

MODIFICĂRILE ACTIVITĂȚII GLUTATION PEROXIDAZEI ÎN SERUL SANGVIN LA ADMINISTRAREA UNOR COMPUȘI COORDINATIVI AUTOHTONI

¹Valeriana PANTEA - cercetător științific, student-doctorand

²Veaceslav POPA - student-doctorand,

²Ala FULGA - student-doctorand, asist. univ.,

¹Inna ȘVETȚ - cercetător științific, student-doctorand,

²Olga TAGADIUC - dr. hab. șt. med., prof. univ.

¹Laboratorul de biochimie,

²Catedra de biochimie și biochimie clinică,

IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

tel. +373 686 34 945; valeriana.pantea@usmf.md

Rezumat

Identificarea, studiul și testarea unor remedii noi de corecție a dereglărilor ce survin în rezultatul dezechilibrului dintre oxidanți și antioxidanți prezintă un interes deosebit. În studiu a fost cercetată influența compușilor coordinativi ai cuprului autohtoni noi – CMJ-33, CMT-67, TIA-3 și TIA-160, asupra activității GPO în serul sangvin, pentru selectarea celor mai eficienți compuși care ar putea fi utilizați pentru fortificarea protecției antioxidante. Compușii au fost administrați subcutanat în doza 1,0 μM/kg de 3 ori pe săptămână timp de 30 zile șobolanilor de laborator fără pedigree (*Rattus albicans*). Evaluarea activității GPO în serul sangvin a stabilit creșterea moderată a activității enzimei. La administrarea compusului CMJ-33 activitatea GPO (UI/L) a crescut cu 16%, CMT-67 – cu 14%, TIA-3 – cu 12% și TIA-160 – 10%, comparativ cu valorile martorului. Astfel, compușii coordinativi studiați stimulează activitatea GPO, fapt ce argumentează necesitatea continuării cercetărilor activității antioxidante a compușilor menționați.

Cuvinte-cheie. Compuși coordinativi ai cuprului, glutation peroxidaza serică.

Summary. Changes in Glutation Peroxidase Activity in Blood Serum in the Administration of Coordination Compounds.

The identification, study and testing of new remedies for correction of the disorders that occur as a result of the oxidants and antioxidants imbalance is of particular interest. Local copper coordinating compounds – CMJ-33, CMT-67, TIA-3 and TIA-160, influence on GPO activity in blood serum was evaluated, to select the most effective compounds that could be used for strengthening antioxidant protection. The compounds were administered to laboratory rats without pedigree (*Rattus albicans*) 3 times per week for 30 days subcutaneously at a dose of 1.0 $\mu\text{M/kg}$. Evaluation of GPO activity in blood serum established a moderate increase in enzyme activity. Administration of CMJ-33 increased GPO activity (IU/L) by 16%, of CMT-67 by 14%, of TIA-3 by 12% and of TIA-160 by 10%, compared to the control values. Thus, the studied coordination compounds stimulated GPO activity, which argues the need for further research on the antioxidant activity of these compounds.

Key-words. Copper coordination compounds, serum glutathione peroxidase.

Резюме. Изменения активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови при введении местных координационных соединений.

Выявление, изучение и тестирование новых средств для коррекции нарушений, возникающих в результате дисбаланса про- и антиоксидантов, представляет особый интерес. Было изучено влияние локальных координационных соединений меди – CMJ-33, CMT-67, TIA-3 и TIA-160, на активность GPO в сыворотке крови, с целью выбора наиболее эффективных соединений, которые могут быть использованы для усиления антиоксидантной защиты. Соединения вводили подкожно в дозе 1,0 мкМ/кг лабораторным беспородным крысам (*Rattus albicans*) 3 раза в неделю в течение 30 дней. Было установлено умеренное повышение активности ГПО в сыворотке крови. Введение CMJ-33 увеличило активность GPO (IU/L) на 16%, CMT-67 на 14%, TIA-3 на 12% и TIA-160 на 10% по сравнению с контрольными значениями. Таким образом, исследуемые координационные соединения стимулировали активность ГПО, что обуславливает необходимость дальнейших исследований антиоксидантной активности этих соединений.

Ключевые слова. Координационные соединения меди, сывороточная глутатион пероксидаза.

Introducere

Un capitol nou al chimiei moderne, la interfața chimiei anorganice și organice, este chimia combinațiilor complexe. Compușii complecși sunt utilizați actualmente în diverse domenii ale economiei – industria chimică și a polimerilor, industria electronică, biotehnologie, industria farmaceutică, medicină, veterinarie, agricultură [9, 23, 24, 25].

Totodată, a fost evidențiat potențialul compușilor coordinativi (CC) în calitate de preparate medicamentoase. S-a atestat activitatea antimicrobiană, a CC față de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* și *Proteus mirabilis* [20, 24, 26]. Mai multe studii au stabilit că CC exercită și acțiune antifungică, antivirală și antiparazitară [16, 2, 20]. Conform datelor mai multor cercetări de ultimă oră CC pot fi utilizați în calitate de agenți terapeutici în mai multe maladii nontransmisibile. Astfel, s-a stabilit acțiunea benefică a compușilor de tip baza Schiff în diabetul zaharat, maladiile neurologice, cancer etc. [1, 4, 8, 14, 29].

Studii numeroase au fost axate pe stabilirea mecanismelor ce fundamentează acțiunile terapeutice ale compușilor coordinativi, evidențiind efecte bazate

pe modularea expresiei genice prin interacțiunea cu acizii nucleici [17, 5] și proteine-tintă [7], inclusiv cu histonele [3], acțiunea antiinflamatoare [13, 22], reglarea intensității stresului oxidativ prin captarea radicalilor liberi și influența asupra activității sistemului antioxidant [15, 21, 27].

A fost demonstrată capacitatea compușilor coordinativi de a modula activitatea enzimatică, fiind influențată capacitatea funcțională a SOD, tripsinei, enzimelor coagulării, kallikreinei, urokinazei, β -glucuronidazei, anhidrazei carbonice [10, 11, 12, 13, 19].

În contextul celor menționate anterior **scopul studiului** a fost cercetarea influenței unor compuși coordinativi ai cuprului (CC) autohtoni, noi asupra activității GPO în serul sangvin, pentru estimarea și selectarea celor mai eficienți în fortificarea protecției antioxidante.

Material și metode

Cercetările au fost aprobate de Comitetul de etică a cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz favorabil din 26.04.2017).

A fost testată acțiunea CC autohtoni noi CMJ-33, CMT-67, TIA-3 și TIA-160, ce au fost sintetizați la Catedra de chimie anorganică a USM, sub conducerea dl Aurelian Gulea, prof. univ., dr. hab. șt. ch., academician.

Experiențele s-au făcut pe șobolani albi fără pe-

Tabelul 1

Modificarea activității glutatation peroxidazei (UI/L) în serul sangvin al șobolanilor sănătoși la administrarea compușilor coordinativi autohtoni noi

NR	Control	CMJ-33	CMT-67	TIA-3	TIA-160
1	568,4	730,8	633,3	633,3	925,7
2	406,0	406,0	828,2	568,4	893,2
3	682,1	812,0	730,8	617,1	568,4
4	714,5	665,8	698,3	665,8	535,9
5	665,8	893,2	584,6	909,4	584,6
M±m	607,4±55,9 (100%)	701,6±83,2 (115%)	695,1±41,9 (114%)	678,8±59,8 (112%)	701,5±105,1 (115%)

digriu (*Rattus albicans*), femele sănătoase, cu masa corporală de 170-225 g, întreținute în condiții similare și la rații standarde de vivariu. Fiecare lot de studiu în corespundere cu principiul celor 3R a inclus 5 animale experimentale [6]. CC autohtoni au fost administrați subcutanat în doza 1,0 μM/kg de 3 ori pe săptămână timp de 30 zile. După 24 ore de la expirarea termenului experiențelor, a fost colectat sângele pentru evaluarea activității enzimatică. Serul, obținut prin centrifugarea timp de 10 min la 1500 tur/min, a fost decantat în tuburi Eppendorf și congelat până la utilizare (-40°C).

Activitatea GPO (EC 1.11.1.9) în serul sangvin s-a determinat conform procedurii descris de Кулинский В. И., et al. [32] după tehnici, adaptate la riderul hibrid multi-modal cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader) (BioTek Instruments, SUA) și exprimată în UI/L [18].

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

Rezultate și discuții

Rezultatele evaluării activității glutatation peroxidazei (GPO) în serul sangvin al șobolanilor sănătoși, femele, la administrarea compușilor coordinativi autohtoni noi – CMJ-33, CMT-67, TIA-3 și TIA-160, sunt relevate în datele din *Tabelul 1*.

Datele analizei statistice atestă că compușii testați exercită acțiune similară asupra activității GPO în serul sangvin al femelelor sănătoase. Astfel, la administrarea CMJ-33 activitatea GPO în ser a manifestat o tendință, statistic neveridică, de creștere cu 15%, a CMT-67 – cu 14%, a TIA-3 – cu 12% și a TIA-160 – cu 15%, comparativ cu valorile înregistrate la animalele experimentale din lotul martor (*Tab. 1*).

Nu au fost identificate diferențe statistic semnifi-

cative ale acțiunii diferitor CC asupra activității GPO în serul sangvin al femelelor sănătoase.

GPO este o enzimă responsabilă de detoxifierea peroxidului de hidrogen și peroxizilor organici, fiind un actor major în sistemul de protecție a lipidelor membranare și a hemoglobinei de oxidare de către peroxizi. De asemenea, enzima participă la neutralizarea xenobioticelor. Împreună cu superoxid dismutaza și catalaza, GPO formează un sistem de protecție antioxidantă enzimatică eficientă a diferitor celule.

Publicații științifice de ultimă oră relevă faptul că activitatea GPO diminuează în țesuturile care sunt supuse stresului oxidativ, inclusiv în stări patologice asociate cu ischemie/reperfuzie. Astfel, micșorarea activității acestei enzime cardinale în protecția antioxidantă a fost stabilită în infarct miocardic acut, accident vascular cerebral, torsiune ovariană, hipoxia asociată anemiilor de diferită geneză, cancer etc. [28, 30, 31]. Diminuarea activității GPO poate, subsecvent, determina creșterea nivelului de peroxizi și perpetuarea, precum și amplificarea producerii de radicali liberi și intensificarea stresului oxidative, care la rândul său poate cauza deteriorarea oxidativă a țesuturilor.

Astfel, este evidentă necesitatea elaborării și studiului compușilor cu potențial terapeutic ce manifestă efect de potențare a activității GPO. CC autohtoni studiați au relevat capacitatea de a induce tendința de sporire a capacității funcționale a GPO în condiții fiziologice, care posibil va depăși nivelul de tendință la creșterea numărului de animale în loturile de studiu. Acțiunea CC autohtoni identificată în acest studiu necesită extinderea cercetării pe un număr mai mare de animale de laborator, precum și includerea în experiențe a șobolanilor-masculi pentru identificarea posibilelor diferențe de efecte dependente de gender. Rezultatele obținute deschid noi perspective de cercetare a acțiunii compușilor studiați în diverse stări patologice ce se caracterizează prin dereglarea funcțiilor sistemului de protecție antioxidantă, manifestată

prin diminuarea izolată a activității GPO sau asociată cu scăderea activității altor enzime antioxidante.

Concluzii

Compușii coordinativi ai cuprului - CMJ-33, CMT-67, TIA-3 și TIA-160, au manifestat tendința de stimulare a activității GPO, fapt ce argumentează necesitatea continuării cercetărilor în scopul stabilirii potențialului lor profilactic și/sau terapeutic.

Bibliografie

1. Adsule S., Barve V., Chen D., et al. Novel Schiff base copper complexes of quinoline-2-carboxaldehyde as proteasome inhibitors in Human prostate cancer cells. *J. Med. Chem.*, 2006;49:7242-7246.
2. Aiyelabola T., Akinkunmi E., Ojo I., et al. Syntheses, Characterization, Resolution, and Biological Studies of Coordination Compounds of Aspartic Acid and Glycine. *Bioinorg Chem Appl.* 2017;2017:2956145.
3. Babak M.V., Meier S.M., Huber K.V.M., et al. Target profiling of an antimetastatic RAPTA agent by chemical proteomics: relevance to the mode of action. *Chem Sci.* 2015;6:2449–2456.]
4. Barnham K.J., Kenche V.B., Ciccotosto G.D., et al. Platinum-based inhibitors of amyloid-beta as therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105(19):6813-6818.
5. Brabec V., Kasparkova J. Modifications of DNA by platinum complexes. Relation to resistance of tumors to platinum antitumor drugs. *Drug Resist Updat.* 2005;8(3):131-146.
6. Ciudin E., Marinescu D. Patologia animalelor de laborator și tehnica experimentală. Iași, 1997, p. 170-173.
7. Ferraro G., Marzo T., Cucciolito M.E., et al. Reaction with Proteins of a Five-Coordinate Platinum(II) Compound. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):520.
8. Gaber M., El-Ghamry H.A., Fathalla S.K. Complexes of (1H-1,2,4-triazole-3-ylimino)methyl] naphthalene-2-ol. Structural, spectroscopic, biological, cytotoxicity, antioxidant and DNA binding. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;139:396-404.
9. Gulea A., Tsapkov V., Poirier D., et al. Sulfanyl-containing copper (II) internal complexes with 2-[(2-hydroxyfenilamino)-methyl]- fenol and 1-[(2-hydroxyfenilamino)-methyl]-naftalene-2-ol. *Russian Journal of General Chemistry*, 2010;40(3):212-218.
10. Iyaguchi D. Inhibition mechanism of trypsin by Schiff base metal chelate inhibitors. *Yakugaku Zasshi.* 2011;131(9):1299-303.
11. Iyaguchi D., Kawano S., Takada K., Toyota E. Structural basis for the design of novel Schiff base metal chelate inhibitors of trypsin. *Bioorg Med Chem.* 2010;18(6):2076-80.
12. Jamil W., Perveen S., Shah S.A., et al. Phenoxy-acetohydrazide Schiff bases: β -glucuronidase inhibitors. *Molecules.* 2014;19(7):8788-802.
13. Kajal A., Bala S., Sharma N., et al. Therapeutic potential of hydrazones as anti-inflammatory agents. *Int J Med Chem.* 2014;2014:761030.
14. Kamiński K., Zagaja M., Łuszczki J.J., et al. Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides. *J Med Chem.* 2015;58(13):5274-86.
15. Khalid H., Hanif M., Hashmi M.A., et al. Copper complexes of bioactive ligands with superoxide dismutase activity. *Mini Rev Med Chem.* 2013;13(13):1944–1956.
16. Kumar D., Chadda S., Sharma J., Surain P. Syntheses, spectral characterization, and antimicrobial studies on the coordination compounds of metal ions with schiff base containing both aliphatic and aromatic hydrazide moieties. *Bioinorg Chem Appl.* 2013;2013:981764.
17. Marini V., Christofis P., Novakova O., et al. Conformation, protein recognition and repair of DNA interstrand and intrastrand cross-links of antitumor trans-[PtCl₂(NH₃)(thiazole)]. *Nucleic Acids Res.* 2005;33(18):5819-28.
18. Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică. V. Gudumac, V. Rîvneac, O. Tagadiuc; et al. Univ.de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Ch.: Tipogr. „Tehnica-Info”, 2012. 162 p.
19. Page S. Ruthenium compounds as anticancer agents. *Educ Chem.* 2012;10:26–29.
20. Palakuri Kavitha, K. Laxma Reddy. Synthesis, Structural Characterization, and Biological Activity Studies of Ni(II) and Zn(II) Complexes. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. Vol. 2014, Article ID 568741, 13 p.
21. Puterová Z., Valentová J., Bojková Z., et al. Synthesis, crystal structure and antiradical effect of copper(II) Schiff base complexes containing five-, six- and unusual seven-membered rings. *Dalton Trans.* 2011;40(7):1484-90
22. Rakesh K.P., Manukumar H.M., Gowda D.C. Schiff's bases of quinazolinone derivatives: Synthesis and SAR studies of a novel series of potential anti-inflammatory and antioxidants. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015;25(5):998-1003.
23. Ran X. G., Wang L. Y., Cao D. R., et al. Synthesis, characterization and in vitro biological activity of cobalt(II), copper(II) and zinc(II) Schiff base complexes derived from salicylaldehyde and D,L-selenomethionine. *Applied Organometallic Chemistry*, 2011;25(1):9-13.
24. Rosu T, Gulea A, Nicolae A, Georgescu R. Complexes of 3d(n) metal ions with thiosemicarbazones: synthesis and antimicrobial activity. *Molecules.* 2007;12(4):782-96;
25. Rosu T., Pahontu E., Pasculescu S., et al. Synthesis and characterization of novel Cu(II) and Pd(II) complexes with 2-hydroxy-8-R-tricyclo[7.3.1.0.2,7]tridecane-13-one thiosemicarbazone. Study on biological activity. *Eur J Med Chem.* 2010;45:1627-1634;
26. Selvi G., Özdemir F.A., Aykutoglu G. et al. A neutral arene ruthenium(II) complex with a sulfonated N,O-chelating ligand: Synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity and antibacterial activity. *Polyhedron*, 2020, Vol. 176.
27. Siddappa K., Mayana N.S. Synthesis, Spectroscopic Characterization, and Biological Evaluation Studies

of 5-Bromo-3-(((hydroxy-2-methylquinolin-7-yl)methylene) hydrazono) indolin-2-one and Its Metal (II) Complexes. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. Vol. 2014, Article ID 483282, 11 pages.

28. Waggiallah H., Alzohairy M. The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level, and prevalence of anemia among diabetics. *N Am J Med Sci*. 2011;3(7):344-7.

29. Walker C.L., Walker M.J., Liu N.K., et al. Systemic bisperoxovanadium activates Akt/mTOR, reduces autophagy, and enhances recovery following cervical spinal cord injury. *PLoS One*. 2012;7(1):e30012

30. Yapca O.E., Turan M.I., Borekci B., et al. Bilateral ovarian ischemia/reperfusion injury and treatment options in rats with an induced model of diabetes. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(4):294-302.

31. Zhang F., Ru N., Shang Z.H., et al. Daidzein ameliorates spinal cord ischemia/reperfusion injury-induced neurological function deficits in Sprague-Dawley rats through PI3K/Akt signaling pathway. *Exp Ther Med*. 2017;14(5):4878-4886.

32. Кулинский В. И., А. Леонова, Л. С. Колесниченко и др. Система глутатиона в эритроцитах и плазме крови при вирусных гепатитах. *Биомед. химия*. 2007;53(1): 91-98.