroză a vaselor de sânge (Greiling et al., 1995). După injecție, ionul citrat este îndepărtat din organism în câteva minute fără consecințe importante (Guyton, 1986). Dacă însă ficatul este afectat sau cantități mari de citrat pătrund în sânge rapid, ionul citrat nu poate fi îndepărtat destul de repede, ducând la perturbarea funcției hepatice, ceea ce poate constitui cauza pentru creșterea colesterolului în grupul E_{II} (22%).

În figura 4-5 este prezentată variația de concentrație a unor parametrii lipidici la grupurile cercetate, comparativ cu grupul de control.

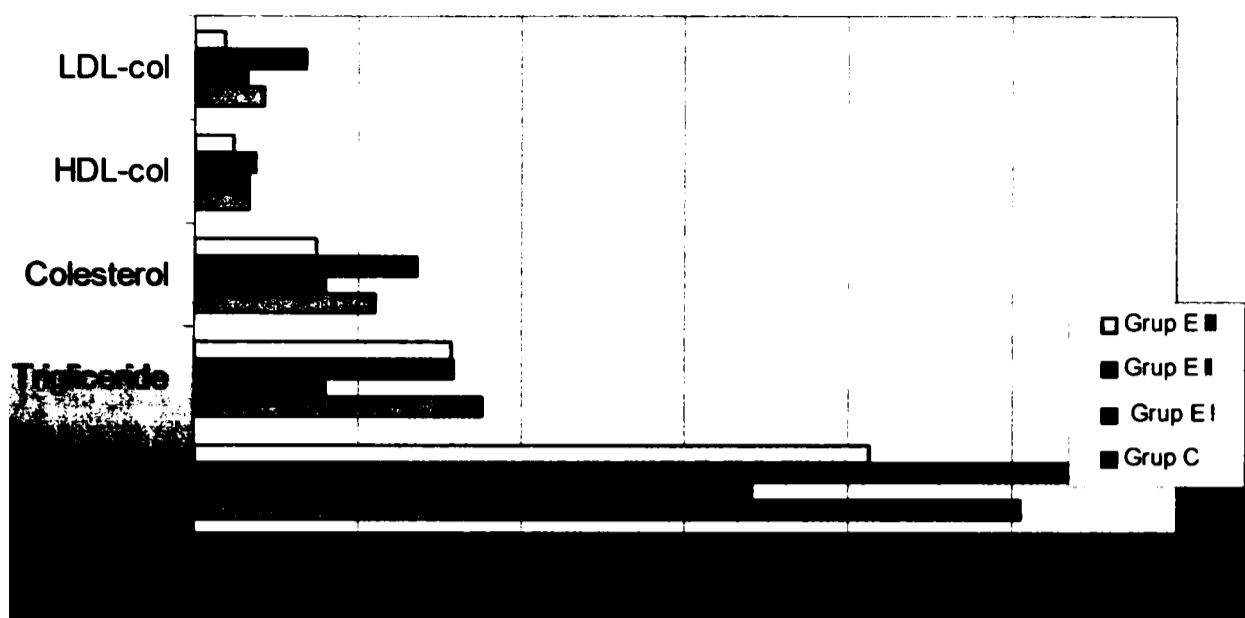


Figura 4-5. Variația indicatorilor lipidici din sânge

S-a demonstrat în numeroase studii că administrarea de aluminiu poate induce stres oxidativ în organism. Sărurile de aluminiu provoacă accelerarea proceselor de peroxidare induse de Fe divalent la pH acid. Ionul trivalent de aluminiu, produce o alterare în structura membranei celulare care facilitează peroxidarea lipidică. (Gutteridge et al., 1985). Implicarea aluminiului în apariția stresului oxidativ, impactul aluminiului asupra sistemului de protecție antioxidant implicat în stresul oxidativ, este un subiect continuu de dezbateri științifice. Există multe dovezi că aluminiul induce stresul oxidativ în plante (Boscolo et al., 2003) și (Richards et al., 1998), la om (Fink, 1994) și (Strong, 1991) și animale (Swain, 1997). Unii autori susțin că aluminiul acționează ca un antioxidant la nivel scăzut și prooxidant la concentrații mari (Oteiza, 1993).

În cercetările efectuate de Exley în 2004, se face observația că aluminiul, un metal inactiv din punct de vedere redox, este fără îndoială un prooxidant, atât in vitro cât și in vivo. Acesta facilitează atât oxidarea superoxidică, cât și cea catalizată de prezența fierului în sistemele biologice, prin mecanisme care nu sunt complet elucidate. Citându-l pe Fridovich (1992), autorul sugerează că aluminiul interacționează cu radicalul superoxid în procesele oxidative, generând un radical superoxid-aluminiu, cu proprietăți redox.

Modificările lipidelor, în urma oxidării, au fost mult studiate și par a avea consecințele cele mai evidente. Cele mai profunde modificări produse de SRO (specii reactive ale oxigenului) asupra metabolismului lipidic se datoresc peroxidării lipidelor celulare și extracelulare în peroxizi lipidici (Pup et al., 2005).

Fierul stocat reversibil în ficat are rol important în inițierea și catalizarea variatelor reacții ale SRO, contribuind la leziunile tisulare induse de oxigen (Aust et al. 1985, citat de Dejica, 2000). În afară de reacția Haber-Weiss care determină generare de hidroxil din superoxid, fierul liber poate reacționa cu superoxidul și peroxidul de hidrogen, producând alți oxidanți și are un rol aditiv în lipoperoxidare, accelerând descompunerea lipoperoxizilor în radical peroxil și alkoxil care extrag ionul de hidrogen și stimulează lipoperoxidarea. Fierul se găsește fiziologic depozitate sub formă de feritină, nereactivă chimic. Complexele de fier liber, neferitinic, capabile să inițieze in vivo formarea de SRO (specii reactive ale oxigenului) sunt atașate de agenți care leagă metale, diverse nucleaze sau transferaze (ATP, ADP, GTP) sau citrat, ori sunt prezente în membranele microzomale (Miotti, 1989- citat de Dejica, 2000).

Peroxidarea lipidică este asociată cu modificări ale proteinelor membranare (e.g. receptori, transportori de ioni, proteinele din canale) conducând la modificarea homeostaziei calcice sau a enzimelor kinaze calciu dependente, determinând disfuncții mitocondriale și producând apoptoza (Zhu et al., 2005, in <http://jcs.biologists.org/cgi/content/full/118/16/3695>).

Există numeroase studii care demonstrează influența negativă a fluorului asupra parametrilor lipidici din ser. În 1987, Dousset et al. au arătat că inhalarea de HF produce o creștere importantă a colesterolului la porcii de Guineea. Această creștere poate fi urmarea unei creșteri de activitate a enzimei glucozo-6-fosfat dehidrogenaza. Pe de altă parte, HF inhalat reduce activitatea enzimei izocitrat dehidrogenaza, ceea ce duce la o acumulare de acid citric, care este un efector pozitiv pentru acetyl-CoA carboxilaza, enzima cheie în biosinteza de acizi grași.

Acesta poate fi motivul creșterii nivelului de trigliceride comparativ cu lotul experimental E_I, pentru aceeași doză de aluminiu administrată în grupul E_{III} dar colesterolul nu are același comportament ca în experimentul descris.

Este cunoscut faptul că aluminiul și fluorura formează complecși relativ ușor. O metodă nouă de îndepărtare a excesului de fluorură din apa potabilă a fost dezvoltată bazându-se pe principiul coacervării induse prin electroliză, folosind un anod de aluminiu (Liu Ming et al., 1987). Acesta este și motivul pentru care în experimentul nostru am folosit administrarea asociată de Al-F, pentru a vedea efectul fluorurii asupra comportamentului aluminiului în sânge. În cazul administrării de fluorură concomitent cu aluminiul, nivelurile scăzute de HDL și LDL-colesterol pot fi rezultatul unei inhibări a metabolismului lipidic, știindu-se că fluorura reduce cantitatea de acid palmitic și linoleic, datorită scăderii activității lipazei (Yu M.H. et al., 1987).

4.3.1.3. METABOLIȚI PROTIDICI ȘI GLUCIDICI

Observând tabelul valorilor glucozei, proteinelor și albuminei în sânge (tabelul 4-11), se poate vedea că glicemia prezintă modificări semnificative doar după administrarea de clorură de aluminiu asociată cu citrat, iar proteinele totale, la toate grupurile experimentale. Ca valoare absolută, modificările față de lotul de control nu sunt mari, se remarcă însă o tendință de scădere a valorilor față de lotul martor ceea ce ar putea indica o degradare a glucidelor și proteinelor sanguine (Pup et al., 2005d). Efectuând un studiu pe păsări (broileri Hubbarth), Trif et al. (2005) a administrat sulfat de aluminiu timp de 3,5 săptămâni respectiv 7 săptămâni în hrana acestora. Concluzia a fost că după 3,5 săptămâni glicemia a scăzut dar nu semnificativ față de control, arătând că aportul de aluminiu nu a influențat nivelul și dinamica glicemiei. Se menționează de asemenea că Szilagy et al. 2000, a semnalat o scădere a glicemiei după administrarea de clorură de aluminiu, la broileri. În schimb după 7 săptămâni se constată o creștere a glicemiei față de cea obținută după 3,5 săptămâni, ducând la observația că dinamica glicemiei la administrare de compuși cu aluminiu este dependentă de durata de timp în care se face administrarea. Se presupune că creșterea glicemiei la administrarea îndelungată este o consecință a injuriilor biochimice la nivelul pancreasului, observată de Trif et al. (2005) la broileri și șobolani.

Pentru compararea valorilor obținute în experimentul nostru cu valorile existente în literatura de specialitate, prezentăm în tabelul 4-10 valorile normale de proteine, glucoză, lipide și albumine, în sânge după Uray (1992)- citat de Ghergariu et al., 2000.

Tabel 4-10. Valori normale de proteine, glucoză, lipide și albumine în sânge la iepuri

Indicator/U.M.	Proteine g%	Glucoză mg/%	Lipide mg%	Albumine mg%
	5,4	165	119	4,2

Tabelul 4-11 prezintă valorile metaboliților protidici și glucidici obținuți prin analiza sângelui la grupurile cercetate. Se observă o bună corelare cu valorile menționate în literatura de specialitate.

Tabel 4-11. Prezentarea concentrației serice de glucide, proteine, albumine.

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I		Grup E _{II}		Grup E _{III}	
			$\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Glicemie	mg/dL	119.6±7.1	98.7±24.0	-20.9	108.6±7.4*	-11.0	101.7±4.6	-17.9
Prot. total	g/dL	5.83±0.06	5.52 ±0.20*	-0.31	5.18±0.12*	-0.65	5.03±0.11*	-0.80
Albumine	g/dL	4.24±0.29	4.37±0.28	+0.13	3.17±0.14*	-1.07	3.45±0.06*	-0.79

*p<0.05

Membranele celulare conțin sisteme de transport și unul dintre ele proteina formatoare de canale pentru transport (channel-forming protein). Ionii metalici cum ar fi aluminiul pot interfera sistemele de închidere a acestor canale, legând aceste proteine. Experimentele arată că Al^{3+} deschide canalele de la suprafața membranelor. Aceste canale sunt în mod normal închise și forțate să se deschidă prin activarea produsă de acest metal (Martin, 1986 - citat de Nicolini et al, 1991).

Dejica în 2000, a arătat faptul că aminoacizii, componenți principali ai peptidelor și proteinelor sunt ținta stresului oxidativ în special prin catenele laterale. În acest caz, se presupune că aluminiul reacționează cu grupele carboxil ale aminoacizilor din proteine, inducând prin aceasta stres oxidativ asupra proteinei. Oxidarea proteinei determină modificări fizice ale acesteia: fragmentarea, cross-linking, digestie proteolitică. În ultimii ani, numeroase rapoarte din China, India, etc., au indicat faptul că fluorura în concentrații variabile, induce toxicitate prin radicalii liberi la animale și oameni ce trăiesc în zone cu mare răspândire a fluorozei endemice.

Viezeliene et al. (2005) au determinat într-un studiu pe șoareci de laborator, efectul Al^{3+} asupra sintezei de proteine după administrarea unei singure doze de clorură de aluminiu intraperitoneal $0,5LD_{50}$ (25 mg Al^{3+} /kg corp). S-a stabilit astfel că sinteza de proteine s-a amplificat imediat după administrare, atingând un maxim la 16 ore de la injecție, după care a scăzut progresiv. Explicația dată de autor a fost că în condițiile în care aluminiul determină stres oxidativ asupra proteinelor, imediat după administrare, creșterea sintezei de proteine se datorează sintezei de proteine de stres, cum ar fi metalotioneinele, proteine clar implicate în procesul de detoxifiere, sau proteinele de șoc termic. Explicația scăderii ulterioare a sintezei de proteine pornește de la faptul că, sinteza proteinelor este un proces ce necesită aport de energie, ori știind că aluminiul disturbă procesele celulare de transfer de energie se poate presupune că se produce o perturbare a metabolismului ATP, ca urmare a aportului de aluminiu.

Există numeroase evidențe că radicalul superoxid (care este foarte reactiv) poate conduce la modificări chimice și degradare de proteine, lipide, carbohidrați și nucleotide, în celulele vii (Dejica, 2000).

4.3.1.4. METABOLIȚI DIN CLASA ENZIMELOR (PROTEINELOR- ENZIME)

Un aspect particular, important pentru implicarea în procesele catabolice și anabolice, este reprezentat de acțiunea ionilor metalici asupra enzimelor. În cercetările experimentale efectuate care fac obiectul prezentei teze s-au efectuat determinări analitice asupra transaminazelor ALAT (alaninaminotransferaza) și ASAT (aspartataminotransferaza), precum și asupra fosfatazei alcaline.

Ghergariu et al., (2000) referindu-se la diverse surse bibliografice, prezintă valorile de referință pentru activitatea serică a ALAT și ASAT la iepuri ca fiind : ALAT = 76-120 U/l ; ASAT= 75-119 U/l

O creștere a concentrației enzimelor peste valoarea normală reflectă modificări metabolice uneori importante în patologia celulară, semnalizând faza inițială de leziune biochimică. Creșterea este și mai semnificativă în momentul fazei de necroză celulară. ALAT este întâlnită în toate țesuturile și în special în ficat și miocard și crește în sânge în: infarct recent, embolie cerebrală, distrofia musculară, leziunile parenchimului hepatic și leziunile pancreasului.

În tabelul 4-12 sunt prezentate enzimele ALAT, ASAT și fosfataza alcalină la grupul de control și cele experimentale obținute în prezentul experiment. Variația fosfatazei alcaline a fost explicată anterior (tabel 4- 3), în relația ei cu modificările fosforului ca urmare a administrării de aluminiu.

Tabelul 4-12. Modificarea unor enzime serice ca urmare a administrării de aluminiu

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I		Grup E _{II}		Grup E _{III}	
			$\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
ALAT	U/L	57.2±4.6	72.0±8.7*	+14.8	145.8±28.3*	+88.6	47.4±1.5*	-9.8
ASAT	U/L	54.2±11.5	28.6±6.5*	+25.6	28.2±9.3*	-26.0	20.2±4.4*	-34.0
Fosfataza alcalină	U/L	345.8±35.0	435.2±34.7*	+89.4	259.0±19.6*	-86.8	298.8±11.0*	-47.0

*p<0.05

Hepatocitele conțin cantități mari de ALAT în citosol și creșterea puternică de ALAT în ser arată afecțiune hepatică gravă. ASAT este găsită în special în ficat și mai puțin în miocard și prezintă o creștere sanguină în: infarct (mai puțin decât ALAT) și în bolile parenchimului hepatic în care creșterea este mai mare decât la ASAT (Tănăsescu ,1966).

Ca și enzima ALAT, enzima ASAT este prezentă în cantități mari în mitocondriile hepatocitelor. Rezultă astfel că este mai ușor să se crească în ser ALAT decât ASAT, pentru că mitocondriile nu se

degradează așa de rapid ca membrana celulară. Un ASAT mare nu este specific afecțiunilor hepatice în aceeași măsură ca ALAT (Willard, 2004).

Creșterea de aproximativ 150% a ALAT după administrarea de clorură de aluminiu asociată cu citrat, poate fi o consecință a unor modificări patologice celulare dar și leziuni ale parenchimului hepatic. Evaluarea comparativă a activității acestor enzime și corelarea cu modificările microelementelor din ficat va fi făcută la capitolul 4.3.2.

Organismul uman are abilitatea de a rezista aproape oricărui tip de microorganisme și toxine care pot să afecteze țesuturile și organele. Această capacitate (imunitatea) este datorată sistemului imunitar care formează anticorpi și limfocite activate, capabile să distrugă aceste organisme și toxine (Guyton, 1986).

Se știe că magnitudinea creșterii ALAT nu se corelează cu o afectare serioasă a ficatului. Timpul de înjumătățire a ALAT este de 1-2 zile sau mai puțin Fosfataza alcalină poate fi corelată cu ALAT în afecțiunile hepatice, când prezintă valori periculoase de 5-10 ori mai mari decât normal. Modificări ale valorilor acesteia au loc în hipotiroidism (scade) și crește în afecțiuni osoase și hepatice (Willard, 2004).

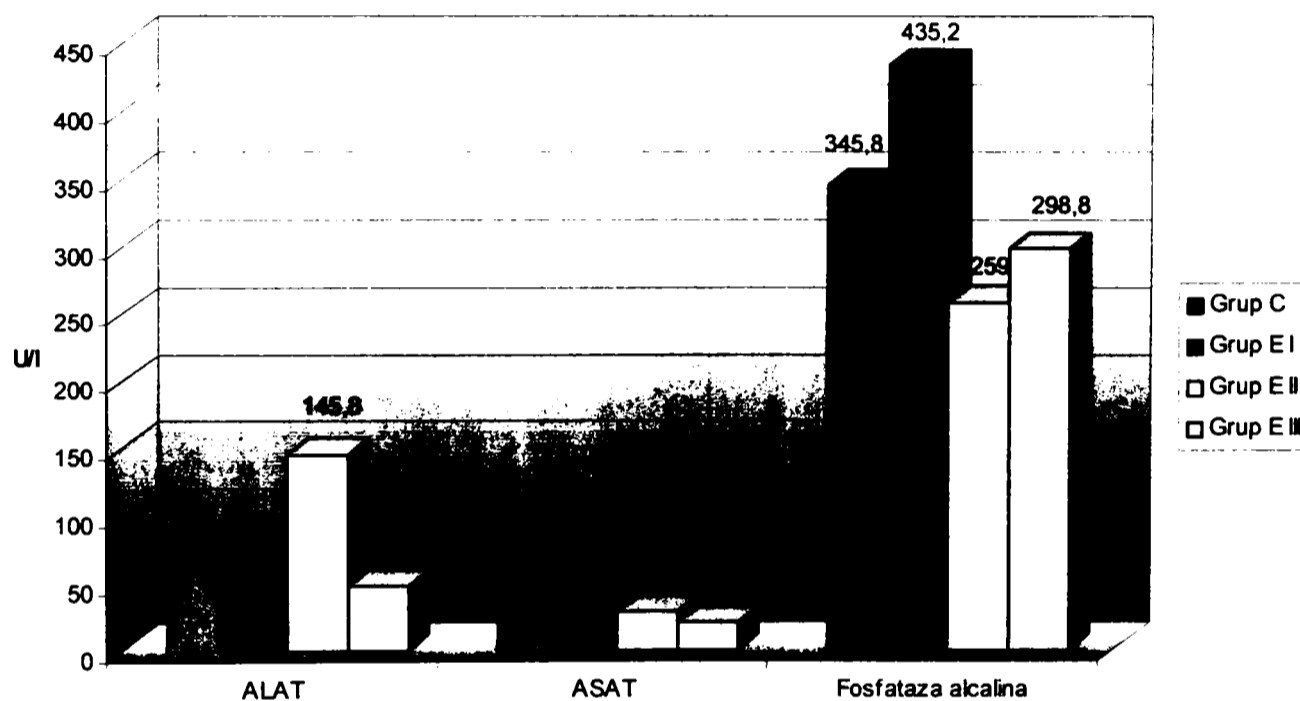


Figura 4-6. Variația ALAT și ASAT din sânge comparativ cu fosfataza alcalină

Într-un studiu experimental efectuat pe șobolani, la care s-a administrat oral timp de trei săptămâni soluție de $AlCl_3$ în doză de 34 mg/kg corp, s-a determinat după evaluarea unor parametrii biochimici din ser că ASAT, ALAT și fosfataza alcalină au o activitate considerabil crescută la lotul experimental comparativ cu cel de control (El-Demerdash 2004, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi.cmd). Tratamentul cu aluminiu a determinat de asemenea o descreștere în plasmă a proteinelor totale,

albuminelor și lipidelor totale, precum și descreșterea concentrației de glucoză, uree, creatinină, bilirubină și colesterol.

În experimentul nostru se constată o creștere a activității ALAT la grupurile E_I, de la 57.2 U/L la control la 72.0 U/L (26%) și de la 57.2 U/L la 145.8 U/L în (155%)E_{II}, creșterea fosfatazei alcaline la grupul E_I de la 345.8 U/L la control la 435.2 U/L și scăderea pronunțată a acesteia la E_{II} până la 259.0 U/L precum și o variație mică între grupurile experimentale a ASAT.

Un studiu realizat de Chih-Hung et al., 2004, în care s-a administrat zilnic prin injecții intraperitoneale doze 27 mg Al/kg.g.c. timp de 3 săptămâni și care poate fi comparat ca și condiții experimentale cu cel prezentat anterior, duce la concluzia că activitatea fosfatazei alcaline este considerabil scăzută în plasmă, ca urmare a acumulării de aluminiu în ficat (Chih-Hung Guo et al.,2004).

4.3.1.5. INVESTIGAȚII HEMATOLOGICE

Alături de investigațiile cu specific de chimie analitică interesant, la animalele de experiență, deseori metaboliți lipidici, protidici, glucidici și biominerale, s-au efectuat și investigații cu specific hematologic.

Extinderea investigațiilor la aspectele de hematologie poate oferi noi informații asupra acțiunii complexe a aluminiului și implicațiile asupra modificărilor hemoleucogramei.

Se prezintă în continuare date din literatura de specialitate conținând valori normale ale hemoleucogramei la iepuri, prezentate de Moț (2004), prin citarea a diverși autori (tabel 4-13).

Tabelul 4-13. Valori normale ale hemoleucogramei la iepuri, după Moț, 2004

Parametru	Unitate măsură	BSAVA	Salanțiu-Ulici, 1995	Nestorov et al., 1981	Uray, 1992	Pârvu, 1997
Eritrocite	mii/ μ L		4-7	10	4,6-6	
Hemoglobină	mg/dL	10-17,5 12-15	11-13	12-16,2	12,2	
Hematocrit	%		30-45		37-41,6	
MCV	fl	50-75 59-79	-	-	-	-
MCH	pg	18-24 16-23	-	-	-	-
MCHC	g/dL	27-34 28-36	-	-	-	-
Trombocite	mii/ μ l	-	-	-	-	250.000
MPV	μ^3	-	-	-	-	-
PCT	%	-	-	-	-	

Hemoleucograma (tabelul 4-14) s-a determinat la lotul de control și cele experimentale cu scopul de a evalua afectarea celulelor roșii ale sângelui, după administrarea de soluții conținând aluminiu, conform protocolului descris. Se constată o slabă modificare a conținutului de hemoglobină din sânge precum și un număr relativ constant de eritrocite la toate loturile experimentale comparativ cu lotul de

control. Produse de măduva osoasă prin eritropoieză sub controlul eritropoetinei, formarea eritrocitelor sunt influențate de prezența unor vitamine și minerale. Numărul eritrocitelor este foarte folositor în determinarea gradului de anemie știindu-se că în anemia cronică eritropoieza este foarte activă. Eritrocitele sunt specializate în transportul oxigenului, hemoglobina este în totalitate legată de aceste celule. În experiment, deoarece hemoglobina (care se determină din sânge total) s-a păstrat relativ constantă și deoarece numărul de eritrocite nu se modifică substanțial, putem deduce că nu s-a produs distrugerea eritrocitelor cu pierderea unei cantități mari de fier din sânge. Fierul din ser indică prin scăderea lui un anumit grad de anemie, fapt confirmat și de creșterea capacității de legare a fierului.

Tabelul 4-14. Valori ale hemoleucogramei la iepuri la grupul de control și grupele experimentale

Specificație	Unitate de măsură	Grup C	Grup E ₁ AlCl ₃	Grup E ₂ AlCl ₃ +citrat	Grup E ₃ AlCl ₃ + F ⁻
		domeniu	domeniu	domeniu	domeniu
Eritrocite	mii/μL	5.16-6.77	6.22-6.28	5.31-5.84	5.55-5.65
Hemoglobină	g/dL	10.1-13,0	12,4-12,6	10,1-12,0	10,9-11,1
Hematocrit	%	33,4-39	39-40,4	35,0-37,4	35,2-36,3
MCV	μ ³	64,0-65,0	64,0-65,0	64,0-65,9	63,3-63,6
MCH	pg	19,0-19,7	19,3-19,8	19,1-19,8	19,6-19,9
MCHC	g/dL	29,2-30,2	30,0-30,8	28,7-30,7	30,7-31
Trombocite	mii/μl	73-153	428-447	38-111	227-270
MPV	μ ³	5,7-6,9	4,3-4,5	6,2-7,5	4,3-4,4
PCT	%	0,053-0,087	0,199-0,220	0,024-0,084	0,058-0,116

În schimb, se înregistrează o modificare a trombocitelor la loturile experimentale comparativ cu controlul (tabelul 4-14). Trombocitele sunt de asemenea produse în țesuturile eritropoetice și anume măduvă și splină rămânând doar câteva zile în circulație, având rol în hemostază. Posibil ca creșterea numărului de trombocite la lotul experimental E₁ să se datoreze efectului coagulant al clorurii de aluminiu administrat, care se observă și la lotul E_{III} dar în mai mică măsură ca efect al fluorurii. În schimb citratul prin efectul anticoagulant pe care îl exercită împiedică coagularea sângelui, fluidificându-l. Trombopenia (scăderea numărului de trombocite) arată faptul că nu se produc trombocite în măduva osoasă, boli de splină, leucemie, stări alergice, substanțe chimice. Prezența citratului scade producția de trombocite în cazul nostru Nici MCV (mean corpuscular volume) sau MCHC (mean corpuscular hemoglobine

concentration) nu variază. Aceste două mărimi permit diferențierea între anemia regenerativă și nonregenerativă. PCT se bazează pe numărul și dimensiunea plachetelor. Se pare că mobilizarea acestor celule din depozitele hepatice și splenice determină creșterea numărului lor în sânge la lotul E₁.

La analiza formulei leucocitare, s-au studiat în prealabil date din literatura de specialitate. Date generale asupra acesteia compilate, după diverse surse documentare, de către Moț et al. (2004), sunt prezentate în tabelul 4-15.

Tabelul 4-15. Valori normale ale formulei leucocitare la iepuri, după Moț, 2004

Parametru	U.M.	Domeniu	Nestorov et al., 1981	Uray, 1992
		BSAVA	Moț	Falcă
Leucocite	mii/ μ l	-	10.000	-
Eozinofile	%	-	1,5	0-2
Bazofile	%	0-1 0-7	-	2-5
Limfocite	%	43-62	50-80	50-80
Monocite	%	0-4	-	1-2

O creștere de aproximativ două ori a leucocitelor la lotul experimental E₁ poate fi pusă în legătură cu apariția unui proces inflamator la locul injectării subcutane de clorură de aluminiu. Invazia leucocitelor în cazul unui țesut lezat duce rapid la fagocitoză, în principal prin monocite și neutrofile. O creștere a numărului de monocite se înregistrează după administrare de clorură de aluminiu fără sau însoțită de fluorură, atrăgând atenția asupra procesului inflamator apărut, ca și în cazul trombocitelor. Scăderea monocitelor la lotul E₂ poate fi pus în relație cu puternicul efect anticoagulant exercitat de citratul administrat în exces. Datele asupra cercetărilor noastre privitoare la formula leucocitară se redau în tabelul 4-16.

Modificarea la loturile experimentale a procentului sanguin de eozinofile față de lotul de control indică din nou apariția unei inflamații în corp care probabil că este datorată necrozei țesutului în locul de injectare a soluțiilor administrate deoarece se știe că aceste celule apar când în corp apare un proces inflamator, având rolul de a omorî bacteriile și de a regla reacțiile mediate de IgE.

Tabel 4-16. Formula leucocitară

Specificație	Unitate măsură	Grup C	Grup E _I AlCl ₃	Grup E _{II} AlCl ₃ +citrat	Grup E _{III} AlCl ₃ + F ⁻
		domeniu	domeniu	domeniu	domeniu
Leucocite	mii/μl	3,4-3,8	5,9-6,8	4,7-5,8	2,7-3,1
Eozinofile	%	0	1,6-2,1	0,2-3,8	1,3-1,8
Bazofile	%	0	0	0	0
Limfocite	%	63-68	22,1-22,0	27,3-68	22,5-45,8
Monocite	%	9	13,7-14,0	1,2-4,2	19,9-28,9

Bazofilele care apar în cazul unui proces inflamator eozinofilic puternic sau în caz de lipemie, nu prezintă nici o modificare în experimentul nostru.

Ionul de aluminiu trivalent a fost considerat ca biologic inactiv dar în ultimii ani cercetările au stabilit un număr impresionant de efecte toxice ale acestuia în organism, afirmă Zaman (1995). Același autor a arătat că proeritroblastele, bazofilele, eritroblastele, descresc semnificativ față de lotul de control. În intoxicațiile cu aluminiu, au fost notate de asemenea modificări ale sistemului leucocitar. La animalele care au primit 5 mg/kg m.c. clorură de aluminiu (iv), după 4 săptămâni s-a înregistrat o creștere semnificativă a numărului de leucocite rezultate dintr-un număr mare de neutrofile și limfocite.

Concluziile privind efectul administrărilor soluțiilor cu conținut de AlCl₃ asupra parametrilor biochimici analizați în sânge pot fisintetizați astfel : nu se înregistrează modificări ale sodiului seric la loturile experimentale față lotul de control ; potasiul variază la lotul experimental E_I crescător cu 41% și la E_{II} crescător cu 22% față de control. În practica medicală, modificările potasiului se pot corela cu cele ale calciului în sensul că variațiile sanguine ale potasiului se datorează unei lipse de aport dar și unei stări patologice și anume boli cu hipocalcemie sau boli cu hipercalcemie, când hipercalcemia arată de fapt o pierdere de potasiu. Administrarea AlCl₃ determină creșterea calciului și magneziului seric cu 19% și respectiv 30% față de control (Mg este activator al fosfatazei), care se corelează pozitiv cu activitatea fosfatazei alcaline serice. De asemenea se confirmă sinergismul dintre calciu și fosfor și corelarea acestei variații cu cea a fosfatazei alcaline. Se observă scăderea la toate loturile experimentale față de control a fierului respectiv : de la 298.0μg/dL la lotul de control, la 143.8μg/dL la E_I; 93.2 μg/dL la E_{II}; 101.6 μg/dL la E_{III} confirmând rezultatele altor studii bazate pe administrări de aluminiu și anume că aluminiu determină anemie. Scăderea fierului seric este corelată pozitiv cu creșterea capacității de legare a fierului de către transferrină și anume de la 258.2μg/dL la lotul de control la 359μg/dL la E_I; 481μg/dL E_{II}; 340μg/dL la E_{III}. Se constată modificări la valorile parametrilor lipidici din ser. Se poate presupune că scăderea lipidelor totale cu 32% la lotul E_I se datorează interacției aluminiului cu grupele fosfat conținute

de lipoproteine. Se constată afectarea LDL-colesterolului de către citratul administrat împreună cu $AlCl_3$, creșterea acestuia se datorează probabil unei afectări hepatice în care LDL nu poate fi transformat de către ficat în HDL. Administrarea de aluminiu concomitent cu fluorul determină scăderea nivelului de HDL și LDL, probabil pe baza faptului că fluorul scade activitatea lipazei, așa cum s-a determinat în studii experimentale similare. Metabolismul glucidelor este slab afectat în experiment. ALAT crește la loturile E_I cu 26% față de control și E_{II} cu 155% față de control dar scade la E_{III} cu 17%. Variația ALAT este asociată de obicei cu modificări celulare hepatice pentru că hepatocitele conțin o cantitate mare de ALAT. Fosfataza se corelează bine cu ALAT în afecțiunile hepatice, iar rezultatele experimentului nostru confirmă acest lucru. O creștere de aproximativ două ori a leucocitelor la lotul experimental E_I poate fi pusă în legătură cu apariția unui proces inflamator la locul injectării subcutane de clorură de aluminiu. Posibil ca creșterea numărului de trombocite la lotul experimental E_I să se datoreze efectului coagulant al clorurii de aluminiu administrat, care se observă și la lotul E_{III} dar în mai mică măsură ca efect al fluorurii. În schimb citratul prin efectul anticoagulant pe care îl exercită împiedică coagularea sângelui, fluidificându-l. Modificarea la loturile experimentale a procentului sanguin de eozinofile față de lotul de control indică din nou apariția unei inflamații în corp care probabil că este datorată necrozei țesutului în locul de injectare a soluțiilor administrate deoarece se știe că aceste celule apar când în corp apare un proces inflamator, având rolul de a omorî bacteriile și de a regla reacțiile mediate de IgE.

4.3.2. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA UNOR FORMAȚIUNI ALE SISTEMULUI LOCOMOTOR

Investigarea efectelor aluminiului asupra organismului la animale de experiență este pe deplin justificată datorită necesității de cunoaștere a efectelor induse asupra diferitelor aparate și sisteme. Aluminiul apărut în mediul intern indiferent de forma în care accede (soluții, pulberi, etc.) poate să intervină în diverse procese metabolice, poate interfera cu metaboliții proveniți din nutrienți și cu bioconstituenții existenți în organism. În acest mod se produc efecte dishomeostazice cu repercursiuni importante din punct de vedere morfofiziologic.

Experiențele efectuate pe animale, deși nu întrunesc integral circumstanțele specifice omului, pot oferi totuși o imagine asupra mecanismelor moleculare ale interacțiilor biochimice, a efectelor și a măsurilor conexe importante în profilaxie și terapeutică.

4.3.2.1. DISTRIBUȚIA ÎN OASE

Există date care pot confirma că aluminiul este un factor esențial în patogeneza unei forme de osteomalacie a distrofiei la pacienții suferinzi de insuficiență renală cronică. Osteomalacia indusă de aluminiu este progresivă, asociată cu o miopatie și este relativ rezistentă la terapia cu vitamina D sau a metaboliților acesteia (Achenbach et al., 1982; Wills și Savory, 1983). Sursa de aluminiu este fără îndoială lichidul de dializă și în unele cazuri de medicamente care conțin fosfor legat. Conform celor prezentate de Achenbach et al. (1985), s-a observat că pacienții cu hiperparatiroidism care prezintă o activitate metabolică intensă la nivel osos, pot tolera câțiva ani o mare cantitate de aluminiu ingerată, în timp ce la pacienții cu un metabolism osos lent apar deficiențe și probleme medicale chiar și la o ingestie moderată de aluminiu. S-a constatat că lactatul de aluminiu în doză de 57 mg aluminiu/kg corp produce toxicitate incluzând slabă osificare, variații scheletale, etc., (Colomina et al., 1992). Adevărul este că patogeneza aluminiului care induce osteodistrofie nu este încă pe deplin elucidată. S-a presupus că inhibă eliberarea

parathormonului sau aluminiul exercită un efect toxic direct, deoarece acesta a fost detectat în mitocondriile osteoblastelor, în macrofagele oaselor și în frontul calcifiant. Totuși se pare că acțiunea aluminiului asupra celulelor osoase cu o hiperosteogeneză este modulată de către parathormon (Wills și Savory, 1983). Simptomele care apar în astfel de cazuri sunt: dureri, care apar la mai mult de un an de la dializă; fracturi de coaste, care apar la aproximativ trei ani de la dializă; fracturi ale celor mai utilizate oase în mișcările mecanice (pelvis, femur), după patru ani de la dializă.

Toate simptomele menționate mai sus sunt asociate cu utilizarea unui aparat de dializă tip KNA 302 cu pompă de aluminiu. Diminuarea nivelului de aluminiu din lichidul de dializă sau utilizarea unui alt aparat stopează evoluția osteomalaciei și induce mineralizarea fracturilor după 6-12 luni. În orice caz este clar că osteomalacia de dializă este reversibilă chiar dacă este într-o lungă perioadă de timp, în timp ce din păcate encefalopatia de dializă este fatală. Deoarece aluminiul plasmatic nu constituie un criteriu de evaluare reală a unei supraîncărcări a organismului cu aluminiu la pacienții cu insuficiență renală dializați, Dietl et al., (1997) sunt de părere că se cere neapărat o evaluare a aluminiului din țesutul osos. Într-un studiu efectuat pe pacienți cu insuficiență renală dializați la care s-au prelevat probe de țesut osos înainte și după transplant renal, autorii au constatat că concentrația de aluminiu descrește semnificativ de la 13,0μg/g țesut umed la 7,2μg/g țesut umed. Același autor apreciază că concentrația de aluminiu în osul pacienților sănătoși este de <6,0 μg/g țesut umed, p<0,02 (Dietl et al., 1997).

Se prezintă în tabelul 4-17, variația microelementelor studiate la grupurile control și experimentale.

Tabel 4-17. Variația concentrației de microelemente în os (μg/g țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Zn	μg/g	122.0±13.0	155.0±28.9*	+33.0	126.0±18.0	+4.0	153.0±10.0*	+31.0
Fe	μg/g	45.79±4.86	58.48±7.35*	+12.69	45.86±3.49	+0.07	42.84±10.75	-2.95
Mn	μg/g	0.50±0.11	1.12±0.20*	+0.62	0.61±0.07	+0.11	2.47±0.14*	+1.97
Cu	μg/g	4.90±1.30	2.88±0.23*	-2.02	5.16±1.79	+0.26	1.44±0.15*	-3.46
Al	μg/g	21.92±4.31	30.52±3.09*	+8.60	38.6±11.75*	+16.68	20.94±1.97	-0.98

*p<0.05

Osul este compus dintr-o matrice organică "întărită" de depozite de săruri de calciu. Sărurile cristaline depozitate în matricea organică a osului sunt compuse în principal din calciu și fosfat iar compusul principal este hidroxiapatita. Magneziul, sodiul, potasiul carbonatul sunt de asemenea prezenți, conjugați în hidroxiapatită mai degrabă decât organizați în cristale proprii. Mulți alți ioni au abilitatea de a se conjuga cu cristalele osului și aceștia sunt: stronțiu, uraniu, plutoniu, plumb, aur, alte metale grele și cel puțin 9 din 14 din principalii produși radioactivi eliberați la explozia unei bombe de hidrogen.

În mod normal, sărurile de calciu din os nu precipită, dar în condiții anormale, apare acest fenomen. De exemplu, aceste săruri precipită în pereții arteriali în caz de arteroscleroză. Uneori, sărurile de calciu formează depozite în țesuturi degenerate (Guyton, 1986).

Pacienții hemodializați prezintă acumulare de aluminiu în oase, fără modificare substanțială a mineralizării osoase. Situația a fost comparată ca și efect cu administrarea la șobolani prin injecții intraperitoneale a clorurii de aluminiu, pe o perioadă de 3 luni, când după 8 săptămâni s-a constatat osteomalacia. Aluminiul crescut în os și osteomalacia au persistat timp îndelungat și după întreruperea tratamentului (Ellis et al., 1979 în <http://www.jcp.bmjournals.com/cgi/content/abstract/32/8/832>).

Aluminiul și fierul se depozitează în os în zona nucleelor de calcifiere la șobolani hrăniți cu dietă săracă în calciu, inhibând osteogeneza normală (Konishi et al., 1996).

În experimentul nostru, fierul crește la lotul E_I față de control de la 45.79μg/g la 58.48μg/g, celelalte loturi experimentale nu arată modificări ale conținutului în fier, așa cum se vede în tabelul 4-X₁₆, care arată modificările conținutului osos de microelemente.

În prezentul experiment, concentrația zincului din os crește la administrare de clorură de aluminiu și clorură de aluminiu asociat cu fluorură cu 27% în E_I și respectiv 25% în E_{III}, sugerând că fluorura nu are prea mare influență asupra absorbției aluminiului în os.

Pentru a ilustra mai bine cele observațiile făcute pe marginea tabelului 4-17, se prezintă în figura 4-7 sub formă de histogramă concentrația de microelemente în os la lotul de control și cele experimentale.

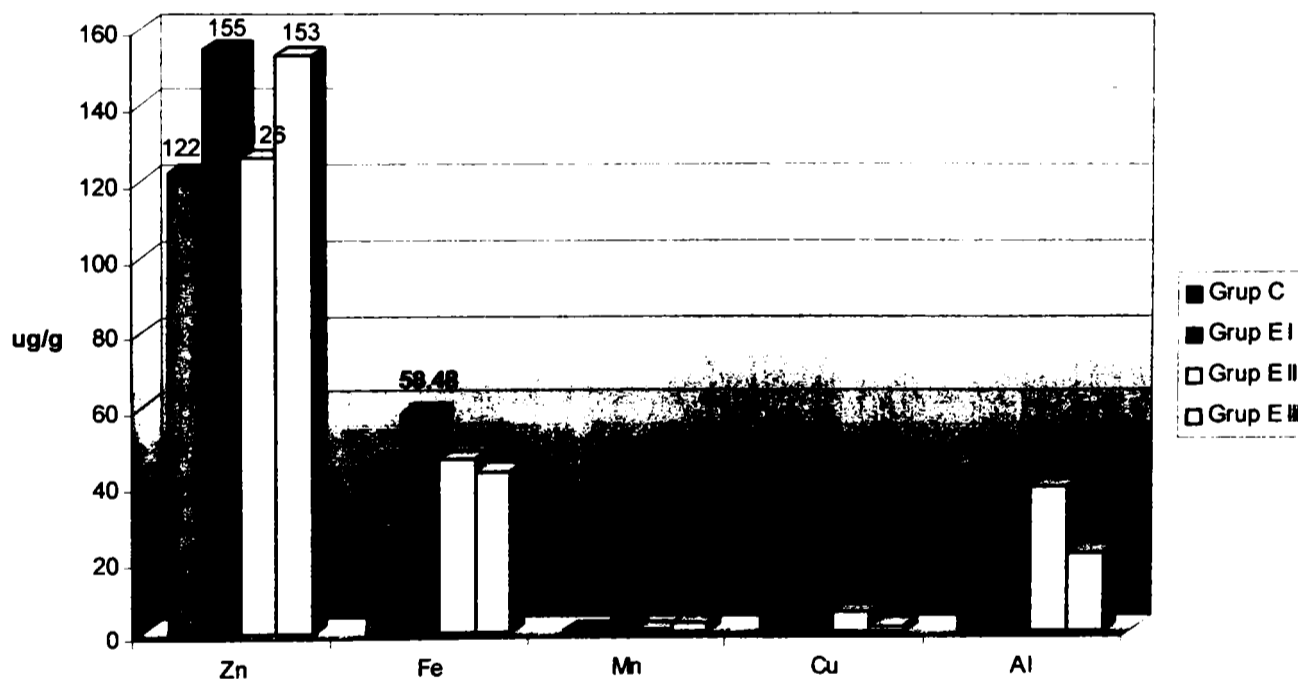


Figura 4-7. Variația concentrației de microelemente în os

La administrare de clorură de aluminiu cu citrat, cuantumul de zinc din os nu se modifică semnificativ față de control. Același sens de variație îl are manganul din os, a cărui concentrație crește la loturile E_I și E_{III} cu 124% și respectiv cu 394% față de control dar nu variază semnificativ la E_{II}. Spre deosebire de zinc și mangan, cuprul variază în sens invers, prezentând o scădere de concentrație la loturile E_I (40%) și E_{III} (60%), crescând în schimb în os la E_{II} (20%). Se poate observa de asemenea, stabilitatea concentrațiilor în micrometale la lotul la care se administrează citratul, spre deosebire de țesuturile moi, unde excesul de citrat administrat, determină depleția concentrațiilor acestora.

În ce privește conținutul osos de metale alcaline și alcalino-terose, situația acestora la grupul de control și experimentale este prezentat în tabelul 4-18.

Tabel 4-18. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în os (μg/g țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Na	μg/g	2759±237	3542±583*	+783	3143±568	+384	3128±337*	+369
K	μg/g	1802±401	3302±310*	+1500	2055±66	+253	1964±153	+162
Mg	μg/g	2029±132	2334±46*	+305	1876±85*	-153	3676±343*	+1647
Ca	μg/g	20592±2810	27220±2334*	+6628	16140±1406*	-4452	27948±3264*	+7356

*p<0.05

Din punct de vedere al razelor, Al³⁺ este apropiat ca mărime de Fe³⁺ și Mg²⁺. Din acest motiv, în sistemele biologice, Al³⁺ va fi competitiv cu Mg²⁺. Ambii ioni au afinitate pentru donorii de oxigen, în special grupele fosfatice. Oriunde există un process care implică Mg²⁺, există șansa ca acesta să fie influențat de prezența Al³⁺ (Martin, 1988- citat de Nicolini et al., 1991).

Cuantumul scăzut de magneziu se manifestă prin tetanie, o boală care afectează rumegătoarele, caracterizată de spasme musculare. Tetania apare în condiții de magneziu scăzut în iarba proaspătă (primavara) și în serul animalelor. În 1971 s-a sugerat că se poate datora conținutului ridicat de aluminiu și scăzut în magneziu al ierbii, și se recomanda folosirea fertilizatorilor pe bază de fosfat.

În cazul experimentului nostru, magneziul seric crește în E_I cu 30% comparativ cu grupul martor, posibil datorită îndepărtării acestuia din enzimele în care este implicat în organism. În E_{II} citratul îndepartează și elimină magneziul din corp, precum și alte metale. Acest aspect a fost relatat în 1984 de către Carlisle - citat de Nicolini et al. (1991), și anume că aluminiul leagă puternic ATP-ul, în locul magneziului, care poate fi îndepărtat însă de citrat.

Reluând aspectele legate de concentrația de calciu și magneziu în ser, pentru grupul E_{II} și E_{III} se observă că nu s-au înregistrat modificări ale magneziului seric, în raport cu controlul. Calciul seric are aceeași evoluție ca magneziul seric în grupul E_I față de control, dar creșterea este de doar 19%. Raza

ionului de Ca^{2+} este mult mai mare decât a Al^{3+} și în sistemele biologice, Al^{3+} va fi competitiv cu Mg^{2+} mai degrabă decât cu Ca^{2+} (Pup et al., 2005).

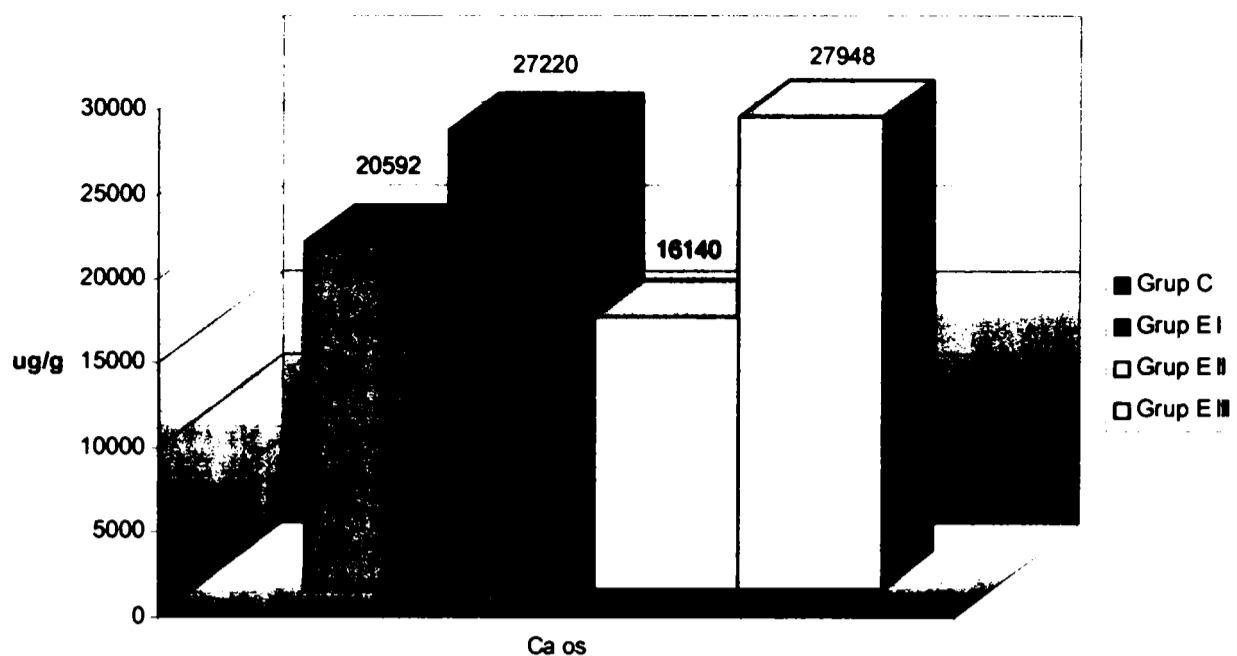
Dacă în ser modificările sunt semnificative la magneziu și calciu doar ca urmare a administrării de clorură de aluminiu, situația în os este diferită și anume calciul și magneziul se modifică semnificativ la toate loturile experimentale. Se știe că retenția de magneziu este mai rar întâlnită în patologie și apare în următoarele circumstanțe : magnezioterapie parenterală excesivă, dar care nu este periculoasă decât atunci când valoarea magneziemiei este de cinci ori mai mare decât normalul ; hipoxia și acidoza metabolică, respiratorie sau mixtă, care apare datorită eliminării magneziului din celule, deși ionul de Mg^{2+} este mult mai stabil din acest punct de vedere comparativ cu cel de K^{+} ; în nefropatii, când magneziul seric crește și numărul de nefroni funcționali este redus sub 25%. Prezența constantă a hiperagneziemiei s-a remarcat la bolnavii uremici .

În 1989, Froment arată că ceea ce are o mare influență asupra absorbției aluminiului este administrarea unui compus cu aluminiu care tranzitează mai facil vilozitățile intestinului subțire. Studiul este făcut prin administrarea citratului. Citratul de aluminiu nu este numai ușor solubil față de alți compuși cu aluminiu, dar citratul, probabil datorită efectului de chelatare a calciului, deschide canalele paracelulare, ceea ce are ca rezultat o creștere a absorbției aluminiului. Acest aspect este vizibil în tabelul 4-17, unde aluminiul în os crește când citratul este administrat. Excesul de citrat, determină eliminarea din os a calciului și magneziului.

Teoretic, toate țesuturile pot stoca aluminiul, în caz de exces administrat, osul fiind cel mai afectat de acumulare. Nivelul plasmatic de aluminiu nu se corelează bine cu statusul acestuia în țesuturi (Alfrey, 1983).

Toxicitatea aluminiului și acumularea în urma unei expuneri îndelungate, au fost considerate ca fiind cauze de osteoporoză. În tabelul 4-18, este vizibil că aportul de aluminiu în exces nu determină o scădere a calciului în os, aluminiul crescând în concentrație la grupul experimental E_I și E_{II} . Calciul seric evoluează în același fel.

Comparativ cu grupul de control, aluminiul în os crește după administrarea de clorură de aluminiu (40%) și mai mult, când aluminiul este administrat în asociație cu citratul (78%). Magneziul are o mică variație în E_I , în sensul creșterii, ceea ce este neașteptat pentru acest caz și descrește când aluminiul este administrat cu citrat.



Fi

gura 4-8. Variația concentrației de calciu din os

O restricție a aportului de fosfat printr-o dietă săracă în fosfor, plus administrare de hidroxid de aluminiu sau carbonat de aluminiu poate determina o hipofosfatemie și o hipercalcemie. Concentrația sanguină a fosfatazei alcaline depinde de gradul interesării osoase. Aceasta poate fi minimă și în acest caz valoarea fosfatazei este normală. În sânge întâlnim în special un grup de fosfomonoesteraze care acționează diferit în funcție de reacția ionică a mediului (pH), de viteza cu care hidrolizează glicerofosfatul și de prezența unor efectori, în particular ionul de magneziu. Din analiza figurii 4-3 se observă o creștere a magneziului în os și a fosfatazei alcaline (subcapitolul 4.3.1.1.) după administrare de clorură de aluminiu. Asocierea cu citratul, determină o scădere a fosfatazei alcaline serice, ca urmare a scăderii magneziului seric. Creșterea activității fosfatazei alcaline, determină într-o oarecare măsură fixarea calciului și fosforului (Marshall și Bangert, 2004).

O creștere exagerată a fosfatazei alcaline la om se înregistrează în anumite afecțiuni în care există o activitate crescută a osteoblastelor printre care osteomalacia (care este condiționată atât de aport îndelungat cât și de procese de bioacumulare de aluminiu) și osteoporoza. Creșterea calciului și magneziului în experimentul nostru la aport de clorură de aluminiu se pot explica prin fosfataza alcalină care crește moderat și poate determina creșterea calciului din os și mediul acid creat de soluțiile administrate care determină o afectare a rinichiului, ce nu îndepărtează eficient magneziul (Tănăsescu, 1966).

O creștere în conținutul osos de magneziu poate fi observată în grupul E_{III} unde aluminiul este administrat în asociație cu fluorură. Într-un studiu pe șobolani, Cerklewski (1987) determină influența magneziului din dieta asupra biodisponibilității fluorurii. Astfel, șobolanii hrăniți cu o dietă săracă în

magneziu, au prezentat o reducere semnificativă a magneziului din femur și a celui plasmatic. Doza de fluorură administrată a fost de 2 ppm și administrarea s-a făcut zilnic, timp de 6 săptămâni. S-a constatat că o dietă săracă în magneziu, crește semnificativ absorbția de fluorură așa cum magneziul în doză ridicată scade absorbția de fluorură. Evoluția în experimentul nostru a fost descreșterea nivelului de magneziu în os când se administrează fluorură. Se pare ca doar fluorura are acest efect asupra magneziului osos, administrarea aluminiului concomitent, produce un efect opus.

Una din dificultățile în evaluarea toxicității fluorurii, este reprezentată de toleranța diferită nu doar între specii, dar și între indivizii din aceeași specie. Underwood în 1977 notează faptul că toleranța la fluor depinde de specie și vârstă, forma chimică, durata și continuitatea ingestiei, și compoziția dietei, starea de nutriție, factorii de stres, factori individuali. NaCl și unele elemente ca Al, Ca, Fe, Mg, formează complecși cu fluorul reducând absorbția intestinală a acestui element. Una din cauzele rapidei dispariții a fluorului din sânge, este fixarea acestuia. La o expunere scurtă la fluor, acest ion este integrat în hidroxiapatită, procesul depinzând de vascularizația osului, conținutul în minerale al osului și altele.

Caverzasio et al. (1996), a arătat că urmele de aluminiu măresc transportul fosfatului anorganic indus de fluorură în osteoblaste, sugerând faptul că complexul fluoroaluminat poate fi răspunzător de reglare unor căi biochimice induse de fluorură. Fluorura de sodiu este cunoscută demult ca un stimulator în formarea osului. Caverzasio et al. 1996 au administrat fluorură și aluminiu subcutan la șobolani timp de 8 luni. Rezultatele indică faptul că combinația dintre fluorură și aluminiu, modulează factorul de creștere (tirozin-chinaza dependentă) activând protein- chinaza și proliferarea osteoblastică precum și masa osoasă.

Concluzii care rezultă referitor la efectului administrării de aluminiu asupra osului pot fi sintetizate astfel: când este administrat în exces, aluminiul se acumulează în os. Chiar și în cazul unei expuneri pe durată scurtă de timp, aluminiul în os a crescut cu 40% în E_I și cu 78% în E_{II} comparativ cu grupul de control. Cum s-a arătat, fluorura este un antagonist al magneziului. În asociere cu clorura de aluminiu, în dozele din experiment, magneziul în os crește. Nivelul seric al magneziului nu scade la administrarea de fluorură. Se pare că fluorura reușește să limiteze mobilitatea aluminiului, modificarea concentrației de aluminiu în os nu se produce la grupul E_{III}. În condițiile experimentale date când fosfataza alcalină crește moderat, crește magneziul și calciul seric, în același sens se modifică și magneziul și calciul osos, chiar în condiții de acumulare de aluminiu în os, la lotul E_I și E_{III} care la timp de expunere mare îndepărtează cele două biometale din os, după cum s-a observat în experimente de administrare de aluminiu pe termen lung. Se produce modificarea concentrației de zinc și mangan precum și cea de cupru, cea mai spectaculoasă fiind modificarea cuantumului de mangan, cu 124% la E_I și 394% la E_{III} față de lotul de control.

4.3.2.2. DISTRIBUȚIA ÎN MUȘCHIUL STRIAT

Observând variația conținutului de microelemente în mușchi, se constată că mușchiul acumulează aluminiu după administrarea de clorură de aluminiu, în condițiile experimentale date. Citratul nu mărește în acest caz biodisponibilitatea aluminiului. Efectul rezidă în îndepărtarea din țesut a acestuia probabil datorită unui exces prea mare administrat. Fluorura pare să limiteze mobilitatea aluminiului, concentrația în E_{III} fiind chiar mai mică decât în grupul de control. În general, acumularea de aluminiu în mușchi, duce la o scădere a cantității celorlalte biometale studiate, așa cum se vede în tabelul 4-X₁₉. Din figura 4-n₉ se poate observa sensul de variație al microelementelor studiate și se vede că aluminiul prezintă o creștere a concentrației la lotul E_I de aproximativ 100% , scăzând la celelalte loturi experimentale. Zincul și fierul scad în mușchi la toate loturile comparativ cu controlul, manganul fiind singurul element a cărui concentrație crește la administrare de clorură de aluminiu și respectiv clorură de aluminiu asociată cu fluorură și scade sub valoarea lotului de control la E₂, probabil din cauza citratului.

Tabel 4-19. Variația concentrației de microelemente în mușchi (μg/g țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E ₂ $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E ₃ $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Zn	μg/g	21.32±7.07	12.64±0.84*	-8.68	14.72±3.81*	-6.6	11.14±2.53*	-10.18
Fe	μg/g	10.22±1.58	8.30±2.90	-1.92	8.13±2.28	-2.09	8.97±0.63	-1.25
Mn	μg/g	0.61±0.17	0.84±0.78*	+0.23	0.20±0.06*	-0.41	0.77±0.07	+0.16
Cu	μg/g	2.98±1.12	1.56±0.52*	-1.42	1.85±0.39	-1.13	3.12±0.89*	+0.14
Al	μg/g	9.32±0.96	22.9±2.56*	+13.58	5.12±1.31*	-4.2	6.42±1.45*	-2.9

*p<0.05

Modificarea concentrațiilor de zinc și mangan se pot datora unei influențe asupra enzimelor conținând cele două metale ca și cofactor. Aluminiul se acumulează în mușchi în grupul E_I, dar descrește semnificativ la grupurile E_{II} și E_{III}. La primele două grupuri experimentale, variația manganului se produce în același sens cu a aluminiului. În orice caz, în afară de modificarea spectaculoasă a aluminiului în mușchi la administrare de clorură de aluminiu, variația celorlalte microelemente studiate, chiar dacă este semnificativă nu relevă modificări importante ale acestora, exceptând zincul. Figura 4-9 prezintă grafic variațiile de concentrație a microelementelor studiate în mușchi.

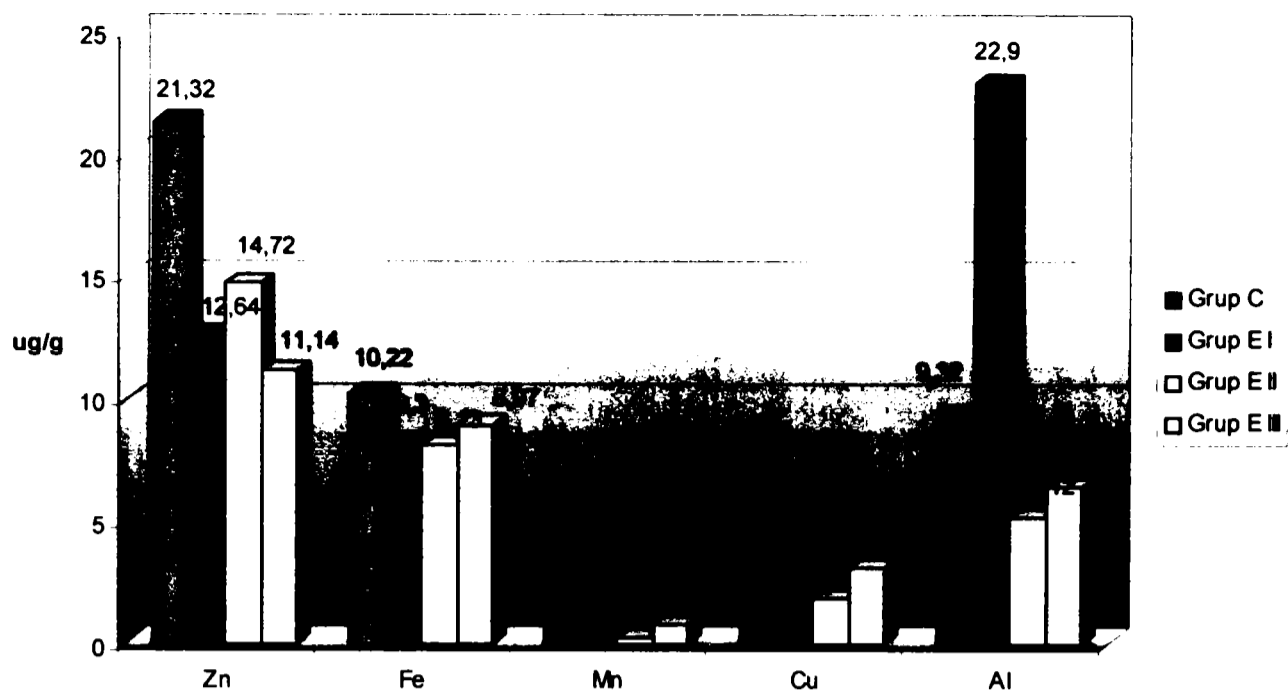


Figura 4-9. Variația concentrației de microelemente în mușchi

Tabelul 4-20 prezintă variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în mușchi. Proprietățile electrice ale mușchiului sunt determinate în măsură mare de concentrația acestor bioelemente.

Tabel 4-20. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în mușchi ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Na	$\mu\text{g/g}$	589 ± 98	$482 \pm 33^*$	-107	537 ± 61	-52	563 ± 102	-26
K	$\mu\text{g/g}$	4125 ± 284	$4902 \pm 103^*$	+777	4189 ± 116	+64	4241 ± 500	+116
Mg	$\mu\text{g/g}$	187 ± 13	$259 \pm 26^*$	+72	$262 \pm 19^*$	+75	$239 \pm 39^*$	+52
Ca	$\mu\text{g/g}$	6.84 ± 0.72	$8.58 \pm 0.96^*$	+1.74	$3.72 \pm 1.20^*$	-3.12	$8.04 \pm 2.00^*$	+1.2

* $p < 0.05$

Sodiul și potasiul se modifică semnificativ doar la lotul experimental E_I, scăderea de sodiu, determinând o creștere a potasiului, sugerând un antagonism între cele două elemente.

Cu creșterea aluminiului în mușchi, la lotul E_I crește concentrația de calciu, chiar și după asocierea clorurii de aluminiu cu fluorură în E_{III}. Similar altor organe analizate în experiment, se pare că se produce o blocare a eliminării calciului intracelular și o dovadă în plus a puternicei interferențe a aluminiului cu calciul în sistemele biologice.

În fiziologia neuro-musculară se cunoaște încă de la începutul secolului că excitabilitatea musculară depinde de concentrația următorilor ioni: Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , Na^+ , K^+ , HCO_3^- , HPO_4^{2-} . Din formula lui Szent-

Gyorgy (citat de Miu și Drăgătoiu, 2000) privind excitabilitatea neuromusculară, magneziul la fel ca și calciul se găsește la numitor. Creșterea proporției ionilor de la numărător și scăderea celor de la numitor duce la creșterea excitabilității neuromusculare:

$$k = \frac{K^+ \times HCO_3^- \times HPO_4^{2-}}{Ca^{2+} \times Mg^{2+} \times H^+}$$

În celule, magneziul menține potasiul în interior prin activarea pompei Na/K (reducând astfel și pericolul încărcării celulei cu calciu), prin complexul ATP-Mg²⁺ și prin activarea ATP-azei, controlând astfel schimburile la nivel membranar, cu menținerea gradientului de concentrație electrolitică. Se cunoaște faptul că deficitul de magneziu, antrenează un deficit celular de potasiu (și nu numai, pentru că există o eliminare renală, chiar și în condiții de deficit), cu o tendință la resorbție hidrosodică, stare insensibilă la aportul de potasiu, dar magnezio-curabilă. Se presupune că acest fapt se datorează unui mecanism celular, legat de rolul magneziului asupra permeabilității membranei. Asupra fibrei musculare striate și netede, prin scăderea excitabilității, magneziul crește randamentul muscular, participând la stocarea și utilizarea energiei alături de potasiu.

Relațiile dintre magneziu și sodiu apar manifeste în cadrul mecanismului de reabsorbție renală al acestor două elemente. Rezultatele obținute de diferiți autori nu sunt concordante, ceea ce împiedică tragerea unei concluzii categorice (Miu și Drăgătoiu, 2000). Conform aceluiași autori, chiar dacă relațiile dintre metabolismul calciului și magneziului au fost studiate, nu s-a ajuns la o părere unanimă. Astfel, unii autori consideră că excesul de calciu în lumenul intestinal inhibă absorbția de magneziu și invers, iar alții cred că excesul de calciu nu scade absorbția de magneziu. Pe baza experiențelor proprii, Miu și Drăgătoiu (2000), afirmă că o încărcare cu magneziu (chiar în condiții de deficit) poate determina un deficit calcic, iar un aport sistematic și exagerat de calciu, poate induce hipomagneziemie. În general, relațiile calciu-magneziu depind de intervenția hormonului paratiroidian, al calcitoninei și al vitaminei D.

S-a dovedit că o scădere chiar ușoară a pH-ului sanguin duce la o scădere semnificativă a magneziului muscular. Această hipermagneziemie este în mod obișnuit tranzitorie dacă funcția renală este normală (Miu și Drăgătoiu, 2000). Creșterea magneziului muscular și o ușoară hipermagneziemie în experimentul nostru poate fi consecința scăderii pH-ului sângelui, la administrarea soluțiilor experimentale, care au avut caracter acid.

Studiind evoluția concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în mușchi la grupul experimental E₁, consecutiv administrării de clorură de aluminiu, se observă creșteri la potasiu, magneziu și calciu și scăderea la sodiu. Putem explica această evoluție după acumularea de aluminiu în mușchi, prin faptul că destabilizând sistemele enzimice în care magneziul este implicat, aluminiul poate determina o temporară acumulare de magneziu în mușchi. Așa cum am arătat anterior, magneziul variază în același sens

cu potasiul. Creșterea calciului în mușchi, poate fi o consecință a acumulării intracelulare a calciului, urmare a afectării membranei celulare de către aluminiu și implicit a transportului calciului. Citratul administrat concomitent cu clorura de aluminiu, determină o scădere a calciului în mușchi, creștere a magneziului, manifestându-se în acest caz antagonismul cunoscut între cele două biominerale. La lotul E_{III}, după administrarea concomitentă de aluminiu și fluorură situația seamănă cu cea de la lotul E_I, unde și calciul și magneziul cresc față de control în același raport, sugerând că implicarea fluorurii în acest caz este minimă, această variație asemănătoare între E_I și E_{III}, părând că se datorează acumulării de aluminiu.

Concluziile asupra efectului produs în mușchi de administrarea de soluții cu conținut de aluminiu pot fi sintetizate astfel: aluminiul se acumulează în mușchi la administrare de soluție cu conținut de AlCl₃ în grupul E_I când variază de la 9.32μg/g la control la 22.9μg/g, paralel cu creșterea cuantumului muscular de Mn cu 38% și depleția conținutului muscular de Fe cu 19%, Zn cu 41% și Cu cu 48 %. Se constată că citratul administrat concomitent cu AlCl₃ la grupul E_{II} determină în general scăderea concentrației de microelemente studiate, ducând la ipoteza unui exces prea mare administrat. Se observă o acumulare de calciu în mușchi ca urmare a aportului de aluminiu în lotul E_I de la 6.84μg/g în grupul de control la 8.58μg/g și la grupul E_{III} la 8.04μg/g , influența aluminiului asupra metabolismului calcic este evidentă, probabil se produce o acumulare intracelulară de calciu, probabil consecutivă dishomeostaziei induse de aluminiu. Potasiul variază în același sens cu calciul crescând față de control cu 19% la lotul E_I, iar relația calciului cu magneziul pare în acest caz sinergică.

4.3.3. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA UNOR ORGANE DIN SISTEMUL CIRCULATOR

În cadrul acestui subcapitol se redau rezultatele experimentelor întreprinse, evidențiindu-se aspecte referitoare la cord, ca organ central al sistemului circulator și splină, ca organ implicat în procesul de hematopoeză. Se prezintă date referitoare la concentrație și se urmăresc modificările homeostaziei cu evidențierea statusului acestora în relația sinergism- antagonism.

4.3.3.1. DISTRIBUȚIA ÎN CORD

Factorii exogeni specifici metabolismului hidroelectrolitic pot afecta miocardul, valvele, sistemul circulator, ceea ce conduce la o mai slabă pompare a sângelui. Trei cationi influențează proprietățile electrice ale cordului și anume calciul, potasiul și magneziul. Calciul are un important rol în inițierea contracțiilor miocardului, iar concentrația celorlalți ioni în lichidul extracelular este de asemenea important pentru circulația normală a inimii. Excesul de potasiu în lichidul extracelular face ca inima să fie extrem de dilatată, deoarece creează vasodilatație și să aibă ritmul încetinit. Un exces de calciu determină o comportare a cordului opusă efectului potasiului, determinând vasoconstricție. Un exces de ioni de sodiu scade funcția cardiacă, ca și ionii de potasiu. dar din motive diferite. Ionii de sodiu sunt competitivi cu ionul de calciu în funcționarea inimii. Creșterea concentrației ionilor de magneziu cauzează o puternică vasodilatație a cordului. Singurii anioni care au efect asupra vaselor de sânge sunt acetatul și citratul, ambele cauzează o vasodilatație medie. O creștere în concentrație a ionilor de hidrogen (scădere a pH) determină dilatarea arteriolelor (Masironi et al., 1979).

În tabelul 4-21, este prezentată variația concentrației de microelemente cercetate în experiment

Tabel 4-21. Variația concentrației de microelemente în cord ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Zn	$\mu\text{g/g}$	19.02±2.38	18.46±1.59	-0.56	17.98±1.47	-39.08	17.30±1.69	-1.72
Fe	$\mu\text{g/g}$	65.98±7.14	60.24±6.45	-5.74	45.08±6.33*	-20.9	56.76±5.20	-9.22
Mn	$\mu\text{g/g}$	0.53±0.08	0.52±0.06	-0.01	0.99±0.37*	+0.46	1.26±0.13*	+0.73
Cu	$\mu\text{g/g}$	5.68±1.09	6.42±1.32	+0.74	6.00±0.45	+0.32	4.82±0.71	-0.86
Al	$\mu\text{g/g}$	3.28±1.01	8.06±0.97*	+4.78	12.76±6.00*	+9.48	7.20±0.82*	+3.92

*p<0.05

Se constată o creștere a concentrației de aluminiu în cord în toate loturile experimentale, efectul de mobilizare a aluminiului de către citrat fiind evident în grupul E_{II} unde concentrația acestuia este cea mai ridicată, comparativ cu controlul (creștere a concentrației de 289%). De asemenea, se pare că la fel ca și în cazul mușchiului studiat, în miocard concentrațiile de aluminiu la loturile E_I și E_{III} sunt aproximativ egale sugerând că fluorura nu are prea mare influență asupra acumulării de aluminiu în cord, cel puțin nu în condițiile experimentului nostru. Astfel, dacă în lotul de control am determinat o concentrație de 3.28μg/g, concentrația aluminiului în E_I a fost 8.06μg/g; în E_{II} a fost 12.76μg/g iar în E_{III} s-au determinat 7.20μg/g.

Evidențe ale acumulării de aluminiu în cord există și a fost concluzia altor studii experimentale. La pacienții uremici s-a constatat că inima acumulează aluminiu (London et al., 1989). Studiile efectului aluminiului asupra proprietăților electrice și mecanice ale inimii de broască au arătat că aluminiul alterează forța contracțiilor mușchiului atrial. Explicația este că aluminiul alterează eliberarea calciului intracelular, fiind știut că acesta are efect asupra contracțiilor mușchiului cardiac (Meiri și Shimoni, 1991).

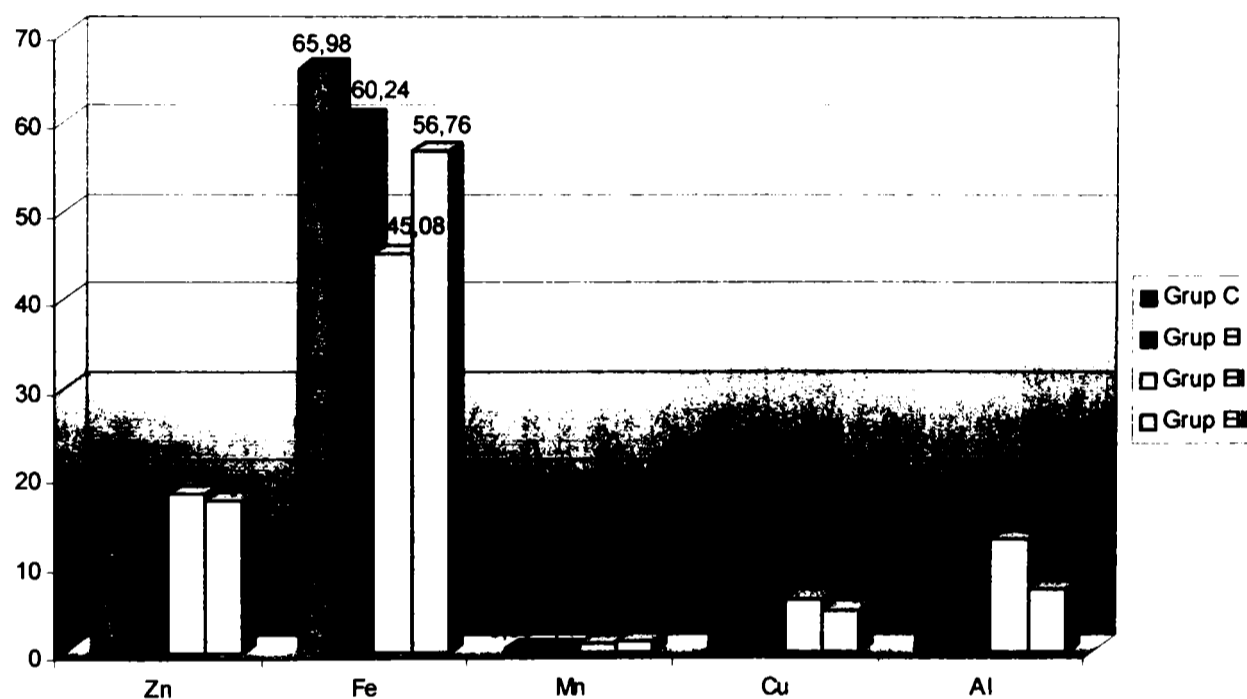


Figura 4-10. Variația concentrației de microelemente în cord

Administrarea intravenoasă de acetilacetonat de aluminiu la iepuri produce o acumulare masivă de aluminiu în inimă și o profundă cardiomiopatie cu multiple zone de hiperplazie interstițială, necroza țesutului muscular și miocardită (Zatta et al., 1987).

Se poate vedea din reprezentarea grafică a variației concentrației microelementelor din cord (figura 4-10), că fierul înregistrează o scădere pronunțată la administrare de citrat, care nu se observă la alte microelemente studiate. În general, alături de o importantă acumulare de aluminiu în cord la toate loturile experimentale, nu se observă modificări importante ale statusului ale microelementelor, situație

care se poate compara cu a mușchiului striat unde de asemenea nu am înregistrat modificări mari în cantumul elementelor metalice studiate.

În același timp însă se constată modificări la nivelul concentrației de calciu la grupuri experimentale comparativ cu grupul de control.

În tabelul 4-22 este prezentată variația concentrațiilor unor electroliți la grupul de control și grupurile experimentale. Se observă modificări ne semnificative ale Na, K, Mg la grupurile experimentale față de control.

Tabel 4-22. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în cord ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Na	$\mu\text{g/g}$	1256 \pm 136	1349 \pm 198	+93	1201 \pm 126	-55	1250 \pm 84	-6
K	$\mu\text{g/g}$	2881 \pm 351	2688 \pm 219	-193	2743 \pm 124	-138	3362 \pm 75*	+481
Mg	$\mu\text{g/g}$	191 \pm 18	184 \pm 18	-7	196 \pm 22	+5	211 \pm 39	+20
Ca	$\mu\text{g/g}$	9.08 \pm 1.43	23.94 \pm 5.17*	+14.86	1.67 \pm 0.27*	-7.41	15.34 \pm 0.61*	+6.26

* $p < 0.05$

Există numeroase dovezi care confirmă acumularea de aluminiu în cord, ceea ce duce la concluzia că acest organ poate constitui un organ țintă în intoxicațiile cu aluminiu și prezența aluminiului perturbă proprietățile electrice și mecanice ale cordului.

Această explicație se confirmă în cazul experimentului nostru la loturile experimentale E_I și E_{III}, unde odată cu acumularea de aluminiu în cord se constată și o creștere a concentrației de calciu în organul respectiv de 164% față de control la lotul E_I și de 69% la lotul E_{III} probabil, după cum s-a arătat, datorită blocării eliberării calciului intracelular. Excepție face grupul E_{II} unde efectul de eliminare datorat prezenței citratului care complexează puternic calciul duce la o scădere drastică a concentrației acestuia, respectiv 82%. În schimb, în condițiile de eliminare masivă a calciului în E_{II} acumularea de aluminiu este cea mai puternică (creșterea concentrației cu 290% față de control). Nu se înregistrează modificări notabile ale celorlalte microelemente din cord. De asemenea, nici concentrațiile sodiului, potasiului sau magneziului nu sunt afectate de condițiile experimentale, față de lotul martor.

În miocard activitatea magneziului este foarte legată de a calciului. Magneziul se comportă în miocard ca un antagonist al calciului, deprimând conductibilitatea și excitabilitatea, este un cardioprotector având efecte antihipoxice și antiischemice. Deficitul de magneziu poate induce o cardiomiopatie (Miu și Drăgătoiu, 2000).

Observând felul în care se modifică concentrația de aluminiu, calciu și fier din cord în figura 4-11, putem remarca faptul că în prezența citratului aluminiul se acumulează în cord mai mult în E_{II} decât la celelalte loturi, în timp ce citratul determină scăderea atât a fierului cât și a calciului.

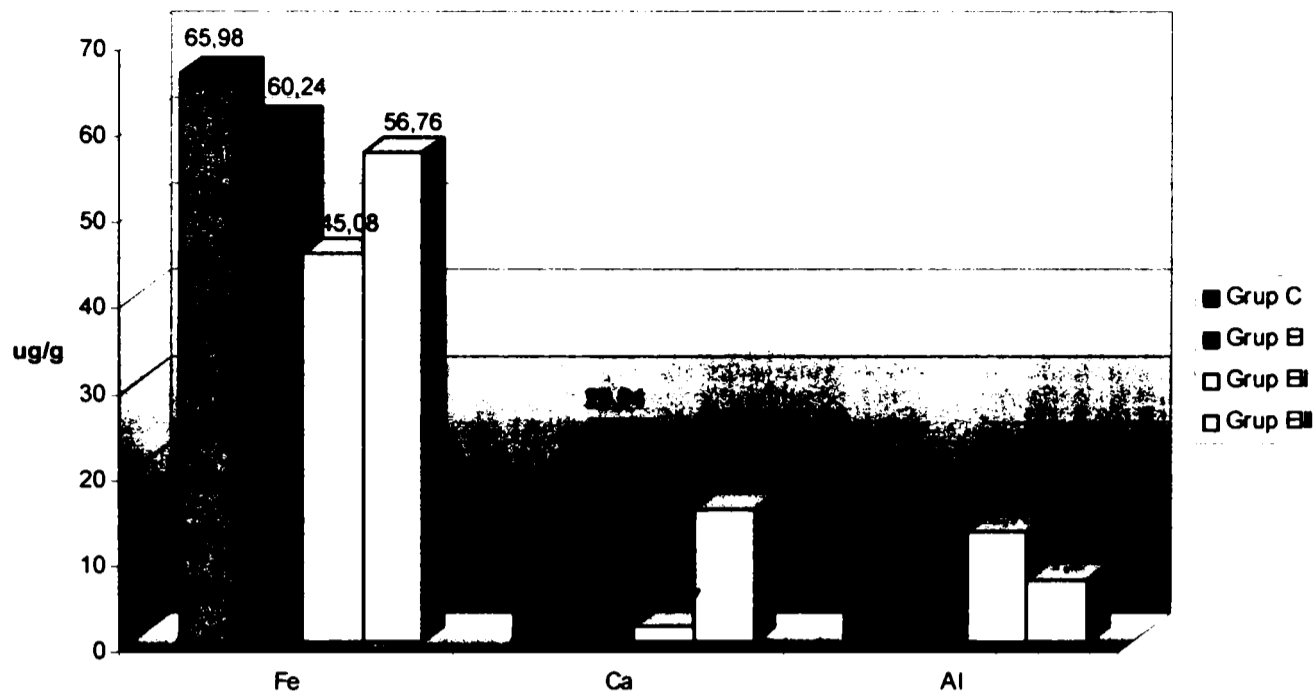


Figura 4-11. Date comparative privind concentrația de Fe, Ca, Al în cord

Observând figura 4-10 care arată distribuția microelementelor studiate în inimă, se vede că în comparație cu ficatul studiat, unde acumularea de calciu și fier consecutivă acumulării de aluminiu la E_{II} și legate de modificarea celorlalte microelemente cu rol de cofactori în enzime, duce la ipoteza apariției unui stres oxidativ la nivelul acestui organ, se pare că scăderea nivelului de calciu și fier din inimă la lotul E_{II}, precum și slaba modificare a micrometalelor determinate nu sunt o consecință a unor procese oxidative atât de puternice ca și în ficat.

S-a studiat efectul complexilor fluoroaluminați asupra circulației sângelui și s-a constatat o deteriorare a funcției cardiace la șobolani, după ce animalele au fost infuzate cu o soluție ce conține fluorură, în prezența sau absența clorurii de aluminiu (Dodam și Olson, 1995).

Concluziile privind efectului administrării aluminiului asupra cordului se pot rezuma astfel: aluminiul se acumulează în cord în condițiile experimentale date la lotul E_I, variind de la 3.28 μg/g în control la 8.06 μg/g și în lotul E_{III} de la 3.28 μg/g la 7.20 μg/g. De remarcat este afectul de mărire a mobilității aluminiului de către citratul administrat concomitent la lotul E_{II}, când creșterea conținutului de aluminiu în cord este spectaculoasă, de la 3.28 μg/g până la 12.76 μg/g corespunzând unei creșteri procentuale de 290%. Modificările de concentrație a celorlalte elemente sunt ne semnificative, cu excepția calciului, care crește la lotul E_I cu 164% față de control și la lotul E_{III} cu 69%, evoluând similar cu calciul din mușchi, dovedind de asemenea o perturbare serioasă a homeostaziei calcice determinată de aluminiu.

4.3.3.2. DISTRIBUȚIA ÎN SPLINĂ

La animalele mici, capsula splenică conține o mulțime de mușchi care în urma stimulării simpatică vor determina contracția splinei. Inhibiția simpatică, determină o expansiune a splinei cu posibilitatea de stocare a unei cantități mari de sânge. Abilitatea splinei de a stoca și de a elibera sânge este importantă mai ales la animalele mici, când anumite situații (de exemplu stres) necesită un volum mai mare de sânge în sistemul circulator și returnarea rapidă a sângelui în inimă este asigurată.

La om, capsula splenică nu prezintă musculatură, dar chiar și în acest caz dilatarea vaselor de sânge poate determina stocarea în splină a unei cantități mari de sânge. Sub influența unei stimulări simpatică, splina se contractă și trimite sângele în circulația generală. Pe parcursul vieții intrauterine, splina fătului produce celule roșii în același fel ca și măduva osoasă în adult. Aproape de naștere, splina fătului își pierde abilitatea de a produce celule roșii, dar în anumite cazuri (boli), continuă producerea acestora. Deci funcția hematopoetică a splinei, persistă și după naștere.

S-a demonstrat prin studii experimentale pe serul sanguin că cea mai mare parte din aluminiul seric la om se leagă de transferină, citrat, fosfat și complex Al- citrat-fosfat (Sanz-Medel et al., 2002). Se pare că nivelul plasmatic al aluminiului este un bun indicator al aportului de aluminiu, deși concentrațiile serice ale acestuia sunt mai scăzute decât în celelalte țesuturi (Savory et al., 1988, citați de Greger, 1993). Se menționează în acest sens, concentrația în:

- sânge total: 0,14-6,24 $\mu\text{g/l}$ (Soerensen et al., 1974 în http://europa.eu.int/comm/food/index_en.html, 1999) ;
- plasmă: 1-5 $\mu\text{g/l}$ (Greger , 1993); 100-200 $\mu\text{g/l}$ în intoxicațiile cronice și 500 $\mu\text{g/l}$ în intoxicațiile acute (Alfrey, 1991).

Alfrey (1986), a semnalat că splina este unul din cele mai expuse organe, în care după expunere la aluminiu, concentrația acestuia poate ajunge la 300-400 mg/kg, țesut umed.

În general, la pacienții cu insuficiență renală cronică apare și anemie "normocromă normocitică" datorită deficienței eritroproteinei renale. La pacienții dializați s-a observat că pe parcursul tratamentului a apărut o anemie hipocromă microcitică care ar putea fi controlată prin administrarea unui lichid de dializă sărac în aluminiu. S-a sugerat că toxicitatea aluminiului acționează asupra sintezei de anumite enzime, în special acid delta-aminolevulinic dehidrogenazei, care poate explica apariția porfiriei la unii pacienți care fac dializă. De asemenea, conform experimentelor efectuate de Alfrey și colaboratorii în 1983, anemia

hipocromă microcitară se pare că nu este asociată cu o carență de fier. Dar în cazul utilizării la dializă a unei ape deionizate, libere de aluminiu, aceste inconveniențe dispar.

Când aluminiul este ingerat în exces, acesta reduce absorbția altor metale, cum ar fi: calciu, fluor, fier, magneziu, fosfor, etc. Această proprietate este folosită pentru tratarea fluorozii și reducerea absorbției de fosfor la pacienții uremici (care au acid uric sanguin crescut). Interacțiunile de acest fel nu prezintă probabil riscuri de toxicitate la doze alimentare normale estimate la 3-14 mg/zi (conform raportului OMS, 1997). Apa ajută la aportul de aluminiu cu o medie de 100 μg/l în funcție de pH.

În cursul dializei făcute pentru purificarea sângelui la pacienții cu insuficiență renală cronică, aluminiul conținut de lichidul de dializă trece direct în plasma sanguină, cu o viteză de 20 ori mai mare decât normal.

Se prezintă în cele ce urmează concentrația de metale în splină la grupul de control și cele trei grupuri experimentale studiate.

Tabel 4-23. Variația concentrației de metale grele în splină (μg/g țesut umed)

Specificație	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Zn	μg/g	26.58±7.00	27.46±2.59	+0.88	24.06±4.74	-2.52	25.28±3.30	-1.3
Fe	μg/g	206±7	216±115	+10	166±10*	-40	153±4*	-53
Mn	μg/g	0.26±0.08	0.37±0.11	+0.11	1.06±0.44*	+0.8	0.37±0.12	+0.11
Cu	μg/g	6.22±2.05	6.28±0.70	+0.06	6.45±1.08	+0.23	2.81±1.21*	+3.41
Al	μg/g	2.26±0.16	35.20±2.43*	+32.94	16.56±2.39*	+14.3	26.30±8.69*	+24.04

*p<0.05

Trei sisteme organice sunt clar implicate în caz de intoxicație cu aluminiu: sistemul hematopoietic, sistemul nervos și sistemul osos.

În variația conținutului de metale grele al splinei (tabelul 4-23), în cazul experimentului nostru se constată o scădere semnificativă de fier la lotul experimental E_{II} de la 206μg/g la control până la 166μg/g și în lotul E_{III} de la 206μg/g la control până la 153μg/g din care se poate trage concluzia că față de administrarea de clorură de aluminiu, asocierea acesteia cu citrat sau fluorură duce la scăderea fierului din splină. Concomitent, față de control, acumularea aluminiului în splină este extrem de puternică la toate loturile experimentale, citratul în exces nu permite acumularea în E_{II} la nivelul E_I dar se pare că și efectul fluorurii de imobilizare a aluminiului, este mai vizibil în cazul splinei decât în alte organe. Am înregistrat astfel o concentrație de aluminiu de 2.26μg/g la control care crește la 35.20μg/g la E_I, 16.56μg/g la E_{II} și respectiv 26.30μg/g la E_{III}. Variații nesemnificative ale concentrațiilor de zinc și cupru în loturile E_I și E_{II} se pot observa din tabelul 4-23. De asemenea, manganul crește semnificativ în splină, după administrare de clorură de aluminiu cu citrat cu 308%.

În figura 4-12 s-a reprezentat variația concentrației de microelemente sub formă grafică la grupurile experimentale, comparativ cu grupul de control.

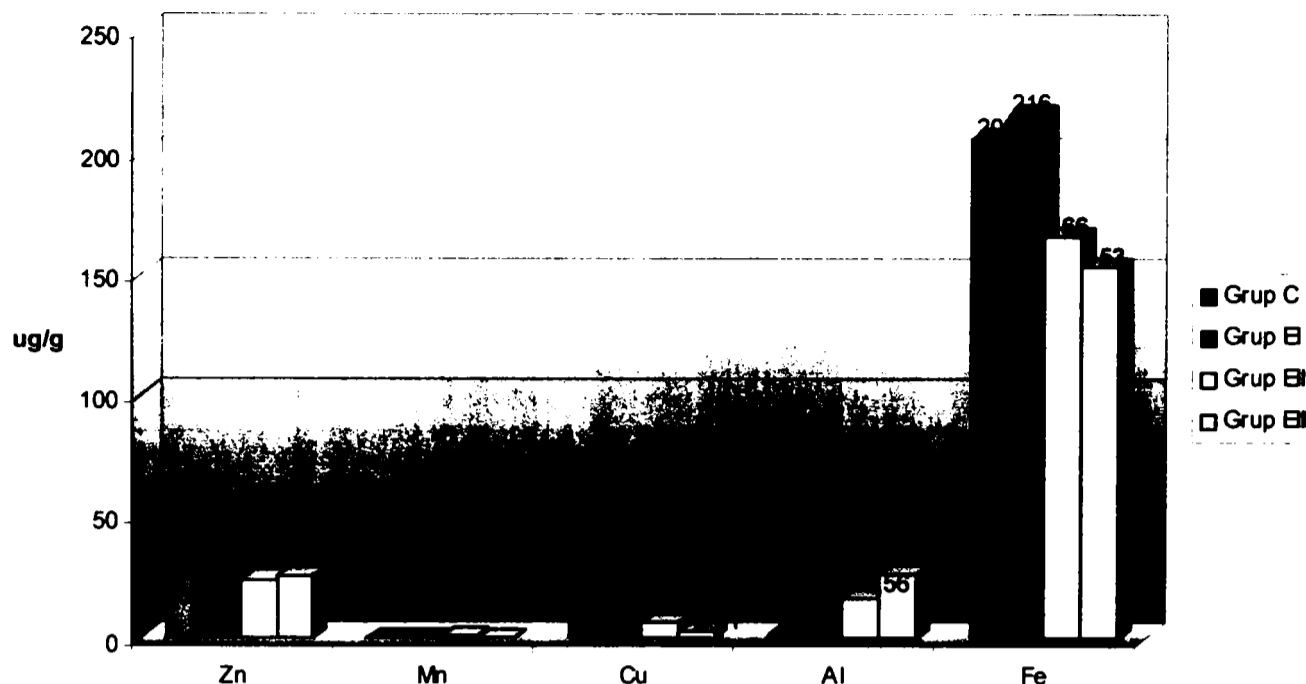


Figura 4-12. Variația concentrației de microelemente în splină

O scădere pronunțată a cuprului în E_{III} se corelează cu scăderea la același lot a fierului (figura 4-12). Cuprul este un microelement esențial, cu un rol important în producerea de hemoglobină alături de fier.

Acumularea masivă de aluminiu în splină, scăderea fierului în sânge ca urmare a acestei acumulări sunt dovezi care susțin faptul că sistemul hematopoietic a fost afectat și poate fi o explicație a scăderii cuprului în lotul experimental în discuție. Faptul că la loturile anterioare evoluția cuprului nu este semnificativă, în ciuda clare acumulări a aluminiului în splină, duce la presupunerea că fluorul asociat clorurii de aluminiu ar putea duce la această evoluție, mai ales că sunt cunoscute interrelațiile antagonice în anumite condiții ale cuprului cu fluorura (Mittal et al., 1987). De asemenea, aluminiul ca și fluorura determină în organism apariția de radicali liberi față de care reacția organismului se exprimă cel mai bine prin intermediul enzimelor din sistemul antioxidant de protecție și modificările de activitate ale enzimei Cu Zn-SOD pot determina variații ale Cu (2003, www.fluoride-journal.com/03-36-3/363-138.pdf).

Rezultatele obținute în prezentul experiment sunt confirmate în ce privește evoluția fierului și aluminiului în E_I și E_{II} de un studiu efectuat de Brown et al. în 1992. Plecând de la faptul că absorbția și acumularea de aluminiu în corp este inversă cu statusul fierului, s-a administrat clorură de aluminiu și clorura de aluminiu asociată cu citrat de sodiu la șobolani. Scăderea fierului, confirmată prin măsurarea hemoglobinei, hematocritului, fierului seric și capacității de legare a acestuia din sânge crește concentrația de aluminiu în ser, splină și ficat în toate grupurile experimentale cu administrare de clorură de aluminiu.

Oricum, creșterea pe baza scăderii nivelului de fier a aluminiului a fost semnificativă doar la administrare de citrat. Concluzia studiului este că deficiența de fier crește absorbția și acumularea în ficat și splină (Brown și Schwartz, 1992).

În tabelul 4-24 se prezintă modificările de concentrație la nivelul metalelor alcaline și alcalino-terose în splină, în prezentul experiment.

Tabel 4-24. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-pământoase în splină ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Na	$\mu\text{g/g}$	907 \pm 62	1353 \pm 163*	+446	928 \pm 85	+21	1765 \pm 219*	+858
K	$\mu\text{g/g}$	5643 \pm 913	4644 \pm 195*	-999	4590 \pm 175*	-1053	6686 \pm 446	+1043
Mg	$\mu\text{g/g}$	271 \pm 23	264 \pm 12	-7	254 \pm 51.4	-17	208 \pm 36*	-63
Ca	$\mu\text{g/g}$	20.64 \pm 5.87	12.28 \pm 0.82*	-8.36	11.44 \pm 1.01*	-9.2	11.08 \pm 1.02*	-9.56

*p<0.05

Modificări notabile se constată în cazul calciului în splină, la loturile experimentale, față de lotul de control și putem remarca depleția acestui metal în splină cu 40% la E_I, 44% în E_{II} și 45% în E_{III} față de lotul de control. Scăderea cu până la aproape 50% a conținutului de calciu după administrări, concomitent cu creșterea în organ a conținutului de aluminiu arată un antagonism puternic între cele două elemente. Există evidențe privind acest antagonism (după administrări îndelungate de aluminiu) în os, fapt care în cazul experimentului nostru nu s-a realizat. Posibil ca această scădere a calciului, paralel cu creșterea de aluminiu să fie consecința unei dishomeostazii în procesele celulare ca urmare a stresului oxidativ generat de aluminiu.

Se poate remarca din tabelul 4-24 concentrația la care găsim potasiul în splină și care este mult mai ridicată decât în restul organelor studiate, relația de antagonism între sodiu și potasiu la lotul E_I și sinergică la lotul E_{III}, precum și sinergismul între calciu și potasiu la lotul E_I și antagonismul între cele două elemente la E_{III}. Rezultă astfel faptul că administrarea de clorură de aluminiu produce variația concentrației electroliților în sensuri care depind foarte mult de substanța care se asociază cu aceasta.

Menținerea homeostaziei calciului este foarte importantă pentru viața celulară. Astfel, un influx crescut sau un eflux scăzut creează o supraîncărcare intracelulară cu calciu, urmată de alterarea profundă a proceselor metabolice citozolice și mitocondriale. Oxidarea acizilor grași polinesaturați din membranele celulare deschide canalele de calciu pentru influxul acestui cation.

Acțiunea intracelulară sau extracelulară a speciilor reactive ale oxigenului are un rol particular în alterarea homeostaziei calciului. Leziunile membranare ireversibile apar în cursul peroxidării realizate de peroxizi și radicali hidroxil, care sunt formați din peroxidul de hidrogen, via reacția Fenton. Peroxidarea hiperactivă a lipidelor alterează puternic permeabilitatea membranelor. Fosfolipazele, fragmentează

membranele, supraactivate fiind de SRO, catalizează hidroliza fosfolipidelor membranale și eliberează acizii grași. Aceste procese aduc un aport suplimentar de radicali liberi, peroxidarea și balonizarea membranelor, influxul calciului. Lipoperoxidarea este în particular distructivă pentru limfocite și timocite (Dejica, 2000). Fenomenele legate de peroxidarea lipidelor s-a discutat la analizele de sânge.

În figura 4-13 se prezintă variația comparativă a concentrațiilor de aluminiu și fier în splină.

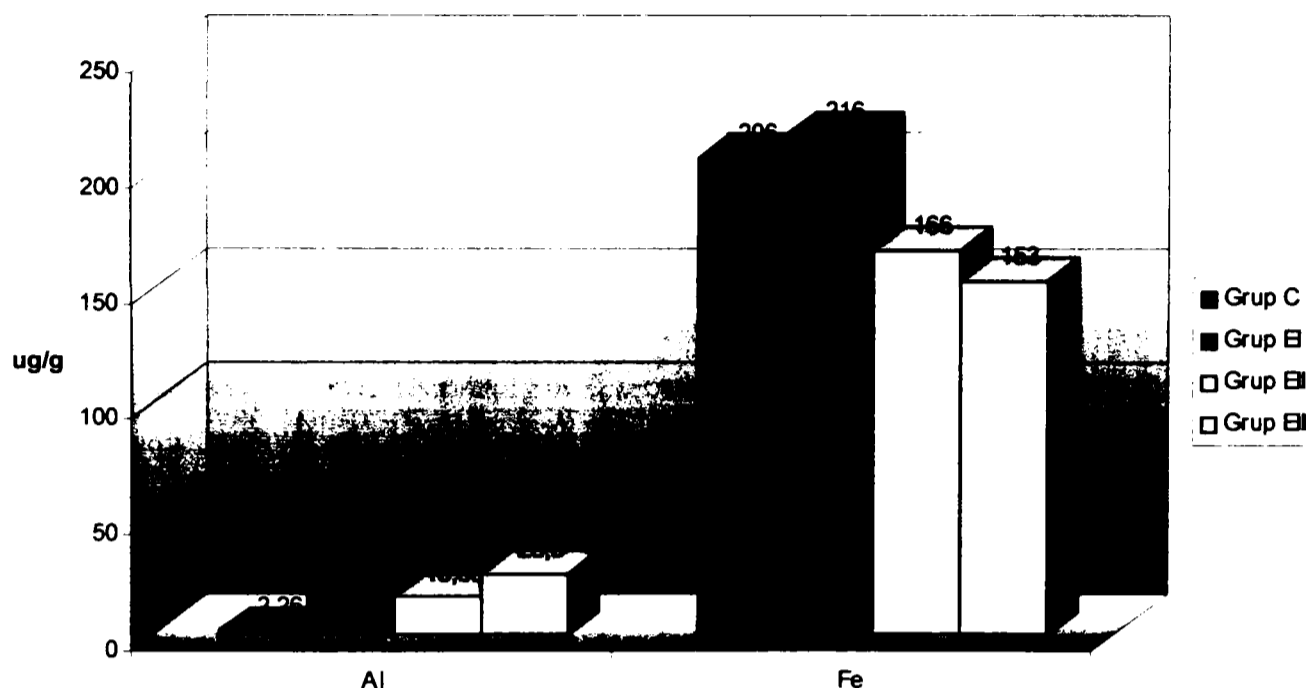


Figura 4-13. Date comparative privind concentrația de Al și Fe din splină

Se observă că modificările aluminiului în splină au același sens cu ale fierului în cazul administrării de clorură de aluminiu. Aluminiul acumulat ar putea produce prin creșterea de fier pe care o determină, o intensificare a proceselor oxidative mai sus menționate.

Descreșterea concentrației de hemoglobină, foarte limitată în acest experiment, dar dovedită de alți autori, poate fi explicată prin inhibarea sintezei hemului datorită inhibiției enzimatică a hem-sintetizatorilor, care reduce capacitatea de eliberare a fierului din feritină în țesuturi sau receptori, scăderea activității acidului deltaaminolevulinic, dehidrazei (Schroeder și Caspers, 1996), inhibiția încorporării fierului în hem și din cauza dificultății de utilizare a fierului (Perez et al.,2002). Aluminiul determină o scădere semnificativă de hemoglobină după administrare de doze mari de aluminiu (Garbossa, Galvez, Castro, 1998).

Concluziile care se pot sintetiza privind efectul aluminiului asupra distribuției bioelementelor studiate în splină sunt: aluminiul se acumulează în splină la toate loturile experimentale, arătând puternica disponibilitate a acestui organ pentru acumularea aluminiului. Am înregistrat astfel o concentrație de

aluminiu de 2.26 μ g/g la control care crește la 35.20 μ g/g la E_I, 16.56 μ g/g la E_{II} și respectiv 26.30 μ g/g la E_{III}. Modificările de concentrație ale sodiului și potasiului, creșterea calciului la loturile experimentale față de control, pot fi cauze ale afectării enzimelor Na/K dependente și Ca/Mg dependente. Creșterea conținutului de Mn și scăderea Fe la lotul experimental E_{II} se presupune că poate determina afectarea proceselor de oxidare celulară în splină.

4.3.4. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA RINICHIULUI

În corp, rinichii au două funcțiuni majore: de excreție a produșilor finali ai metabolismului; controlează concentrația majorității constituenților fluidelor corporale.

S-a menționat și anterior că aluminiul în exces poate induce o serie de deficiențe renale, cel puțin la animalele de laborator. Aceste deficiențe pot fi ușoare, exprimate din punct de vedere funcțional prin accentuarea clearance-ului acid PHA și printr-o excreție crescută de potasiu și sodiu dependent de doză, sau printr-o degenerare focalizată pe epiteliul tubular și calcificarea sa.

La pacienții cu insuficiență renală cronică, Navarro și colaboratorii în 1991 au găsit concentrații mari de vanadiu și aluminiu, corelate între ele pozitiv. Vanadiul poate inhiba o enzimă în care apare sodiul și care este responsabilă pentru vasoconstricția arteriolară renală, pentru inhibarea utilizării calciului de către eritrocite și creșterea presiunii arteriale. Nu este clar unde și sub ce formă aluminiul este implicat în aceste fenomene. Pe de altă parte excesul de aluminiu la pacienții cu insuficiență renală cronică la care s-au administrat medicamente cu fosfat, fie oral fie prin dializă este sigur implicat în cel puțin trei probleme severe, cum ar fi: encefalopatia de dializă, osteodistrofia malacică de dializă și anemia hipocromică microlitică (Zumkley et al., 1986).

La pacienții cu insuficiență renală sau la cei care fac dializă de mult timp, aluminiul din plasma sanguină s-a dovedit de multe ori a fi ridicat (Dietl et al., 1998). S-a arătat că la acești pacienți, concentrația de aluminiu în creier (Kisters et al. 1990), oase (Dietl et al. 1997) sau mucoasa gastrică este de asemenea ridicată față de pacienții sănătoși (Kisters, 1990). În studiu Dietl et al. (1998) a căutat să se determine în ce măsură concentrația ridicată de aluminiu în limfocite poate explica masiva acumulare în organe și tesuturi a acestuia. S-a determinat astfel că față de o concentrație de 3,61 μ g Al/g proteine limfocitare la pacienții sănătoși, la cei bolnavi s-a găsit 5,16 μ g Al/g proteine limfocitare. Concluzia este că această evoluție poate contribui la imunodepresie în caz de blocaj renal.

Aluminiul circulant liber este îndepărtat din fluxul sanguin de rinichi dar și de alte organe. Cea mai mare parte din aluminiu este excretată de organism ca legat de fracțiuni cu masă molară mică, filtrabile

prin rinichi. În anumite condiții, o anumită fracțiune din aluminiul urinar poate fi reținut și returnat în circulație la trecerea prin tubulii proximali (Burnatowska-Redin et al., 1985). Aportul zilnic de aluminiu pe cale orală nu constituie o imagine despre absorbția și biodisponibilitatea acestuia în organism. Singura cale de a aprecia biodisponibilitatea acestui metal în timp este de a începe în primele 30 minute după ingestie și continuând la 30-60 minute pentru fiecare oră cu prelevare de sânge și urină până când se constată descreșterea nivelului de aluminiu.

Creșterea aluminiului seric la pacienții cu insuficiența renală cronică poate fi datorată: tratamentului oral cu compuși de aluminiu pentru a reduce hiperfosfatemia care apare în insuficiența renală cronică; cantităților mari de aluminiu din lichidul de dializă, mai ales la nivele de peste 0,37 $\mu\text{mol/l}$.

Apa folosită pentru hemodializă poate conține în mod natural valori mari ale aluminiului sau să folosească compuși cu aluminiu pentru purificarea acestei ape. O altă sursă de contaminare poate fi reprezentată de componentele aparaturii de dializă. Dacă excreția de aluminiu scade datorită insuficienței renale cronice, aluminiul se acumulează în ser (doar tranzitiv), în ficat, în miocard, în mușchii scheletici, în creier și în oase (Berlyne et al., citați de Achenbach et al., 1986). Excreția intestinală de aluminiu nu este capabilă să dreneze cantitățile excesive care sunt prezente la un moment dat în organism.

În ciuda binecunoscutei toxicități a aluminiului în insuficiența renală cronică, a fost greu de obținut o bază de date solidă privind biocinetica acestuia. Se folosesc pentru determinări de cinetică izotopi de Al^{26} și se analizează prin spectrometrie cu accelerator de masă (Steinhausen et al., 2003).

Encefalopatia de dializă și osteomalacia au fost considerate principalele cauze de morbiditate și mortalitate în principalele centre de dializă din Europa, America de Nord și Australia (Parkinson et al., 1979).

De asemenea Labbe și Recosens în 1999, au efectuat un studiu referitor la legătura care ar putea exista între “demența dializei “ și toxicitatea aluminiului. Astfel s-a observat că “demența dializei “ începe cu dificultăți de locomoție, apoi survin mișcări necontrolate și crize de epilepsie. După mai puțin de 18 luni de la apariția primelor simptome pacientul moare.

În cursul dializei făcute pentru purificarea sângelui la pacienții cu insuficiență renală cronică, aluminiul conținut în lichidul de dializă trece direct în plasma sanguină, cu o viteză de 20 de ori mai mare decât normal.

Aluminiul se mai folosește la combaterea încărcării în fosfor a sângelui, însă se acumulează în creier determinând la doze mari, encefalopatie aluminică.

Vom prezenta în cele ce urmează concentrația de microelemente în rinichi la grupul de control și cele trei grupuri experimentale studiate în tabelul 4-26.

Față de grupul martor, în tabelul 4-25 se observă o creștere a concentrației de aluminiu după administrarea de clorură de aluminiu dar și în cazul administrării paralele de fluorură de la 9.57 $\mu\text{g/g}$ în control, până la 18.56 $\mu\text{g/g}$ în E_I și respectiv până la 15.12 $\mu\text{g/g}$ în E_{III} .

Tabel 4-25. Variația concentrației de microelemente în rinichi ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificație	UM	Grup C	Grup E _I	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II}	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III}	$\Delta \bar{X}$
		$\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\bar{X} \pm \text{D.S.}$		$\bar{X} \pm \text{D.S.}$		$\bar{X} \pm \text{D.S.}$	
Zn	$\mu\text{g/g}$	23.9 \pm 1.97	36.28 \pm 7.24*	+12.38	36.72 \pm 6.28*	+12.82	25.30 \pm 1.43*	+1.40
Fe	$\mu\text{g/g}$	35.2 \pm 2.39	30.82 \pm 4.81	-4.38	21.58 \pm 1.48*	-13.62	22.60 \pm 6.00*	-12.6
Mn	$\mu\text{g/g}$	1.62 \pm 0.40	1.50 \pm 0.27	-1.74	0.84 \pm 0.14*	-0.78	1.34 \pm 0.54	-0.28
Cu	$\mu\text{g/g}$	6.70 \pm 0.57	5.20 \pm 0.85*	-1.50	4.08 \pm 0.87*	-2.62	3.51 \pm 0.97*	-3.19
Al	$\mu\text{g/g}$	9.57 \pm 2.8	18.56 \pm 1.17*	+8.99	7.40 \pm 1.14	-2.13	15.12 \pm 2.17*	+5.55

*p<0.05

O creștere a concentrației de zinc de la 23.9 $\mu\text{g/g}$ în control până la 36.28 $\mu\text{g/g}$ în E_I și respectiv până la 25.30 $\mu\text{g/g}$ în E_{III} paralel cu scăderea concentrației de fier de la 35.2 $\mu\text{g/g}$ în control până la 30.82 $\mu\text{g/g}$ în E_I și 22.60 $\mu\text{g/g}$ în E_{III} se poate observa din tabelul 4-X₂₅. În 2000, Dlugaszek et al., a arătat că după administrare îndelungată de clorură de aluminiu, s-a înregistrat o acumulare a acestuia în toate țesuturile testate la șobolani și autorul notează o puternică descreștere a concentrației de zinc și cupru din rinichi. În experiment, clorura de aluminiu a fost administrată în apa de băut, în doză totală de expunere de 700 mg Al. Și în experimentul nostru, cuprul scade de la 6.70 $\mu\text{g/g}$ la control până la 5.20 $\mu\text{g/g}$ în E_I și în grupul E_{III} până la 3.51 $\mu\text{g/g}$, confirmând observațiile lui Dlugaszek et al. (2000). Este vizibil efectul de îndepărtare pe care citratul îl are asupra Fe, Mn, Cu și Al în rinichi, în timp ce cuantumul renal de zinc crește.

Spencer et al., în 1995 a monitorizat în plasmă, urină, ficat și rinichi nivelul de Al la o oră după administrarea intravenoasă a 800 $\mu\text{g/L}$ de aluminiu ca și clorură sau ca și citrat, folosind pentru experiment șobolani. Excreția urinară de Al a fost semnificativ crescută când aluminiul s-a administrat ca și citrat față de clorură. De asemenea, în prezența excesului de citrat, aluminiul nu s-a reținut în rinichi la nivelul celui provenit din clorură, ceea ce duce la concluzia că aluminiul în prezența unui exces de citrat față de cel fiziologic nu se reține în rinichi, ci se elimină rapid datorită acțiunii de diuretic a citratului (Spencer et al., 1995, Medline).

Figura 4-14, prezintă grafic sensul de modificare al concentrațiilor de microelemente la grupurile cercetate.

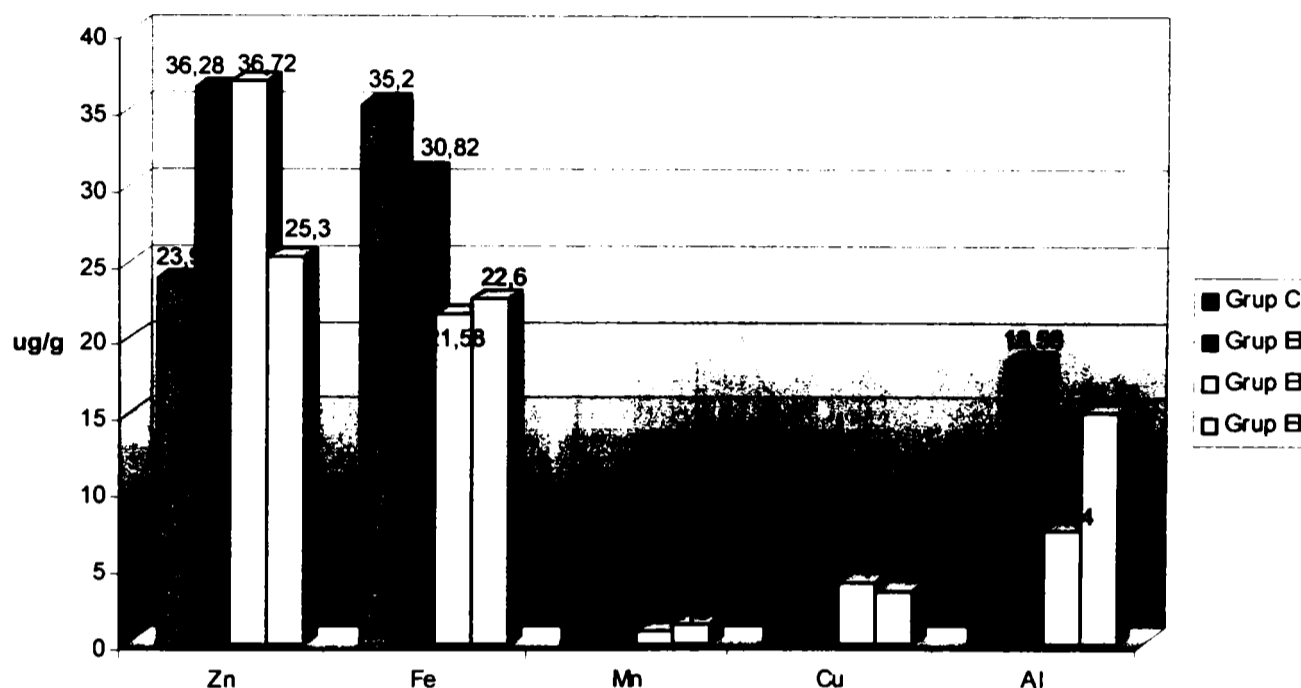


Figura 4-14. Variația concentrației de microelemente în rinichi

Într-un experiment asemănător, în care s-a realizat administrarea într-o singură doză a citratului de aluminiu, respectiv 0,46 mmol, Quartley et.al., 1993, a măsurat concentrația aluminiului în plasmă, os, plămân, ficat, rinichi, splină, duoden și creier la 2,4 și 24 ore după administrare. Comparativ cu controlul, în plasmă, la 2 ore după administrare, s-a înregistrat o valoare de 539 $\mu\text{g/L}$ și în toate țesuturile analizate aluminiul a crescut exceptând creierul, unde efectul de protecție creat de bariera sânge- creier este evident. Aluminiul asociat cu citratul este rapid absorbit din sânge în compartimentele intracelulare ale țesuturilor moi, unde după un maxim de concentrație, începe să scadă, pe când în os, aluminiul crește până la sfârșitul perioadei de monitorizare.

Deng et al., în 1998, într-un experiment de monitorizare pe perioadă scurtă a absorbției și acumulării de Al administrat prin gavaj la șobolani ca și soluție de clorură (2 mmol), cu sau fără asociere de citrat de

sodiu (2 mmol), arată că Al crește în peretele intestinal și plasmă, dar nu și în alte organe. Gavajul simultan de Al și citrat, crește semnificativ nivelul tisular de Al în tibie, rinichi, peretele intestinal. Concluzia studiului este că clorura de aluminiu poate fi absorbită dar nu se reține foarte bine în țesuturi în maxim 6 ore de la momentul gavajului.

Am prezentat concluziile acestor experimente pentru a evidenția și dozele de citat administrate împreună cu clorura de aluminiu, în experimente de monitorizare a absorbției și acumulării de aluminiu în intervale de câteva ore de la administrarea soluțiilor. Există studii privind efectul citratului asupra acumulării de aluminiu în perioade de timp mai mari, cu este cel realizat de Domingo et al., în 1988, care a administrat intraperitoneal 0,27 mmol/kg nitrat de aluminiu timp de 5 săptămâni la șobolani, urmat de un tratament cu diverși agenți de complexare folosiți pentru îndepărtarea excesului de aluminiului din corp. Acidul citric, pe lângă cel malic și succinic cresc excreția fecală și renală de aluminiu, fiind foarte eficient în cazuri de intoxicație, bineînțeles administrat într-un exces suficient de mare.

În tabelul 4-26 este prezentată variația concentrațiilor de electroliți din rinichi, la grupul de control și grupurile experimentale.

Tabel 4-26. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în rinichi ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Na	$\mu\text{g/g}$	2123 \pm 76	1921 \pm 8*	-202	1963 \pm 210*	-160	1949 \pm 181*	-174
K	$\mu\text{g/g}$	3204 \pm 450	2770 \pm 357*	-434	2737 \pm 148*	-467	2983 \pm 65	-221
Mg	$\mu\text{g/g}$	211 \pm 17	233 \pm 11*	+22	184 \pm 15*	-27	189 \pm 19*	-22
Ca	$\mu\text{g/g}$	19.80 \pm 4.3	21.92 \pm 0.89	+2.12	9.33 \pm 1.35*	-10.47	19.16 \pm 0.96	-0.64

* $p < 0.05$

Una din căile principale pentru diverse substanțe din organism de a ajunge în rinichi este sângele. Noțiunea de clearance al plasmei este folosită pentru a exprima abilitatea rinichilor de a "curăța" plasma de diferite substanțe. Viteza diferitelor substanțe de a trece prin rinichi variază în funcție de natura acesteia, de cantitatea de apă prezentă, de viteza de reabsorbție a substanței respective, etc. De exemplu, glucoza, proteinele și aminoacizii sunt reabsorbiți mult mai repede decât apa, calciul, magneziul și alți ioni pozitivi sunt activ reabsorbiți, pe când reabsorbția potasiului este mai slabă, acesta se elimină mai repede decât alți ioni.

În figura 4-15 se prezintă comparativ variația concentrațiilor de calciu și aluminiu în rinichi.

Se observă o slabă și nesemnificativă variație a calciului în rinichi la loturile E_I și E_{III} și efectul puternic de mobilizare și îndepărtare pe care citratul îl are asupra calciului în lotul E_{II}, care determină o scădere a acestuia cu 53% față de control. Aluminiul are aproximativ același sens de variație cu al calciului, efectul de îndepărtare a metalului la aport de citrat nu este atât de puternic ca și în cazul altor organe studiate.

O diureză de calciu se poate provoca prin administrare de citrat sau galactoză, sau prin ingerare de substanțe acidogene. Crușarea calciului de către rinichi nu este așa de eficientă ca pentru sodiu sau magneziu, dar e probabil ceva mai bună decât pentru potasiu (Duncan, 1966). Oxalatul de calciu precipită la orice valoare a pH-ului urinar. Saturarea urinei în magneziu și citrat, produce o suprasaturare cu calciu și fosfat.

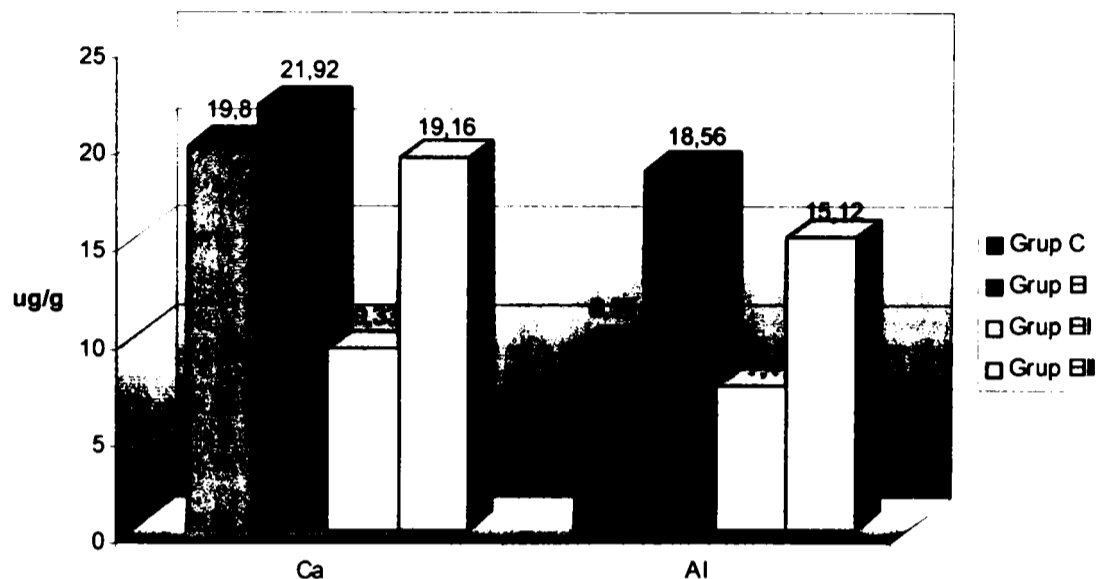


Figura 4-15. Date comparative privind concentrația de Ca și Al în rinichi

În acest experiment, metalele alcaline și alcalino-pământoase din rinichi nu înregistrează modificări importante față de lotul martor, însă poate fi reținut și în acest caz efectul de eliminare al calciului și magneziului ca urmare a excesului de citrat administrat în lotul E_{II}.

Procesele de transport sunt afectate de AlF_4^- în celulele rinichiului. Pe lângă afectarea unui mare număr de enzime, acest complex determină o mobilizare a calciului renal. S-a sugerat că AlF_4^- poate afecta activitatea multor alți ioni în rinichi (Zhou et al. 1990). Urmărind variația elementelor metalice studiate în rinichi, în experimentul nostru, se pare că fluorura administrată în lotul E₃ concomitent cu clorura de aluminiu nu induce modificări suplimentare față de administrarea de clorură de aluminiu.

Concluziile asupra afectării rinichiului în urma administrării de soluții cu conținut de aluminiu pot fi rezumate astfel: în condițiile experimentale date, aluminiul se acumulează în rinichi după administrarea aluminiului ca și clorură sau clorură asociată cu fluorură de sodiu de la $9.57\mu\text{g/g}$ în control, până la $18.56\mu\text{g/g}$ în E_I și respectiv până la $15.12\mu\text{g/g}$ în E_{III}. Administrarea de clorură de aluminiu alături de un exces de citrat, duce la scăderea nivelului de aluminiu în rinichi sub cel al lotului de control, datorită

efectului diuretic exercitat de citrat. Același efect de eliminare se constată și la calciu al cărui nivel însă nu se modifică la administrarea de clorură de Al singură sau asociată cu fluorură. Față de lotul de control, manganul, fierul și cuprul nu prezintă variații mari la loturile experimentale, decât în cazul administrării concomitente de clorură de aluminiu și citrat, când se manifestă efectul de îndepărtare al acestor microelemente prin complexare cu citrat.

4.3.5. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA CREIERULUI

Din multe rapoarte clinice, studii epidemiologice și aproape 100 de ani de studii s-a determinat că aluminiul este neurotoxic la om, în cazuri specifice. Este clar faptul că la persoanele ce prezintă o tulburare a funcției renale apare osteomalacie distrofică renală și encefalopatie de dializă la niveluri de aluminiu în dietă și apă potabilă care nu prezintă în mod normal nici un risc de sănătate (Doll, 1993).

O preocupare mare la oamenii de știință o constituie stabilirea unei relații doză-efect, care se poate realiza doar la animale de laborator. Într-un raport WHO (1997) se arată că studiile disponibile despre aluminiu trebuie evaluate în lumina principiilor științifice folosind riscul crescut pe care îl reprezintă aditivii alimentari chimici.

De aproximativ 30 de ani s-a încercat să se demonstreze că injectarea intracerebrală a fosfatului de aluminiu induce o neuropatie degenerativă la animale de laborator (studii efectuate pe iepuri), caracterizată din punct de vedere histologic prin degenerare neurofibrilară (Wills și Savory, 1983). Studiile făcute în laborator pe iepuri, au căutat să determine calea de administrare care induce o intoxicație mai rapidă respectiv mai gravă. Astfel, s-au comparat rezultatele administrării de soluții de săruri de aluminiu solubile în apă intravenos și intraventricular, caracterizând un tratament acut, subacut și cronic. De asemenea, s-a administrat aluminiu-maltol în ventriculul cerebral lateral. În toate cazurile, s-a înregistrat aceeași neuropatie degenerativă, indiferent de calea de administrare.

În urma cercetărilor efectuate pe pacienți cu demență senilă (boala Alzheimer) și demență presenilă s-a constatat că la nivelul creierului există mari cantități de aluminiu. În urma acestui fapt s-a presupus că aluminiul este responsabil de apariția acestei boli (Craper et al., 1973, in <http://users.pandora.be/multiple.sclerose/ALU.html>).

În același timp, aluminiul a fost considerat responsabil de apariția sindromului sclerozei laterale amiotrofice și demenței Parkinson la populația din Guam, unde solul și apa conțineau mari cantități de aluminiu. Totuși există diferențe ultrastructurale între leziunile sindromului sus menționat și boala

Alzheimer. Dacă rolul aluminiului în patogeneza encefalopatiei de dializă este deja demonstrat, implicarea sa în patogeneza bolii Alzheimer este doar o ipoteză speculativă (Birchall și Campbell ,1998).

Boala Alzheimer este considerată ca tipul de demență primară degenerativă cel mai frecvent caracterizat printr-o pierdere progresivă și ireversibilă a funcției cognitive și a memoriei. Aluminiul a fost identificat ca fiind prezent în neuronii pacienților suferinzi de boala Alzheimer colocalizată cu siliciul ca sisteme amorfe de tip aluminosilicați în "core" -ul din plăcile senile care se caracterizează împreună cu aspectele neurofibrilare histopatologice în boala Alzheimer. S-au decelat filamente helicoidale perechi, legate de aluminiu. Natura exactă a moleculelor filamentelor helicoidale perechi este încă necunoscută, dar s-a demonstrat histologic că există similitudini cu anumite proteine citoscheletale normale precum și microtubuli asociate cu proteine tau (MAP-tau, conform lui Seabright et al., 1991).

Pe parcursul metabolizării extracelulare a aluminiului canalele de fier legate de transferină și lactoferină se împart, dar la nivel intracelular acestea sunt chelate în citosol fie cu ajutorul ortofosfatului fie cu ajutorul citratului sau a inozitei hexafosfatată, cu preferință pentru fosfor. Deficiența neurotransmițătorilor în boala Alzheimer poate fi explicată ca o alternanță profundă a sistemului mesager secund derivat din inozita fosfatată cu aluminiu, malfuncției neuronale și chiar urmat de moarte neuronală cu extrudarea celulelor și a aluminiului în spațiul interstițial, spațiul în care plăcile senile cu un core cu aluminosilicat sunt formate ca și cum ar fi un "fenomen final" (Birchall și Campbell, 1988).

În general, pacienții care fac dializă prezintă atât simptome neurologice cât și osteopatie.

Encefalopatia de dializă asociată cu valori mari ale aluminiului plasmatic și țesuturi a fost descrisă pentru prima dată de către Alfrey et al., în 1972 - citat de Wills și Savory (1983). Ca un mecanism de neurotoxicitate a aluminiului s-a presupus că aceste inhibă reductaza dihidroptiridinică. Acest fenomen ar duce la reducerea conținutului creierului în anumiți neurotransmițători. Pe de altă parte aluminiul poate de asemenea să fie implicat în alterarea enzimelor postsinaptice din transmisia colinergică.

Aluminiul este un element toxic prezentând un risc major pentru sănătate la pacienții cu insuficiență renală cronică, în special pentru cei cărora li se aplică hemodializă în tratament intermitent (Wills și Savory , 1983). Una din consecințele acumulării de aluminiu este encefalopatia de dializă. Există speculații despre relația între toxicitatea aluminiului și boala Alzheimer, care rezultă din trei observații: o legătură geografică între boala Alzheimer și aluminiul din apa potabilă (Martyn et al.,1989 - citat de Nicolini, 1991); concentrația de aluminiu în țesutul cerebral la pacienții cu Alzheimer s-a demonstrat prin numeroase studii că este mai ridicată decât la pacienții sănătoși (Crapper et al.,1973 - citat de Nicolini, 1991); argumentul major că aluminiul cauzează neurodegenerescență la om este faptul că la pacienții cu encefalopatie de dializă, concentrația în creierul acestora extrem de ridicată. La examinarea creierului persoanelor decedate din cauza demenței senile de tip Alzheimer s-a constatat prezența aluminiului pe formațiunile distincte numite convențional "plăci senile", care sunt de fapt acele leziuni cerebrale care caracterizează această maladie.

Studii efectuate pe șobolani, în Belgia în 1994, au arătat că la administrarea pe parcursul a 6 luni a aluminiului s-au observat tulburări neurologice. Astfel, studiindu-se comportamentul șobolanilor la sfârșitul experimentului prin labirint s-a observat că șobolanii intoxicați cu aluminiu aveau nevoie de mai mult timp pentru găsirea traseului decât șobolanii neintoxicați. La autopsia animalelor s-a văzut că aluminiul s-a fixat la nivelul hipocampului și cortexului, zonele care intervin clar în procesul de memorare și orientare. S-au emis mai multe ipoteze prin care se încearcă găsirea unei explicații la aceste fenomene și s-a încercat enumerarea unor compuși cu rol direct (Labbe și Recosens, 1999) : transferina, o proteină care se găsește în plasmă sanguină și care distribuie fierul la organe, deci și la creier. Aluminiul se poate “acroșa clandestin” de această proteină; unii acizi aminați cum ar fi glutamații. Un lucru este sigur, dificultățile cognitive observate la șobolanii intoxicați sunt aceleași cu cele de la șobolanii cu vârstă înaintată.

Toxicitatea aluminiului asupra sistemului nervos poate acționa în două direcții diferite depinzând de nivelul de contaminare. Concentrațiile de aluminiu relativ mici provenind din mediul înconjurător (cel mai des din sursele de apă sărace în siliciu) au fost statistic asociate cu demența senilă de tip Alzheimer (intoxicația cronică). Concentrațiile terapeutice ridicate (din chelați fosfatici, antiacide, etc.) pot induce simptome diferite și mult mai rapide (intoxicația acută). În orice caz, toxicitatea aluminiului este condiționată de biodisponibilitatea aluminiului în vivo care este influențată de prezența biomoleculilor donoare de oxigen sau de diverse substanțe ce provin din dietă (Berthon, 2002).

Prezentăm în tabelul 4-27 concentrația de microelemente decelate în creier la grupul de control și grupurile experimentale :

Tabel 4-27. Variația concentrației de microelemente în creier ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Zn	$\mu\text{g/g}$	12.37 \pm 0.68	11.86 \pm 1.32*	-0.51	11.64 \pm 0.61*	-0.73	10.60 \pm 0.39*	-1.77
Fe	$\mu\text{g/g}$	15.72 \pm 0.59	23.20 \pm 0.96*	+7.48	11.78 \pm 0.75*	-3.94	15.96 \pm 3.20	+0.24
Mn	$\mu\text{g/g}$	0.34 \pm 0.04	0.97 \pm 0.11*	+0.63	0.49 \pm 0.07*	+0.15	1.37 \pm 0.38*	+1.03
Cu	$\mu\text{g/g}$	4.95 \pm 0.77	3.64 \pm 0.34*	-1.31	3.76 \pm 0.58*	-1.19	3.09 \pm 2.09*	-1.86
Al	$\mu\text{g/g}$	3.37 \pm 0.59	16.14 \pm 1.53*	+12.77	14.96 \pm 6.14*	+11.59	2.85 \pm 1.38	-0.52

*p<0.05

În experimentul prezent, se observă o creștere puternică a concentrației de aluminiu față de control la grupurile respectiv în E_I de la 3.37 $\mu\text{g/g}$ până la 16.14 $\mu\text{g/g}$, în E_{II} până la 14.96 $\mu\text{g/g}$ și în E_{III} până la 2.85 $\mu\text{g/g}$ (Pup et al., 2006b). Citratul administrat determină o eliminare relativ redusă a celorlalte microelemente din creier, comparativ cu celelalte organe studiate dar determină o bună absorbție a aluminiului în creier. Fluorura administrată în lotul E_{III} concomitent cu clorura de aluminiu pare să reducă

mult mobilitatea aluminiului, a cărei variație față de control nu este semnificativă, modificându-se de la 3.37 $\mu\text{g/g}$ în control la doar 2.85 $\mu\text{g/g}$ în E_{III}.

Pentru a evidenția mai bine aspectele de mai sus, se prezintă în figura 4-16 grafic variația față de grupul de control a concentrației de microelemente la grupurile experimentale.

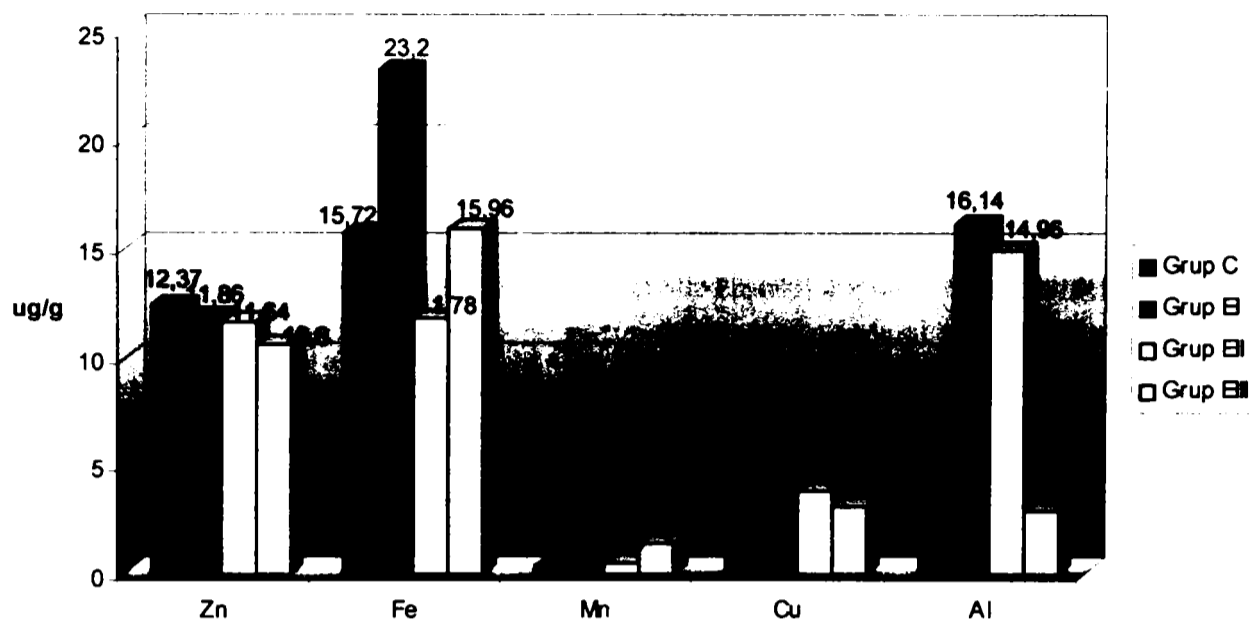


Figura 4-16. Variația concentrației de microelemente în creier

Se observă o modificare semnificativă a microelementelor din creier ca urmare a administrării de clorură de aluminiu la grupul E_I, respectiv scăderea cantumului de Zn cu 4% și Cu 26% și creșterea celui de Fe cu 47% și Mn cu 185%. Scăderea concomitentă a Zn și Cu poate fi determinată de o competiție între cele două metale și Al, dar poate genera o scădere a activității Cu-Zn-SOD, ceea ce determină o scădere a protecției antioxidante asigurate de această enzimă. Dintre toate organele, cea mai mare cantitate de Zn se află în creier, în special în hipocampus și cortexul cerebral. Aproape 90% din zincul cerebral este legat de metaloproteine iar restul este stocat în veziculele presinaptice din neuroni (cei cu conținut de zinc, pentru că nu toți neuronii conțin zinc). Deficiența de Zn și implicit alterarea activității SOD-Zn, generează peroxidarea lipidelor celulare (Roy et al.,2004).

Se observă o creștere importantă a concentrației fierului și manganului provocată de administrarea de clorură de aluminiu în grupul E_I, creștere care se produce și la administrare de fluorură în cazul manganului, în lotul E_{III}. Nici aici nu este vizibil efectul de imobilizare a aluminiului de către fluorură.

În ultimul timp, studii experimentale au arătat că probabil există numeroase interacțiuni moleculare ale aluminiului, fluorurii și complexilor celor doi care să afecteze funcționarea creierului. (Connet, 1999). Ele sunt explicate și în cazul creierului prin efectul pe care îl au asupra proteinei G și asupra hormonilor ce mobilizează calciul. De altfel explicația acestei masive acumulări de aluminiu în

creier poate fi faptul că receptorii transferinei se află în capilarele creierului dar nu și al altor țesuturi (Jefferies et al., 1984). Acești receptori facilitează aportul metalelor legate de transferină prin bariera sânge-creier, în interiorul țesutului cerebral. Experimentele pe culturi celulare arată că celulele cerebrale sunt capabile să concentreze în ele cantități mari de aluminiu.

Într-un studiu pe șobolani (Walton et al., 1995), după administrarea timp de 2 săptămâni a unei soluții apoase de 25 mg/L ^{26}Al a constatat că urme de aluminiu pătrund în creier chiar și prin echivalentul unui pahar cu apă. În studiu se specifică faptul că există creiere care acumulează până la de zece ori mai mult ^{26}Al decât altele. Aluminiul ionic are aproximativ aceeași dimensiune ca ionul feric și mai mică decât a ionilor de magneziu și calciu. Exemplul transferinei arată cum sunt utilizate de către aluminiu molecule care servesc pentru accesul fierului în creier. Fiind oarecum mai mic, ionul de aluminiu poate înlocui magneziul în multe sisteme biologice și va fi competitiv cu calciul față de fosfat și alți liganzi cu moleculă mică (Meiri et al., 1993). Carența de calciu și magneziu favorizează o acumulare mare de aluminiu și acest fenomen este asociat cu deteriorări neurologice.

În tabelul 4-28 este prezentată concentrația unor electroliți în creier, la control și după administrarea soluțiilor cu conținut de aluminiu.

Tabel 4-28. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-teroase în creier ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Na	$\mu\text{g/g}$	1113 \pm 29	1197 \pm 82*	+84	1150 \pm 69	+37	1337 \pm 65*	+224
K	$\mu\text{g/g}$	3604 \pm 87	3468 \pm 106*	-136	3519 \pm 142	-85	3856 \pm 137*	+252
Mg	$\mu\text{g/g}$	151 \pm 10	147 \pm 8	-4	150 \pm 7.21	-1	151 \pm 8	0
Ca	$\mu\text{g/g}$	3.31 \pm 0.24	20.58 \pm 4.30*	+17.27	46.42 \pm 7.57*	+43.11	14.46 \pm 0.87*	+11.15

* $p < 0.05$

Relația de antagonism descrisă anterior între aluminiu și calciu, nu se confirmă în cazul creierului din contră se observă o creștere a nivelului de calciu față de control în loturile E_I și E_{III}, iar efectul de îndepărtare a calciului prin complexare cu citrat nu apare, în condițiile în care nu există modificări importante (chiar dacă sunt semnificative) în conținutul cerebral de Na, K, Mg, dimpotrivă chiar, nivelul calciului este extrem de crescut după asocierea aluminiului cu citrat. Astfel s-au determinat 3.31 $\mu\text{g/g}$ calciu la lotul de control și creșterea concentrației până la 20.58 $\mu\text{g/g}$ la grupul E_I, 46.42 $\mu\text{g/g}$ la grupul E_{II} și 14.46 $\mu\text{g/g}$ la grupul E_{III}. Aluminiul poate induce stres oxidativ prin capacitatea de a interacționa cu speciile reactive ale oxigenului, crescându-le capacitatea oxidantă sau afectând reologia membranei celulare (Oteiza, 2004, în http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T9P-4BY3TR6-6&). Acest fenomen se poate datora faptului că aluminiu, prin lipoperoxidarea pe care o provoacă (stresul oxidativ provocat de aluminiu a fost demonstrat în numeroase studii experimentale), interferează puternic homeostazia calciului. Dejica (2000) și Zatta (2000), specifică faptul că în urma

stresului oxidativ crește concentrația de calciu intracelular, ceea ce duce la ruptura citoscheletului, cu moartea celulei neuronale (activarea enzimelor Ca-dependente cu efect catabolic- fosfolipaze kinaze, proteaze, andonucleaze) dar și un efect nefast al aluminiului asupra activității enzimelor ciclului Krebs.

Într-un studiu efectuat de Silva și Goncalves (2003) asupra efectului clorurii de aluminiu asupra activității hidrolitice a enzimei $(\text{Na}^+/\text{K}^+)\text{ATPaza}$, izolate din cortexul cerebral la șobolani, s-a determinat că aluminiul inhibă activitatea acestei enzime într-un mod dependent de concentrație, prin încetinirea vitezei de reacție și legarea de grupele tiolice implicate în menținerea structurii oligometrice a $(\text{Na}^+/\text{K}^+)\text{ATPaza}$ din membrana celulară. Se observă în tabelul 4-X₂₈, modificări semnificative ale sodiului și potasiului la loturile E_I și E_{III}, posibil ca urmare a modificărilor în activitatea $(\text{Na}^+/\text{K}^+)\text{ATPaza}$.

Chinopoulos și Adam-Vizi arată într-un studiu recent, publicat în 2006 faptul că paradoxala creștere a concentrației de calciu în urma stresului oxidativ a fost descrisă în urma studiului pe cord și a fost asociată cu o afectare a cordului dar și a altor organe ca rinichi, mușchi, ficat. De-a lungul timpului s-a dovedit legătura dintre afectarea membranei celulei neuronale și influxul de calciu, care poate duce la degenerare neuronală. Creșterea de calciu intracelular este asociată cu o afectare a proteinelor din canalele de transport a ionilor prin membrane, deprivarea de oxigen-glucoză a mitocondriei și producerea de SRO (specii reactive ale oxigenului). Aceeași autori explică faptul că această creștere de calciu este un fenomen dificil de explicat sub toate aspectele, dar s-a observat că poate fi micșorat prin reducerea respirației mitocondriale și a fosforilării oxidative. Permițându-se creșterea concentrației de calciu în citosol, este permis de asemenea și creșterea influxului de sodiu și efluxul potasiului din celulă. Este activată astfel pompa $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Efluxul de potasiu din celulă poate produce chiar apoptoză. Orice modificare de calciu în celulă, duce la alterarea homeostaziei sodiului și potasiului cu multiple implicații în neurodegenerare.

În sinteză, modificările observate la creier ca urmare a administrării de soluții cu conținut de aluminiu sunt: aluminiul se acumulează în creier la administrare de clorură de aluminiu și clorură de aluminiu cu citrat variind în E_I de la 3.37 $\mu\text{g/g}$ până la 16.14 $\mu\text{g/g}$, în E_{II} până la 14.96 $\mu\text{g/g}$; nu se poate explica nivelul apropiat de al lotului de control al concentrației aluminiului din grupul experimental E_{III} (2.85 $\mu\text{g/g}$), decât prin faptul că fluorul reușește să reducă mobilitatea aluminiului în creier. La administrarea de clorură de aluminiu se constată creștere importantă a cantumului de fier și mangan și scădere slabă a zincului, manganului și cuprului din creier care pot fi puse în legătură cu afectarea proceselor de oxidare celulară cerebrală. Astfel modificările față de control au fost scăderea cantumului de Zn cu 4% și Cu 26% și creșterea celui de Fe cu 47% și Mn cu 185%. O creștere importantă a calciului, față de control la toate loturile experimentale și în special la administrare de clorură de aluminiu cu citrat, care poate fi datorată fie acumulării de calciu ca urmare a măririi concentrației calciului intracelular, fie complexării acestuia de către citrat și neputinței de a se regla datorită barierei sânge-creier. Astfel s-au determinat 3.31 $\mu\text{g/g}$ calciu la grupul de control și creșterea concentrației până la 20.58 $\mu\text{g/g}$ la lotul E_I, 46.42 $\mu\text{g/g}$ la grupul E_{II} și 14.46 $\mu\text{g/g}$ la lotul E_{III}.

4.3.6. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA FICATULUI

Ficatul este un organ cu o puternică vascularizație, capabil să stocheze o mare cantitate de sânge (ca un adevărat rezervor) în caz de exces de sânge și poate suplini necesarul de sânge al organismului în caz de diminuare al volumului acestuia, la nevoie. Celulele hepatice sunt extrem de active, având o rată ridicată a metabolismului, distribuind substraturi și energie de la o cale metabolică la alta, și asigurând catabolismul și anabolismul a numeroase substanțe care vor fi transportate în alte regiuni ale organismului, etc. Datorită complexității acestui organ nu vom prezenta rolul ficatului în metabolizarea tuturor substanțelor aduse prin sânge. Se vor menționa doar acele funcții metabolice care sunt în principal importante pentru a înțelege fiziologia ficatului și rolul său în organism: metabolismul carbohidraților; metabolismul grăsimilor; metabolismul proteinelor; alte funcții ale ficatului ca: stocarea vitaminelor, producerea de substanțe cu rol în coagularea sângelui, stocarea fierului, îndepărtarea sau excreția de droguri, hormoni, altor substanțe.

Pe lângă fierul din hemoglobină, o cantitate mare de fier este stocată în sânge și sub formă de feritină. Mediul extrem de activ din punct de vedere biochimic al ficatului, este cunoscut pentru capacitatea de a detoxifia sau excreta în bilă o mare cantitate de xenobiotice. Astfel, afectarea hepatică poate duce de multe ori la un exces în acumularea unuia sau altuia din aceste substanțe sau hormoni în fluidele biologice. De asemenea, una din principalele căi de îndepărtare a calciului din sânge este prin bilă și de aici, prin fecale (Gârban, 2004).

Tabel 4-29. Variația concentrației de microelemente în ficat ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Zn	$\mu\text{g/g}$	25.42±2.80	67.68±9.69*	+42.26	86.96±13.67*	+61.54	93.72±5.16*	+68.30
Fe	$\mu\text{g/g}$	51.34±11.02	145±71*	+93.66	86.26±13.23*	+34.92	151±7*	+99.66
Mn	$\mu\text{g/g}$	1.86±0.38	2.50±0.38	+0.64	3.00±0.44*	+1.14	1.88±0.51	+0.02
Cu	$\mu\text{g/g}$	3.54±0.44	19.06±2.60*	+15.52	9.62±1.46*	+6.08	3.18±0.68	-0.36
Al	$\mu\text{g/g}$	8.02±0.63	22.06±4.46*	+14.04	9.00±4.72	+0.98	18.04±5.21*	+10.02

* $p < 0.05$

O creștere semnificativă a concentrației poate fi observată în cazul microelementelor determinate, după administrarea de clorură de aluminiu ($p < 0.05$), excepție făcând Mn, pentru care creșterea nu a fost semnificativă ($p < 0.05$). Concentrațiile microelementelor în control și grupurile experimentale sunt prezentate în tabelul 4-29 .

Se constată o creștere a valorilor medii de fier și zinc în loturile experimentale E_I și E_{II}. Astfel, fierul crește de la 51.34 μg/g la grupul de control până la 145μg/g la grupul E_I, iar zincul de la 25.42 μg/g la control până la 67.68 μg/g la E_I. Se știe că îndepărtarea fierului din depozite, crește semnificativ concentrația fierului nehemetic din ficat (Dejica, 2000). Hematiile bolnavilor cu talasemie majoră prezintă o susceptibilitate crescută la lipoperoxidare, corelată cu nivelul fierului corporal total, conform aceluiași autor. Depozitele reversibile de fier din ficat au un rol deosebit în inițierea și cataliza diferitelor reacții ale SRO (specii reactive ale oxigenului) și au un rol important în apariția leziunilor tisulare induse de către oxigen. În afară de reacția Haber- Weiss, prin care se produc radicali hidroxil și superoxid, fierul liber poate reacționa cu superoxidul și apa oxigenată producând alți oxidanți, care au un important rol în lipoperoxidare. Pe de altă parte aluminiul însuși poate induce stres oxidativ prin capacitatea lui de a interacționa cu specii active ale oxigenului, crescându-le capacitatea oxidantă, sau prin afectarea reologiei membranare (Exley, 2004). Transferina posedă un important mecanism antioxidant, cu un rol major în metabolismul fierului. Transferina leagă fierul, reducând capacitatea fierului reactiv de a participa la reacția Fenton. Autorul arată de asemenea că ficatul este cel mai important depozit al fierului în exces în condiții de supraîncărcare și că creșterea concentrației hepatice de fier, cauzează leziuni celulelor hepatice (Dejica, 2000). Aluminiul provoacă tanatocitoza celulelor hepatice prin legarea de proteinele citoscheletale asociate intin membranei plasmatiche. Această interacție întrerupe permeabilitatea membranei celulare, ceea ce duce la moartea hepatocitelor (Snyder et al., 1995).

La indivizii fără probleme renale, ficatul concentrează cantități mari de aluminiu, chiar 300-400 mg/kg țesut umed (Alfrey, 1986.). După unii autori se poate vorbi despre o relație doză-acumulare lineară în cazul aportului redus de aluminiu și creștere disproporționată în cazul aportului crescut (Wilhelm et al., 1996).

Aluminiul este localizat în interiorul hepatocitelor, acumularea fiind asociată cu modificări ultrastructurale (Galle, Campos și Giudicelli, 1983).

În 1994, Moshtagie a prezentat un studiu în care după injecții repetate cu lactat de aluminiu la iepuri, mai mult de 60% din aluminiul absorbit a fost găsit în ficat, 25% în os, în jur de 10% în splină și restul, în numeroase alte organe.

La administrarea orală a clorurii de aluminiu în doză de 34 mg/kg/zi, timp de 16 săptămâni, la iepuri New Zealand, Yousef, în 2004, constată modificări biochimice ca urmare a apariției de radicali liberi la următorii parametrii: descreșterea activității glutatation-S-transferazei și a nivelului de grupe SH în plasmă, ficat, creier, testicol, rinichi. Enzimele ASAT și ALAT, precum și fosfataza alcalină au fost considerabil scăzute în ficat, iar nivelul plasmatic de lipide totale, hemoglobină, volumul eritocitar de asemenea scăzut, în condiții de creștere a glucozei și colesterolului plasmatici.

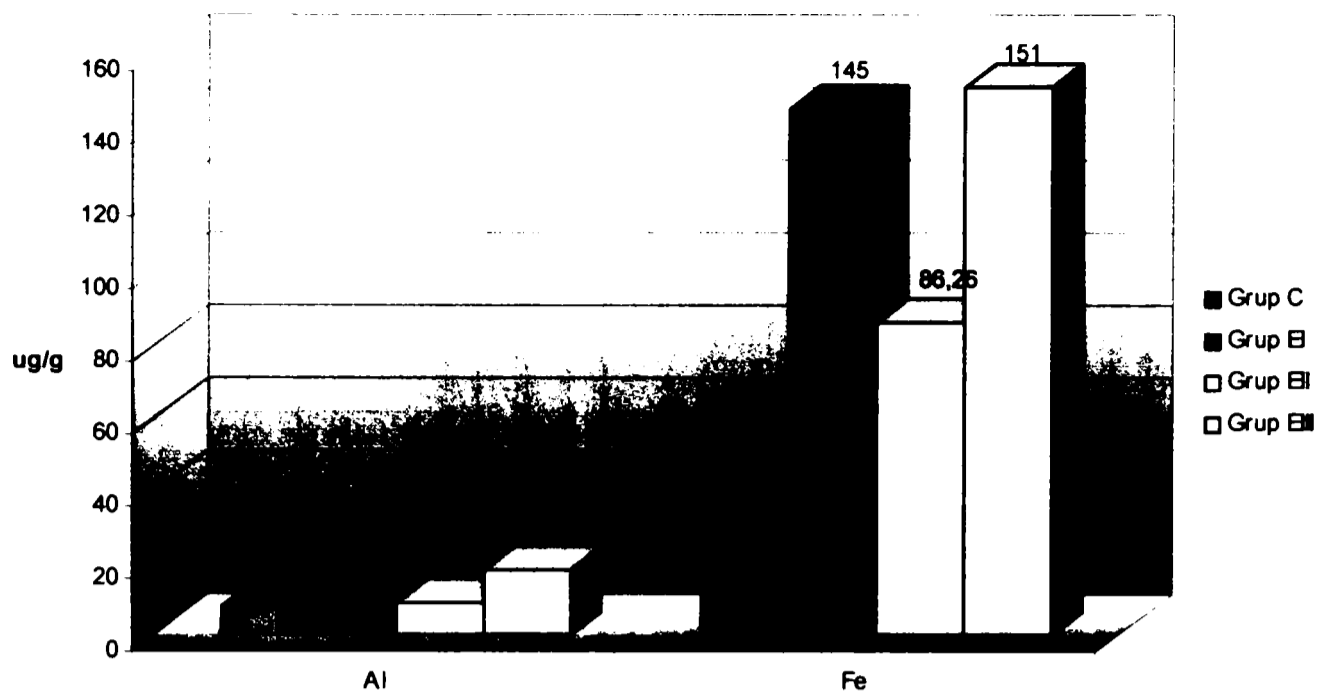


Figura 4-17. Date comparative privind Al și Fe în ficat

O importantă creștere a conținutului de aluminiu în ficat, poate fi observată după administrarea de clorură de aluminiu (creștere de 175%), respectiv de la $8.02\mu\text{g/g}$ în control, la $22.06\mu\text{g/g}$ în E_1 . Se știe că după absorbție, aluminiul este legat de transferină (90-95%) dar și de albumină (conform raportului WHO, 1997) din plasmă și ajunge la celulele țintă cu ajutorul receptorilor transferinei. Transferina poate fi definită ca o importantă proteină transportoare de ioni, datorită abundenței sale în fier. Moshtaghie et al. (1990) și Ghizdavu (2000), arată faptul că aluminiul se leagă de transferină în situurile fierului, interferând astfel puternic metabolismul acestuia. Dacă balanța se modifică datorită unor factori nutriționali, de mediu sau patologici, transferina poate transporta și alți ioni și îi poate depozita intracelular, în locul fierului sau adițional acestuia. Ca rezultat, orice afectare a legăturii Al-transferina poate crește retenția de aluminiu în organele țintă. În condițiile experimentului nostru am arătat faptul că (Pup et al., 2004) administrarea de clorură de aluminiu la iepuri determină scăderea nivelului de fier în sânge iar asocierea cu citrat a sării de aluminiu, îl scade foarte mult. În 2000, Dlugaszek et al., au arătat că după administrare îndelungată de clorura de aluminiu, s-a înregistrat o acumulare a metalului în toate țesuturile testate și autorul notează o scădere semnificativă a concentrației de fier hepatic în comparație cu grupul de control. În experiment, clorura de aluminiu a fost administrată în apa de băut, în doză totală de expunere de 700 mg Al.

Se pare că citratul (grupul E_{II}), determină o scădere a concentrației fierului acumulat comparativ cu grupul E_1 și o creștere de numai 68% comparativ cu grupul de control, datorită probabil a unei complexări a fierului. Concentrația de fier la grupul E_{II} a fost de $86.26\mu\text{g/g}$, față de $145\mu\text{g/g}$ la grupul E_1 și $51.34\mu\text{g/g}$

în grupul de control. În figura 4-15 se prezintă grafic variația concentrației de microelemente la grupurile experimentale și grupul de control.

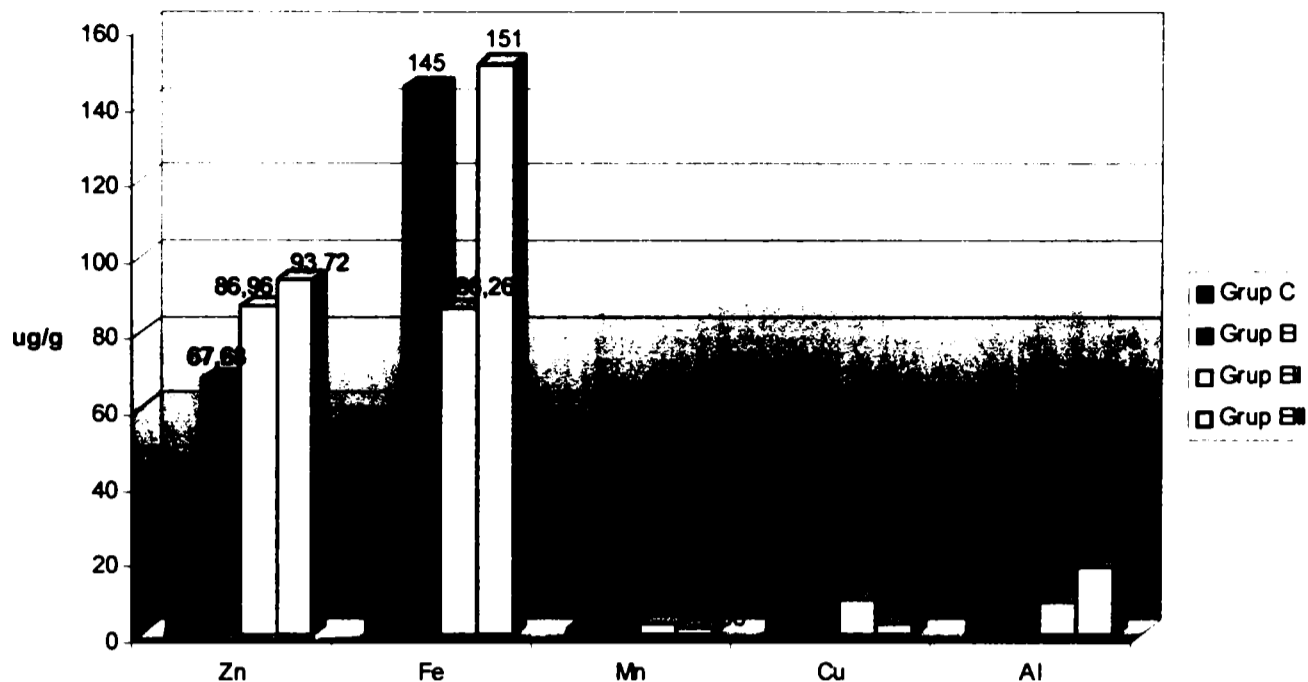


Figura 4-18. Variația concentrației de microelemente în ficat

Observând evoluția nivelului de zinc, mangan și cupru în ficat, după administrarea de clorură de aluminiu, în toate cazurile, nivelul acestora crește semnificativ, exceptând manganul (Pup et al., 2005c).

Creșterea concentrației hepatice de cupru este evidentă la grupurile E_I și E_{II}, dar într-o măsură mai mare la grupul E_I unde creșterea față de control este de creștere de 438% . Dejica (2000), afirmă că supraîncărcarea hepatică cu cupru determină leziuni hepatice progresive. Ca și în cazul supraîncărcării cu fier, lipoperoxidarea în mitocondriile hepatice se asociază cu afectarea metabolismului oxidativ mitocondrial prin reducerea probabil selectivă a enzimei citocrom-C-oxidazei. Există o specie de șobolani, care acumulează spontan cupru în ficat și care prezintă o lipoperoxidare crescută asociată leziunilor hepatice dezvoltate.

Figura 4-19 prezintă grafic variația cuprului și aluminiului față de control, la grupurile experimentale.

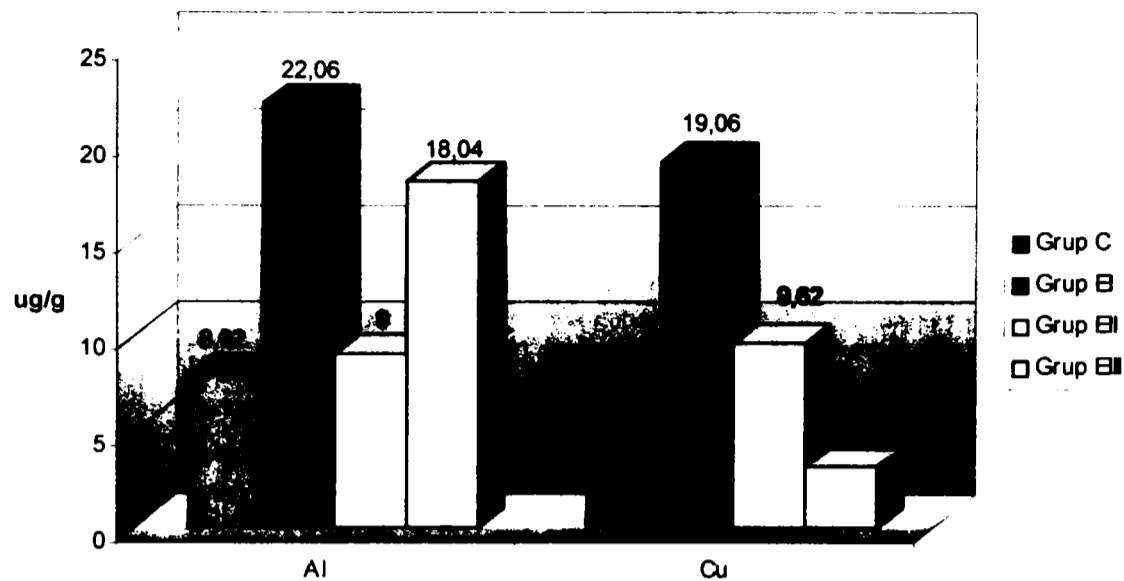


Figura 4-19. Date comparative privind Al și Cu în ficat

Pornind de la prezumția inducerii unui stres oxidativ de către aluminiu și posibile modificări ale unor enzime din sistemul antioxidant de protecție al organismului, presupunem că modificările enzimelor care conțin metalele în discuție poate fi cauza acestei disturbări de homeostazie. Se cunoaște faptul că zincul în doze mari sau mai mici, crește concentrația de oxidanți din celule (Oteiza, 2004). Excesul de citrat administrat în E_{II} determină o creștere a micrometalelor comparativ cu grupul de control, dar nu în procentul ridicat înregistrat în grupul E_I. La lotul E_I se înregistrează o creștere de 166% iar la E_{II} o creștere de 242% pentru zinc, o creștere de 182% în E_I și 68% în E_{II} pentru fier, o creștere de 438% în E_I și 172% în E_{II} pentru cupru, în condițiile în care aluminiul crește la E_I cu 175% dar la E_{II} creșterea nu este semnificativă față de control. Manganul nu înregistrează o creștere semnificativă în E_I, dar crește cu 61% în E_{II} față de control. Chiar dacă majoritatea studiilor în care s-a administrat aluminiu sub formă de citrat au arătat că citratul mărește acumularea acestuia în organele țintă, se pare ca acest exces în cazul nostru este destul de mare pentru ca efectul să fie invers atât pentru aluminiu cât și pentru alte metale, realizându-se eliminarea acestora. Astfel, aluminiul se acumulează după asocierea clorurii de aluminiu cu citrat, comparativ cu administrarea de clorură de aluminiu, până la 9.00μg/g, care față de 8.02μg/g reprezintă o creștere ne semnificativă.

La lotul E_{III}, după administrare de clorură de aluminiu cu fluorură, zincul crește cu 269% față de control, fierul cu 193% (aproximativ egal cu E_I), cuprul cu 102% iar aluminiul cu 125%. Manganul nu se modifică semnificativ față de control.

Klein et al., 1989, a realizat un experiment prin administrarea de 100 mg/kg/zi Al ca și citrat de Al, prin canulă duodenală și comparativ, intravenos timp de 14 zile la șobolani. S-a înregistrat o acumulare de Al în ficat dar mult mai scăzută față de lotul la care s-au făcut injecții. Concluzia studiului este că aluminiul administrat în doze farmacologice, prin gavaj, nu determină acumulare masivă de metal în ficat, datorită ratei mici de absorbție a aluminiului, care nu acoperă capacitatea de transport a transferinei plasmatică.

Tabel 4- 30. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în ficat (μg/g țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Na	μg/g	598±50	757±50*	+159	644±100	+46	759±46*	+170
K	μg/g	3425±270	2997±83*	-428	3210±162	-215	3457±81	+25
Mg	μg/g	148±24	205±2*	+57	196±31*	+48	214±18*	+66
Ca	μg/g	6.11±0.19	16.54±3.83*	+10.43	3.10±0.37*	-3.01	8.70±2.13*	+2.59

*p<0.05

Dacă la nivelul de Na și K nu se constată diferențe foarte mari în ficat, cel care variază cel mai mult este calciul și într-o măsură mai mică, magneziul. Creșterea calciului la loturile E_I și E₃ poate fi tot o consecință a acumulării intracelulare de calciu, consecutiv stresului oxidativ provocat de administrarea de aluminiu. Se observă efectul de îndepărtare de către citrat a calciului hepatic și efectul de limitare a mobilității aluminiului de către fluorură. Studiile pe celule parenchimale hepatice, hepatocite, au arătat că, printre altele, în prezența de complex aluminofluorinat, crește nivelul de calciu citosolic (Werve et al., 1985- citat de Connet, 1999). În același studiu, este citat Blackmore et al., 1988, care arată că tratamentul hepatocitelor cu NaF produce un eflux de calciu, astfel crește calciul citosolic. Aceste procese sunt dependente de concentrație. Anionii de fluorură, în prezența aluminiului scad acțiunea hormonilor care intervin în metabolismul calciului. Toate acestea pe lângă multe alte procese care influențează negativ ficatul dar care nu se menționează aici, transformă ficatul într-un organ implicat în gliconeoliză, oxidare de acizi grași, lipoliză, care au fost scoase în evidență la interpretarea analizelor de sânge.

Putem rezuma concluziile privind afectarea ficatului de administrarea de aluminiu în prezentul experiment astfel: după cum putem observa, distribuția metalelor grele analizate în ficat, este: Fe > Zn > Al > Cu > Mn. În condițiile experimentului, acumularea de aluminiu în ficat este evidentă și se înregistrează de asemenea o creștere a concentrațiilor hepatice de cupru, zinc și fier, creșterea manganului nefiind semnificativă. După administrarea de clorură de aluminiu, distribuția microelementelor este în aceeași ordine ca în grupul de control. În general, asocierea aluminiului cu citratul determină creșterea

acumulării acestuia în organe față de administrarea de aluminiu. În acest caz, concluzia este că citratul a fost administrat într-un exces prea mare, care a afectat balanța hepatică a metalelor. Distribuția metalelor după administrarea de citrat s-a modificat astfel: Fe,Zn > Cu, Al > Mn. Modificările de concentrație la metalele alcaline și alcalino-terose nu arată o afectare majoră a homeostaziei acestora, cu excepția calciului. Creșterea calciului hepatic la exces de aluminiu, se presupune că se datorează stresului oxidativ provocat de aluminiu și lipoperoxidării din membranele celulare, afectării canalelor de calciu și acumulării intracelulare a acestuia. Modificările enzimelor ALAT și ASAT indică o afectare hepatică. Fosfataza se corelează bine cu ALAT în afecțiunile hepatice (Moshtaghie et al., 2003), iar rezultatele experimentului nostru confirmă acest lucru. Creșterea anormală de fier la aport de $AlCl_3$, cu siguranță duce la accelerarea proceselor de oxidare celulară catalizate de acest metal, cu apariția stresului oxidativ la nivel hepatic.

4.3.7. EFECTELE ALUMINIULUI ASUPRA PULMONULUI

Inhalarea prafului contaminat cu aluminiu induce fibroză interstițială la lobii superiori ai pulmonilor. Mai puțin frecvente au fost afirmațiile că inhalarea de aluminiu este responsabilă de granulomatoza pulmonară. Există de asemenea studii privind incidența cancerului pulmonar, apărut mai frecvent la muncitorii cu expunere cronică la praf ce conține aluminiu (Wills și Savory, 1983).

Într-un studiu condus de Potkonjak (1979) s-a demonstrat că muncitorii expuși profesional la aluminiu în cantități mari (dar și la alți compuși toxici cum ar fi SO_2 , fluoruri, CO, acroleină, oxid feric, fenol, etc.) au prezentat scăderi de activitate ale enzimelor implicate în protecția celulară antioxidantă și anume: GSH-P_x, G-6-PDH și catalaza. De asemenea s-a observat și accentuarea peroxidării lipidelor cu formarea radicalilor peroxidici.

În circumstanțe obișnuite, aluminiul inhalat de plămâni este în mare parte exhalat și doar o mică parte este reținut și fixat de țesutul pulmonar prevenind într-o oarecare măsură transferul sistemic al elementului. Acest lucru a fost presupus deoarece nivelul de aluminiu este mult mai ridicat în plămâni decât în alte organe, crește cu vârsta și nu este corelat cu concentrația în aluminiu a altor organe. Totuși, când aerul inspirat conține foarte mult aluminiu retenția acestuia se poate realiza chiar și la nivel pulmonar (Mussi, 1984). Absorbția de aluminiu pe calea nazală poate avea implicații pentru bolile sistemului nervos pentru că este o cale directă către creier (Perl et al., 1987; Rouleau 1987).

Tabel 4-31. Variația concentrației de microelemente în plămân ($\mu\text{g/g}$ țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	Grup E _I $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm \text{D.S.}$	$\Delta \bar{X}$
Zn	$\mu\text{g/g}$	18.46 \pm 1.85	19.88 \pm 1.91	+1.42	27.54 \pm 9.14*	+9.08	18.06 \pm 1.61	-0.4
Fe	$\mu\text{g/g}$	56.70 \pm 4.49	171.2 \pm 12.0*	+114.5	63.56 \pm 18.42*	+6.86	59.2 \pm 1.95	+2.5
Mn	$\mu\text{g/g}$	0.10 \pm 0.02	0.84 \pm 0.11*	+0.74	0.06 \pm 0.02*	-0.04	0.59 \pm 0.12*	+0.49
Cu	$\mu\text{g/g}$	3.64 \pm 0.83	3.10 \pm 0.45	-0.54	4.18 \pm 0.43*	+0.54	3.80 \pm 0.44	+0.16
Al	$\mu\text{g/g}$	13.06 \pm 2.75	13.57 \pm 5.77	+0.51	16.52 \pm 3.78	+3.46	13.84 \pm 2.86	+0.78

*p<0.05

Se observă că față de grupul de control, în nici unul din grupurile experimentale nu se înregistrează o creștere a conținutului de aluminiu în plămân, în afară de E_{II}, unde creșterea nu este semnificativă. Exceptând o acumulare de fier după administrarea de clorură de aluminiu de 200% și o creștere la același lot a concentrației de mangan cu 750% față de control, nu se modifică conținutul de microelemente din organul analizat. Se prezintă grafic modificările de concentrație ale microelementelor din pulmon la grupurile experimentale față de grupul de control, în figura 4-20.

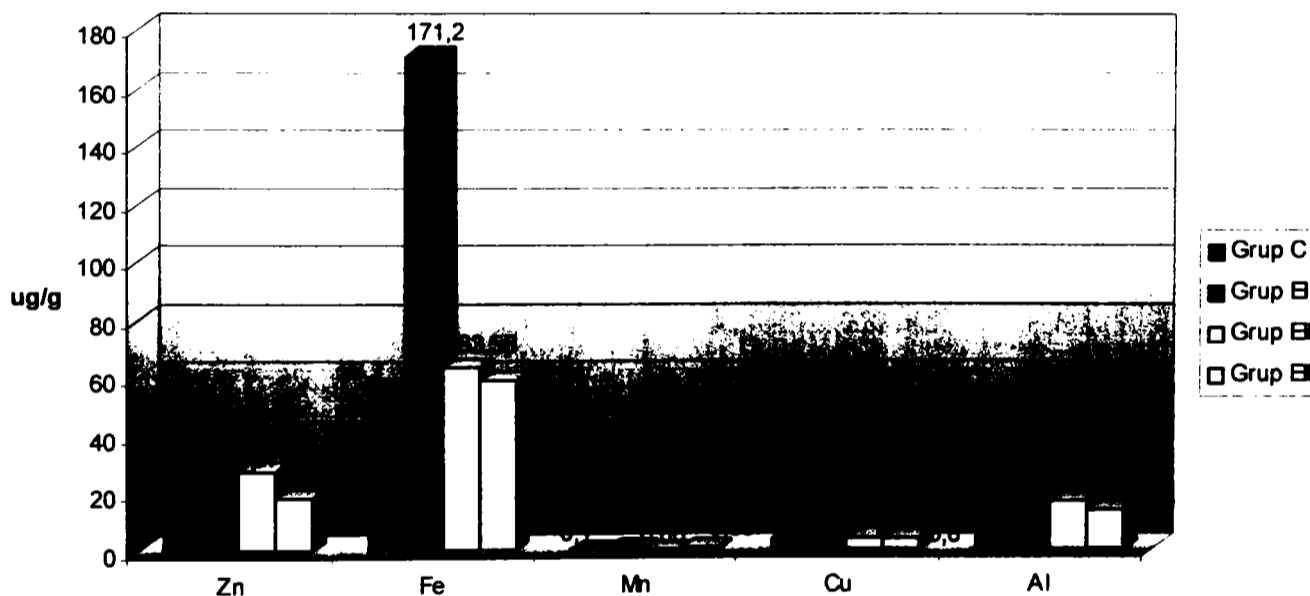


Figura 4-20. Variația conținutului de metale grele în pulmon.

Chiar dacă aluminiul nu prezintă în pulmon variații importante în grupurile experimentale față de grupul de control, se poate observa o creștere de fier la grupul E_I de la 56.70 $\mu\text{g/g}$ la control, până la 171 $\mu\text{g/g}$. Această variație poate fi observată în figura 4-21, care prezintă și variația simultană a calciului.

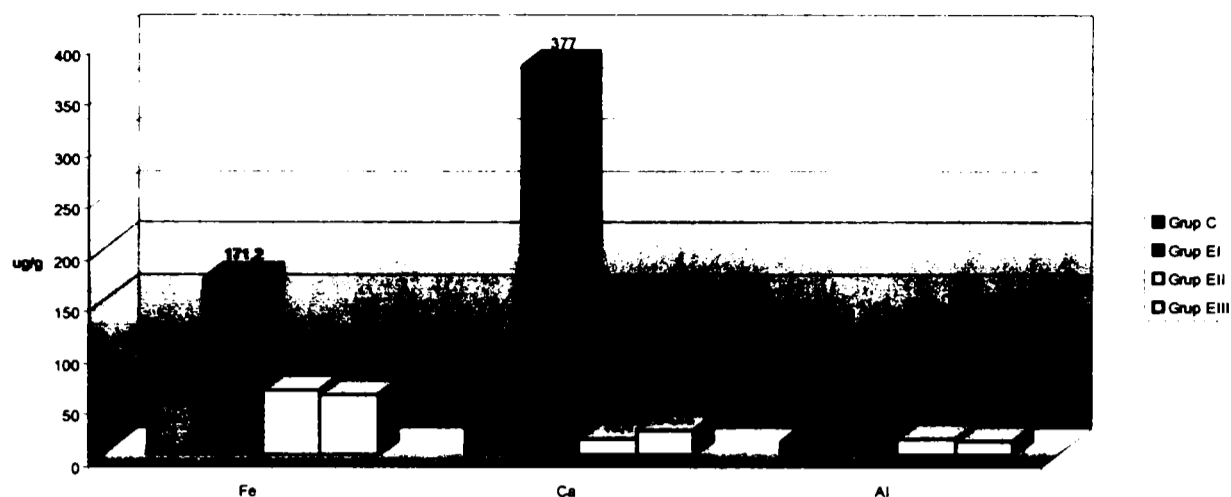


Figura 4-21 . Date comparative privind Al, Fe,Ca în pulmon

Se observă o creștere a concentrației de calciu după administrarea de clorură de aluminiu, care nu se produce în cazul administrării de clorură cu fluorură asociat.

Tabel 4-32. Variația concentrației de metale alcaline și alcalino-terose în plămân (µg/g țesut umed)

Specificare	UM	Grup C $\bar{X} \pm D.S.$	Grup E _I $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{II} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$	Grup E _{III} $\bar{X} \pm D.S.$	$\Delta \bar{X}$
Na	µg/g	1691±344	1660±201	-31	1513±114	-178	1608±99	-83
K	µg/g	3219±502	2719±118	-500	3208±95	-11	3656±347	+937
Mg	µg/g	179±13	211±7*	+32	227±45*	+48	198±43	+19
Ca	µg/g	33.28±4.56	377±57*	+343,72	15.4±2.0*	-17.88	24.22±3.61*	-9.06

*p<0.05

Observând tabelul 4-X₃₂, reiese că nu se produc modificări semnificative ale concentrațiilor de sodiu și potasiu la grupurile experimentale comparativ cu grupul de control. Magneziul crește semnificativ la grupurile E_I și E_{II}. Creșterea magneziul în E_{II} arată că acesta nu este eliminat de către citrat, după cum se întâmplă în cazul calciului. Calciul crește extrem de puternic la grupul la care s-a administrat clorură de aluminiu.

Aluminiul, alături de alte metale cum sunt plumbul și fierul, formează coloizi în asociație cu fosfatul și hidroxizii la pH fiziologic. Luând în considerare această observație, Seyle et al., citat de Nicolini et al. 1991) au arătat că injecțiile cu aluminiu sau un metal similar, cauzează o creștere a calciului seric (ceea ce s-a confirmat și în experimentul nostru, dar printr-o creștere moderată) și a fosforului (de asemenea observată și de noi) și o calcifiere metastatică la șobolanii la care nu s-a suplimentat corespunzător doza de

vitamina D. Calcifierea viscerală a fost un fapt comun la începuturile tratamentului prin dializă. Explicația autorului este că la concentrații mari de aluminiu, transferina nu poate prelua o cantitate de aluminiu suficient de mare pentru a împiedica formarea coloizilor în asociere cu fosfatul și hidroxizii. Calcifierea metastatică se poate produce în aproape orice țesut, însă cu predilecție în rinichi, artere, plămân, miocard, stomac, tiroidă (Duncan, 1966). Aceasta pare să fie cauza principală de apariție a depozitelor calciu-fosfatice în viscerele pacienților dializați în trecut (Seyle 1962- citat de Nicolini 1991).

Concluziile privind afectarea plămânului de către aportul de aluminiu pot fi rezumate astfel: spre deosebire de celelalte organe studiate, unde acumularea de aluminiu la loturile experimentale este evidentă, în plămân nu crește concentrația acestui metal arătând că administrarea soluțiilor de aluminiu subcutan, nu duce la acumularea Al cum probabil se produce la inhalarea de pulberi de Al. Calciul crește exagerat la administrare de clorură de aluminiu, de la 33.28μg/g la control la 377μg/g în E₁ chiar și fără să crească aluminiul în țesut, de asemenea crește spectaculos fierul la grupul E₁ de la 56.70μg/g la control, la 171μg/g. Creșterea la lotul experimental E₂ a cantității de zinc și cupru, putem presupune că se datorează unor modificări enzimatică Zn-Cu dependente.

4.4. STUDIUL COMPARATIV AL EFECTELOR PRODUSE DE ADMINISTRAREA DE ALUMINIU LA DIFERITE ORGANE STUDIATE

Se poate observa sensul diferit de variație a concentrațiilor biometalelor studiate și a aluminiului la grupurile experimentale față de grupul martor în funcție de organ. Există o asemănare evidentă în reprezentarea grafică a variației concentrației de aluminiu (figura 4-22) între rinichi, splină, ficat, mușchi. Administrarea de clorură de aluminiu, determină acumularea aluminiului în aceste organe. Administrarea concomitentă de citrat și clorură de aluminiu, nu mărește mobilitatea aluminiului, care nu se acumulează în aceste organe, rămânând la o concentrație aproape de cea a lotului de control, exceptând splina la care concentrația aluminiului nu scade la cea a lotului de control odată cu administrarea de citrat. Administrarea de fluorură concomitent cu clorura de aluminiu determină acumulare de aluminiu, însă sub concentrația lotului E₁, arătând o oarecare imobilizare a aluminiului de către fluorură.

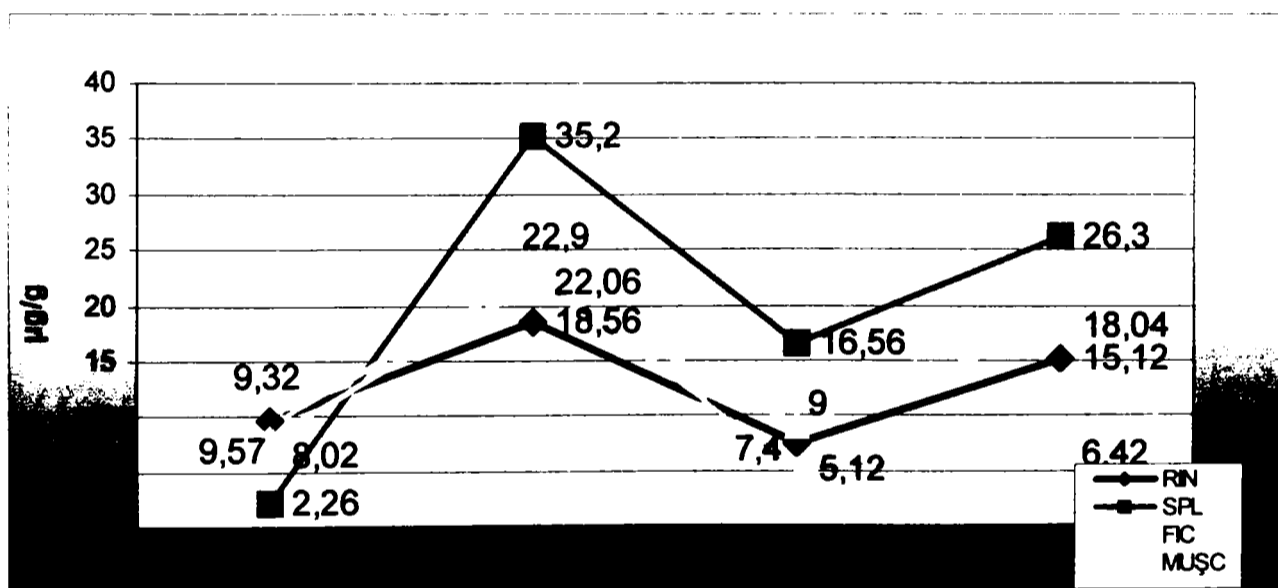


Figura 4-22. Reprezentarea grafică a modificării concentrației de aluminiu în grupele experimentale în rinichi, splină, ficat, mușchi

S-a arătat, prin prezentarea rezultatelor unor studii experimentale, că citratul favorizează absorbția aluminiului, fiind unul din principalii liganzi ai acestui metal în sânge cu care se formează un complex cu masă moleculară mică, ce difuzează ușor prin diverse membrane, mărindu-i mobilitatea.

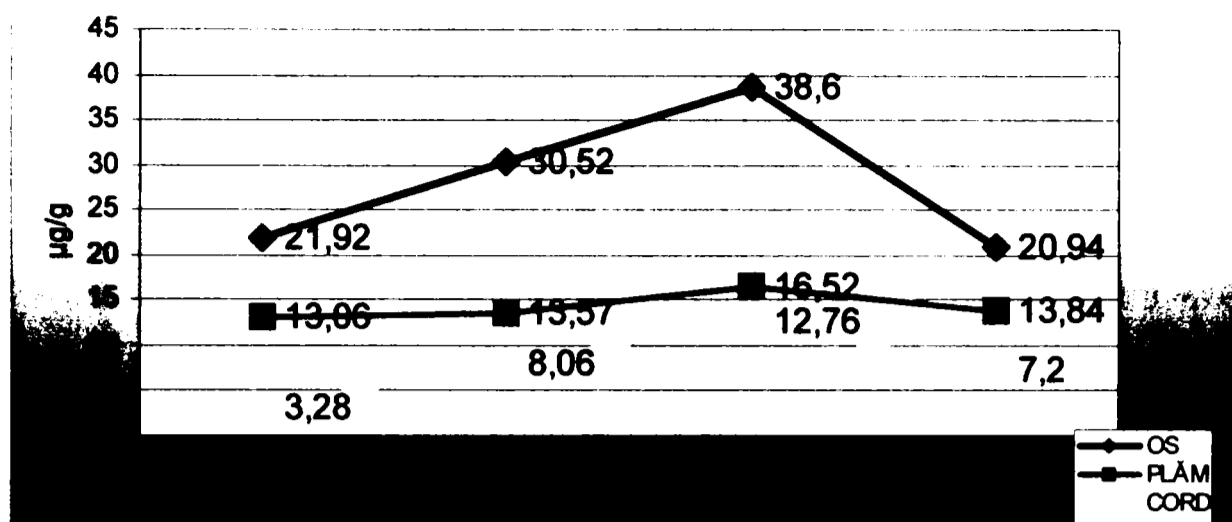


Figura 4-23. Reprezentarea grafică a modificării concentrației de aluminiu în grupele experimentale în os, plămân, cord

Din reprezentarea grafică a variației concentrației de aluminiu în os, plămân, cord (figura 4-23), se observă că administrarea de citrat concomitent cu clorura de aluminiu, determină o acumulare mai mare a aluminiului în aceste organe decât la administrarea doar a clorurii de aluminiu, confirmând efectul de mărire al mobilității aluminiului de către citrat, dar și faptul că osul și cordul reprezintă organe țintă ale acumulării de aluminiu.

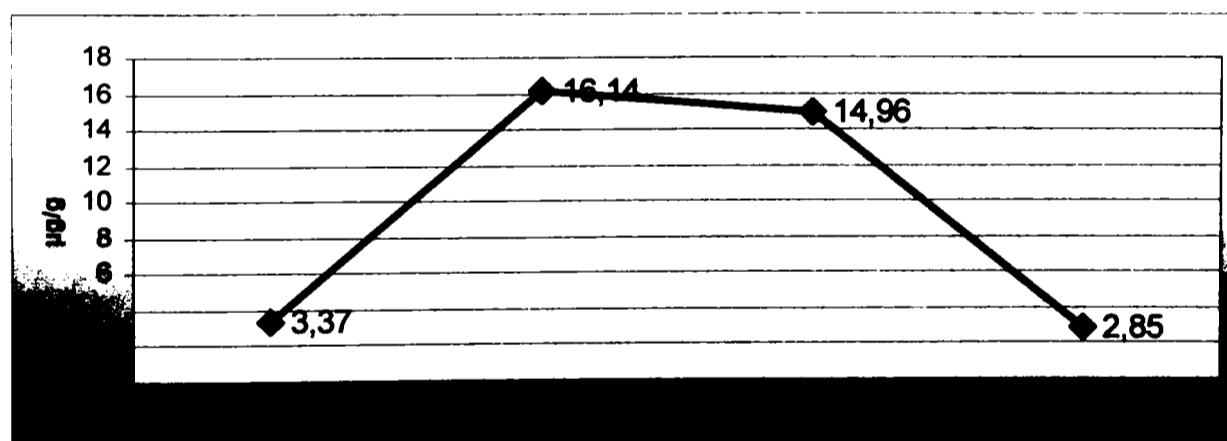


Figura 4-24. Reprezentarea grafică a modificării cantumului de aluminiu în grupurile experimentale în creier

În cazul creierului, se poate observa din figura 4-24 efectul de acumulare al aluminiului la E_1 și E_{11} , confirmă de asemenea rezultate experimentale ale diverși autori, care au arătat că creierul este un organ

țintă al acumulării de aluminiu. Se pare că fluorura limitează mobilitatea aluminiului, acesta nu se acumulează la lotul E_{III}.

Putem spune deci că aluminiul se acumulează în toate organele studiate ca urmare a administrării de clorură de aluminiu. La aport concomitent de citrat, efectul este diferit în funcție de organ, cele în care mobilizarea aluminiului de către citrat este mai puternică, cu mărirea acumulării sunt: osul, creierul, cordul și într-o măsură mai mică, splina, deci efectele se înregistrează la nivelul sistemului osteo-articular, cerebral și sistemului hematopoetic.

Studiind variația calciului în organele studiate s-a observat de asemenea o variație a acestuia diferită în funcție de organul studiat și de lotul experimental .

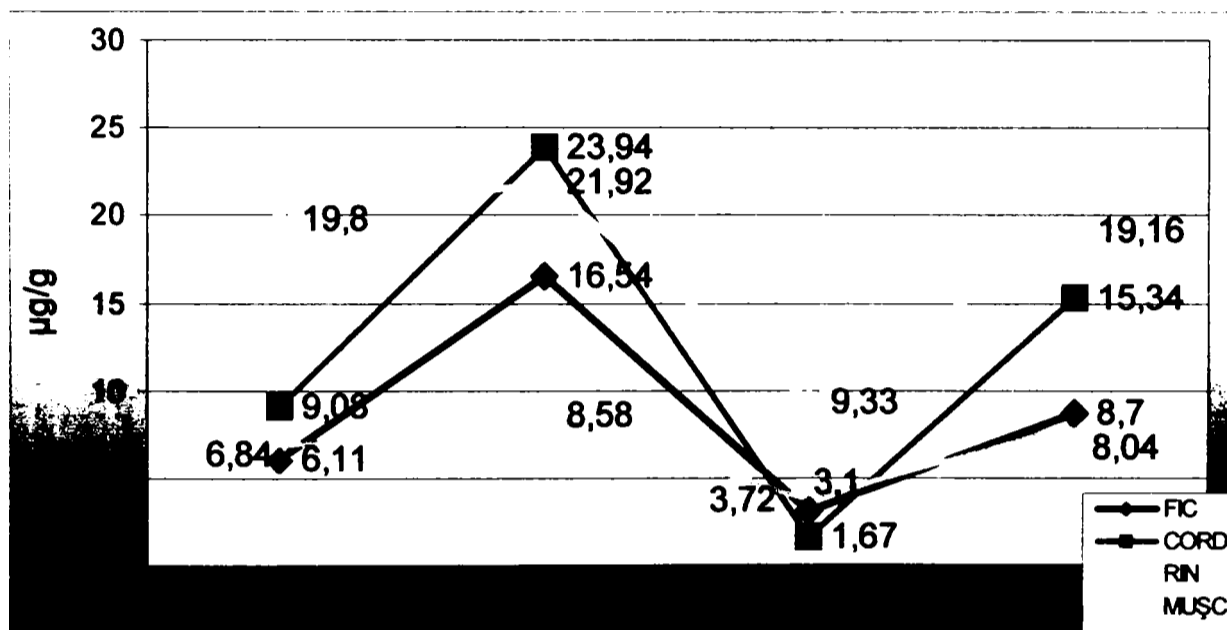


Figura 4-25. Reprezentarea grafică a variației concentrației de calciu în ficat, cord, rinichi, mușchi

Se poate observa în figura 4-25, sensul asemănător al variației concentrației de calciu în ficat, cord, rinichi, mușchi. Se produce o creștere de calciu în organele respective după administrare de clorură de aluminiu. Citratul administrat cu clorura de aluminiu duce la scăderea concentrației de calciu sub cea a grupului de control la organele precizate. Fluorura asociată cu aluminiul, determină creșterea calciului la concentrație peste cea a grupului de control doar în cord, părând să nu determine acumulare de calciu la ficat, rinichi, mușchi.

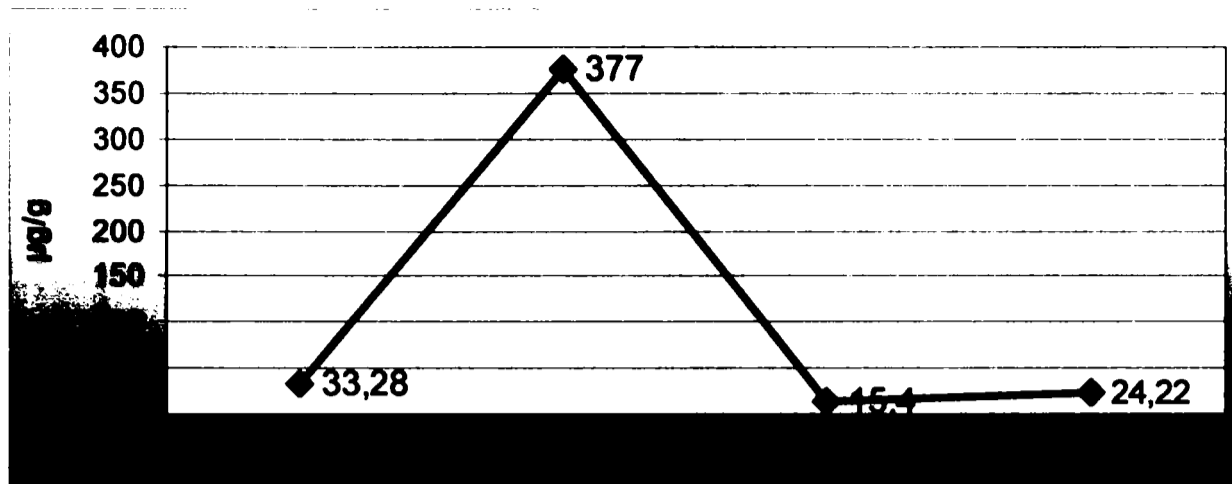


Figura 4-26. Reprezentarea grafică a variației concentrației de calciu plămân

În plămân se produce o puternică creștere a calciului după administrare de clorură de aluminiu (figura 4-26). Citratul asociat cu clorura de aluminiu, mărește acumularea de calciu în creier, în măsură mult mai mare decât la administrarea de clorură de aluminiu sau clorură de aluminiu cu fluorură (figura 4-27).

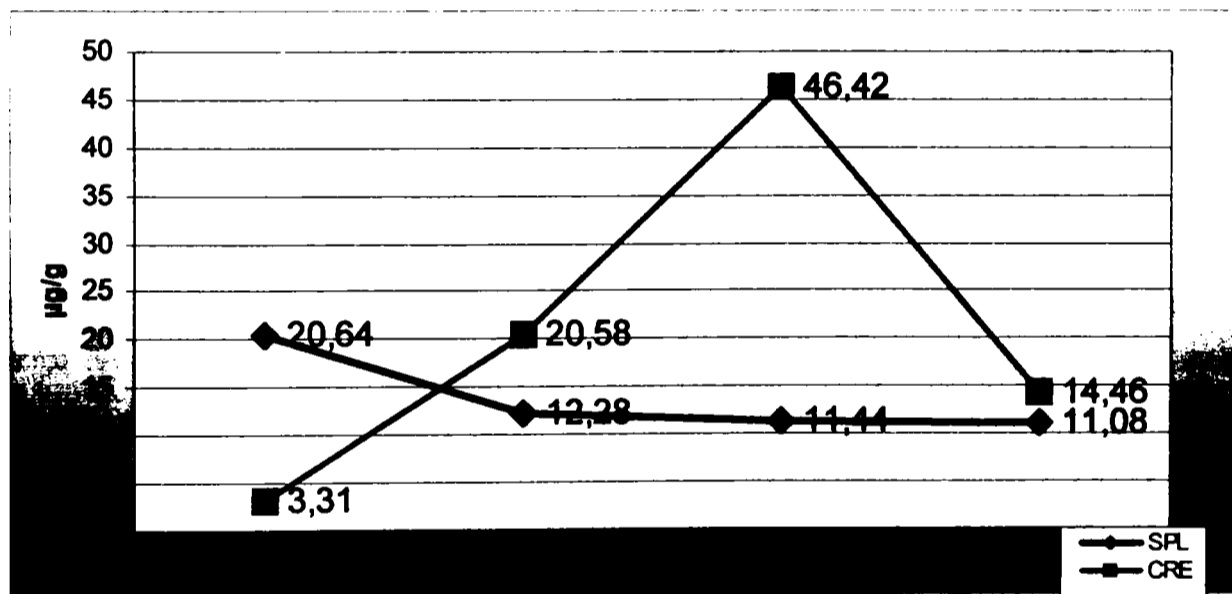


Figura 4-27. Reprezentarea grafică a variației concentrației de calciu în creier și splină

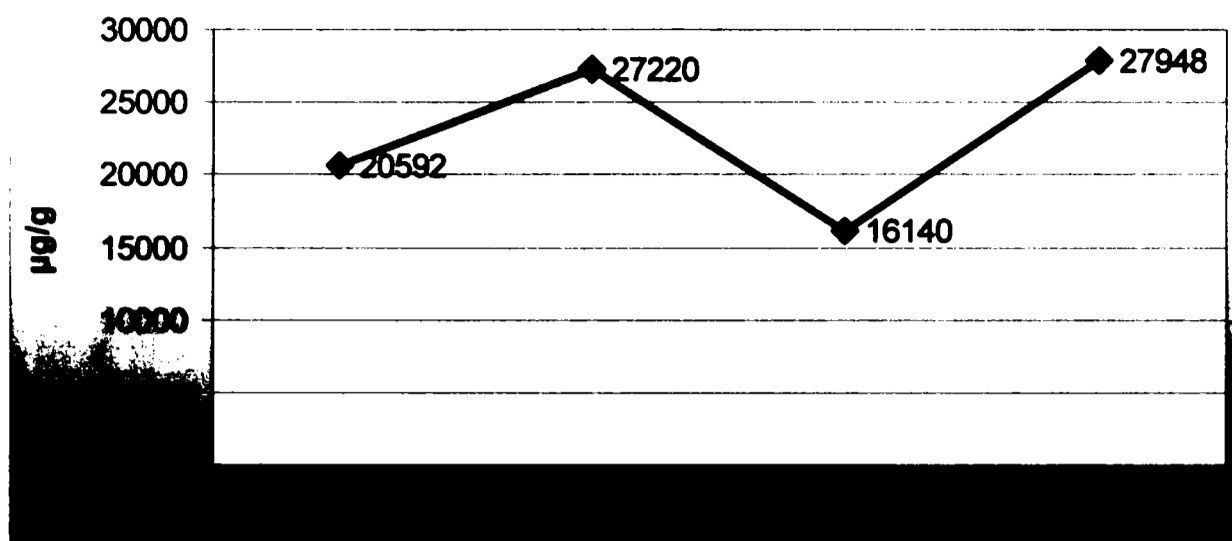


Figura 4-28. Reprezentarea grafică a variației concentrației de calciu în os

Din figura 4-28 se observă că aluminiul și aluminiul asociat cu fluorură determină creșterea calciului în os. Presupunem că este o stare temporară, datorată condițiilor de administrare acută, deoarece la administrare cronică studii numeroase au stabilit că aluminiul determină scăderea densității osoase, cu scăderea calciului în os.

Din subcapitolele anterioare s-a putut constata că la administrare de clorură de aluminiu crește concentrația de calciu în următoarele organe: os, mușchi, cord, creier, ficat, plămân. De asemenea există presupunerea că se produce o afectare hepatică puse în evidență de variația concentrației serice de ALAT și ASAT, precum și a scăderii lipidelor totale în special LDL- colesterol (creșterea acestui parametru în sânge se produce când ficatul nu reușește să transforme LDL în HDL- colesterol). Creșterea fierului (figura 4-n₂₉) la organele la care se produce creșterea calciului adică ficat, creier, plămân, os, alături de observațiile prezentate anterior, duc la ipoteza producerii (la administrare de clorură de aluminiu) unui proces de stres oxidativ, aluminiul determinând intensificarea proceselor de oxidare celulară, demobilizarea fierului din depozite și acumularea acestuia în organe ceea ce cu siguranță determină intensificarea acestor procese oxidative producătoare de radicali liberi. Aceste reacții de oxidare afectează lipidele și proteinele membranare, denaturează canalele transportoare de nutrienți (deci și ioni), de aceea calciul se acumulează în citosol, pentru că transferul în afara celulei este afectat.

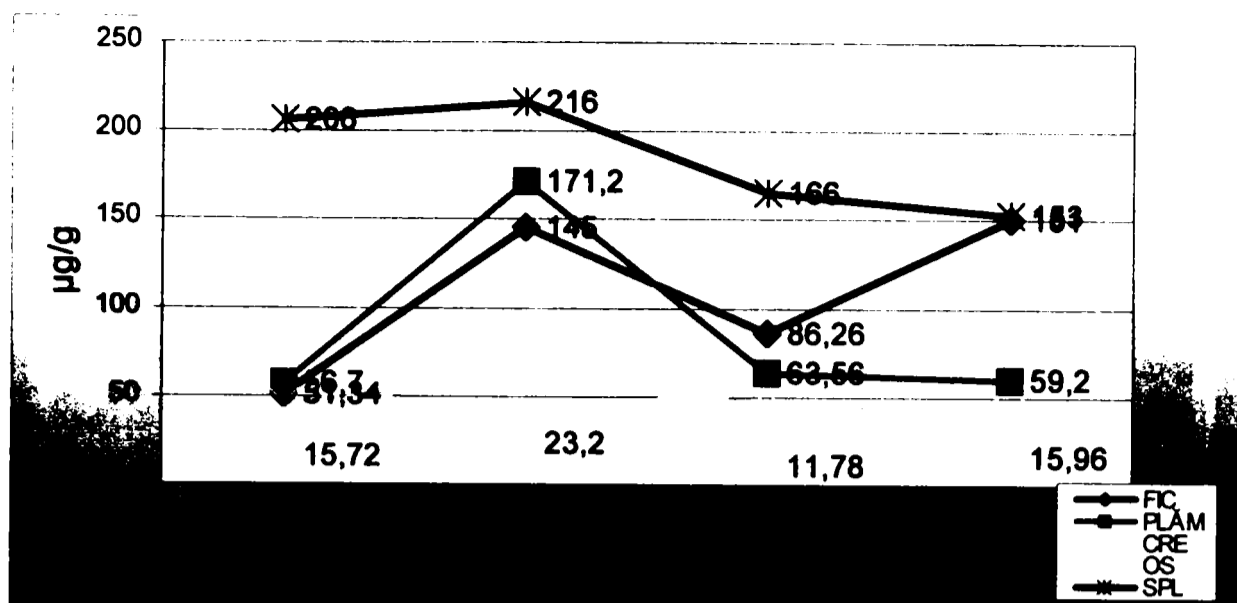


Figura 4-29. Variația concentrației de fier la grupul martor și cele experimentale în ficat, plămân, creier, os, splină

În figura 4-30 se prezintă graficul variației de concentrație a fierului în rinichi, cord și mușchi la grupul martor și experimentale.

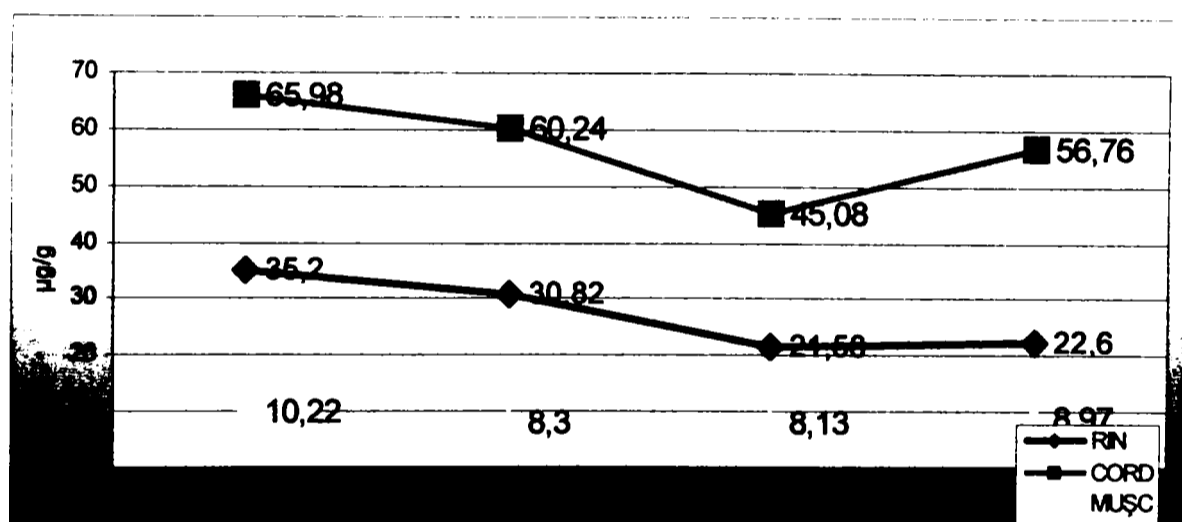


Figura 4-30. Variația concentrației de fier la grupul martor și experimentale în rinichi, cord, mușchi

Observând figurile care arată modificările conținutului de fier în organe în cursul experimentului, putem trage concluzia că organele cele mai afectate de intensificarea proceselor de oxidare datorate acumulării de fier și consecutiv, blocarea canalelor de calciu, cu acumularea intracelulară de calciu

sunt, după administrare de clorură de aluminiu următoarele: ficat, plămân, os, creier și splina (în care însă se produce pe lângă acumulare de aluminiu, o scădere a calciului).

Studiind figurile care reprezintă variația calciului și fierului în grupurile martor și experimentale, putem observa că citratul are un efect de îndepărtare din organ a acestor bioelemente, probabil prin efectul de complexare pe care îl are asupra lor dar și ca urmare a diurezei pe care citratul se știe că o provoacă la nivel renal.

În prezența unei cantități mici de aluminiu, fluorura formează ionul AlF_4^- , în care un ion de Al^{3+} este înconjurat de patru ioni F^- . Se pune tot mai mult problema în ce măsură dozele de aluminiu și fluorură la care suntem expuși pot cauza probleme patologice la om.

Complecșii aluminofluorurați sunt considerați de puțin timp ca o clasă nouă de analogi ai fosfatului în investigațiile de laborator. Datele experimentale indică clar că complecșii aluminofluorurați pot minimiza sau potența acțiunea a numeroase semnale extracelulare și afectează puternic răspunsul celular. Complecșii aluminofluorurați pot acționa cu puternică eficacitate farmacologică. Creșterea în mediul înconjurător și în hrană a conținutului de aluminiu și fluorură, crește posibilitatea de a acumula date care să dovedească pericolul acestor complecși asupra sănătății omului.

Administrarea de clorură de aluminiu împreună cu fluorură de sodiu (în grupul E_{III}) duce la acumulare de aluminiu la nivelul lotului E_I , ceea ce duce la concluzia că în rinichi, ficat, splină, cord și mușchi, fluorura nu reușește la dozele administrate în experiment să limiteze mobilitatea aluminiului. În schimb în creier, os, plămân nivelul de aluminiu la lotul E_{III} este la nivelul lotului de control, arătând că în acest caz, fluorura imobilizează aluminiul, reducându-i mobilitatea. De asemenea, se constată că în ficat, administrarea de clorură de aluminiu concomitent cu fluorura, duce de asemenea la creșterea fierului concomitent cu creșterea calciului hepatic, ducând ipoteza producerii stresului oxidativ la nivelul acestui organ.

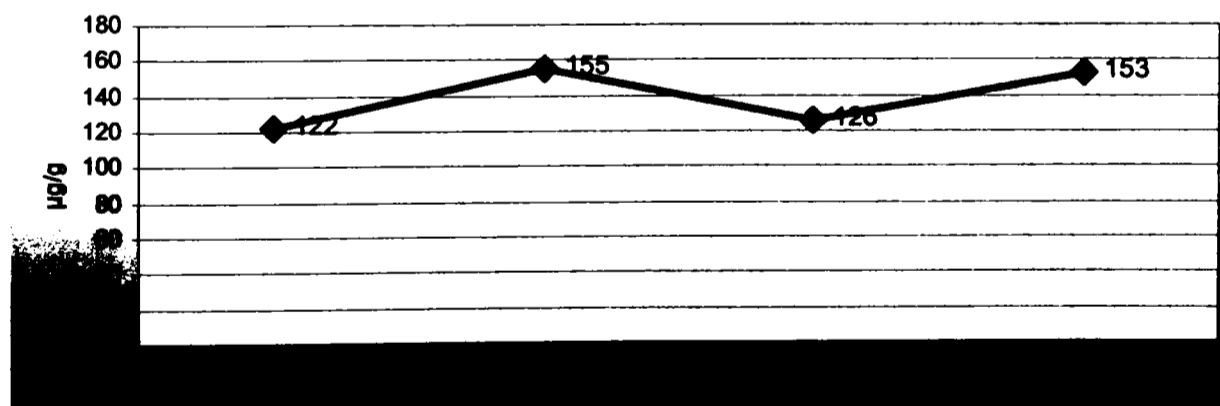


Figura 4-31. Variația cantitativului de zinc la lotul martor și cele experimentale în os

Modificările zincului la grupele experimentale comparativ cu grupul de control în os, este prezentată în figura 4-31. Se observă că variațiile la grupurile experimentale față de grupul de control nu sunt mari, chiar dacă aceste variații sunt semnificative.

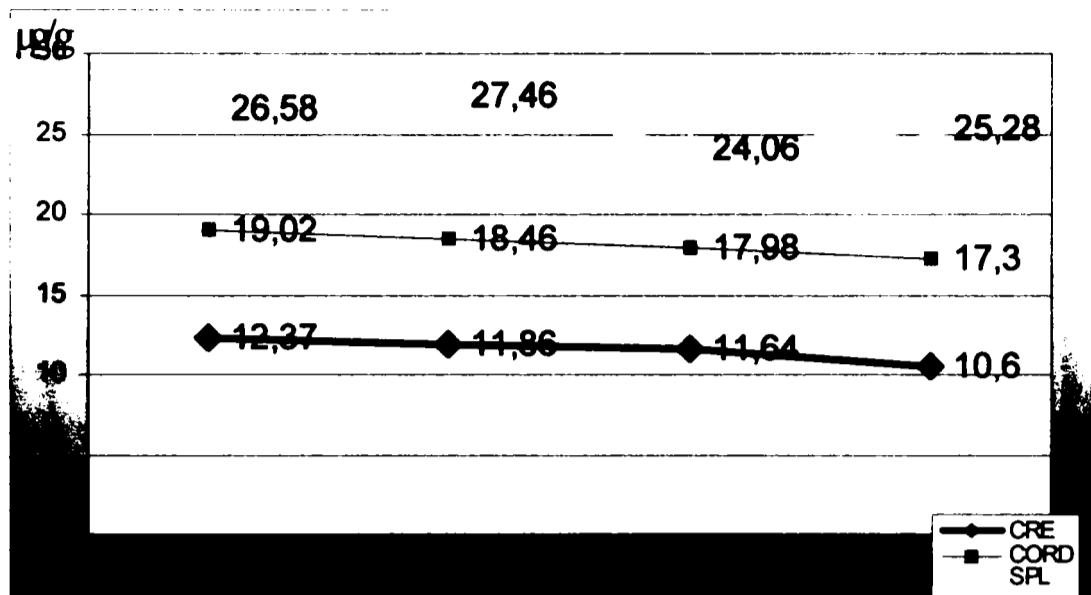


Figura 4-32. Variația cantumului de zinc la grupul martor și experimentale în creier, cord și splină

Nici în creier, cord, splină (figura 4-32) nu se produc schimbări mari la concentrația de zinc din grupele experimentale față de grupul de control.

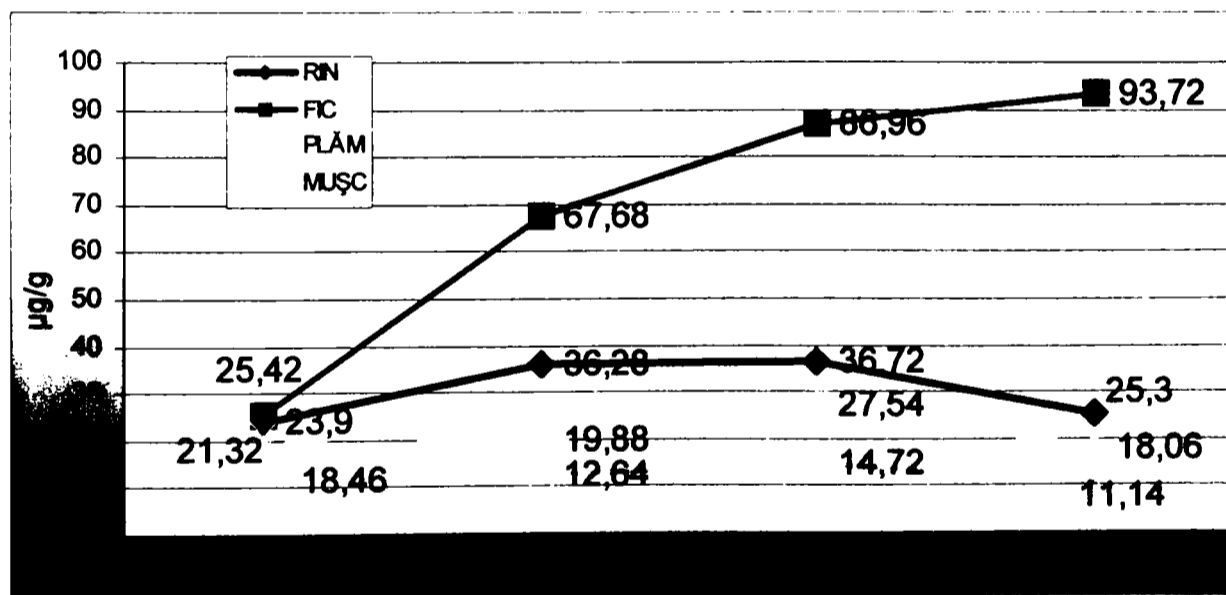


Figura 4-33. Variația concentrației de zinc la grupul martor și experimentale la rinichi, ficat, plămân și mușchi

Ficatul este organul în care modificările de zinc sunt cele mai importante, dintre toate organele studiate. Clorura de aluminiu duce la o creștere a zincului în ficat, depășită de creșterea datorată citratului dar mai ales fluorurii administrate concomitent cu aluminiul (figura 4-33).

Am arătat anterior că pornind de la prezumția inducerii unui stres oxidativ de către aluminiu și posibile modificări ale unor enzime din sistemul antioxidant de protecție al organismului presupunem că modificările enzimelor conținând zinc poate fi cauza acestei disturbări de homeostazie la loturile experimentale. Se cunoaște faptul că zincul în doze mari sau mai mici, crește concentrația de oxidanți din celule (Oteiza, 2004).

Prezentăm în continuare variațiile manganului la grupul de control și cele experimentale ca urmare a administrării de soluții conținând aluminiu.

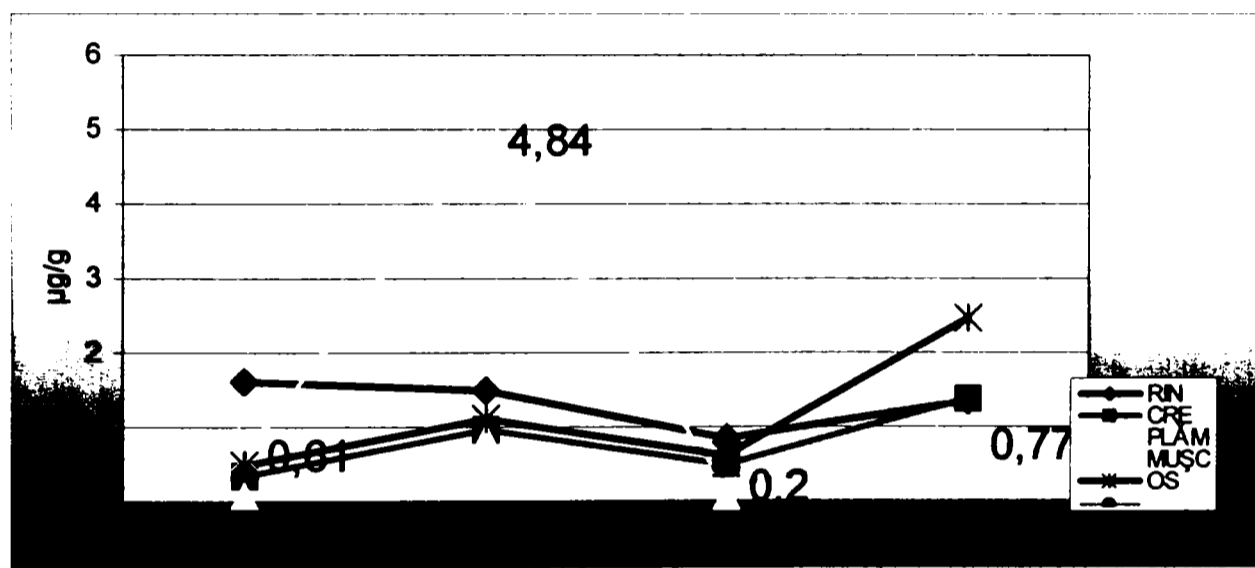


Figura 4-34. Variația cantumului de mangan la lotul martor și cele experimentale la rinichi, creier, plămân, mușchi, os

Se observă din figura 4-34, o variație puternică a manganului în mușchi la administrarea clorurii de aluminiu în grupul E₁, creștere care se produce la celelalte grupuri experimentale într-o măsură mult mai redusă.

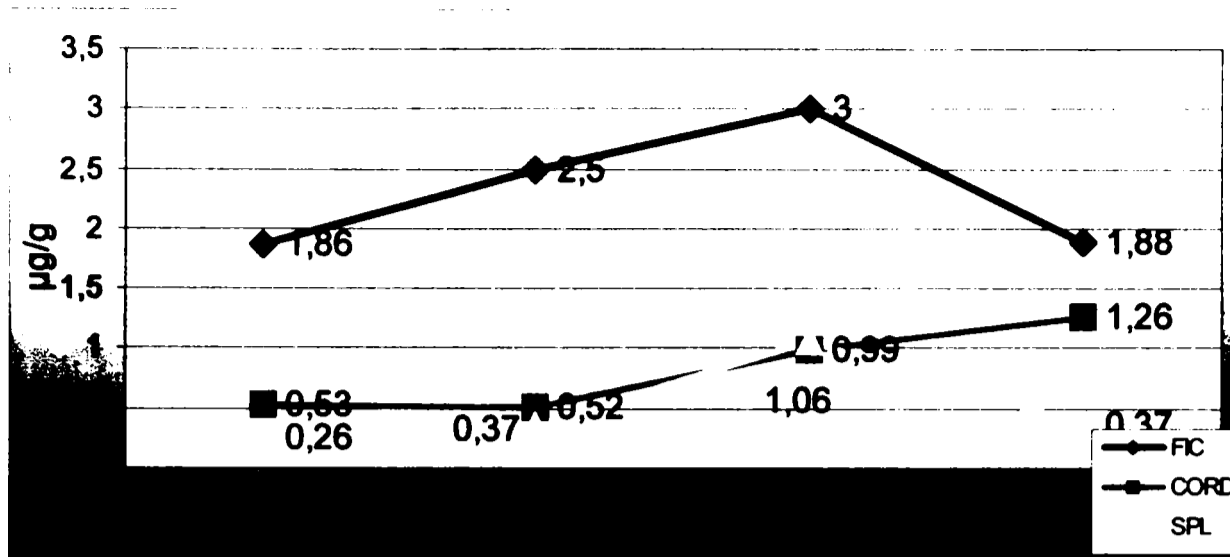


Figura 4-35. Variația cantitatii de mangan la lotul martor și cele experimentale la ficat, cord, splină

Se observă în figura 4-35 creșterea cantitatii de mangan în organele studiate în special la administrare de clorură de aluminiu asociată cu citrat, iar în cazul cordului, chiar și la asociere a clorurii de aluminiu cu fluorură. Manganul fiind puternic implicat în diverse reacții de oxido-reducere în organism, s-ar putea ca această acumulare să determine intensificarea proceselor de oxidare celulară determinate și de prezența aluminiului. În rinichi, creier, plămân și os, nu se modifică spectaculos concentrația manganului, chiar dacă diferențele între loturile experimentale și cel de control sunt semnificative.

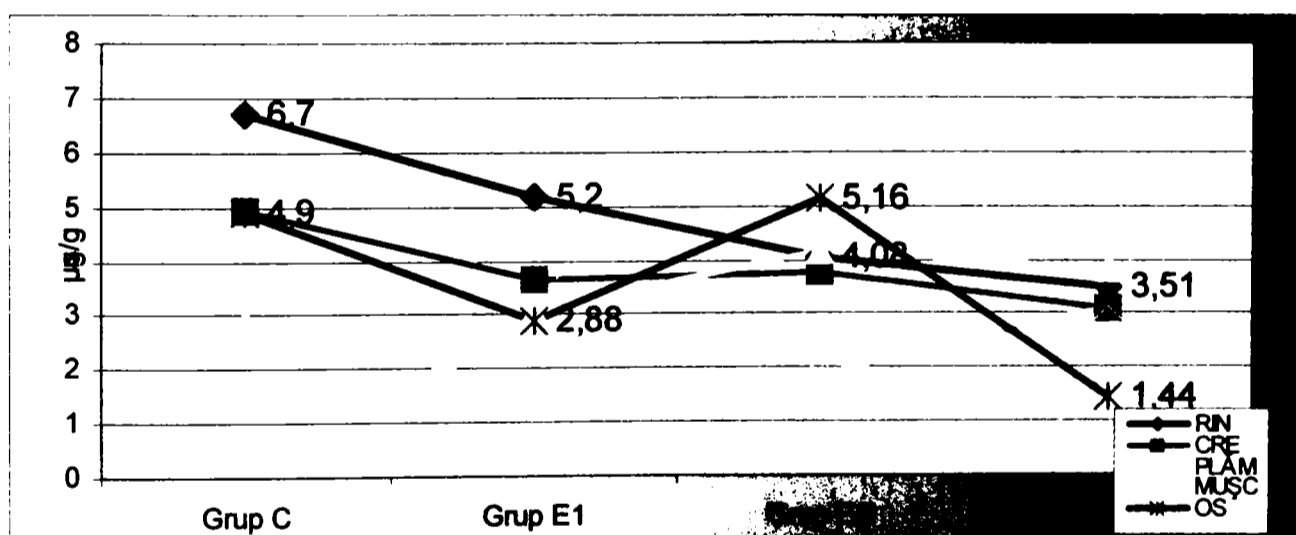


Figura 4-36. Variația concentrației de cupru la grupul de control și grupurile experimentale în rinichi, creier, plămân, mușchi, os

Se observă în figura 4-36 variații importante de cupru la administrarea soluțiilor cu conținut de aluminiu la rinichi și os. Dacă în rinichi se produce o scădere a concentrației de cupru la loturile

experimentale față de control, se pare că citratul administrat cu clorura de aluminiu nu produce îndepărtarea cuprului din os, favorizându-i acumularea.

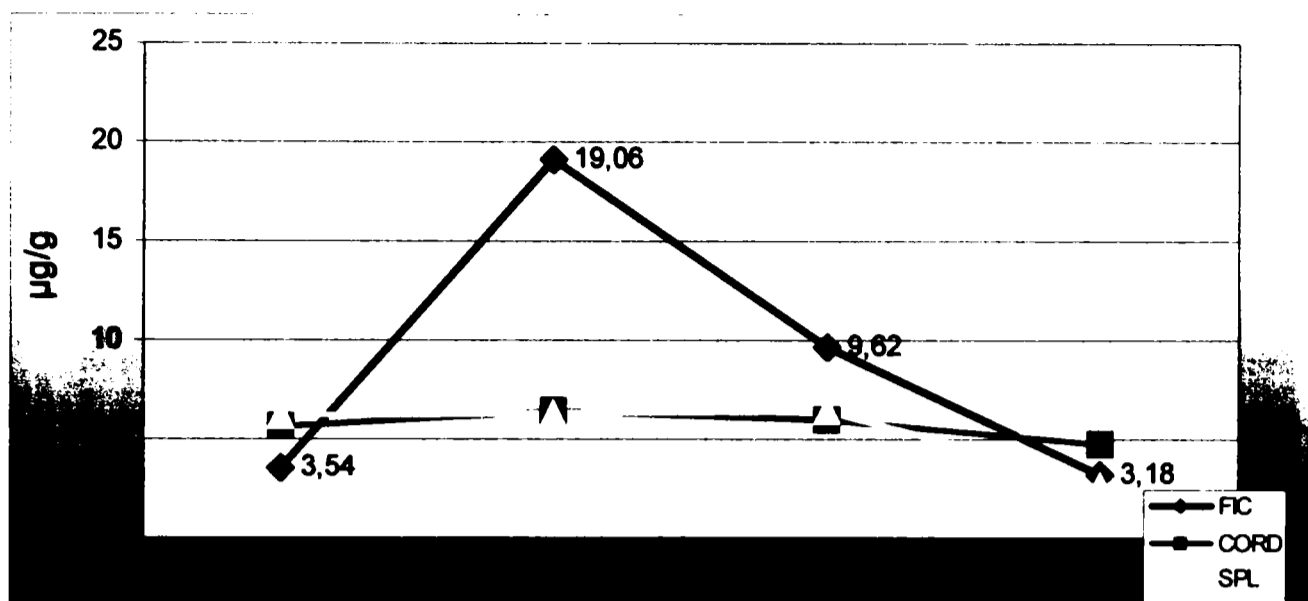


Figura 4-37. Variația concentrației de cupru la grupul de control și grupurile experimentale în ficat, cord și splină

Din figura 4-37 se observă creșterea concentrației de cupru în ficat, după administrarea clorurii de aluminiu. Din figurile care reprezintă variațiile concentrației de cupru în organele studiate se observă că creșterea cuprului în ficat se asociază și cu creșterea hepatică a concentrației de zinc și fier. Aceste creșteri de concentrație ale cuprului, zincului și fierului în ficat ar putea fi datorate unor modificări în activitatea enzimelor ce conțin aceste microelemente și ar putea determina intensificarea proceselor oxidative celulare în acest organ.

Exceptând ficatul, osul și splina unde fluorura asociată clorurii de aluminiu determină o scădere a concentrației cuprului în aceste organe sub concentrația grupului de control, se observă că la restul organelor studiate, administrarea de clorură de aluminiu cu fluorură, nu aduce modificări semnificative ale concentrației de cupru, față de grupul de control.

CONCLUZII

Datele referitoare la prezenta teză de doctorat includ cercetări întreprinse în două direcții care au urmărit aspectele homeostaziei biochimice studiate pe modele experimentale animale. În acest sens concluziile s-au grupat pe două secțiuni: prima – interesând rezultatele obținute prin cercetarea acțiunii zincului și manganului asupra unor animale de experiență reprezentate de șobolani linia Wistar; secunda urmărind efectele produse de aluminiu (în diferite asociații de compuși) asupra unor animale de experiență reprezentate de leporide.

Rezultatele analitice obținute la animale asemenea cercetărilor în nutriție, farmacologie, biologie și medicina experimentală sunt considerate ca și informații cu caracter predictiv pentru evaluarea efectelor diferitelor substanțe asupra organismului uman.

1. Investigațiile cu privire la acțiunea zincului asupra homeostaziei biochimice la șobolani linia Wistar au avut în vedere faptul că zincul este un biomicroelement indispensabil organismelor animalelor și omului. Din aceste considerente cercetările s-au bazat pe utilizarea zincului în doză dublă (grup E₁) și cvadruplă (grup E₂) față de aportul zilnic recomandat – RDI (Recommended Daily Intake). Zincul a fost administrat sub formă de soluție de clorură de zinc prin gavaj. Rezultatele au fost raportate la un grup de control (C). Datele obținute au condus la următoarele concluzii circumscrise la efectele zincului:

1.1. Efectele dishomeostazice induse de zinc administrate în concentrație dublă (dRDI) și cvadruplă (cRDI) au determinat acumularea zincului în mușchi în concentrații crescute cu 26% și respectiv 42%, comparativ cu grupul de control.

1.2. Zincul acționează ca și antagonist al cuprului și fierului din mușchi. Creșterea zincului muscular cu 26% la primul grup experimental, determină scăderea cuprului cu 21% și a fierului cu 9%. Mărirea dozei de zinc administrate la cRDI, determină scăderea accentuată a fierului cu 28% față de control în condițiile în care cuprul nu se modifică

1.3. De asemenea administrarea de zinc în doză cRDI duce la creșterea cu 29% a manganului în mușchi, la doze mici zincul părând să acționeze sinergic cu manganul, probabil datorită activării enzimelor Zn-Mn dependente iar administrarea de zinc la doza maximă utilizată în experiment, scade concentrația de mangan în mușchi, acționând la concentrații mari, ca și antagonist al acestuia posibil datorită fenomenelor de competiție in vivo.

1.4. Ficatul acumulează zinc la expunere la dozele din experiment, crescând cu 26% în grupul E₁ și cu 81% la grupul E₂ față de grupul de control.

1.5. Aportul în exces de zinc determină scăderea concentrației hepatice de Cu, Mn, acționând ca

antagonist al acestor micrometale. Astfel Mn se modifică de la 1.43 $\mu\text{g/g}$ în grupul de control la 1.25 $\mu\text{g/g}$ și respectiv 1.14 $\mu\text{g/g}$ la grupele experimentale, iar Cu variază de la 4.10 $\mu\text{g/g}$, la 4.05 $\mu\text{g/g}$ (neseemnificativ) și 3.38 $\mu\text{g/g}$.

1.6. Creșterea concentrației fierului hepatic la administrare în exces de zinc duce la concluzia unui sinergism între cele două metale, însă acumularea de fier în ficat poate duce la intensificarea proceselor de oxidare celulară (stres oxidativ). La administrare de zinc în doză cRDI, fierul hepatic crește cu 235%.

1.7. La administrare de zinc în exces, nivelul cerebral de zinc nu se modifică semnificativ, ducând la constatarea eficienței barierei sânge – creier față de dozele de zinc administrate în experiment.

1.8. În condițiile experimentale date, zincul în exces nu produce modificări importante ale concentrației de fier și mangan din creier.

1.9. Cuprul variază crescător (de la 2.25 $\mu\text{g/g}$ în control, la 2.99 $\mu\text{g/g}$ și respectiv 4.40 $\mu\text{g/g}$ la grupele experimentale) la creșterea dozei de zinc administrate, ceea ce poate duce la intensificarea proceselor de oxidare celulară, știind că cuprul în exces poate acționa ca prooxidant în aceste procese, determinând stres oxidativ.

2. Referitor la investigațiile privind acțiunea manganului asupra homeostaziei biochimice la șobolani linia Wistar se face de asemenea, remarcă faptul că și în acest caz s-a studiat acțiunea unui biomicroelement indispensabil organismelor animalelor și omului. Cercetările întreprinse în condițiile administrării dozelor duble și cvadruple prin metoda gavajului au evidențiat o seamă de concluzii care permit circumscrierea efectelor induse de aceste biomicroelemente.

2.1. În condițiile modelului de cercetare experimentală, prezentat, s-a decelat creșterea concentrației de mangan muscular, fără a se înregistra modificarea semnificativă a concentrației altor metale determinate analitic (Fe, Cu, Zn, Mg). În mușchi, după aport de mangan în doză de cRDI, manganul a evidențiat augmentarea cu 70% .

2.2. Manganul se cumulează în ficat ca urmare a administrării în exces, cu 12% după aport dRDI și 47% după aport cRDI, față de control. Atât zincul cât și manganul în exces înregistrează creșteri de concentrație în țesuturile analizate la grupurile experimentale comparativ cu grupul martor. Spre deosebire de zinc, manganul în exces nu produce în mușchi și creier modificări ale cuprului, zincului și manganului.

2.3. Modificări semnificative se înregistrează la concentrațiile de zinc (creșteri de 49% și 59% raportat la grupul de control) și mangan (creșteri de 13% și 47% față de grupul de control) din ficat ca urmare a excesului de mangan administrat. Efectul sinergic observat între mangan și zinc în ficat duce la presupunerea că zincul activează activitatea Mn-Zn-SOD, care este cel mai bine reprezentată în ficat, influențând astfel procesele de oxidare celulară ce au loc în ficat. O altă dovadă că putem presupune apariția unui stres oxidativ în ficat la administrare de Mn în exces, este faptul că la un moment dat se

produce o creștere foarte mare a fierului (la dRDI, creștere de 167%) care poate produce accelerarea proceselor de oxidare celulară, prin reacțiile de oxido-reducere pe care le catalizează.

2.4. Se constată o variație în același sens cu a manganului la zinc, sugerând un sinergism între cele două elemente metalice în condițiile experimentale date. Zincul crește cu 49% și respectiv 59% după administrarea excesului de mangan.

2.5. Nu se constată modificări ale cuprului din ficat, la administrarea excesului de mangan.

2.6. Manganul se acumulează în creier la administrare în exces față de doza zilnic recomandată cu 64% după doza dRDI și cu 100% după cRDI, față de control.

2.7. Cuprul, fierul, zincul și magneziul nu înregistrează modificări importante în creier la administrare de mangan în exces chiar și în cazul unor diferențe semnificative față de control la grupurile experimentale.

3. Studiul întreprins asupra acțiunii aluminiului – considerat element metalic cu potențial toxicogen – administrat sub formă de clorură de aluminiu – grupul E_I sau în asociație cu alți compuși: cu citrat de sodiu – grupul E_{II}, respectiv cu fluorură de sodiu – grupul E_{III}, evidențiază aspectele particulare ale acțiunii aluminiului. Investigațiile privitoare la acțiunea aluminiului au fost efectuate asupra leporidelor remarcând în aceste circumstanțe faptul că animalele respective sunt folosite atât în cercetările experimentale, cât și în cercetările care vizează direct nutriția umană pentru considerentul că aceste animale sunt crescute în ferme pentru obținerea de produse alimentare.

În cazul acestui element, având în vedere specificul de metal cu potențial toxicogen, cercetările întreprinse în cadrul tezei au fost extinse și asupra unor metaboliți lipidici, e.g.: lipide (lipide totale, colesterol), lipoproteine (HDL, LDL, HDL-colesterol, LDL-colesterol); metaboliți protidici (proteine totale, albumine), metaboliți glucidici (glucoza), enzime: transaminaze (ALAT, ASAT), fosfataza alcalină. Alături de investigarea metaboliților s-a procedat și la studiul constantelor hematologice. De asemenea, au fost efectuate investigații asupra modificărilor homeostazice și a altor elemente metalice (Zn, Fe, Mn, Cu, Na, K, Ca, Mg) prezente în diferite țesuturi. Cercetările referitoare la metaboliții lipidici, proteici, glucidici și a datelor hematologice au fost întreprinse special pentru considerentul că animalele din această categorie sunt destinate și producerii de alimente.

Notă: pentru explicații:

Lipide: lipide totale (LT), colesterol (COL), lipoproteine (HDL-COL, LDL-COL), alaninaminotransferaza (ALAT), aspartataminotransferaza (ASAT).

Metale și nemetale în sânge

3.1. Potasiul seric variază la grupul experimental E_I crescător cu 41% și la E_{II} crescător cu 22% față de control. În practica medicală, modificările potasiului se pot corela cu cele ale calciului în sensul că variațiile sanguine ale potasiului se datorează unei lipse de aport dar și unei stări patologice și anume boli cu hipocalcemie sau boli cu hipercalemie, când hipercalemia arată de fapt o pierdere de potasiu.

3.2. Administrarea AlCl₃ determină creșterea calciului și magneziului seric cu 19% și respectiv 30% față de control (Mg este activator al fosfatazei), care se corelează pozitiv cu activitatea fosfatazei alcaline serice (creșterea fosfatazei alcaline la grupul E_I de la 345.8 U/L la control la 435.2 U/L și scăderea pronunțată a acesteia la E_{II} până la 259.0 U/L). De asemenea se confirmă sinergismul dintre calciu (creștere de 19%) și fosfor (creștere de 79 %) și corelarea acestei variații cu cea a fosfatazei alcaline.

3.3. Se observă scăderea la toate grupurile experimentale față de control a fierului respectiv : de la 298.0μg/dL la grupul de control, la 143.8μg/dL la E_I; 93.2μg/dL la E_{II}; 101.6μg/dL la E_{III} confirmând rezultatele altor studii bazate pe administrări de aluminiu și anume că aluminiu determină anemie. Scăderea fierului seric este corelată pozitiv cu creșterea capacității de legare a fierului de către transferină și anume de la 258.2μg/dL la grupul de control la 359μg/dL la E_I; 481μg/dL E_{II}; 340μg/dL la E_{III}.

Metaboliți lipidici

3.4. Se constată modificări la valorile parametrilor lipidici din ser. Se poate presupune că scăderea lipidelor totale cu 32% la lotul E_I se datorează interacției aluminiului cu grupele fosfat conținute de lipoproteine. Se constată afectarea LDL-colesterolului de către citratul administrat împreună cu AlCl₃, creșterea acestuia se datorează probabil unei afectări hepatice în care LDL nu poate fi transformat de către ficat în HDL. Valoarea LDL-colesterolului crește la administrare de clorură cu citrat de la 42.1mg/dL în lotul martor la 68.0 mg/dL (61%) în condiții de scădere a LDL la administrare de clorură de aluminiu, când variația este de la 42.1mg/dL la 32.0 mg/dL (scădere de 24%) sau clorură de aluminiu cu fluorură, când scăderea este de la 42.1mg/dL la control la 18.4 mg/dL la lotul E_{III} (scădere de 56%).

3.5. Se observă că administrarea de aluminiu concomitent cu fluorul determină scăderea nivelului de HDL și LDL , probabil pe baza faptului că fluorul scade activitatea lipazei, așa cu s-a determinat în studii experimentale similare.

Metaboliți glucidici

3.5. Metabolismul glucidelor este slab afectat în experiment.

Metaboliți protidici

3.6. Se constată modificări ale transaminazelor, ALAT crește la grupul E_I cu 26% față de control și la grupul E_{II} cu 155% față de control dar scade la E_{III} cu 17%. Variația ALAT este asociată de obicei cu

modificări celulare hepatice pentru că hepatocitele conțin o cantitate mare de ALAT. Fosfataza se corelează bine cu ALAT în afecțiunile hepatice, iar rezultatele experimentului nostru confirmă acest lucru. În experimentul nostru se constată o creștere a activității ALAT la grupurile E_I, de la 57.2 U/L la control la 72.0 U/L (26%) și de la 57.2 U/L la 145.8 U/L în (155%)E_{II}, și o variație mică între grupurile experimentale a ASAT.

Determinări hematologice

3.7. În experiment, deoarece hemoglobina (care se determină din sânge total) s-a păstrat relativ constantă și deoarece numărul de eritrocite nu se modifică substanțial, putem deduce că nu s-a produs distrugerea eritrocitelor cu pierderea unei cantități mari de fier din sânge. Fierul din ser indică prin scăderea lui un anumit grad de anemie, fapt confirmat și de creșterea capacității de legare a fierului.

3.8. Posibil ca creșterea numărului de trombocite la lotul experimental E_I să se datoreze efectului coagulant al clorurii de aluminiu administrat, care se observă și la lotul E_{III} dar în mai mică măsură ca efect al fluorurii. În schimb citratul prin efectul anticoagulant pe care îl exercită împiedică coagularea sângelui, fluidificându-l.

3.9. O creștere de aproximativ două ori a leucocitelor la lotul experimental E_I poate fi pusă în legătură cu apariția unui proces inflamator la locul injectării subcutane de clorură de aluminiu.

3.10. Scăderea monocitelor la lotul E₂ poate fi pus în relație cu puternicul efect anticoagulant exercitat de citratul administrat în exces.

3.11. Modificarea la loturile experimentale a procentului sanguin de eozinofile față de lotul de control indică din nou apariția unei inflamații în corp care probabil că este datorată necrozei țesutului în locul de injectare a soluțiilor administrate deoarece se știe că aceste celule apar când în corp apare un proces inflamator, având rolul de a omorî bacteriile și de a regla reacțiile mediate de IgE.

3.12. Bazofilele care apar în cazul unui proces inflamator eozinofilic puternic sau în caz de lipemie, nu prezintă nici o modificare în experimentul nostru.

Metalele în țesutul osos

3.13. Când este administrat în exces, aluminiul se acumulează în os. Chiar și în cazul unei expuneri pe durată scurtă de timp, aluminiul în os a crescut cu 40% în E_I și cu 78% în E_{II} comparativ cu grupul de control.

3.14. Cum s-a arătat, fluorura este un antagonist al magneziului. În asociere cu clorura de aluminiu, în dozele din experiment, magneziul în os crește cu 15%, iar asocierea cu fluorura determină creșterea cu 81% a magneziului osos.

3.15. În condițiile experimentale date când fosfataza alcalină crește moderat, crește magneziul și calciul seric, în același sens se modifică și magneziul și calciul osos, chiar în condiții de acumulare de aluminiu în os, la lotul E_I și E_{III} care la timp de expunere mare îndepărtează cele două biometale din os, după cum s-a observat în experimente de administrare de aluminiu pe termen lung.

3.16. Se produce modificarea concentrației de zinc (creștere de 27% la grupele E_I și E_{II}) și cea de cupru (scădere de 41% la E_I și de 71% la E_{II}), cea mai spectaculoasă fiind modificarea cuantumului de mangan, cu 124% la E_I și 394% la E_{III} față de grupul de control.

Metalele în țesutul muscular

3.17. Aluminiul se acumulează în mușchi la administrare de soluție cu conținut de AlCl₃ în lotul E_I când variază de la 9.32μg/g la control la 22.9μg/g , paralel cu creșterea cuantumului muscular de Mn cu 38% și depleția conținutului muscular de Fe cu 19%; Zn cu 41% și Cu cu 48 %.

3.18. Se constată că citratul administrat concomitent cu AlCl₃ la lotul E_{II} determină în general scăderea concentrației de microelemente studiate, ducând la ipoteza unui exces prea mare administrat.

3.19. Se observă o acumulare de calciu în mușchi ca urmare a aportului de aluminiu în lotul E_I de la 6.84μg/g în lotul de control la 8.58μg/g și în lotul E_{III} la 8.04μg/g , influența aluminiului asupra metabolismului calcic este evidentă, probabil se produce o acumulare intracelulară de calciu, consecutivă dishomeostaziei induse de aluminiu. Potasiul variază în același sens cu calciul crescând față de control cu 19% la lotul E_I, iar relația calciului cu magneziul pare în acest caz sinergică.

Metalele în cord

3.20. Aluminiul se acumulează în cord în condițiile experimentale date la lotul E_I, variind de la 3.28μg/g în control la 8.06μg/g și în lotul E_{III} de la 3.28μg/g la 7.20μg/g . De remarcat este afectul de mărire a mobilității aluminiului de către citratul administrat concomitent la lotul E_{II}, când creșterea conținutului de aluminiu în cord este spectaculoasă de la 3.28μg/g până la 12.76μg/g corespunzând unei creșteri procentuale de 290%.

3.21. Modificările de concentrație a celorlalte elemente în cord sunt nesemnificative, cu excepția calciului, care crește la grupul E_I cu 164% față de control și la grupul E_{III} cu 69%, evoluând similar cu calciul din mușchi, dovedind de asemenea o perturbare serioasă a homeostaziei calcice determinată de aluminiu.

Metalele în țesutul splenic

3.22. Aluminiul se acumulează în splină la toate loturile experimentale, arătând puternica disponibilitate a acestui organ pentru acumularea aluminiului. Am înregistrat astfel o concentrație de

aluminiu de 2.26 μ g/g la control care crește la 35.20 μ g/g la E_I, 16.56 μ g/g la E_{II} și respectiv 26.30 μ g/g la E_{III}.

3.23. Creșterea conținutului de Mn (crește semnificativ în splină, după administrare de clorură de aluminiu cu citrat cu 308%) și scăderea Fe la lotul experimental E_{II} se presupune că pot determina afectarea proceselor de oxidare celulară în splină. Se constată o scădere semnificativă de fier la lotul experimental E_{II} de la 206 μ g/g la control până la 166 μ g/g și în lotul E_{III} de la 206 μ g/g la control până la 153 μ g/g.

Metalele în țesutul renal

3.24. În condițiile experimentale date, aluminiul se acumulează în rinichi după administrarea aluminiului ca și clorură sau clorură asociată cu fluorură de sodiu de la 9.57 μ g/g în control, până la 18.56 μ g/g în E_I și respectiv până la 15.12 μ g/g în E_{III}.

3.25. Administrarea de clorură de aluminiu alături de un exces de citrat, duce la scăderea nivelului de aluminiu în rinichi sub cel al lotului de control, datorită efectului diuretic exercitat de citrat. Același efect de eliminare se constată și la calciu al cărui nivel însă nu se modifică la administrarea de clorură de Al singură sau asociată cu fluorură.

3.26. Față de lotul de control, manganul, fierul și cuprul nu prezintă variații mari la loturile experimentale, decât în cazul administrării concomitente de clorură de aluminiu și citrat, când se manifestă efectul de îndepărtare al acestor microelemente prin complexare cu citrat.

Metalele în creier

3.27. Aluminiul se acumulează în creier la administrare de clorură de aluminiu și clorură de aluminiu cu citrat variind în E_I de la 3.37 μ g/g până la 16.14 μ g/g, în E_{II} până la 14.96 μ g/g

3.28. La administrarea de clorură de aluminiu se constată creștere importantă a cantumului de fier și mangan și scădere slabă a zincului, manganului și cuprului din creier care pot fi puse în legătură cu afectarea proceselor de oxidare celulară cerebrală. Astfel modificările față de control au fost scăderea cantumului de Zn cu 4% și Cu 26% și creșterea celui de Fe cu 47% și Mn cu 185%.

3.29. O creștere importantă a calciului, față de control la toate loturile experimentale și în special la administrare de clorură de aluminiu cu citrat, care poate fi datorată fie acumulării de calciu ca urmare a măririi concentrației calciului intracelular, fie complexării acestuia de către citrat și neputinței de a se regla datorită barierei sânge-creier. Astfel s-au determinat 3.31 μ g/g calciu la lotul de control și creșterea concentrației până la 20.58 μ g/g la lotul E_I, 46.42 μ g/g la lotul E_{II} și 14.46 μ g/g la lotul E_{III}.

Metalele în țesutul hepatic

3.30. În condițiile experimentului, acumularea de aluminiu în ficat este evidentă și se înregistrează de asemenea o creștere a concentrațiilor hepatice de cupru, zinc și fier, creșterea manganului nefiind semnificativă. O importantă creștere a conținutului de aluminiu în ficat, poate fi observată după administrarea de clorură de aluminiu (creștere de 175%), respectiv de la 8.02μg/g în control, la 22.06 μg/g în E_I și 18.04μg/g în E_{III}.

3.31. În general, asocierea aluminiului cu citratul determină creșterea acumulării acestuia în organe față de administrarea de aluminiu. În acest caz, concluzia este că citratul a fost administrat într-un exces prea mare, care a afectat balanța hepatică a metalelor, determinând eliminarea acestora din ficat. Se pare că citratul (grupul E_{II}), determină o scădere a concentrației fierului acumulat comparativ cu grupul E_I și o creștere de numai 68% comparativ cu grupul de control, datorită probabil a unei complexări a fierului. Concentrația de fier la grupul E_{II} a fost de 86.26μg/g, față de 145μg/g la grupul E_I și 51.34μg/g în grupul de control.

3.32. Modificările de concentrație la metalele alcaline și alcalino-terose nu arată o afectare majoră a homeostaziei acestora, cu excepția calciului. Creșterea calciului hepatic la exces de aluminiu, se presupune că se datorează stresului oxidativ provocat de aluminiu și lipoperoxidării din membranele celulare, afectării canalelor de calciu și acumulării intracelulare a acestuia. Modificările enzimelor ALAT și ASAT indică o afectare hepatică. Fosfataza se corelează bine cu ALAT în afecțiunile hepatice, iar rezultatele experimentului nostru confirmă acest lucru.

Metalele în țesutul pulmonar

3.33. Spre deosebire de celelalte organe studiate, unde acumularea de aluminiu la grupurile experimentale este evidentă, în pulmon nu crește concentrația acestui metal arătând că administrarea soluțiilor de aluminiu subcutan, nu duce la acumularea Al cum probabil se produce la inhalarea de pulberi de Al.

3.34. Calciul crește exagerat în pulmon la administrare de clorură de aluminiu, de la 33.28μg/g la control la 377μg/g în E_I chiar și fără să crească aluminiul în țesut, de asemenea crește spectaculos fierul la lotul E_I de la 56.70μg/g la control, la 171μg/g în E_I.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. Achenbach H., Vorberg B., Meissner S., Gunther C., Kohler H., Peters H.P.- Zur Bedeutung der chronischen Aluminium-akkumulation für die Inzidenz des Osteomalaziesyndrom bei Patienten in Cronischen Dialyseprogram, pp. 257-265, in *Mengen und Spurelement Arbeitstg*, Leipzig, 1982;
2. Achenbach H., Vaorberg B., Schneider G., Wurzberger G., Kolbe B., Peters., Kohler H.- Zur Bedeutung der Knochenstoffwechselaktivitat auf die Manifestation und der Verlauf des Aluminiumosteoidose bei Dialysenpatienten, pp. 305-312, in *Mengen und Spurelement Arbeitstg* Leipzig, 1985;
3. Achenbach H., Vorberg B.,Schneider G., Raus I., Peters H.J., Kohler J.- The influence of chronic aluminium accumulation on bone metabolism in chronic haemodialysis patients, pp. 826-832, in *Proc. 5 Spurenelement Symp.*,Jena, 1986;
4. Adler A.J., Lee J., Berlyne G.M.- Aluminum Biding Activity in Canine Duodenal Mucosal Extracts, *Biomed. Pharmacoter.*, 1986, 40,(7), 269-271;
5. Ahmadi-Vincu Mirela, Clep Camelia, Ahmadi T., Pup Mihaela, Popescu Georgeta Sofia, Martău Ariana-Bianca, Velciov P., Palcu S.E., Chilom Marinela- Experimental studies on the metabolic effects induced by zinc in laboratory animals, pp. 313-316, in Proceedings of the 4th International Symposium “Metal Elements inEnvironment, Medicine and Biology”, Timișoara, Roumania, November 6-8, 2000.
6. Ahmadi-Vincu Mirela, Gârban Gabriela, Pup Mihaela, Gârban Z., Clep Camelia, Martău Ariana-Bianca- Manganese overdose effects on some blood serum electrolytes in Wistar strain rats, pp. 399-402, in International Symposium “Euroaliment“, 23-25 octombrie Galați, 2003.
7. Ahmadi-Vincu Mirela, Pup Mihaela, Gârban Z., Martău Ariana-Bianca, Popescu Georgeta-Sofia- Metal elements concentration in heart of Wistar rats after action of manganese, pp. 417-423, Anuarul “Cercetări Științifice: Progrese și tehnologii agroalimentare“, Vol. IX, Universitatea “S.A.M.V.B.“ Timișoara, Ed. Agroprint, Timișoara, 2004a.

8. Ahmadi-Vincu Mirela., Pup Mihaela., Gârban Z., Martău Ariana-Bianca.- Distribution of some metals in rat brain after over-doses of manganese, pp.1134-1139 în Simpozionul “Macro and Trace Elements”, 22 Workshop, Main Building of the Friedrich Schiller University Jena, Germany, september 24-25, 2004b.
9. Ahmadi-Vincu Mirela, Pup Mihaela, Gârban Gabriela, Velciov Ariana Bianca – Metal concentration in hepatic tissue after administration of manganese and zinc chloride, pp. 377-381, in The 12th symposium on analytical and environmental problems, Szeged, Hungary, 2005.
10. Alfrey A.C.- Aluminum Intoxication Recognition and Treatment, pp.73-84, *Aluminum in Chemistry Biology and Medicine*, (Nicolini, M, Zatta P.and Corain B., eds) New York: Raven Press, 1991;
11. Alfrey A.C.- Aluminum. Trace Elements in Human and Animal Nutrition, *Academic Press.Inc.*, New York, 1986;
12. Alfrey A.C.- Aluminum, *Adv. Clin.Chem.*, 1983, 23, 69-73;
13. Allen J.G., Master H.G., Peet R.L. - Zinc toxicity in ruminants, *J. Comp. Pathol.* 1983, 93, 363-377
14. Allens W. G, Robinson D.L., Hembry F.G. – Aluminium in the etiology of grass tetany (abstr.) , *J. Anim. Sci.*, 1980, 51 (1), 44;
15. Alpers David H, William F. Stenson, Dennis M. Bier - *Manual of Nutritional Therapeutics*, 4-th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2002;
16. Altura B., Burton M. - Magnesium: Growing in clinical importance, *Patient Care*, 1994, 28(1), 36-130;
17. Altman P. - Disturbance of cerebral function in people exposed to drinking water contaminated with aluminum sulphate: retrospective study of Camelford water incident. *British Medical Journal*, 1999, www.findarticles.com;
18. Amur M., McCarthy J., Gill M. - Respiratory response of guinea pigs to oxid fume, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 1982,43, 887-889;
19. Anane R., Bonini, M., Grafeille, J-M., Creppy, E.E. - Bioaccumulation of water soluble aluminium chloride in the hippocampus after transdermal uptake in mice, *Arch. Toxicol.*, 1995, 69, 568-577;
20. Anane R., Bonini, M., Creppy, E.E. - Transplacental passage of aluminium from pregnant mice to fetus organs after transcutaneous exposure, *Hum. Exp. Toxicol.*, 1997, 16, 501-504;
21. Anke M.K - Essential and Toxic Effects of Macro, Trace, and Ultratrace Elements in the Nutrition of Animals, *Elements and their Compounds in the Environment*, vol 1, Eds. Merian E., Anke M., Ihnat.M., Stoeppler M General Aspects, 2 nd, , Wiley-VCH Verlag GmbH& KgaA, Weinheim, 2004;
22. Anke M., Groppe B. – Toxic actions of essential trace elements (Mo, Cu, Zn, Fe, Mn), pp. 201-236, in *Trace Element- Analytical Chemistry in Medicine and Biology*, vol. 4, Walter de Gruyter &Co., Berlin-New York, 1987;

23. Anke M., Meissner D., Mills C.F. - *Trace elements in Man and Animals*, Verlag Media Touristik, Gesdorf, 1993;
24. Anke M., Szentmihaly S., Regius A., Grun M.- Essentiality of nickel for flora and fauna, pp.15-60, in : *Proc. Internatl. Symp. on News Results in the Research of hardly known Trace Elements*, University of Horticulture and Food Industry, Budapest, 1982;
25. Anke M., Angelow L., Gleit M., Muller M., Illing H. - The biological importance of nickel in the food chain, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, 352, 92-96;
26. Ash R.N.- *Alternative Medicine and Health*, in:
<http://alternativemedicineandhealth.com/minerals/minerals.htm>., 2004
27. Baginski B. - Alterations of the oxidative metabolism and other microbiocidal activities of human polymorphonuclear leukocytes by zinc, *Free Radic. Res. Commun*, 1990, 10, 227-235;
28. Badawy N.B.A., El Salam M.A., Eissa S.M. - Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of zinc workers, pp. 343-345 in: *Heavy Metals in the Environment, 6th International Conference*, New Orleans, September 1987. vol.1., S.E. Lindberg and T.C. Hutchinson, eds. CEP Consultants, Edinburg, 1987;
29. Bai K.M., Krishnakumari M.K., Ramesh H.P. -Short-term toxicity study of zinc phosphide in albino rats, *Indian J. Exptl. Biol.*, 1980, 18, 854-857;
30. Baly D.L., Lonnerdal B., Keen C.L. - Effects of high doses of manganese on carbohydrate homeostasis, *Toxicology Letters*, 1985, 25, 95-102;
31. Bertholf, R.L.. Zinc, pp. 787-800 in: *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*, H. Sigel and H.G. Seiler, eds. Marcel Dekker, Inc., New York, 1988;
32. Berthon G. - Aluminium speciation in relation to aluminium bioavailability, metabolism and toxicity, *Coordination Chemistry Reviews*, 2002, 28 (2), 319-341;
33. Birchall J.D., Campbell J.S.- Aluminum, chemical physiology, and Alzheimer's disease. *Lancet*, 1998, 2 (8618), 1008-1010;
34. Birchall, J.D., Exley, C., Chappel, J.S., Phillips, M.J. - Acute toxicity of aluminium to fish eliminated in silicon-rich waters, *Nature*, 1989, 338, 146-148;
35. Boscolo, P.P.R., Menossi, M., Jorge, R.A. - Aluminum-induced oxidative stress in maize, *Phytochemistry*, 2003, 62(2),181-189;
36. Bowen H. J. M., Peggs A. - Determination of silicon content of food, *J. Sci. Food Agric.*,1984, 35, 1225-1229;
37. Brandao-Neto J., de Mendoca B.B., Shumama T. - Zinc acutely and temporarily inhibits adrenal cortisol secretion in humans, *Biol. Trace Element Res.*, 1990, 24, 83-89.
38. Brilla L.R., Conte V. – Effects of a novel zinc-magnesium formulation on hormones and strenght, <http://www.snac.com/research.htm>, 2005;
39. Broun E.R., Greist A., Hoffman R. - Excessive zinc ingestion. A reversible case of sideroblastic

- anemia and bone marrow depression, *J. AM. Med. Asoc.*, 1990, 264, 1441-1443;
40. Brown T.S., Schwartz R. - Aluminum accumulation in serum, liver and spleen of Fe-depleted and Fe-adequate rats, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 1992, 4(1), 1-10;
41. Burnatowska-Redin, M.A., Mayor, G.H., Lau K. - Renal handling of aluminium in the rat: clearance and micropuncture studies, *Amer J Physiol*, 1985, 249(F), 192-197;
42. Caverzasio J, Imai T., Ammann PP., Burgener D., Bonjour J.P.P. - Aluminium potentiates the effect of fluoride on tyrosine phosphorylation and osteoblast replication in vitro and bone mass in vivo, *J Bone Miner Res.*, 1996, 11, 46-55;
43. Cerklewski F.L.- Influence of dietary magnesium on fluoride bioavailability in the rat, *J. Nutr.*, 1987, 117(3), 496-500;
44. Ciupercescu D.D., Danielescu N., Ghergariu S. - *Progrese în patologia nutrițională și metabolică a animalelor*, Societatea de medicină veterinară a R.S.România, Redacția de propagandă tehnică agricolă, București, 1984;
45. Ciappellano S., Brighenti F., Porrini M., Testolin G. - Effect of aluminium intake on aluminium distribution in young rats, *Trace element in Man and Animal*, 1991, 7, 238-239;
46. Ciubotariu D., Nechifor M., Chelarescu D., Cuciureanu M., Mândreci I. – Research about the influence of zinc on experimental induced morphine pharmacodependence, pp. 60-68, in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
47. Chandra R.K. - Excessive intake of zinc impairs immune response, *J. Amer. Med. Assoc.*, 1984, 252, 1443-1446;
48. Chih-Hung Guo, Li-Yun Lin, Yun-Hsin Wang, Maw-Sheng Yeh – Distribution patterns of trace metals and of lipid peroxidation in plasma and erythrocytes of rat exposed to aluminum, *Biological Trace Elements Research*, 2004, 101(1), 61-72;
49. Chinopoulos C., Adam-Vizi V.- Calcium, mitochondria and oxidative stress in neuronal pathology. Novel aspects of an enduring theme (The Authors Journal Compilation), *FEBS Journal*, 2006, 273, 433-450;
50. Christine C.W., Choi D.W. – Effect of zinc on NMDA receptor-mediated channel currents in cortical neurons, *J. Neurosci*, 1990, 10, 108-116;
51. Chua A.C.G., Morgan E.H. - Effects of Iron Deficiency and Iron Overload on Manganese Uptake in the Brain and other Organs of Rats, *Biological Trace Element Research*, 1996, 55, 39-54;
52. Chobanian S.J.- Accidental ingestion of liquid zinc chloride: local and systemic effects., *Ann. Emerg. Med.* 1981, 10, 91-93;
53. Colomina M.R., Gomey M., Domingo J.L., Corbella J. – Lack of maternal and developmental toxicity in mice, given high doses of aluminum hydroxide and ascorbic acid during gestation, *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1992, 77, 95-106;

54. Contrea A., Contrea M. – Biochimia mediului înconjurător, Editura Presa Universitară Română, Timișoara, 2000;
55. Connett P. - Aluminum, Fluoride and Hormones, 1999, IFIN Bulletin #28: Aluminum, Fluoride and Hormones, *International Fluoride Information Network*, www.fluoridealert.org/ifin-28.htm;
56. Cotrău M.- *Toxicologie, principii generale*, Editura Junimea, Iași, 1978;
57. Crapper D.R., Krishnan S.S., Dalton A.J.- Brain Aluminum in Alzheimer's Disease and Experimental Neurofibrillary Degeneration, *Science*, 180, 511-513, 1973
<http://users.pandora.be/multiple.sclerose/ALU.html>
58. Currie W.B. - *Structure and Function of Domestic Animals*, Butterworth Pub., Wellington, 1988 ;
59. Danciu F., Kory M., Lupuțiu G. – *Structură chimică-Biodisponibilitate*, Editura Dacia, Cluj, 1983;
60. Davidsson L., Caderblad A., Lonnerdal B., Sandstrom B. - The effects of individual dietary components on manganese absorption in humans, *American Journal of Clinical Nutrition*, 1991, 54, 1065-1070;
61. Day J.P., Barker J., Evans L.J.A., Perks J., Seabright P.J., Ackrill P., Lilley J.S., Drumm P.V., Newton G.W.A. - Aluminium absorption studied by ²⁶Al tracer, *The Lancet*, 1991, 337-345;
62. Day J.P.- Aluminum: the New Toxic Element, The JD Birchall Memorial Lecture, 2003, www.keele.ac.uk/depts/ch/groups/aluminum/Jpdabs.htm;
63. Dejica D. – *Stresul oxidativ in bolile interne*, Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2000;
64. Dejica D. – *Antioxidanți și terapie antioxidantă*, Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2001;
65. Deknuddt G.H. - Clatogenic effects of zinc in mammals, *CR. Soc. Biol.*, 1982, 176, 563-567;
66. Denison H., Jern S., Jagenburg R., Wenderstam C., Wallesterdt S. - Influence of increased adrenergic and magnesium depletion on cardiac rhythm in alcohol withdrawal, *Br. Heart J.*, 1994, 72 (6), 554-60;
67. Deng Z., Coudray C., Gouzoux L., Mazur A., Rayssiguier Y., Pepin D. – Effect of oral aluminum and aluminum citrate on blood level and short-term tissue distribution of aluminum in the rat, *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, 63(2), 139-147 în PMID:9823440, Medline;
68. Dietl, K.H., Lugerling, N., Wastermann, G., Hausberg, M., Barenbrock, M., Senninger, N., Rahn, K.H., Kisters, K.- Role of aluminium in cell mediated immunity in renal insufficiency, pp. 68-74, in *Proc 18, Mengen und Spurenelement Symp. Jena*, 1998;
69. Dietl, K H., Winterberg, B., Bertram, H.P., Still, F.H., Spieker, C., Kisters, K - Trace Elem Elec. 1997, 3:113; <http://www.ncnr.nist.gov/AnnualReport/FY2004/AR2004.pdf>;
70. Dousset J.C., Rioufol C., Phillibert C., Bourbon P. – Effects of inhaled HF on cholesterol, carbohydrate and tricarboxylic acid metabolisms in Guinea Pigs, *Fluoride Abstracts*, 1987, 20(3), 137-141;
71. Dodam J.R., Olson N.C.- Effect of fluoride on cardiopulmonary function and release of eicosanoids in pigs, *J. Appl. Physiol*, 1995; 78, 569-577;

72. Doll R. - Alzheimer's Disease and environmental aluminium, *Age and Ageing*, 1993, 22, 138-153;
73. Domingo J.L., Gomez M., Llobet J.M., Corbella J. – Citric, malic and succinic acids as possible alternatives to deferoxamine in aluminum toxicity, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 1988, 26(1-2), 67-79, Abstract in Medline;
74. Duncan G. G.- *Bolile metabolismului*, Ed. Medicală, București, ed. V, 1966;
75. Duglaszek M., Fiejka M.A., Graczyk A., Aleksandrowicz J.C., Slowikowska M.- Effects of various aluminium compounds given orally to mice on Al tissue distribution and tissue concentrations of essential elements, *Pharmacol Toxicol.*, 2000, 86(3), 135-139;
76. Eichorn G.L. (Editor)- *Inorganic Biochemistry*, Vol.1, Elsevier Sci Publishing, Amsterdam, 1973
77. El-Demerdash F.M. - Antioxidant effect of vitamin E and Se on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminum, *J.Trace Elem. Med. Biol.*, 2004, 18(1), 113-121, in <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi.cmd>;
78. Elinder C.G. - Zinc, in : *Handbook on the toxicology of Metals*, 2nd ed., vol. II: Specific Metals, Friberg L., Nordberg G.F., Vouk V.B., eds. Elsevier, New York, 1986;
79. Ellis H.A., McCarthy J.H., Herrington J. – Bone aluminum in haemodialysed patients and in rats injected with aluminum chloride: relationship to impaired bone mineralisation, *Journal of Clinical Pathology*, 1979, 32, 832-844, in <http://www.jcp.bmjournals.com/cgi/content/abstract/32/8/832>;
80. Exley C., Pinnegar J.K., Taylor H. - Hydroxyaluminosilicates and acute aluminium toxicity in fish, *J. Theoret.Biol.*, 1997, 189, 133-139 ;
81. Exley C. – The prooxidant activity of aluminum, *Free. Radic. Biol. Med.*, 2004, 36(3), 380-387, in *PMID:15036357, Medline*;
82. Farrar G., Altman P., Welch S., Wychrij O., Ghose B., Lejeune J., Corbett J., Prasher V., Blair J.- Defective gallium-transferrin binding in Alzheimer's disease and Down syndrome: possible mechanism for accumulation of aluminium in brain, *Lancet*, 1990, 335, 747-750 , *Medline*;
83. Falcă C. - *Semiologie medicală veterinară*, vol II, Ed. Cosmopolitan Art. Timișoara, 2004;
84. Fink D.J., Walton M.A., Hotchkins G.E., Jacobsen E.N., Cawson A.M., Smith C., Wilcox. D- First Al analysis at the Antares AMS Centre: Uptake via oral infestation of Al in rats, *Nucl. Inst. Meth.Phys. Res. Sect. B*, 92, 1-4, 473-477, 1994;
85. Ferretti G., Marchionni C., Bacchetti T., Galeazzi T., Dousset N.- Effect of Aluminium on Lipid Peroxidation of Human High Density Lipoproteins- Free Radical Research, *Taylor& Francis Health Sciences*, 2003, 37(5), www.taylorandfrancis.metapress.com/index/7A81D886L9K6EWR.j, 2003;
86. Fleming J.T., Joshi J.G. - Ferritin: the Role of Aluminum in Ferritin Function, *Neurobiology of Ageing*, 1991, 12 (5), 413-418;
87. Flynn J. (Eds.) – *Cases, materials, problems*, 5th, N.Y:Aspen, 2003
88. Flynn A., Moreiras O., Stehle P., Fletcher R.J., Muller J.G.D., Rolland Valerie – *Vitamins and*

Minerals: A model for safe addition to foods:

<http://europe.ilsa.org/file/ilsieurope-vitandmineralsarticle.pdf>, 2004;

89. Flora S.J.S., Jain V.K., Jai Rai Behari, Tandon S.K. - Protective role of trace metals in lead intoxication, *Toxicol. Lett.*, 1982, 13, 51-56; [PubMed - indexed for MEDLINE]
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=search&DB=pubmed>;
90. Florence T.M.- Environmental exposure to aluminum and human impacts, pp.34-38, in *National Environmental Health Forum Monographs- Metal Series No.1*, Brisbane, 1995;
91. Fox M.R.S., Jacobs R.M. - Zinc: essentiality, function, effects of deficiency, and requirements, pp. 214-248 in: *Metal Ions in Biological Systems*, H. Sigel, ed. Marcel Dekker, Inc., New York., 1986;
92. Froment D.H., Buddington B., Miller N.L., Alfrey A.C.- Effect of solubility on gastrointestinal absorption of aluminum from various aluminum compounds in the rat, *J.Lb. Clin. Med.*, 1989, 114, 237-243;
93. Fell J.M.E., Reynold A.P., Meadows N., Khan K., Long S.G., Taylor W.J., Milla P.J. – Manganese toxicity in children receiving long-term parenteral nutrition, *Lancet*, 1996, 347, 1218-1221, *MEDLINE*;
94. Galle P., Campos H., Giudicelli C.- Ultrastructural Localization of Aluminum in the Parathyroid Cells of Patients on Chronic Dialysis, *C.R. Seances. Acad. Sci.III*, 1983, 296 (12), 545-550;
95. Gavrilă P., Sebastian D., Constantin A., Segal Rodica, Teodoru V.- *Toxicologia produselor alimentare*, Ed. Academiei, București, 1986;
96. Garbossa, G., Galvez, G., Castro, M.E., Nesse, A- Oral aluminum administration to rats with normal renal function. 1. Impairment of erythropoiesis, *Hum. Expp. Toxicol.* 17(6), 312-317, 881998, www.inquimae.fcen.uba.ar/inquimae/es/publicaciones/1998 ;
97. Gârban Z.- *Biochimie, Tratat comprehensiv*, vol.I, ed.2, Editura Didactică și Pedagogică, R.A., București, 1999;
98. Gârban Z. – *Nutriția umană*, vol. I, ediția 2, Editura Didactică și Pedagogică, București, 2000
99. Gârban Z., Pup Mihaela, Avacovici Adina, Popescu Sofia, Martău Ariana, Simionică E.- Concentrația de magneziu și calciu în uroconcremente oxalice simple și complexe, pp.200-207, în Simpozionul “Magneziul. Implicații în biologie și farmacoterapie”, Cluj-Napoca, 2003.
100. Gârban Z. – *Xenobiotice chimice de interes alimentar*, Ed. Eurobit Timișoara, 2004;
101. Gârban Z.- *Biochimie, Tratat comprehensiv*, vol.I, ed.2, Editura Didactică și Pedagogică, R.A., București, 2005

102. Gergen I., Pup Mihaela, Poiană Maria Atena, Hărmănescu Monica, Moigrădean Diana, Gogoasă I. – Mineral composition of some fruits juices, pp.143-147, in International Symposium “Euroaliment”, Galați, 2005.
103. Ghergariu S.- *Oligominerale și oligomineraloze*, Ed. Academiei R.S.R., București, 1980;
104. Ghergariu S.- Aluminium: An inert, essential or toxic trace element?, pp. 73-82 - *Proceedings of the 2nd International Symposium on Metal Elements in Environment, Medicine and Biology* (Editor Gârban Z., Drăgan P.), Timișoara, Publishing House Eurobit, Timișoara, Romania, 1996;
105. Ghergariu S., PopA., Kadar L., Spânu M. – *Manual de laborator clinic veterinar*, Ed. All Educațional, București, 2000;
106. Ghizdavu L.- *Chimie Bioanorganică, Editura Poliam*, Cluj Napoca, 2000;
107. Gomez-Alonso C., Mendez-Rodriguez P., Virgos-Soriano M.P., Fernandez-Martin J.C., Fernandez - Coto M.T., Cannata-Andia J.B.- Aluminum-induced Osteogenesis in Osteopenic Rats, with normal renal function, *Calcif. Tissue., J. Int.*, 1999, 64(6), 534-541;
108. Graves, A.B. - The association between aluminum containing products and Alzheimer's disease, *J. Clin. Epidemiol.*, 1990, 43, 35-44;
109. Grecu I., Neamțu Maria, Enescu I. - *Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice*, Ed. Junimea, Iași, 1982;
110. Greger, J.L. - Aluminum content of the American diet, *Food Technol* , 1985, 39, 73-80;
111. Greger J.L.- Aluminum Metabolism, *Annual Review of Nutr.*, 1993, 13, 43-63;
112. Greger J.L., Sutherland, J.E.- Aluminum Exposure and Metabolism, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 1997, 34 (5), 439-474;
113. Greger J.L. – Dietary standards for manganese: overlap between nutritional and toxicological studies, *The Journal of Nutrition*, 1998, 128, 2 (S), pp. 368- 371;
114. Greiling H, Gressner A.M., eds. - *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995;
115. Guyton A.C.- *Textbook of Medical Physiology*, ed.6, Saunders W.B. Company, Philadelphia, 1986;
116. Gutteridge J.M., Quinlan G.J., Halliwell B. - Aluminum salts accelerate peroxidation of membrane lipids stimulated by iron salts, *Biochem. Biophys. Acta.*, 1985, 31, 835(3), 441-447;
117. Hamilton S.J., Haines T.A.- Influence of fluoride on aluminium toxicity to Atlantic salmon (*Salmo solar*), *Can. J. Fisheries Aquat. Sci.*, 1995, 52 (11), 2432-2444;
118. Hansen C.R.Jr. - Copper and zinc deficiencies in association with depression and neurological findings, *Biological Psychiatry*, 1983, 18(3), 395-401, <http://www.chemicalbalance.com/copper.htm>
119. Hjortso E., Qvist J., Bud M.I.-ARDS after accidental inhalation of zinc chloride smoke, *Intensive Care Med.*, 1988, 14,17-24;

120. Holzinger Sylvia, Anke M., Rohrig B., Gonzales Delia – Molybdenum intake of adults in Germany and Mexico, *Analyst*, 1998, 123 (3), 447-450;
121. Harris W.R., Berthon G., Day J.P., Exley C., Flaten T.P., Forbes W.F., Kiss T., Orvig C., Zatta P.F. - Speciation of Aluminum in biological Systems, *J. Toxicol. Environ. Health.*, 1996, 48(6), 543-568;
122. Hooper P.L., Visconti L., Garry P.J. - Zinc lowers high density lipoprotein-cholesterol levels, *J. Am. Med. Assoc.*, 1980, 244, 1960-1961;
123. Howe P.D. - *Environmental Aspects of Aluminium Exposure*, Report of an International Meeting, Brisbane, 1995;
124. Hunger R.- Physico-chemical basics of the Ca/Mg antagonism, pp.420-422, in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
- Ivy R. - Revise Minerals in: <http://www.ivy-rose.co.uk/Topics/minerals.htm>., 2004
- 125.
126. Jefferies W.A., Brandon M.R., Hunt S.V., Williams A.F., Gatter K.C., Mason D.Y. - Transferrin receptor on endothelium of brain capillaries, *Science*, 1984, 312, 162-163;
127. Jianu C., Jianu I., Adămescu A. – Polyethylenoxy chains (n=3-20) derivatised in antioxidant additivation of food systems, pp.1521-1531, in *Proc. 21 Mengen-und Spurenelement Symp.*, Jena, 2004;
128. Kannan S. - Factors in Vegetarian Diets Influencing Iron and Zinc Bioavailability, *Issues in Vegetarian Dietetics*, 1998, 7(1), 7-8, in www.andrews.edu/NUFS/FeZnbioavailability.htm;
129. Kisters K, Spieker C, Tepel M, Zidek W. - New data about the effects of oral physiological magnesium supplementation on several cardiovascular risk factors (lipids and blood pressure)., *Magnes Res.* 1993, 6, 355-360;
130. Klein A.M., Bumatowska-Redin M.A., Kovan J. Mayor G.H. - Reduced fecal aluminium excretion in rats following parathyroid hormone or bile duct ligation, *Kidney Int.*, 1983, 23, 215-217;
131. Koo W.W., Kaplan L.A. - Aluminum and Bone Disorders: with specific Reference to Aluminum Contamination of Infant Nutrients, *J. Am. Coll. Nutr.*, 1988, 7(3), 199-214;
132. Konishi Y., Yagyu K., Kinebuchi H., Saito N., Yamaguchi T., Ohtsuki Y. – Chronic effect of aluminum ingestion on bone in calcium deficient rats, *Pharmacol. Toxicol.*, 1996, 78(6), 429-434;
133. Labbe C., Recosens O. - Les perils caches de l'aluminium, *Science et vie*, 1999, 896 ;
134. Lam H.F., Conner M.W., Rogers A.E. - Functional and morphological changes in the lungs of Guinea pigs exposed to freshly generated ultrafine zinc oxide, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1985, 78, 29-38;
135. Lansdown, A.B.G.- Physiological and toxicological changes in the skin resulting from the action and interaction of metal ions, *Crit. Rev. Toxicol.*, 1995, 25, 397-462;
136. Lai J.C., Leung T.K.C., Lim L.- Brain regional distribution of glutamic acid decarboxylase, choline

- acetyltransferase, and acetylcholinesterase in the rat: Effects of chronic manganese chloride administration after two years, *J.Neurochem*, 1981, 36(4), 1443-1448;
137. Liu Ming, Sun Rui Yi, Zan Jung Hua, Bina Yoan, Wei Lei, Liu Ping, Kei Chiro Fuwa – Elimination of excess fluoride in potable water with coacervation by electrolysis using an aluminum anode, *Fluoride Abstracts*, Part 2, 1987, 20(2), 54-63, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=3572562&dopt=Abstract
138. Llobet J.M. – Acute toxicity studies of aluminum compounds: antidotal efficacy of several chelating agents, *Pharmacol. Toxicol.*, 1987, *Abstract*, MEDLINE, 2001;
139. Llobet J.M., Colomina M.T., Sirvent J.J., Domingo J.L., Corbella J. – Reproductive toxicology of aluminum in male mice, 1995, <http://toxsci.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/25/1/45>;
140. Lloyd T.B.- Zinc compounds, pp 851-863, in: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd ed., (H.F. Mark, D.F. Othmer, C.G. Overberger, G.T. Seaborg, eds.), John Wiley & Sons, New York., 1984;
141. Logue J., Koontz M., Hattwick A. - A historical perspective mortality study of workers in copper and zinc refineries, *J. Occup. Med.*, 1982, 24, 398-408;
142. Lote C.J., Saunders H.C. – Aluminum: Gastrointestinal Absorption and Renal Excretion, *Clinical Science*, 1991, 81, 289-295;
143. London G.M. - Kidney Disease, *Amer. J.* , 1989 , 13, 75-83;
144. Lunardi J., Dupuis A., Issartel J.P., Michel L., Chabre M., Vignais P.V.- Inhibition of H⁺-Transporting ATP-ase by formation of a tight nucleoside diphosphate -fluoroaluminate complex at the catalytic site, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1988; 85, 8958 -8962;
145. Mack, R.B. - A hard day's knight, zinc phosphide poisoning, *N.C. Med. J.* 1989, 50, 17-18;
146. Macdonald T.L., Martin R.B. - Aluminium ion in biological systems, *Trends Biochem Sci* ,1988, 13(15), <http://icmr.nic.in/buaug99.htm>;
147. Maita K., Hirano M., Mitsumori K. - Subacute toxicity with zinc sulfate in mice and rats, *J. Pest. Sci.*, 1981, 6, 327-336;
148. Malo J.L., Malo J., Cartier A., Dolovich, J. - Acute lung reaction due to zinc inhalation, *Eur. Respir. J.*, 1990, 3,111-114;
149. Marshall W., Bangert S. – *Clinical chemistry*, 5th Edition, Horne T.(Eds.), Elsevier Ltd., 2004
150. Martin R.B. - The Chemistry of Aluminum as Related to Biology and Medicine, *Clinical Chemistry*, 1986, 32(10), 1797-1806;
151. Martin R.B. – Aluminum in biological systems, pp. 3-21, Eds. Nicolini M., Zatta P.F., Corain B., *Aluminum in Chemistry, Biology and Medicine*, Cortina International, Verona, Raven Press, New York, 1991;

152. Martyn C.N, Barker D.J, Osmond C., Harris E.C, Edwardson J.A. Lacey R.F. - Geographical relation between Alzheimers disease and aluminum in drinking water, *Lancet*, 1989, 59-62, www.doctoryourself.com/alzheimer.html
153. Mc Lachlan C.D.R., - Risk for neuropathologically confirmed Alzheimer's disease and residual Al in municipal drinking water employing weighted residential histories, *Neurology*, 1996, 46(2), 401-405;
154. Masironi R., Pisa Z., Clayton D. - Myocardial Infarction and Water Hardness in the Myocardial Infarction Registry Network, *Bulletin of World Health Organisation*, 1979,57(2), 291-299;
155. Meiri H., Shimoni Y.- Effects of aluminium on electrical and mechanical properties of frog atrial muscle. *J.Pharmacol.*, 1991, 102, 483-491[Abstract], <http://jn.physiology.org/cgi/content/full/80/2/755>;
156. Meiri H., Banin E., Roll M., Rousseau A.- Toxic effects of aluminium on nerve cells and synaptic transmission, *Neurobiol.* 1993, 40:89-121;
157. Messori L., Orioli P., Banholzer V., Pai I., Zatta P. - Formation of titanium (IV) transferrin by reaction of human serum apotransferrin with titanium complexes, *FEBS Lett.*, 1999, 442, 157-161, Medline;
158. Mertz W. (eds.)- *Trace elements in human and animal nutrition*, Academic Press Inc., London, 1987;
159. Mergler D.- Manganese: the Controversial Metal. At What Levels Can Deleterious Effects Occur?, Editorial, *Canadian Journal of Neurological Science*, 1996, 23, 93-94;
160. Merian E. (eds.) - *Elements and their Compounds in the Environment*, vol 1, Eds. Merian E., Anke M., Ihnat.M., Stoepler M General Aspects, 2 nd, , Wiley-VCH Verlag GmbH& KgaA, Weinheim, 2004;
161. Micic D.V., Petronijewic, N.D., Vucetic, S.S.- Superoxide dismutase activity in the mongolian gerbil brain after acute poisoning with aluminum, *J.Alzheimers Dis.*, 2003, 5(1), 49-56, in http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12590166&dop;
162. Mincu I., Popescu Aurora, Ionescu-Târgoviște C.- *Elemente de biochimie și fiziologie a nutriției*, Ed. Medicală, București, 1985;
163. Mincu I. - *Impactul om alimentație*, Editura Medicală, București, 1993;
164. Milman N., Byg K.E., Ovesen L., Kirchhoff M., Jurgensen K.S. – Iron status in Danish women, 1984-1994: a cohort comparison of changes in iron stores and the prevalence of iron deficiency and iron overload, *Eur. J. Haematol.*, 2003, 71, 51-61;
165. Micic D.V., Petronijewic, N.D., Vucetic, S.S.- Superoxide dismutase activity in the mongolian gerbil brain after acute poisoning with aluminum, *J.Alzheimers Dis.*, 2003, 5(1), 49-56

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12590166

166. Miu N., Drăgătoiu Gh. – *Magneziul în biologia și patologia umană*, Casa cărții de știință, Cluj, 2000;
167. Mittal R.L., Sidhu S.S., Khokhar S.S. - Role of copper in skeletal changes in fluorosis: an experimental study in rabbits, *Fluoride Abstracts*, 1987, 20(3), 104-108;
168. Mogoș V.T. - *Alimentația în bolile de nutriție și metabolism*, Vol.1, Ed. Didactică și Pedagogică R.A., București, 1997 ;
169. Mogoș V.T.- *Sănătatea și substanțele minerale*, Ed. Albatros, București, 1993 ;
170. Moller L. - *Environmental Medicine*, Karolinska Institute, Stockholm, Falth&Hassler AB, 2000;
171. Moore M.R. - Aluminium- Introduction, in Aluminium, pp.9-21, in *Report of an International Meeting*, 1995, Brisbane, Metal series No.1, Eds. Imray P., Moore M., Callan W.P., Lock W., 1998;
172. Moore, R. - Bleeding gastric erosion after oral zinc sulfate, *Br. Med. J.* 1978, 1,754;
173. Morgan E.H., Redgrave T.G. – Effects of dietary supplementation with aluminum and citrate on iron metabolism in the rat, *Biol. Trace. Elem. Res.*, 1998, 65(2), 117-131, în *PMID:8881516, Medline*;
174. Moț T., Ciulan V.L., Cristescu M., Morar D.- *Patologie Medicală Veterinară practică*, Ed. Brumar, Timișoara, 2004;
175. Moshtaghi A.A., Skillen A.W. – Coparative binding studies of aluminum and iron to serum transferrin, *Journal of Islamic Academz of Sciences*, 1990, 3:4, 280-283, in www.medicaljournal-ias.org/3_4Moshtaghi.pdf;
176. Moshtaghi A.A.- Aluminum distribution in rat liver sub-cellular fractions in relation to neurological disease in hemodialyzed patients, *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 1994, 7(4), in: www.medicaljournal-ias.org/7-4/Moshtaghi.htm
177. Moshtaghi A.A., Javadi I., Fegghi G. – Changes in the level of mitochondrial and cytosolic aspartate aminotransferase activities in aluminum intoxicated rat, 2003, <http://ibj.pasteur.ac.ir/ibj20/moshtaghi.htm>;
178. Mulhern S.A, Stroube W.B., Jacobs R.M. - Alopecia induced in young mic by exposure to excess dietary zinc, *Experientia*, 1986, 42, 551-553;
179. Mussi I., Calzafieri G., Buratti M. - Behaviour of plasma and urinary aluminum levels in occupationally exposed subjects., *Int. Arch. Occup. Environ Health*, 1984, 54 – 155;
180. Munteanu C., Huculeci R., Ionica E., Costache M., Tesio C., Dinischiotu A. – Oxidative stress induced by manganese (II) intoxication in Huh 7 cells, pp384-390 in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
181. Navarro J.A., Garandillo V.A., Salgado O., Garcia R., Rodriguez-Itrube B., Romero R.A.- Vanadium and aluminium levels in chronic renal insuficiency, *Trace Element in Man and Animal*, 1991, 7, 298-299;

182. Neamtu G.- *Biochimie alimentară*, Ed. Ceres, București, 1980;
183. Neamtu M., Grecu I., Enescu L. – *Implicații biologice și medicale ale chimiei anorganice*, Editura Junimea, Iași, 1982;
184. Nemery B. - Metal toxicity and respiratory tract, *Eur. Respir. J.*, 1990, 3, 202-219;
185. Neuberger J., Hollowell J.- Lung cancer excess in an abandoned lead-zinc mining and smelting area, *Sci. Total Environ.*, 1982, 25, 287-294;
186. Nicolini M., Zatta P.F., Corain B.- *Aluminum in chemistry, biology and medicine*, Cortina international-Verona, Raven Press/ New York, vol. 1, 1991;
187. Niebort E. - Health effects of Al : a critical review with emphasis on Al in drinking water, *Environ.*, 1995, 3, 29-81;
188. Nordmann R., Rouach H., Honze P. – Alcohol, iron and oxidative stress, *Bull. Acad. Natl. Med.*, 1990, 174(1), 95-102;
189. Norseth T. - *Aluminum, Handbook on the Toxicology of Metals*, Elsevier/ North Holland Biomedical Press, 1979;
190. Omu A.E., Al-Azemi M.K., Kehinde E.O., Anim J.T., Mathew C., Oriowo M.A.- Anti-apoptotic protective effect of zinc during spermatogenesis in the rat testes, pp.69-81 in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
191. Orten J.M., Neuhaus O.W.- *Human Biochemistry*, Ninth Edition, The C.V. Moshby Company, St.Louis, 1975;
192. Oteiza I. Patricia – Al (III) and free radicals, 1993 in: www.bio.unipd.it/~zatta/alumin.htm;
193. Oteiza I. Patricia, Mackenzie G.G., Verstraeten V. Sandra - Metals in neurodegeneration: involvement of oxidants and oxidant-sensitive transcription factors, *Molecular aspects of medicine*, 2004, 25(1-2), 103-115;
194. Parkinson I.S., Ward M.K., Feest T.G., Fawcett R.W.P., Kern N.D.S.- Fracturing dialysis osteodystrophy and dialysis encephalopathy, *Lancet*, 1979, 406-409;
195. Pop P. - *Boli de nutriție și metabolism la animale*, Editura Mirton, Timișoara, 1999 ;
196. Perl D.P.P., Good P.P.F.-Uptake of aluminium into central nervous sistem along nasal-olfactory pathways, *Lancet*, 1987, 1028-1029;
197. Pecze L., Papp A., Nagymajtenyi L., Desi I. – Effect of acute administration of certain heavy metals and their combinations on the spontaneous and evoked cortical activity in rats, *Env. Toxicol. Pharmacol*, 2005, 19, 775-784 ;
198. Perez, G., Garbossa G., Lafourcade C., Vittori D., Nesse A.- Human erythroid cells are affected by aluminium. Alteration of membrane band 3 protein *Biochem. Geophys. Acta*, 2002, 1558 (2), 142-150 ,in frf.cncsis.ro/documente/257A591.doc;
199. Pfeiffer C.C., Braverman E.R.- Zinc, the brain and behaviour, *Biol Psychiatry*, 1982, 17(4), 513-532;

200. Phillip R., Hughes A., Robertson M. - Stomach cancer and soil metal content. *Brit. J. Cancer* , 1982, 45, 482;
201. Pietrois J., Koisut O., Pomyjovia D.- The effect of zinc on pregnancy complication in women working in heavy industry, *Cesk. Gynecol.*, 1991, 56, 11-14;
202. Popa Daniela Saveta – *Curs de Toxicologie pentru studenții Colegiului de Tehnicienii de Farmacie*, Editura Medicală Universitară “ Iuliu Hațieganu”, Cluj Napoca, 2004;
203. Powell J.J., Greenfield S.M., Parkes H.G., Nicholson J.K. ,Thompson R.P.H. - Gastrointestinal availability of aluminium from tea, *Fd. Chem Toxic*, 1993 , 31,449-454;
204. Powell J.J., Whitehead M.W., Ainley C.C., Nicholson J.K., Thompson R.P.- Dietary Minerals in the Gastrointestinal Tract: Hydroxipolymerization of Aluminum is Regulated by Luminal Mucins, *J. Inorg. Biochem.*, 1999,75 (3), 167-180;
205. Powell J.J., Jugdaohsingh R., Thompson R.P.H.- The regulation of Mineral Absorbtion in Gastrointestinal Tract, *Gut*, 1998, 39, 625-628;
206. Potkonjak Biljana, Bulat P., Djudjic Ivana - Oxidative changes in the blood of workers in aluminium production, pp. 179-183, *Proceedings of International Symposium “ Metal Element in Environement, Medicine and Biology”* Timișoara, 1993;
207. Poleo B.S.- Aluminium Polymerization - A mechanism of Acute Toxicity of Aqueous Aluminium to Fisch, *Aquatic Toxicol.*, 1995, 31(4), 347-356;
208. Priest N.D., Newton D., Talbot B., Mcaughei P.D., Fifield K. - Industry- Sponsored Studies on the biokinetics and Bioavailability of Aluminium, pp. 105-129, in *Man. Managing Health in the Aluminum Industry*, (Priest N.D., O`Donnell T.V. eds.), London, Middlesex University Press, 1995
209. Proctor N.H., Hughes J.P., Fischman M.L. – *Manganese (and Compounds) in Chemical Hazards of the Workplace*, Second Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1988;
210. Pup Mihaela, Ahmadi-Vincu Mirela, Gârban Z., Martău Ariana-Bianca - Particularitățile sinergismului și antagonismului între câteva microelemente metalice, pp. 63-68 în Simpozionul “ Creșterea animalelor- de la tehnologii tradiționale la biotehnologii, într-o agricultură durabilă, de tip european, 27-28 mai, Timișoara, 2004a ;
211. Pup Mihaela, Dronca D., Ahmadi-Vincu Mirela - Modification of some metals in blood serum after aluminum chloride administration to rabbits,pp. 325-330, in *Metal elements in environment, medicine and biology, Proceedings of the 6th International Symposium on Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Eurobit, Timisoara, 2004b;
212. Pup M., Gârban Z., Dronca D., Ahmadi-Vincu M. – Aluminum effects on magnesiemia, calcemia and on magnesium, calcium and aluminum concentration in rabbits bone, pp 171-174, in *International Symposium Euro-aliment* , 2005, Galați, Romania, 2005a;
213. Pup M., Dronca D., Gârban Z., Ahmadi M. – Changes of lipids metabolism in domestic rabbits after aluminum chloride administration revealed by blood analysis, pp. 99-102, in *Lucrări Științifice: Zootehnie și Biotehnologii animaliere*, vol. 13, Chișinău, 2005b;

214. Pup Mihaela, Ahmadi-Vincu Mirela, Gârban Z., Dronca D.- Trace metals modifications in liver after aluminum chloride administration to rabbits, pp. 504-508, in 5th International Symposium on Trace Elements in Human: New Perspectives, Atena, Greece, 2005c.
215. Pup Mihaela, Ahmadi - Vincu Mirela, Gârban Z., Dronca D.- Influence of aluminum on blood serum glucose, total proteins and magnesium concentration in domestic rabbits, Anuarul "Cercetări Științifice: Progrese și tehnologii agroalimentare", Universitatea "S.A.M.V.B." Timișoara, Ed. Agroprint, Timișoara, 2005d,X,223-228.
216. Pup Mihaela, Ahmadi-Vincu Mirela, Velciov Ariana Bianca, Gârban Z., Dronca D. – The effect of zinc chloride administration on some trace metals in Wistar rats liver, in Journal of Agroalimentary procesess and technologies, Timișoara, 2006a,XII(2),521-527;
217. Pup Mihaela, Ahmadi-Vincu Mirela, Gârban Z., Dronca D., Velciov Ariana Bianca – Effects of aluminum chloride administration on some trace and macroelements in rabbits brain, in press in „Actualities in animals breeding and pathology”, Facultatea de Medicină Veterinară, USAMV, Timișoara, 2006b.
218. Quartley B., Esselmont G., Taylor A., Dobrota M. – Effect of oral aluminum citrate on short-term tissue distribution of aluminum, *Food. Chem. Toxicol.*, 1993, 31(8), 543-548, în *PMID:8349199, Medline*;
219. Richards K.D., Schott E.J., Sharma Y.K., Davis K.R., Gardner R.C. - Aluminum induces oxidative stress genes in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiol.*, 1998, 116, 409–418. www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=129263;
220. Roy S.S., Nowak R.J., Strokovich K., Brown R.H., Waltz T., Lansbury P.T. – An intersubunit disulfide bond prevents in vitro aggregation of a superoxide dismutase-1 mutant linked to familial amyotrophic lateral sclerosis, *Biochemistry*, 2004, 43(17), 4899-905, PUBMED;
221. Rouleau C., Tjalve H., Gottofrey J., Pelletier E. - Uptake, distribution and elimination of Mn (II) in the brown trout (*Salmo trutta*), *Environ. Toxicol. Chem.*, 1995, 14 , 483-490 www.coldcure.com/anosmia/sunderman.rtf,2006;
222. Rossowska M.J., Nakamoto T. – Interaction between zinc and calcium in skeletal muscle in young growing rats, *Biol. Trace Elem. Re.*, 1993, 38(3), 301-309, [http://www.nih.gov/entrez/login.fcgi?call.](http://www.nih.gov/entrez/login.fcgi?call;);
223. Samman S., Roberts D.C.K. - The effect of zinc supplements on plasma zinc and copper levels and the reported symptoms in healthy volunteers, *Med. J. Australia*, 1987, 146, 246-249;
224. Sandstrom B. – Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability, *Br. J. Nutr.*, 2001, 85 (2), 181-185;
225. Sanz-Medel A., Ana B. Soldado-Cabezuelo, Radmila Milacic, Tjasa Bantan-Polak - The chemical speciation of aluminum in human serum, *Coordination Chemistry Reviews*, 2002, 228(2), 373-383;

226. Schenkel H., Behrens P., Kluber J.- Aluminium in blood serum and different tissues of cattle, pp. 802-807, *Proc. 5 Spurenelement Symposium*, Jena, 1986 ;
227. Schauss A. (eds.) - *Minerals and Human Health : the Rationale for Optimal and Balanced Trace Element Levels*, Life Sciences Press, 1995;
228. Schrauzer G.N. - The discovery of the essential trace elements. An outline of the history of biological trace element research, pp. 17-31, in : *Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements Ed. Frieden*, Plenum Press, New York- London, 1984;
229. Schroeder T.M., Caspers M.L. - Kinetics of Aluminum - Induced Inhibition of δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase In Vitro, *Biochem Pharmacol*, 52,6,927-931, 1996, *Elsevier Science*
230. Schroeder H.A., Balassa D.D., Tipton I.H.- Essential trace metals in man: Manganese, a study in homeostasis, *J. Chron. Dis.*, 1966, 19, 545-571;
231. Schumann K.- Safety aspects of iron in food, *Ann. Nutr. Metab.*, 2001, 45, 91-101;
232. Schweigart H.A.- *Vitalstoff Lehre*, Verlag Hans Zauner JR., Munich, 1962;
233. Scvorțov V.I.- *Manual de Farmacologie*, Editura de Stat pentru Literatură Științifică și Didactică, București, 1951 ;
234. Seabright P.J., Guy S.P., Day J.P., Itzakil R.F. - The investigation of aluminium cytotoxicity and its relevance to Alzheimer's disease. *Trace Element in Man and Animal*, 1991, 7, 235-236;
235. Selinus O, Lindh U., Fuge R., Alloway B., Semedley Pauline, Centeno J., Finkelman B. – *Medical Geology*, Elsevier /Academic Press, Stocholm, 2004;
236. Sever- Banciu A. - *Din Istoria Descoperirii Elementelor Chimice*, Editura Albatros, București, 1981;
237. Silva V.S., Goncalves P.P. - The inhibitory effect of aluminum on Na/K ATP-ase activity of rat brain cortex synaptosomes, *J. Inorg. Biochem.*, 2003, 15, 97(1), 143-50, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd
238. Skhenk R.U. - Composition and Consequences of Aluminium in Water, Beverages and other Ingestibles, pp. 247-269, Ed. T.Evans in *Environmental Chemistry and Toxicity of Aluminium*, Lewis Publishers, Michigan, USA, 1989;
239. Slanina P., Falkeborn Y., Frech W., Cedergren A. - Aluminium concentrations in the brain and bone of rats feed citric acid, *Food Chem. Toxic.*, 1984, 22 , 391-397 in www.anachem.umu.se/aas/refspec/gf_biol.htm
240. Snyder J.W., Serroni A., Savory J., Faber J.L. - The absence of extracellular calcium potentiates the killing of cultured hepatocytes by aluminum maltolate, *Arch. Biochem. Biophys*, 1995, 316 (1), 434-442;
241. Sorensen J.R.J., Campbell J.R., Tepper L.B., Ling R.D. - Aluminum in the environment, *Environ. Health. Perspect.*, 1974, 73-95 în http://europa.eu.int/comm/food/index_en.html, 1999
- Spencer A.J., Wood J.A., Saunders H.C., Freeman M.S., Lote C.J. - Aluminum depozition in liver

242. and kidney following acute intravenous administration of aluminum chloride or citrate in conscious rats, *Hum. Expp. Toxicol.* 1995, 14(10), 787-794;
243. Steinhausen C., Kislinger G., Winklhofer C., Beck E., Hohl C., Nolte E., Ittel T. H., Alvarez-Bruckmann M.J.L. - Investigation of aluminium biokinetics in humans: a ²⁶Al tracer study, *Food and Chemical Toxicology*, 2003, 42(3), 363-371;
244. Straube E.F., Schuster N.H., Sinclair A.J.- Zinc toxicity in the ferret, *J. Comp. Pathol.* 1980, 90, 355-361;
245. Strause Linda, Saltman P. - Trace Mineral Interactions: [www. superlife.co.uk/health life.htm](http://www.superlife.co.uk/health life.htm);
246. Strong, M.J.- Potentiation in the neurotoxic induction of experimental chronic neurodegenerative disorders: N-butyl benzenesulfonamide and aluminum chloride, *Neurotoxicology*, 1991, 12, 415-425;
247. Stobart PD. - *Centenary of the Hall&Heroult processes 1886-1986*, International Primary Aluminium Institute, Staples, St. Albans,1996;
248. Swain, C., Chainy, G.B.- Effect of aluminum on lipid peroxidation of cerebral hemisphere of chick *J.Trace Elem. Med. Biol.* 1997,11, 2, 77-82;
249. Stolle A., Fitzner R., von Bulow J., Pipenhagen V. - Entersuchungen zum Aluminiumgehalt im Blut von Schlachtschweinen, *Fleischwirtsch.* 1991, 71(9), 1111-1112;
250. Stokinger, H.E.- Zinc, pp. 203-220, in: *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, 3rd rev. Ed., vol. 2A. G.D Clayton and E. Clayton, eds., John Wiley and Sons, New York, 1981a;
251. Stokinger H.E. - The Metals, In: *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, pp 1749-1796, Eds. Clayton G.D., Clayton F.E., Wiley J. & Sons, New York, 1981b;
252. Sun H., Cocs M.C., Li H., Mason A.B., Woodworth R.C., Sadler P.J. - (1 H, 13 C) NMR Determination of the Order of Lobe Loading of Human Transferrin with Iron: Comparison with other Metal Ions, *F.E.B.S. Lett.*, 1998, 422(3), 315-320;
253. Sukakidze A., Tsintsadze T., Bikashvili T., Darbaidze M., Mitagvaria N., Lazrishvili I. – The effect of subacute per os Manganese chloride administration on the rat's learning ability and memory in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
254. Suzuki K., Oyama R., Hayashi E., Arakawa Y. – Liver diseases and essential trace elements, *Nippon Rinsho*, 1996, 54(1), 85-92, <http://www.truehealth.org/arefer02.html>;
255. Tapiero H., Townsend D.M., Tew K.D. - Trace element in human physiology and pathology, *Copper. Biomed. Pharmacother*, 2003, 57, 386-398;
256. Tănăsescu Gh., Costescu Georgeta - *Biochimie medicală, Lucrări practice*, Ed.Didactică și pedagogică, București, 1966;
257. Torud B. - Extreme weather conditions and fish mortality in a hatchery, *Norsk Veterinaertidsskrift*, 1993, 105 (5), 527-530;
258. Trif A., Drugă M., Muselin F., Brudiu I. – Influence of dietary aluminum sulphate intake in some

- parameters of energetic metabolism in broiler, pp 481-484, in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
259. Underwood, J.E. - *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 4-th edition, Acad Press, New York și Londra, 1977;
260. Valberg L.S., Langan P.R.F. - Biological aspects of metals and metal-related diseases, pp. 41-66, In: Sarkar B. Eds. , Raven Press, New York, 1983;
261. Valnet J.- *Tratamentul bolilor prin legume, fructe și cereale*, Ed. Ceres, București, 1986;
262. Van der Voet, G.B., de Wolff F.A.- Intestinal Absorbtion of Aluminum in the Rats: Effect of Intraluminal pH and Aluminum Concentrațion, *J.Appl. Toxicol.*, 1986, 6(1), 37-41;
263. Valvidia R., Ammerman C.B., Wilcox C.J., Henry P.R. - Effect of dietary aluminium on animal performance and tissue mineral levels in growing steers, *J. Anim. Sci.*, 1978, 47, 1351-1356;
264. Venchikov A.I.-*Trace element metabolism in animals.*, Ed. Hoekstra W.G., Vol: 2, p.289, University Park Press, Baltimore, Maryland, USA, 1974;
265. Vezer T., Hoyk Z., Naray M.- Neurobehavioural effects of subchronic MnCl₂ exposure in rats, pp.195-203, in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005
266. Viezeliene D., Rodovicius H., Ivanov L. – Effect of aluminum ions on the mouse liver translation system in vivo, pp. 343-347, in *Proceedings of the 5th International Symposium: „Trace Elements in Human: New Perspectives”*, Athens, 2005;
267. Walton J, Hams G. , Wilcox D. - Bioavailability of aluminium from drinking water: coexposure with food and beverages, *Research Report- Urban Water Research Association of Australia*, No.83, Melbourne, 1994;
268. Walton Judie - *Absorbtion of aluminiu and its effects on brain cells* , *Environmental Aspects of Aluminium Exposure, Report of an International Meeting*, Brisbane, 1995a;
269. Walton J., Tuniz C., Fink D., Jacobsen G., Wilcox D- Uptake of trace amounts of aluminium into the brain from drinking water, *Neurotoxicology* , 1995b, 16:187-190;
270. Walker J.A., Sherman R.A., Cody R.P.- The effect of oral bases on enteral aluminum absorbtion, *Arch. Intern. Med.*, 1990, 150 (10), 2037-2039;
271. Watts D.L.- The nutritional relationships of magnesium, , *J.Orthmol. Med.*, 1987, 3(4), 197-201;
- 272.
273. Wei Zeng, Hyaehwan Kim, Quiuqu Zhao – Comparative toxicokinetics of manganese chloride and methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in Sprague-Dawley Rats, *Toxicological Sciences*, 2000, 54, 295-301, in http://www.healthsciences.purdue.edu/faculty/zheng/Zh00_ToxSc54p295to301.pdf
274. Wellig P.G., Tse F.L.S., Dighe S.V.- *Pharmaceutical Bioequivalence, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol.48, Marcel Dekker Inc., New-York-Basel, 1991;

275. Willard D.W., Tvedten H., Turnwald G.H.- *Small animal, Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 2004;
276. Williams D.R. - *The metals of life*, Van Nostrand Reinhold Company London, 1971;
277. Wilhelm M., Schull J., Cablitz H., Hafner D., Idel H.- Hepatic Clearance and Retention of Aluminum: Studies in the Isolated Perfused Rat Liver, *Toxicol. Lett.*, 1996, 89, 3, 257-263 ;
278. Wills M.R., Savory J.- Aluminium poisoning-dialysis encephalopathy, osteomalacia, and anaemia, *Lancet*, 1983, 29-34;
279. Yousef M.I. – Aluminum- induced changes in hemato-biochemical parameters, lipid peroxidation and enzyme activities of male rabbits: protective role of ascorbic acid, *Toxicology*, 2004, 199, 1, 47-57, in: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd
280. Yu M.H., Young R.G., Sepanski L.- Inhibition of lipid metabolism in germinating mung bean seeds by fluoride, Huxley College of Environmental Studies, Western Washington University, USA, *Fluoride Abstracts*, 20(3): 113-117, 1987;
281. Zatta P. – Relevant issues on Aluminum. What is new., in bio.unipd.it/~zatta/aluminum.htm, 2005
282. Zatta P.F., Alfrey A.C. (Eds.)- Aluminum toxicity in infants health and disease, p. 258, World Scientific, River Edge, NJ, 1997;
283. Zatta P., Lain E., Cagnolini C. – Effects of aluminum on activity of Krebs cycle enzymes and glutamate dehydrogenase in rat brain homogenate, *Eur. J. Biochem.*, 2000, 267, 3049-3055, in www.content.febsjournal.org/cgi/content/full/267/10/3049;
284. Zaman K -Aluminum and Hepatopoietic System, 1995
www.bio.unipd.it/~zatta/alumin.htm
285. Zhou J., Sims C, Chang CH., Mattera B.L., Hopfer U., Douglas J.- Proximal tubular epithelial cells possess a novel 42-kDa guanine nucleotide- binding regulatory protein., *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87, 7532-7535, www.fluoridealert.org/iffin-28.h;
286. Zhu D., Tan K.S., Zhang X., Sun A., Sun Y.G., Lee M. – Hydrogen peroxide alters membrane and cytoskeleton properties and increases intracellular connections in astrocytes, *Journal of Cell Science*, 2005, 118, 16, 3695-3703,
<http://jcs.biologists.org/cgi/content/full/118/16/3695>;
287. Zumkley H., Bertram H., Spieker C., Kisters K., Brandt M., Roeding M.-Aluminium and lead concentration in different brain areas, *Proc. 5 Spurenelement Symp. Jena*, 1986, 808-815;
288. *** - Aluminum Compounds. Review of Toxicological Literature. Integrated Laboratory Systems, 2000,
http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/Chem_Background/ExSumpdf/Aluminum.pdf
289. *** - Aluminum Toxicity;
http://ntp.niehs.nih.gov/htdocs/chem_background/exsumpdf/aluminumalt.pdf
290. *** - ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) - Toxicological Profile for

- Zinc. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, U.S. Public Health Service, Atlanta, GA. 121, ATSDR/TP-89-25, 1989;
291. *Alternative Medicine and Health*, în:
<http://alternativemedicineandhealth.com/minerals/minerals.htm>, 2004
292. *** - American Medical Association - *The American Medical Association's Encyclopedia of Medicine*, Ed. Clayman C.B. Random House: 1989;
293. *** - BSAVA - *Manual of Rabbit Medicine and Surgery (British Small Animal Veterinary Association)*, A. Meredith, S. Redrobe Eds., p. 81, 2003;
294. *** - *Council for Responsible Nutrition - The Safe Use of Supplements Benefits Good Health*, 1999;
295. *** - Copper, www.umm.edu, 2004;
296. *** - Dartmouth Toxic Research-Toxic Metals. , in www.dartmouth.edu/~toxmetal/, 2005;
297. *** - *Expert Group on Vitamins and Mineral Meeting-Nutrition Unit A, Review of Manganese*, pp.1-48, 2002;
298. ***EVM/99/22.REVISED AUG/2002,
<http://www.foodstandards.gov.UK/multimedia/pdfs/evm9922p.pdf>.
299. *** - *FAO/WHO/IEA Expert Consultation - Trace elements in human nutrition.htm*.- Salient issues from the Joint;
300. *** - 138Fluoride, 2003, 36(3),138-141, - www.fluoride-journal.com/03-36-3/363-138.pdf;
301. *** - *ITII (International Technical Information Institute) - Toxic and Hazardous Industrial Chemicals Safety Manual for Handling and Disposal, with Toxicity and Hazard Data*. Tokyo, Japan. pp. 562-564, 1988;
302. *** - *ILSI- Risk Assessment of Essential Elements*, Eds. Mertz, Abernathy and Olin, ILSI Press, Washington D.C., 1994;
303. *** - *MAFF-Total Diet Study: Metals and other elements*. Food Surveillance Information, Great Britain, 1997
304. *** - *Major and Trace Minerals in*
<http://northonline.sccd.ctc.edu/ntrresources/minerals.htm>, 2004
305. *** - *MSN Encarta-Aluminum*, Microsoft, Encarta Online Encyclopedia 2005, in <http://encarta.msn.com@1997-2005> Microsoft Corporation
306. *** - *Mister GreenGenes Nutrition Center Online.htm*, <http://www.naturalhealthdirect.com.an.;>
307. *** - *National Library of Medicine- Aluminum fluoride, Hazardous Substances Data Base*. Washington, DC, National Library of Medicine 2000;
308. *** - *NRC- National Research Council - Recommended Dietary Allowances*, 9th rev.ed, Food and Nutrition Board, National Research Council, National Academy Press, Washington D.C.,

pp.230-235, 1989;

309. *** - *NTP Technical Report on the Toxicology and carcinogenesis studies of manganese (II) sulfate monohydrate in rats and mice*, National toxicology program, 1993;
310. *** - *NRC (National Research Council) - Recommended Dietary Allowances*. 10th ed. National Academy Press, Washington, DC.Elinder, 1986;
311. *** - *Opinion on Toxicological Data on Colouring Agents for Medical Products: Aluminium*, 1999. http://europa.eu.int/comm/food/index_en.html
312. *** OMS - *Organisation Mondiale de la Sante* - Aspects sanitaires et nutritionnelles des oligoelements et des elements en traces, Geneve, 1997 ;
313. *** - *Public Health Goal for Aluminum in Drinking Water*, February, 2000, www.oehha.ca.gov/water/phg/pdf/Alumin.pdf;
314. *** - *RDA- Human Nutrition*, Microsoft 99 Encyclopedia. ©, 1993-1997;
315. *** - *U.S.AID Micronutrient program- Improoving Iron Status through Diet. The application of knowledge concerning dietary iron bioavailability in human population*, 1997, in <http://www.mostproject.org/toc.htm>
316. *** - *U.S. EPA - Integrated Risk Information System (IRIS). Carcinogenicity Assessment for Zinc and Compounds, and Oral RfD Assessment for Zinc phosphide*. (Online file, 1992a). Office of Health and Environmental Assessment. Cincinnati, OH.
317. *** - *U.S. EPA - Health effects assessment summary tables. FY 1992b Annual*. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington DC.
318. *** - *WHO (World Health Organisation) - Principle for the safetyassesment of food additives and contaminants. IPCS Environmental Health Criteria*, , Geneva, World Health Organization, 70,1996
319. *** - *WHO (World Health Organisation) - Environmental Health Criteria, Aluminum*, Geneva, World Health Org., 194/ 1997;
320. *** - *WHO (World Health Organisation) - Full Aluminium Report 2001-2004*;
321. *** - *WHO (World Health Organisation) - Guidelines for Drinking water quality, : Health criteria and other supporting informations*. World Health Organisation, Geneva, 2nd edition , 2, 1996;
322. *** - *WHO (World Health Organisation)- Principles and methods for the assessment of risk from essential trace elements*. IPCS INCHEM, Geneve, 2002;
323. *** - *Zinc chloride*, <http://www.intox.org/databank/index.htm>
324. *** <http://www.mcponline.org/content/vol14/issue6/aindex.shtml>,2006