

## VARIATIA ACTIVITATII GLUTATIONPEROXIDAZEI LA STRESUL OXIDATIV INDUS DE TITAN

### ACTIVITY VARIATION GLUTATHIONPEROXIDASE IN OXIDATIVE STRESS INDUCED BY TITAN

Şef lucr. dr. *Nicoleta Taus*, dr. *Main Farraj*,  
Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania Braşov  
Autor corespondent: *Nicoleta Taus*: nicoletataus@yahoo.com

#### Abstract:

Glutathionperoxidase is an enzyme that catalyses the reduction of hydroperoxides, including hydrogen peroxide, glutathione reduction. Glutathione peroxidase has the function to protect cells from oxidative stress-induced changes. Toxicological studies have demonstrated the production of reactive oxygen species by titanium dioxide nanoparticles. In the present study, it was shown experimentally change in the enzyme glutathione peroxidase in guinea pigs that was implanted titanium screw.

**Key-words:** *glutathionperoxidase, titanium screw, oxidative stress*

#### Introducere

Studii toxicologice efectuate pe animale, au evidențiat generarea stresului oxidativ în prezența titanului [2, 3, 5, 12].

Manke A et al. și Tkaczyk C, în experimente în domeniul toxicologiei, descriu generarea de specii reactive de oxigen în prezența nanoparticulelor de dioxid de titan (Ti O<sub>2</sub>) [4,7]. Wang J.X. & al., au descris scăderea activității enzimelor antioxidante, după administrarea injectabil intraarticular, de nanoparticule de TiO<sub>2</sub> [10]. Xia & al., și Wangs & al. arată că nanoparticule de TiO<sub>2</sub>, modifică apărarea antioxidantă [9,11]. Sheng L. & al., și Geyu L. & al., arată, la șoareci, efectele negative ale nanoparticulelor de TiO<sub>2</sub>, asupra aparatului cardiovascular, aparatului renal și asupra ficatului, corelate cu modificări ale stresului oxidativ [1, 6].

#### Material si Metoda

Studiul variației enzimei antioxidante glutathionperoxidaza, a fost realizat în laboratorul biobazei Direcției Sanitare Veterinare Braşov (DSV Braşov), cu avizul Comisiei de etică, pe două loturi a 7 Porcușori de Guineea, la biobaza Direcției Sanitare Veterinare Braşov (DSV Braşov)-lotul 1-lotul

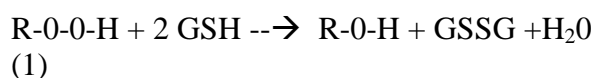
martor (n=7), și lotul 2- lotul la care s-a introdus câte un șurub de titan în articulația coxo-femurală (n=7). La un interval de patru luni de la introducerea intraarticulară a șuruburilor de titan, s-a recoltat sânge pentru detectarea activității enzimei glutathion peroxidaza .

Detectia activității enzimei glutathion peroxidaza s-a realizat cu chitul Glutathione Peroxidase Assay Kit Cat. No. 353919 Calbiochem.

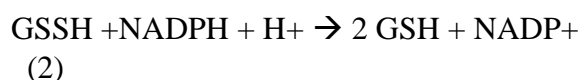
#### Principiul de lucru

Kitul Calbiochem® glutathion peroxidază, măsoară activitatea glutathion peroxidazei (GPX), în mod indirect, printr-o reacție cuplată cu glutathion reductaza (GR). Glutathionul oxidat (GSSG), produs după reducerea hidroperoxidului de către glutathion peroxidaza, este reciclat la starea sa redusă, de către glutathion reductaza și NADPH:

GPX



GR



Unde: GPX = glutation peroxidaza, GR= glutation reductaza, GSSG= glutation oxidat

Oxidarea NADPH la NADP + este însoțită de o scădere a absorbantei la 340 nm. Rata de scădere este direct proporțională cu activitatea glutation peroxidazei din probă. Testul poate fi folosit pentru a măsura toate peroxidazele dependente de glutationul din plasmă, omogenatele tisulare, și celule lizate. Inițierea reacțiilor - se produce prin adăugarea a 20μl hidroperoxid de cumen la toate godeurile ce sunt utilizate. Se va nota precis timpul la care s-a început reacția și se adaugă hidroperoxid de cumen cât mai repede posibil. Se citește absorbanta la fiecare minut la 340 nm folosind un cititor de plăci, astfel încât să se obțină cel puțin 5 determinări la interval de 1 minut.

#### Determinarea vitezei de reacție:

A. Se determină variațiile absorbantei ( $\Delta A_{340}$ ) pe minut și se reprezintă grafic.

B. Se selectează două puncte de pe porțiunea liniară a curbei și se calculează variațiile absorbantei în acest timp cu ajutorul următoarei ecuații:

$$\Delta A_{340}/\text{min} = \frac{A_{340} \text{ Timp 2} - A_{340} \text{ Timp 1}}{\text{Timp 2 (min)} - \text{Timp 1 (min)}} \quad (3)$$

unde  $A_{340} \text{ Timp 2}$  = absorbanta probei de la timpul 2,  $A_{340} \text{ Timp 1}$  = absorbanta probei de la timpul 1

C. Se determină variația  $A_{340}/\text{min}$ . pentru probele standard, sau non-enzimatice și se scade această variație din cea a probelor eșantion. O unitate este definită ca fiind cantitatea de enzimă care va provoca oxidarea a 1,0 nmol de NADPH la NADP + pe minut la 25°C.

Activitatea GPX se determină după formula:

$$\text{Activitatea GPX} \left( \frac{\text{nmol}}{\text{min ml}} \right) = \frac{A_{340} \Delta A_{340}/\text{min}}{0.00373} * \frac{0.19 \text{ ml}}{0.02 \text{ ml}} \quad (4)$$

#### Rezultate și discuții

Detectarea activității glutation peroxidazei (GPX) la lotul 1 de Porcușori de Guinea, calculată pe valoarea medie a absorbantei probelor, este reprezentată grafic în figura 1.

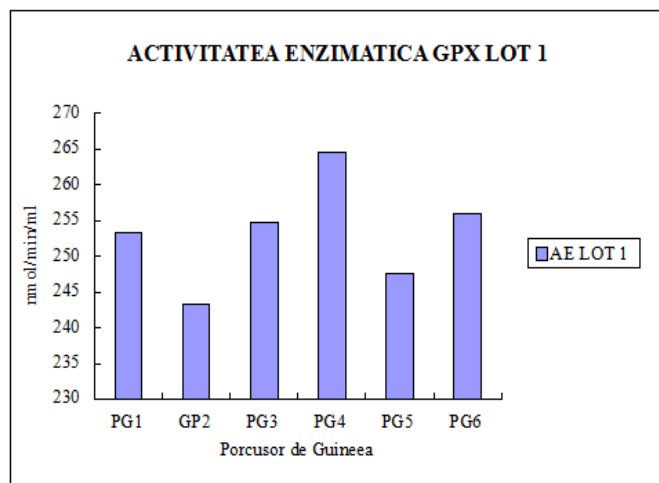


Fig.1. Activitatea enzimatica glutation peroxidaza (GPX) la lot 1 Porcușori de Guinea

Detectarea activității glutation peroxidazei (GPX) la lotul 2 de Porcușori de Guinea, cu implant intraarticular de titan, calculată pe valoarea medie a absorbantei probelor, este reprezentată grafic în figura numărul 2.

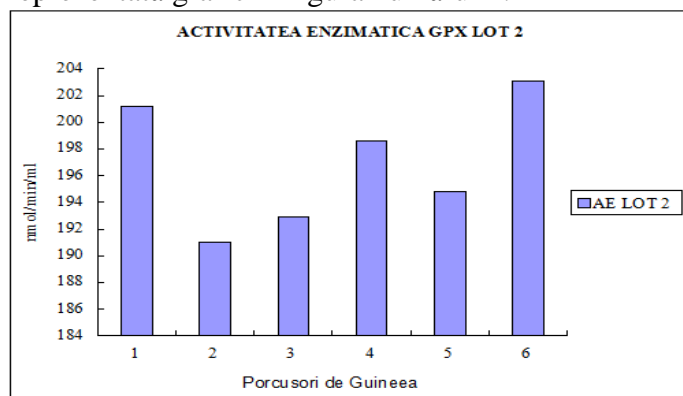


Fig 2. Activitatea enzimatica glutation peroxidaza (GPX) la lot 2 Porcușori de Guinea cu implant intraarticular de titan

#### Concluzii

Studiul a analizat activitatea enzimei glutationperoxidaza, pentru a detecta variațiile induse de implantul de material de titan.

La lotul 1 de Porcușori de Guinea se remarcă o activitate enzimatică medie de  $253,24 \pm 0,007$  nmol/mon/ml, comparativ cu lotul 2 de Porcușori de Guinea care au o activitate enzimatica medie de  $196,95 \pm 0,05$  nmol/mon/ml.

Stresul oxidativ indus de prezența șurubului de titan intraarticular a dus la o scădere cu 24,21% a activității enzimatice a enzimei glutationperoxidaza.

**Bibliografie:**

- [1] Geyu L., Yuepu P., Lihong Y., Ran L., Bing Y., Yaoyao S., and Yanfen L. Influence of Different Sizes of Titanium Dioxide Nanoparticles on Hepatic and Renal Functions in Rats with Correlation to Oxidative Stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2009;72: 740-745.
- [2] Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. - Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ. Health Perspect.*, 2007;115 (3), 397-402.
- [3] Jezek P., Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2005;37, 2478-2503.
- [4] Manke A., Wang L., Rojanasakul Y. Mechanisms of Nanoparticle-Induced Oxidative Stress and Toxicity. *Biomed Res Int.*, 2013;916-94.
- [5] Park E.J., Choi J., Park Y., Park K. Oxidative stress induced by cerium oxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology*, 2008;245 (1-2), 90-100.
- [6] Sheng L., Wang X., Sang X., Ze Y., Zhao X., Liu D., Gui S., Sun Q., Cheng J., Cheng Z., Hu R., Wang L., Hong F. Cardiac oxidative damage in mice following exposure to nanoparticulate titanium dioxide. *J Biomed Mater Res A*. 2013; Apr 2:34-63.
- [7] Tkaczyk C., Petit A., Antoniou J., Zukor D. J., Tabrizian Maryam , Huk Olga. Significance of Elevated Blood Metal Ion Levels in Patients with Metal-on-Metal Prostheses: An Evaluation of Oxidative Stress Markers . *Open Orthop J*. 2010;4: 221-227.
- [8] Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 2006;160: 1-40.
- [9] Xia T., Korge P., Weiss JN., Li N., Venkatesen MI., Sioutas C., Nel A. Quinones and aromatic chemicals compounds in particulate matter induce mitochondrial dysfunction: implications for ultrafine particle toxicity. *Environ. Health Perspect.*, 2004;112 , 1347-1358.
- [10] Wang JX., Fan YB., Gao Y., Hu QH., Wang TC. - TiO2 nanoparticles translocation and potential toxicological effect in rats after intraarticular injection. *Biomaterials*. 2009;Sep;30(27):4590-600.
- [11] Wang J., Zhou G., Chen C., Yu H., Wang T., Ma Y., Jia G., Gao Y., Li B., Sun S., Li Y., Jiao F., Zhao Y., Chai Z. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol. Lett.*, 2007;168:176-185.
- [12] Warheit D.B., Hoke R.A., Finlay C., Donner E.M., Reed K., Sayes C.M. Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO2 particles as a component of nanoparticles risk management. *Toxicol. Lett.*, 2007;171, 99-110.