

# INFLUENȚA COMPUȘILOR COORDINATIVI AI CUPRULUI ȘI A COMBINAȚIEI LOR CU REMEDIUL BIOR DIN CIANOBACTERII ASUPRA ACTIVITĂȚII ENZIMELOR GLUTATION DEPENDENTE

Lilia Andronache

Laborator Biochimie USMF "Nicolae Testemițanu"

## Summary

### *Influence of copper coordinative compounds and their combinations with cyanobacterial remedy bior on the activity of glutathiondependent enzymes*

The action of copper coordinative compounds CMT-28, CMT-67 and of their combinations with the cyanobacterial remedy BioR on liver glutathiondependent enzymes activity in healthy rats was studied. It was established that CMT-28 and the combination CMT-28+BioR induce a pronounced increase of GR activity and a statistically conclusive increase of GST activity, BioR acted synergistically with CMT-28. CMT-67 administration caused significant dysfunction of the glutathione cycle due to the reduction of GPO activity, that was only partially redressed by spirulina bioremedy BioR administration.

## Rezumat

S-a efectuat studiul acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 și a combinațiilor lor cu remediul de origine cianobacteriană BioR asupra activității principalelor enzime glutationdependente în ficatul șobolanilor intacti. S-a stabilit, că CMT-28 și combinația CMT-28+BioR induc un spor pronunțat al activității GR și majorarea veridică a GST, BioR acționând sinergic cu CMT-28. Administrarea compusului CMT-67 determină disfuncții pronunțate în ciclul glutationic determinate de reducerea activității GPO, iar administrarea biopreparatului BioR din spirulină ameliorează doar parțial tulburările metabolismului glutationic.

## Actualitatea temei

Glutathionul și enzimele glutationdependente dețin în organism funcții diverse și foarte importante: teaurizează cisteina, se angajează cu rol de coenzime, reduc și izomerizează legăturile disulfurice, protejează efectiv organismul de stresul oxidativ, al cărui mecanism principal este generarea de forme active ale oxigenului, care induc lezarea primară a celulelor și țesuturilor în diverse stări patologice (Jones, Kennedy, 1983; Gibson et al., 1985; Bahova, Fadeeva, 1988), mențin funcționalitatea membranelor, participă la metabolismul eucozanoizilor și cel al xenobioticelor; fortifică rezistența celulelor la acțiuni nocive, stimulează activitatea enzimelor și altor proteine, proliferarea țesuturilor și biosinteza acizilor nucleici (Meister, Anderson, 1983).

O problemă de mare actualitate care se evidențiază din analiza situației în domeniu constă în necesitatea identificării noilor compuși coordinativi ai metalelor de tranziție care pot servi ca bază în elaborarea prepararelor medicamentoase pentru profilaxia și tratamentul patologiei ficatului și altor maladii, stimularea proceselor regenerative în țesuturi.

Compușii coordinativi ai metalelor de tranziție, pe de o parte, și bioremediile pe bază de cianobacterii, pe de altă parte, se implică cu rol major la rezolvarea multor probleme de ordin medical, datorită efectelor lor terapeutice, dar nu se cunosc în detaliu încă multe mecanisme de acțiune biochimică a acestora; în special, mecanismul lor de acțiune asupra activității enzimelor de metabolizare xenobiotică până în prezent nu este precizat.

De aceea se pun multe speranțe pe niște procedee efective de reglare dirijată a activității enzimelor și respectiv - a vitezei și direcției de biotransformare a substanțelor străine, prin care ar putea fi modificate proprietățile multor xenobiotice și, astfel, să se diminue sau să se anuleze complet toxicitatea lor. În acest aspect, un interes aparte îl prezintă studierea influenței acestor compuși asupra glutathionului și enzimelor glutationdependente.

**Scopul cercetării** constă în evaluarea acțiunii compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 și a combinațiilor lor cu remediu de origine cianbacteriană BioR asupra activității principalelor enzime glutationdependente - glutationreductazei (GR), glutationperoxidazei (GPO), glutationtransferazei (GT) și  $\gamma$ -glutinationtranspeptidazei ( $\gamma$ -GTP) în ficatul șobolanilor intacti.

### **Material și metode**

Compușii coordinativi ai cuprului – CMT-28 și CMT-67, au fost oferiți de prof. univ., d.h.ch. Gulea Aurelian (Catedra Chimie anorganică, Universitatea de Stat din Moldova), iar BioR de academicianul AȘ a R. Moldova, prof. univ., d.h.b., Rudic Valeriu (Institutul de Microbiologie al AȘ a R. Moldova).

Experiențele au fost efectuate pe 30 șobolani adulți fără pedigiu cu masa corporală cuprinsă între 110 și 230 g care au fost divizați egal în următoarele grupe:

- XI martor – animale intacte;
- XII animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-28 în doză de 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile;
- XIII animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în doză de 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile;
- XIV animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-28 în îmbinare cu bioremediul algal BioR câte 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile;
- XV animale, cărora le-a fost administrat compusul coordinativ al cuprului CMT-67 în îmbinare cu bioremediul algal BioR câte 1 mg/kg masă corporală timp de 14 zile.

Grupa martor a fost întreținută la un regim obișnuit alimentar de vivariu. Compușii coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 și a combinațiile lor cu remediu de origine cianbacteriană BioR au fost administrați i/m zilnic timp de 14 zile. La finalul experienței animalele au fost sacrificate sub narcoză ușoară cu eter etilic. Materialul biologic – ficatul a fost prelevat, spălat cu sol fiziologică 0,85%, desicat cu hârtie de filtru. În continuare s-a preparat homogenatul hepatic în soluție tampon 0,25 M zaharoză ce conținea 1 mM EDTA, pH 7,4.

În homogenat s-a determinat activitatea glutationreductazei (GR), glutationperoxidazei (GPO), glutationtransferazei (GT) și  $\gamma$ -glutinationtranspeptidazei ( $\gamma$ -GTP) conform metodelor descrise anterior [Gudumac V. și coaut., 2000].

Rezultatele obținute au fost evaluate statistic conform criteriului parametric t-Student cu ajutorul programului Statistica 6,0.

### **Rezultate și discuții**

Rezultatele studiului, prezentate în tabelul 1, au relevat, că compusul CMT-28 în experiențele noastre induce un spor pronunțat al activității GR (creșterea de 5 ori față de valorile martorului), precum și majorarea veridică a funcționalității GST în țesutul hepatic. Compusul dat nu induce modificări cu valoare statistică în activitatea GPO și  $\gamma$ -GTP din acest organ, dar se prefigurează tendința de creștere a activității acestor enzime la acțiunea CMT-28.

Analiza datelor obținute la administrarea combinației CMT-28+BioR denotă efectul mai pronunțat al acesteia asupra sistemului glutationic din țesutul hepatic. Astfel, GR crește considerabil (de 5,3 ori față de nivelul martor), stimulând veridic și activitatea GST. Activitatea GPO practic nu se modifică, iar cea a  $\gamma$ -GTP depășește neesențial martorul și valorile lotului cu CMT-28. Prin urmare BioR acționează sinergic pe fundal de CMT-28 induce preponderent activitatea GR - enzimă importantă care reduce glutationul oxidat și deține astfel un rol de bază în reciclarea G-SH. Prin urmare conversia glutationului oxidat la forma lui redusă se mărește substanțial prin administrarea compusului CMT-28, și, în special, a combinației lui cu preparatul BioR din spirulină. Este cunoscut, că G-SH este componenta de baza a redox tamponului celular, care menține constant mediul redus caracteristic pentru ea și care participă la controlul redox tiolic al activității enzimelor (Mihlin, Poprujnâi, 1973; Poulson H.E. et al., 1981; Meister, Anderson, 1983; Kulinckii, Kolecnicenko, 1990). Inducerea activității GR

prin administrarea substanțelor menționate poate ridica eficiența protecției celulare la acțiunea diversilor prooxidanți și agenți citotoxici.

Tabelul 1

Influența compușilor coordinativi ai cuprului CMT-28 și CMT-67 și a combinațiilor lor cu remediul de origine cianbacteriană BioR asupra activității glutathionreductazei (GR), glutathionperoxidazei (GPO), glutathiontransferazei (GT) și  $\gamma$ -glutathiontranspeptidazei ( $\gamma$ -GTP) în ficatul șobolanilor intacti.

Nr.	Grupele de cercetare	GR	GPO	GST	$\gamma$ -GTP
1	Martor	1,338±0,118	5,368±0,134	737,5±21,16	44,75±5,649
2	CMT-28; 1 mg	6,595±0,567 <sup>***</sup> 492%	6,322±0,499 117%	832,9±31,49 <sup>***</sup> 112%	49,16±7,171 109%
3	CMT-28+BioR 1mg	7,056±0,216 <sup>***</sup> 527%	5,256±0,264 97%	849,6±35,56 <sup>***</sup> 115%	53,20±15,15 118%
4	CMT-67; 1 mg	6,001±0,454 <sup>***</sup> 448%	4,621±0,286 <sup>***</sup> 86%	694,4±11,46 94%	35,40±6,361 79%
5	CMT-67+BioR 1mg	6,957±0,243 <sup>***</sup> 491%	4,691±0,300 <sup>***</sup> 87%	782,5±18,23 106%	38,33±6,189 85%

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

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

0 – diferență statistic semnificativă față de lotul-CCl<sub>4</sub>,  $p < 0,05$ ; <sup>00</sup> -  $p < 0,01$ ; <sup>000</sup> -  $p < 0,001$ .

Compusul CMT-67, deasemenea, induce GR, (dar într-o măsură mai mică, de 4,5 ori), inhibă veridic activitatea GPO și practic nu modifică GST - enzimă citoplasmatică, care utilizează G-SH pentru conjugarea cu substanțe hidrofobe, reducerea sau izomerizarea lor. Deci, putem considera că, compusul dat nu diminuează intensitatea catalizată de această enzimă a metabolismului substanțelor toxice ulterior excretate de organism sub formă de acizi mercapturici. În experiențele noastre activitatea  $\gamma$ -GTP din ficat se reduce în mod nesemnificativ de către CMT-67 cu -21% ( $p > 0,5$ ). Este cunoscut, că  $\gamma$ -GTP participă la transpunerea aminoacizilor prin membranele celulare și deci se angajează în sinteza proteică la nivel de organe și țesuturi (Meister, Anderson, 1983). În acest caz devine clar că, în țesutul hepatic prin intermediul  $\gamma$ -GTP administrarea CMT-67 nu poate potența procesele anabolice în acest organ.

Utilizarea remediului BioR în combinație cu CMT-67 a demonstrat o acțiune sinergică asupra GR, GST și  $\gamma$ -GTP, activitatea cărora a crescut cu 16%, 13% și, respectiv, 8% ( $p > 0,5$ ) față de indicii respectivi înregistrați la administrarea compusului CMT-67 de unul singur. Bioremediul BioR nu influențează asupra gradului de reducere a funcționalității GPO cauzate de CMT-67.

Intensificarea activității enzimelor glutationice, în special al GR, impusă de BioR pe fundalul administrării compușilor CMT-28 și CMT-67 constituie momente pozitive, ajutând protecția celulelor hepatice de acțiunile toxice ale acestora, metaboliților, produselor de degradare, deoarece sistemul G-SH potențează rezistența organismului față de substanțele toxice (Tiunov, Ivanova, 1988; Kulinski, Kolesnicenko, 1990).

Nu se exclude că inducția enzimelor și intensificarea biosintezei G-SH reprezintă un mecanism de acțiune pozitivă a acestui biopreparat. Din acest punct de vedere, utilizarea biopreparatului BioR din spirulină poate fi eficace.

Inhibarea GPO la administrarea compusului CMT-67 restrânge capacitatea protecției antioxidante a celulelor hepatice confruntată acum cu activarea excesivă, a reacțiilor radicalilor liberi la etapele lor de inițiere. Totodată, inducția GR în țesutul ficatului poate fi apreciată ca o reacție de adaptare, menită să limiteze peroxidarea lipidelor și să susțină activitatea ciclului glutationic.

Administrarea biopreparatului BioR nu refăcea și nici nu anula inhibarea GPO de către CMT-67, deși diminuează mai puțin expresia activității  $\gamma$ -GTP și, deci, nu poate, însă, restabili dereglările din metabolismul glutationic provocate de compusul menționat.

### **Concluzii**

1. Compusul CMT-28 induce un spor pronunțat al activității glutationreductazei - enzimă importantă care reduce glutationul oxidat și deține astfel un rol de bază în reciclarea G-SH, și, totodată, determină majorarea veridică a funcționalității GST în țesutul hepatic al animalelor de laborator în condiții fiziologice normale.
2. Remediu BioR acționează sinergic pe fundal de CMT-28, ceea ce se manifestă prin inducerea de mai departe a activității GR și creșterea considerabilă a GST.
3. Administrarea compusului CMT-67 determină disfuncții pronunțate în ciclul glutationic determinate de reducerea activității GPO, iar administrarea biopreparatului BioR din spirulină jugulează doar parțial tulburările din metabolismul glutationic.

Lucrarea a fost realizată în cadrul Programului de Stat „Epidemiologia hepatitelor și cirozelor, profilactica și metode avansate de tratament” (proiectul 09.835.09.04A, nr. 184.PA)

### **Bibliografie**

1. Adams J.D. Res.Commun.Chem.Pathol., 46, 401, 1985.
2. Arias I.N.Lacoby W.E. Glutathione, Metabolism and Function. Raven Press, New York, 1987.
3. Olinescu R. Peroxidarea în chimie, biologie, medicină. Ed.Științifică, 1982.
4. Olinescu R. Radicalii liberi în fiziopatologia umană. Ed.Tehnică, București, 1994 .
5. Olinescu R., Greabu M. Mecanisme de apărare ale organismului împotriva poluării chimice, Ed.Tehnică, 1990.
6. Thurnan D.I. Free Radicals, Oxidant Stress and Drugs Action, edit.Evans C.R., Richelieu Press, 1988, p.169-178.
7. В.И.Кулинский, А.В.Щерватых, А.А.Большешапов, В.И.Бахтаирова и др. Система глутатиона эритроцитов и плазмы при язвенной болезни. Биомед. химия, 2008, том 54, вып 5, с 607-613.
8. В.И.Кулинский, З.А.Леонова, Л.С.Колесниченко, И.В.Малов, Ю.А.Данилов. Система глутатиона в эритроцитах и плазме крови при вирусных гепатитах. Биомед. химия, 2007, том 53, вып.1, с 91-98.
9. Л.С.Колесниченко, В.И.Кулинский, В.В.Шпрах, В.В.Бардымов и др. Система глутатиона эритроцитов и плазмы крови при инсультах и дисциркуляторной энцефалопатии. Биомед. химия, 2007, том 53, вып. 4, с 454-460.

## **MODIFICĂRILE HIDROLAZELOR LIZOZOMALE ÎN SPLINĂ LA ȘOBOLANI CU INFLAMAȚIE ASEPTICĂ ȘI SUB INFLUENȚA POLIZAHARIDELOR SULFATATE**

**Olga Știrba, Veronica Sardari, Olga Tagadiuc, Valentin Gudumac**

Laboratorul Biochimie al Laboratorului Central Științific al USMF „Nicolae Testemițanu”

### **Summary**

#### ***Rat spleen lysosomal enzymes activities changes in aseptic inflammation and under the influence of sulphated polysaccharides***

The aim of the study was to evaluate the influence of sulphated polysaccharides from the cyanobacteria *Spirulina platensis* (PSS) biomass upon the activity of lysosomal enzymes in aseptic inflammation. PSS had positive influence on different magnitude in aseptic