

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ „REGELE
MIHAI I AL ROMÂNIEI” DIN TIMIȘOARA

ȘCOALA DOCTORALĂ - MEDICINĂ VETERINARĂ



TEZĂ DE ABILITARE

*Utilizarea unor antioxidanți și abordări fitoterapeutice în
expunerea la metale grele și în unele boli metabolice la animalele de
laborator*

Conf. Dr. Muselin Florin

Timișoara

2017

REZUMAT

În cadrul primei părți „**Realizări științifice și profesionale**” sunt descrise de-a lungul a trei capitole realizările științifice și profesionale reprezentând cercetarea efectuată începând de după finalizarea tezei de doctorat în 2006 și până în prezent. Cercetările sunt dezvoltate în principal pe câteva direcții de studiu precum: toxicologia reproducerii, fitoterapie, stres oxidativ și metale grele, fiind efectuate în cadrul bursei postdoctorale (2010-2012), precum și în cadrul temelor de cercetare asumate de colectivul de cercetare din cadrul laboratorului de studii farmaco-toxicologice.

Majoritatea cercetărilor efectuate au fost prezentate sau sunt în curs de prezentare, în cadrul unor manifestări științifice internaționale/naționale, publicate sau în curs de publicare în jurnale sau reviste internaționale cu factor de impact sau în reviste naționale și internaționale indexate în baze de date.

În capitolul **1. Utilizarea unor antioxidanți pentru reducerea efectelor stresului oxidative indus de expunerea cronică la aluminiu asupra funcției de reproducere la șobolanii masculi**, după o scurtă prezentare a stresului oxidativ și a principalilor antioxidanți luați în studiu, sunt prezentate scopul, obiectivele, materialele și metodele prezentului studiu. În cadrul rezultatelor la punctul 1.4.1. este prezentată dinamica markerilor stresului oxidativ în cazul expunerii la aluminiu precum și valorile acestor markeri ca urmare a administrării unor antioxidanți naturali (extract de *Sempervivum tectorum* și melatonină). Au fost determinate următoarele enzime ca markeri ai stresului oxidativ: glutatationul, glutatation reductaza, glutatation peroxidaza, catalaza, superoxid dismutaza, iar ca martor al peroxidării lipidice, malondialdehida. S-a constatat: scăderea semnificativă a nivelului glutatationului seric, a catalazei serice și a glutatation reductazei în cazul expunerii la aluminiu și restabilirea acestui nivel în cazul administrării extractului apos de *S. tectorum* și a melatoninei; creșterea semnificativă a nivelului glutatation peroxidazei și a superoxid dismutazei în cazul expunerii la aluminiu și restabilirea nivelului seric al acestei enzime în cazul administrării extractului apos de *S. tectorum* și a melatoninei, precum și creșterea semnificativă a peroxidării lipidice, exprimată prin creșterea semnificativă a nivelului malondialdehidei serice, la șobolanii expuși la aluminiu și restabilirea acestui nivel în cazul administrării extractului apos de *S. tectorum* și a melatoninei.

Au fost, de asemenea, evaluați markeri ai funcției de reproducere la masculii (punctul 1.4.2 – 1.4.4), în condițiile expunerii la aluminiu și în cazul administrării substanțelor antioxidande, urmărindu-se numărul de spermatozoizi, procentul de spermatozoizi imobili, viteza medie a spermatozozilor, precum și nivelul hormonilor sexuali (testosteron și LH) atât la loturile care au fost expuse la aluminiu, cât și la loturile la care a fost administrat extract de *S. tectorum* și, respectiv, melatonină. În ceea ce privește markerii funcției de reproducere la masculii s-a constatat: îmbunătățirea calității materialului seminal atât în cazul expunerii la extractul apos de *S. tectorum*, cât și a melatoninei, precum și refacerea statusului hormonilor sexuali atunci când șobolanii au fost tratați cu ambele substanțe studiate.

TEZĂ DE ABILITARE - *Utilizarea unor antioxidanți și abordări fitoterapeutice în expunerea la metale grele și în unele boli metabolice la animalele de laborator* - Conf. Dr. Muselin Florin

Analiza histologică a evidențiat refacerea și/sau protecția împotriva proceselor degenerativ-necrotice ale aluniului asupra histoarhitectonicii testiculelor, epididimului și a glandelor sexuale accesorii.

La punctul 1.4.5. s-a urmărit efectul protectiv al extractului de *Sempervivum* și al melatoninei asupra acumulării aluniului în organele genital masculine și glandele sexuale accesorii constatându-se acumularea acestuia în toate organele studiate (testicule, epididim, prostată, vezicule seminale și glandele bulbo-uretrale) în concentrație semnificativ mai ridicată decât în lotul martor; melatonina și extractul apos de *Sempervivum tectorum* au prezentat un rol protectiv pozitiv, reducând acumularea aluniului în organele genitale și glandele sexuale accesorii, de asemenea, s-a constatat că efectul protectiv major a fost la nivelul testiculului, iar efectul cel mai redus s-a observat la glandele bulbo-uretrale.

În capitolul 2. **Utilizarea unor extracte din plante în diabetul indus cu Alloxan la șobolani**, după prezentarea succintă a acestei boli metabolice și a plantelor luate în studiu, respectiv, dragavei, goji, cătină și armurariu sunt prezentate scopul, obiectivele, materialele și metodele, acestea fiind descrise în amănunt. În subcapitolul 2.3. este prezentată dinamica greutateii corporale și dinamica glicemiei la șobolani diabetici și nediabetici, precum și la șobolani la care au fost administrate extracte de dragavei, goji, cătină și armurariu. S-a constatat că administrarea extractelor a avut drept consecință: în cazul administrării extractelor de dragavei și goji, reducerea semnificativă a glicemiei prin administrarea acestora, rezultatele cele mai notabile au fost în cazul administrării de extract 6% de goji (*L. barbarum*), în schimb administrarea combinată a celor două extracte (dragavei și goji) s-a dovedit a avea un efect mai redus decât în cazul administrării separate a fiecărui extract; reducerea semnificativă a glicemiei în cazul administrării extractelor apoase 6% de cătină și armurariu, efectele cele mai notabile fiind în cazul administrării de cătină (*H. rhamnoides*) dar, în acest caz, administrarea combinată a extractelor de cătină și armurariu s-a dovedit a avea un efect mult mai puternic decât administrarea separată, de aceea lansăm recomandarea ca fiind un posibil remediu homeopatic pentru controlul diabetului. Din punct de vedere histologic au fost observate modificări histologice asemănătoare cu cele întâlnite la loturile martor diabetic, sugerând un alt posibil mecanism de acțiune hipoglicemic decât cel prin refacerea țesuturilor afectate.

În capitolul 3. **Utilizarea unor substanțe naturale în vederea reducerii efectelor secundare ale administrării cisplatinului**, la început, sunt prezentate câteva date bibliografice despre cisplatină, resveratrol și seva de mesteacăn, apoi sunt prezentate două studii, primul urmărind efectul antioxidant al resveratrolului în stresul oxidativ indus de administrarea de cisplatină, cel de al doilea studiu urmărind efectul protectiv al sevei de mesteacăn asupra homeostaziei unor oligoelemente la șobolani expuși la cisplatină.

În subcapitolul 3.1. sunt descrise motivația, scopul, obiectivele, materialele și metodele folosite, precum și rezultatele obținute și concluziile desprinse. S-a constatat scăderea semnificativă a nivelului glutatationului, glutatation reductazei și catalazei în cazul expunerii la Cisplatin și restabilirea acestui nivel în cazul administrării resveratrolului; creșterea semnificativă a nivelului glutatation peroxidazei și a superoxid dismutazei în cazul expunerii la Cisplatin și restabilirea nivelului seric al acestei enzime în cazul administrării de resveratrol,

TEZĂ DE ABILITARE - *Utilizarea unor antioxidanți și abordări fitoterapeutice în expunerea la metale grele și în unele boli metabolice la animalele de laborator* - Conf. Dr. Muselin Florin

precum și creșterea semnificativă a peroxidării lipidice, exprimată prin creșterea semnificativă a nivelului malondialdehidei serice, la șobolanii expuși la Cisplatin și restabilirea acestui nivel în cazul administrării de resveratrol.

În subcapitolul 3.2. sunt descrise materialul și metodele studiului efectuat dar și rezultatele, discuțiile și concluziile desprinse. S-a constatat că administrarea de cisplatin a determinat reducerea nesemnificativă a cuprului, zincului și magneziului la 48 de ore după administrare și reducerea semnificativă a cuprului și fierului, precum și creșterea ușoară a manganului la șapte zile după administrare. Administrarea de sevă a restabilit homeostazia oligoelementelor studiate.

Partea a doua a tezei de abilitare „*Planul de evoluție și dezvoltare a carierei*” cuprinde în partea de început câteva date personale precum și evoluția carierei profesionale până la gradul didactic deținut, cel de conferențiar. Sunt redate câteva aspecte legate de tema de doctorat și publicațiile conexe acesteia fiind prezentate un număr de 17 lucrări științifice publicate în reviste incluse în baze de date internaționale și prezentate la conferințe naționale și internaționale.

În ceea ce privește capacitatea de a îndruma studenți și tineri cercetători precum și competențele didactice, am coordonat mai mult de 25 de studenți la lucrările de licență, masteranzi la lucrările de dizertație, dar și numeroși doctoranzi și postdoctoranzi, formând colective în cadrul cărora au fost publicate numeroase lucrări științifice în reviste incluse în baze de date internaționale, 17 lucrări fiind în reviste ISI cu factor de impact cumulat peste 16. De asemenea, am publicat 6 manuale didactice sau monografii în edituri recunoscute, în prezent fiind în curs de tipar alte două cărți, una de specialitate și o monografie.

Referitor la capacitatea de a transfera cunoștințele și rezultatele către mediul economic sau social, ori de a populariza propriile rezultate științifice, precum și la capacitatea de a lucra în echipă și eficiența colaborărilor științifice, am publicat peste 190 lucrări științifice, ca autor principal sau coautor, am fost membru în mai multe granturi de cercetare, șase tip A, unul ID-PCCE și unul PHARE și sunt membru în mai multe societăți profesionale și științifice. Începând cu anul 2016 am pus bazele Societății Române pentru Oligoelemente în Medicină (SROM), fiind actualmente președintele acesteia. Capacitatea de a conduce proiecte de cercetare s-a materializat prin conducerea în calitate de director a trei proiecte de cercetare, două cu CNCISIS și unul cu mediul privat, dar și prin câștigarea unei burse postdoctorale de 24 luni.

Am urmat mai multe specializări, în domeniul medicinei veterinare, a ecotoxicologiei, antioxidanților, specializări pe aparatură de laborator, în special pentru determinare metalelor grele.

Perspectiva dezvoltării carierei se bazează pe două obiective principale și anume, aprofundarea și dezvoltarea activității didactice și de cercetare, dar și extinderea domeniilor de expertiză, cu dezvoltarea activității de cercetare.

Partea a treia cuprinde referințele bibliografice.

ABSTRACT

In the first part "**Scientific and Professional Achievements**" are described in three chapters the scientific and professional achievements representing research carried out after the completion of the PhD thesis in 2006 and up to present. Researches are mainly developed in several study areas such as reproductive toxicology, phytotherapy, oxidative stress and heavy metals, conducted in the postdoctoral fellowship (2010-2012), as well as within the research topics undertaken by the research team within the laboratory of pharmaco-toxicological studies.

Most researches have been submitted or are being presented in international / national scientific events, published or being published in international impact journals or in national and international journals indexed in databases.

In *Chapter 1. The use of antioxidants to reduce the effects of oxidative stress induced by chronic exposure to aluminum on reproductive function in male rats*, after a brief presentation of oxidative stress and the main studied antioxidants, are presented the purposes, objectives, materials and methods of this study. In the results, *point 1.4.1*, are presented the dynamics of oxidative stress markers for aluminum exposure as well as the values of these markers in groups that received antioxidants (*Sempervivum tectorum* extract and melatonin). The following enzymes have been determined as markers of oxidative stress: glutathione, glutathione reductase, glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation as malondialdehyde. There was a significant decrease in the level of serum glutathione, serum catalase and glutathione reductase in the case of aluminum exposure and recovery of this levels in the case of aqueous extract of *S. tectorum* and melatonin; significant increase in the level of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in aluminum exposure and restoration of the serum level of this enzyme in the case of the aqueous extract of *S. tectorum* and melatonin and the significant increase in lipid peroxidation expressed by significant increase in serum malondialdehyde levels in rats exposed to aluminum and restoring this level in the case of the aqueous extract of *S. tectorum* and melatonin.

Markers of the reproductive function of the male rats (1.4.2-1.4.4) were also evaluated, under the conditions of exposure to aluminum and antioxidant substances, evaluateing the sperm counts, the percentage of imobile sperm, the sperm mean velocity, and sexual hormone levels (testosterone and LH) in groups exposed to aluminum and in both groups that received *S. tectorum* and melatonin, respectively. In terms of markers of reproductive function in males, it was observed: improving the sperm quality in both exposures, to the *S. tectorum* aqueous extract and melatonin, and restoring the status of sexual hormones when the rats were treated with both studied substances.

Histological analysis of male sexual organs revealed the recovery and/or protection against degenerative-necrotic processes of aluminum on testis, epididym and sexual accessory glands histoarchitectonics.

In *point 1.4.5*. was studied the protective effect of the extract of sempervivum and melatonin on the accumulation of aluminum in the male genital organs and the sexual accessory glands and was observed that aluminium was accumulated in all the studied organs (testes,

TEZĂ DE ABILITARE - *Utilizarea unor antioxidanți și abordări fitoterapeutice în expunerea la metale grele și în unele boli metabolice la animalele de laborator* - Conf. Dr. Muselin Florin

epididym, prostate, seminal vesicles and bulbo-urethral glands) significantly higher than in the control group; melatonin and aqueous extract of *Sempervivum tectorum* have shown a positive protective role by reducing the accumulation of aluminum in the genital organs and sexual glands, it has also been found that the major protective effect was on the testis and the lowest effect was observed in the bulbo-urethral glands.

In *Chapter 2. The use of plant extracts in Alloxan-induced diabetes in rats*, after the succinct presentation of this metabolic disease and the studied plants, namely, yellow dock, goji berry, sea buckthorn and milk thistle, are presented the purpose, the objectives, the materials and the methods, these being described in detail. In *subchapter 2.3.* are presented the dynamics of body weight and glycaemia dynamics in diabetic and non-diabetic rats, as well as in rats which have been given extracts of yellow dock, goji berry, sea buckthorn and milk thistle. It was found that the administration of the extracts had as a consequence: in the case of the extraction of yellow dock and goji, the significant reduction in blood glucose by their administration, the most notable results were observed in case of 6% goji extract (*L.barbarum*) administration. The combined administration of the two extracts (yellow dock and goji) was proven to have a lower effect than the separate administration of each extract; significant reductions in blood glucose in case of 6% sea buckthorn and milk thistle extracts, the most notable effects being when sea buckthorn (*H. rhamnoides*) was administered, but in this case the combined administration of sea buckthorn and milk thistle extracts has been shown to have a much stronger effect than separate administration, so we are recommending it as a possible homeopathic remedy for diabetes control. From a histological point of view, were observed histological changes similar to those seen in the diabetic control groups, suggesting another possible mechanism of hypoglycemic action than by restoring the affected tissues.

In *Chapter 3. The use of natural substances in order to reduce the side effects of cisplatin* administration at the beginning are presented some bibliographic data referring to cisplatin, resveratrol and birch sap, and then two studies are presented, the first one looking at the antioxidant effect of resveratrol on the oxidative stress induced by cisplatin, the second study looked at the protective effect of birch sap on the homeostasis of trace elements in rats exposed to cisplatin.

In *subchapter 3.1.* the motivation, purpose, objectives, materials and methods used, as well as the results obtained and the conclusions drawn, are described. There was a significant decrease in the level of glutathione, glutathione reductase and catalase in Cisplatin exposed groups and restoration of this level with resveratrol; Significant increase in the level of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in case of Cisplatin exposure and restoration of the serum level of this enzyme in the case of resveratrol administration as well as the significant increase in lipid peroxidation expressed by the significant increase in serum malondialdehyde in rats exposed to Cisplatin and restoring of this level when resveratrol was administered.

In *subchapter 3.2.* are described the material and methods of the study, but also the results, the discussions and the conclusions. It was found that Cisplatin administration determined insignificant copper, zinc and magnesium reduction at 48 hours after administration

TEZĂ DE ABILITARE - *Utilizarea unor antioxidanți și abordări fitoterapeutice în expunerea la metale grele și în unele boli metabolice la animalele de laborator* - Conf. Dr. Muselin Florin

and significant copper and iron reduction as well as mild growth of manganese seven days after administration. Birch sap administration has restored the homeostasis of studied trace elements.

The second part of the "**Evolution and Career Development Plan**" includes in the beginning some personal data as well as the evolution of the professional career up to the actual didactic degree, associate professor. Some aspects of the PhD thesis and the related publications are presented, with a number of 17 scientific papers published in journals included in international databases and presented at national and international conferences.

As far as the ability to guide students and young researchers as well as didactic competencies, I coordinated more than 25 students in bachelor's, master's degrees in Dissertation, but also several PhD students and postdoctoral students, forming collectives in which there were published numerous scientific papers in journals included in international databases, 17 papers being in ISI journals with cumulative impact factor over 16. I also published 6 textbooks or monographs in recognized publishing houses, currently being printed another two books, a specialized one and a monograph.

Regarding the ability to transfer knowledge and results to the economic or social environment, or to popularize my own scientific results, as well as teamwork and the efficiency of scientific collaborations, I have published over 190 scientific papers as principal or co-author, I have been member of several research grants, six type A, one ID-PCCE and one PHARE, and I am a member of several professional and scientific societies. Since 2016 I have founded the Romanian Society for Trace Elements in Medicine (SROM), being the president of the society. The ability to conduct research projects has materialized through the management of three research projects, two with CNCSIS and one with the private institution, but also by a 24-month postdoctoral fellowship. I have many specializations in the field of veterinary medicine, ecotoxicology, antioxidants, specializations in laboratory equipment, especially for heavy metals determination.

The career development perspective is based on two main objectives, namely the deepening and development of didactic and research activity, but also the extension of the fields of expertise, with the development of the research activity.

Part three contains bibliographic references.