

STUDII PRIVIND GRADUL DE CUNOAȘTERE A ROLULUI ANTIOXIDANT AL GLUTATIONULUI ÎN RÂNDUL STUDENȚILOR DIN DOMENIUL ȘTIINȚELOR VIEȚII

STUDIES ON THE DEGREE OF KNOWLEDGE OF THE ANTIOXIDANT ROLE OF GLUTATHIONE BETWEEN STUDENTS IN THE FIELD OF LIFE SCIENCES

Mihaela Dorina Minzat, Florența Bunget Gologan,
Laura Floroian, Gheorghe Coman, Mihaela Badea

Universitatea Transilvania din Brașov

Autor corespondent: **Mihaela Badea**, email mihaela.badea@unitbv.ro

Abstract:

Glutathione is actively involved in the body's redox processes, with a role in reducing oxidative stress, as evidenced by numerous scientific researches.

The study aims to analyze the degree of knowledge of the implication of glutathione in antioxidant systems, by administering questionnaires to two groups of students from the Transilvania University of Brasov, who study in the field of life sciences.

The results obtained were systematized, analyzed and compared with the literature. It was noted the need to study the properties of glutathione and its involvement in various pathologies in order to outline the best knowledge of this topic among students

Key-words: *glutathione, oxidative stress, antioxidant*

Introducere

Glutathionul (GSH) este un tripeptid endogen compus din trei aminoacizi: cisteină, acid glutamic și glicină, aceștia fiind denumiți precursori ai GSH sau blocuri de construcție. Se găsește în diferite țesuturi și fluide ale corpului și are ca și scop inhibarea deteriorării esențiale a celulelor de către speciile reactive ale oxigenului [25].

În biosisteme se găsește în concentrații de ordin milimolar (mM) în celule, dar la concentrații mult mai mici în plasma sanguină (μ M). Concentrațiile celulare ale GSH sunt reduse semnificativ ca răspuns la malnutriție, stres oxidativ și datorită mai multor condiții patologice [14].

Raportul redox extracelular dintre formele redusă (GSH) și cea oxidată (GSSG) este riguros controlat la persoanele sănătoase. Cel mai important cuplu redox tiol / disulfură din plasmă umană este cisteina și forma disulfidică a acesteia, cistina. Oxidarea acestui cuplu redox este asociată cu factori de risc pentru boala cardiovasculară (CVD), incluzând îmbătrânirea, fumatul, obezitatea și abuzul de alcool [13].

Organismele aerobe au sisteme integrante antioxidante, care includ antioxidanții enzimatici și antoxidanții neenzimatici, aceștia sunt de obicei eficienți în blocarea efectelor nocive ale radicalilor liberi [4].

Deși termenul de antioxidant este foarte utilizat atât în medicină, alimentație și respectiv în cosmetică, nu toate persoanele știu cum sunt implicate aceste substanțe și în ce constă beneficiul pe care îl aduc sănătății.

Obiectivul general al studiului este corela datele din literatura de specialitate cu cele rezultate din analiza de tip chestionar privind sistemele antioxidante în general și glutathionului în special.

Designul studiului

În acord cu obiectivul asumat, studiul de față este fundamentat pe o metodologie de cercetare de tip calitativ-cantitativă pe bază de chestionar privind sistemele antioxidante neenzimatică. Pentru prezenta lucrare s-au selectat în special itemii cu referințe la antioxidanți în general și respectiv la glutathion, în particular.

Grupurile țintă ale cercetării au fost alcătuite din studenți de la Universitatea Transilvania din Brașov:

- 100 studenți din cadrul Facultății de Alimentație și Turism (AT)
- 100 studenți din cadrul Facultății de Medicină (MD)

Modalitatea de eșantionare a fost aleasă ținând cont de grupul țintă. Procedeele de analiză sunt cele specifice statisticii descriptive,

folosind facilitățile Excel. Perioada de realizare – pretestare - administrare a chestionarelor și sistematizare a rezultatelor fost cuprinsă între 1.10.2017 și 30.06.2018.

S-au respectat normele eticii cercetării științifice privind anonimitatea celor care au completat chestionarele, precum și posibilitatea de a renunța la completarea chestionarului atunci când subiectul dorește, fără a avea de suferit urmări.

Cei 100 de studenți din cadrul Facultății de Alimentație și Turism (AT) prezintă următoare distribuție - 32% - anul I, 6%- anul II, 36%- anul III, 15%-anul IV și respectiv 11% - studenți de la master. Cei 100 de studenți din cadrul Facultății de Medicină (MD) au provenit în procent de 46% din anul III și respectiv 54% din anul IV.

S-a realizat analiza grupurilor de studiu din punctul de vedere al genului și al mediului de proveniență (Fig. 1).

Rezultate și discuții

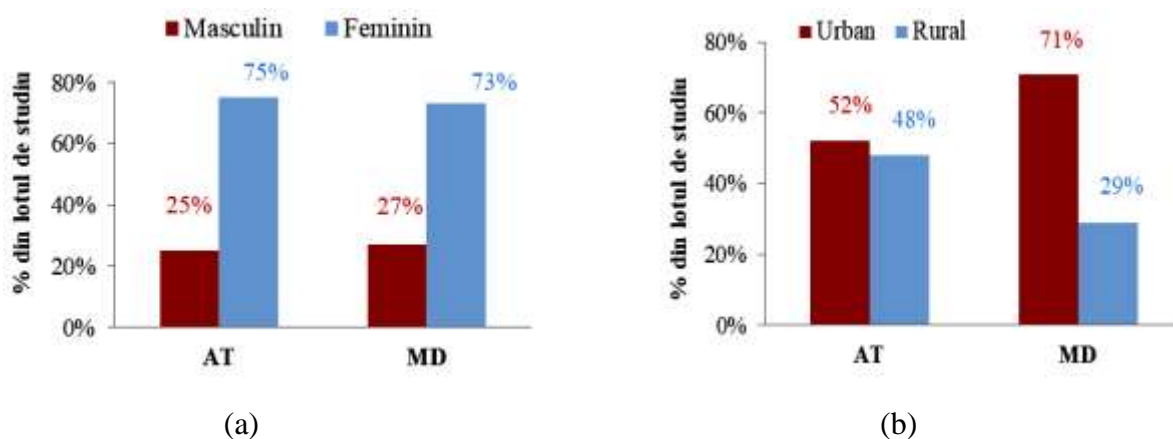


Fig. 1. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați în funcție de gen și de mediul de proveniență

S-a observat o similaritate a grupurilor participanților chestionați în funcție de gen și de mediul de proveniență. Deci aceste aspecte nu vor fi factori care să influențeze distribuția rezultatelor

obținute în prezentul studiu.

Un prim aspect urmărit s-a referit la definiția antioxidantilor, rezultatele obținute fiind prezentate în Figura 2.

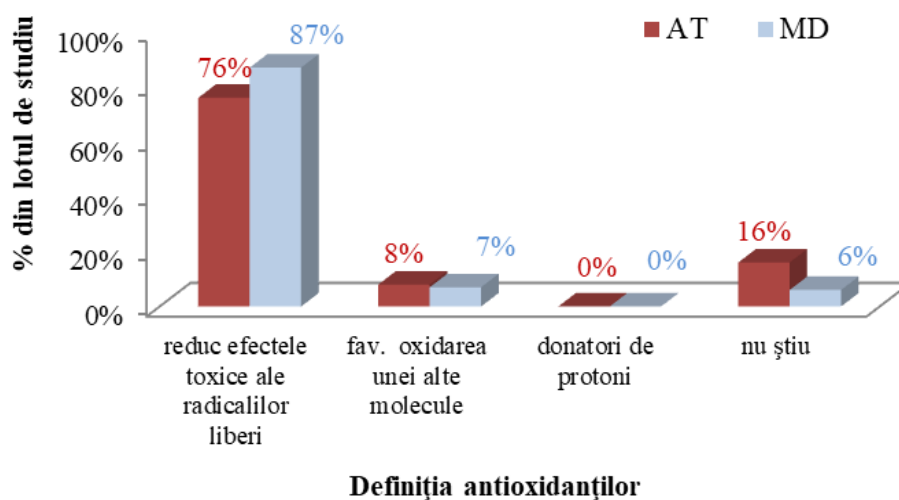


Fig.2. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul „Definiția antioxidantilor”

Antioxidanții sunt compuși care inhibă oxidarea. Oxidarea este o reacție chimică care

poate produce radicali liberi, conducând la reacții în lanț care pot deteriora celulele organismelor.

Antioxidanții cum ar fi tioli sau acid ascorbic (vitamina C) finalizează aceste reacții în lanț. Pentru a echilibra starea oxidativă, plantele și animalele mențin sisteme complexe de suprapunere a antioxidantilor, cum ar fi glutathionul și enzimele (de exemplu, catalază și superoxid dismutaza), produse intern sau antioxidanți alimentari (vitaminele C și E) [29,33]. Majoritatea studenților chestionați au ales răspunsul corect cu privire la definiția antioxidantilor – reducerea efectelor toxice ale

radicalilor liberi. S-a observat că o proporție de 76% a studenților AT și 87% dintre studenții mediciniști, au cunoștințe despre antioxidanți, iar în proporție de 16% dintre studenții AT și 6% dintre mediciniști nu au cunoștințe despre antioxidanți (Fig. 2.).

Dezechilibrul dintre generarea și eliminarea speciilor reactive ale oxigenului (ROS) în favoarea primului, cu anumite consecințe pentru fiziologia celulară, a fost numit „stres oxidativ” [20]. S-au analizat cunoștințele studenților chestionați privind definiția stresului oxidativ (Fig.3).

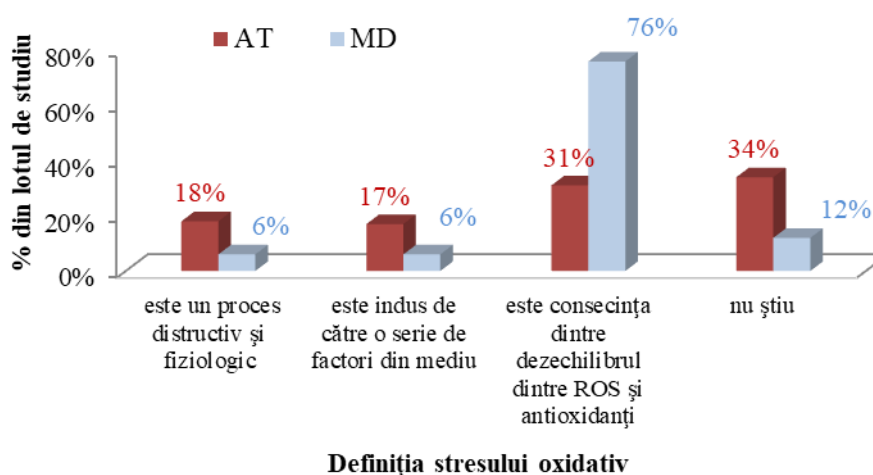


Fig.3. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Definiția stresului oxidativ"

Analizând datele cu privire la răspunsurile legate de definiția stresului oxidativ, s-a observat că cele două categorii de studenții au cunoștințe diferite, în proporție de 31% dintre studenții AT și 76% dintre mediciniști au afirmat că stresul oxidativ este consecința unui dezechilibru între prooxidanți (ROS) și antioxidanți (sistemul de apărare), iar în proporție de 34% dintre studenții AT și 12% dintre mediciniști au declarat că nu au cunoștințe despre stresul oxidativ (Fig.3.).

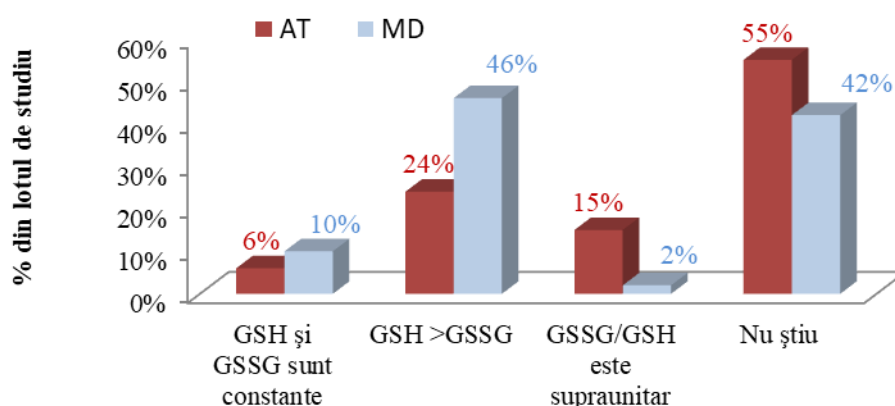
S-a stabilit că glutathionul este unul din principalii antioxidanți neenzimatici ai organismului uman datorită prezenței grupării funcționale sulfhidril (-SH). Fiind un compus tiolic cu masa moleculară foarte mică (tripeptid – γ -glutamil-cisteinil-glicină), gruparea -SH a compusului reprezintă „ținta” primară a radicalilor liberi. Deoarece generarea radicalilor liberi depășește capacitatea organismului de a le

neutraliza și elimina, apare stresul oxidativ. O funcție primară a glutathionului este de a atenua acest stres oxidativ.

Glutathionul există atât în formele reduse (GSH), cât și în cele oxidate (GSSG), în funcție de starea de oxidare a atomului de sulf de pe restul de cisteină [21]. Factorul limitativ care estimează cât de mult și cât de repede se poate produce glutathion, este determinat de nivelul de cisteină din organism.

Studii de specialitate au demonstrat creșterea capacității de apărare a organismului uman în raport cu speciile reactive ale oxigenului atunci când GSH (formă redusă) prezintă o concentrație mai mare față de GSSG (formă oxidată, disulfură) [12]. S-a observat că în proporție de 24% dintre studenții AT și 46% dintre studenții mediciniști au afirmat că raportul GSH > GSSG favorizează capacitatea de apărare

a organismului, în schimb în proporție de 55% dintre studenții AT și 42% dintre studenții MD nu cunosc răspunsul (Fig. 3.).

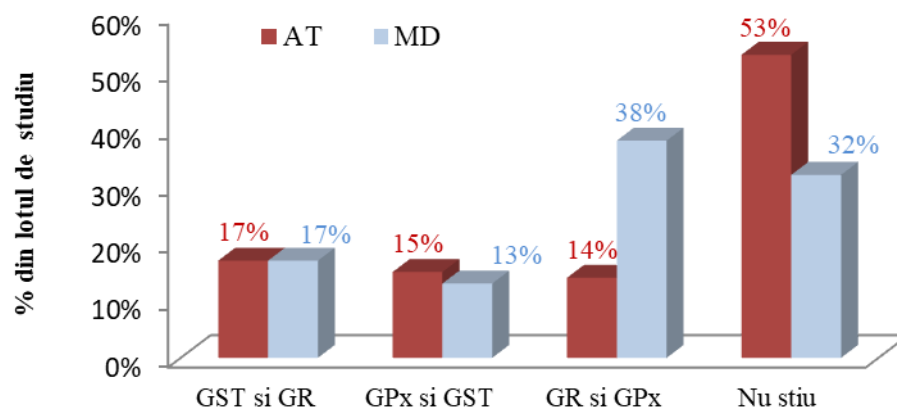


Crește capacitate de apărare a organismului dacă GSH > GSSG

Fig.3. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Crește capacitatea de apărare a organismului dacă GSH > GSSG"

Glutation peroxidazele sunt enzime pe bază de tiol care catalizează reducerea apei oxigenate și a hidroxidurilor la apă sau alcooli

și diminuează toxicitatea acestor compuși în celule folosind în principal tioredoxina ca donator de electroni [7,26].



Enzimele care participă la ciclul redox al glutatationului

Fig. 4. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Enzimele care participă la ciclul redox al glutatationului"

Referitor la enzimele care participă la ciclul redox al glutatationului (Fig.4.), se observă că în proporție de 14% dintre studenții AT și 38% dintre studenții medicieniști, au ales glutatation-reductaza (GR) și glutatation-peroxidaza (GPx). Totodată în proporție de 53% dintre studenții AT și 32% dintre studenții MD nu cunosc răspunsul. S-a remarcat că studenții AT nu dețin cunoștințe privind acest subiect, comparativ cu studenții MD.

conjugarea P450 și numeroase alte cerințe metabolice - apoi exportă GSH ca sursă sistemică de glutatation redus. GSH este transportat în bilă în compartimentul lumenului intestinal. Țesuturile epiteliale ale tuburilor renale, membranei intestinale și ale plămânilor au o activitate semnificativă a P450 și o capacitate redusă de a exporta GSH [15].

Ficatul este cel mai mare rezervor GSH. Celulele parenchimale sintetizează GSH pentru

Proporții de 36% dintre studenții AT și respectiv 74% dintre studenții MD au afirmat că se găsesc depozite la nivelul ficatului, iar în proporție de 16% pentru studenții AT și 40%

dintre studenții MD au afirmat că se găsesc depozite la nivelul splinei. Însă totodată se remarcă că studenții MD au cunoștințe mai

ample, dat fiind faptul că proporțiile celor două grupuri este 53% pentru AT și 17% pentru MD, pentru cei care nu cunosc răspunsul (Figura 5).

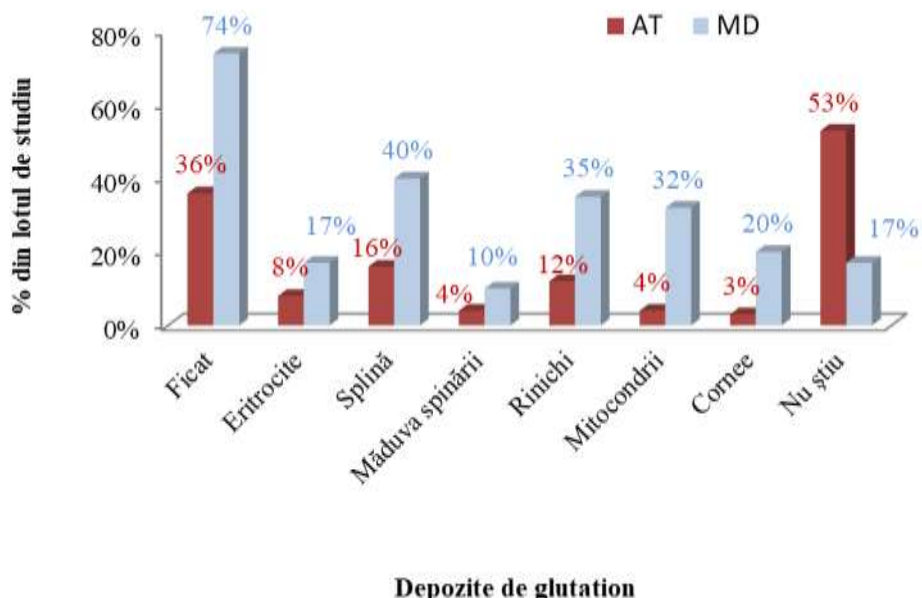


Fig. 5. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Depozite de glutatation"

Principalele vitamine asociate cu un nivel crescut de glutatation în organism sunt următoarele: C, E, B6, B12, B1, B2 și B9 [22, 23, 36]. În ceea ce privește răspunsurile

respondenților chestionați, se observă că ambele categorii de studenții au cunoștințe asemănătoare despre corelarea vitaminelor cu glutatationul (Figura 6).

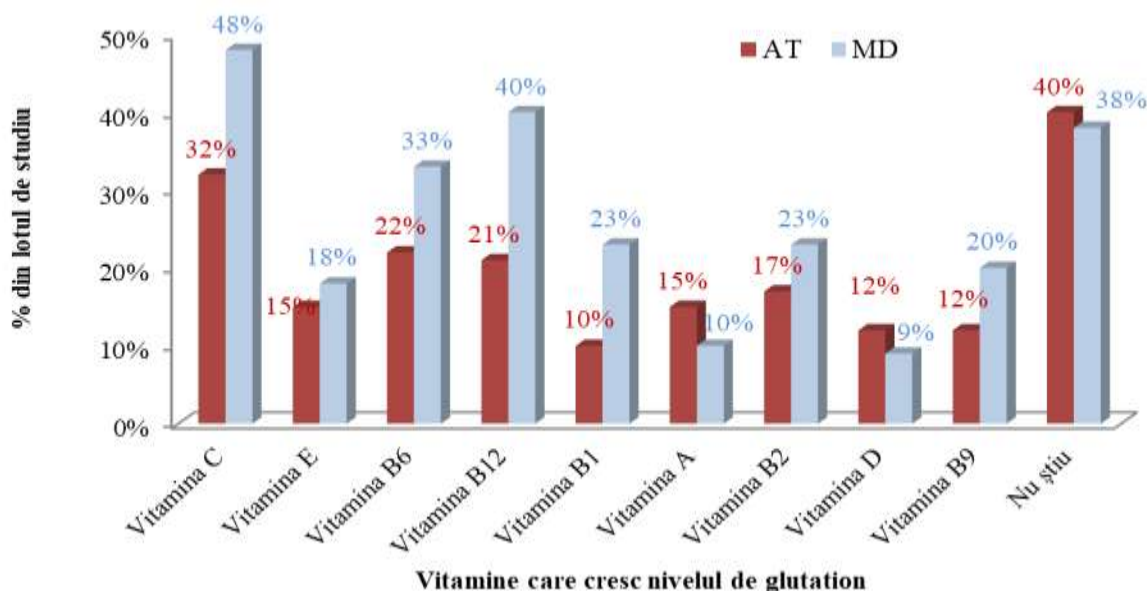


Fig.6. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Vitamine care cresc nivelul de glutatation"

Principali cofactori care ajută la creșterea concentrației de glutatation sunt: seleniul [2], acidul folic [2], magneziu [16], zinc [37] și acidul alfa-lipoic [27]. Se observă că 11% dintre studenții AT și 30% dintre studenții MD au

selectat seleniul, în proporție de 13% dintre studenții AT și 45% dintre studenții MD, au selectat acidul folic, iar proporții de 52% dintre studenții AT și 35% dintre studenții MD au declarat că nu au cunoscut răspunsul (Figura 7).

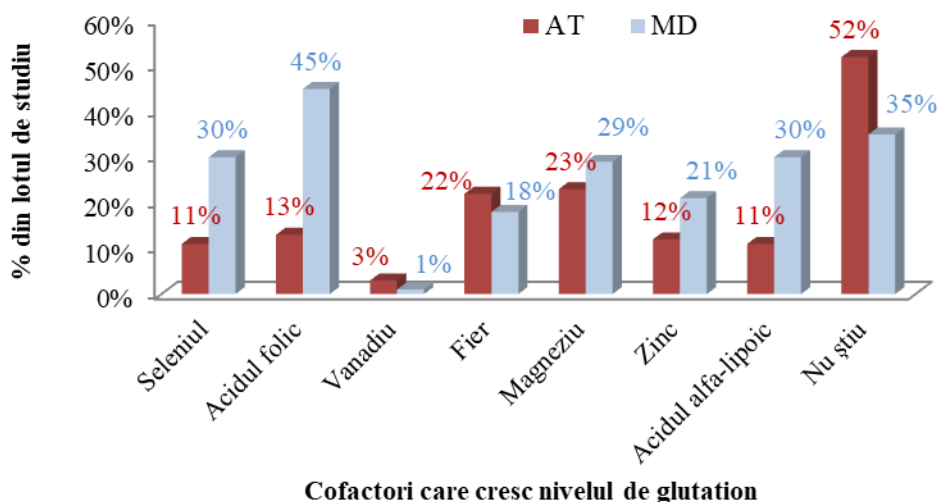


Figura 7. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Cofactori care cresc nivelul de glutatation"

Principalele alimente care simulează producția de glutatation sunt următoarele: brocoli, conopidă, varză, varză de Bruxelles, usturoi, pătrunjel, spanac, sfeclă, curcuma, scorțișoară și semințe negre. În ceea ce privește răspunsurile

studentilor chestionați, se observă că ambele grupuri de studiu au cunoștințe asemănătoare despre alimentația care stimulează producția de glutatation (Fig. 8.).

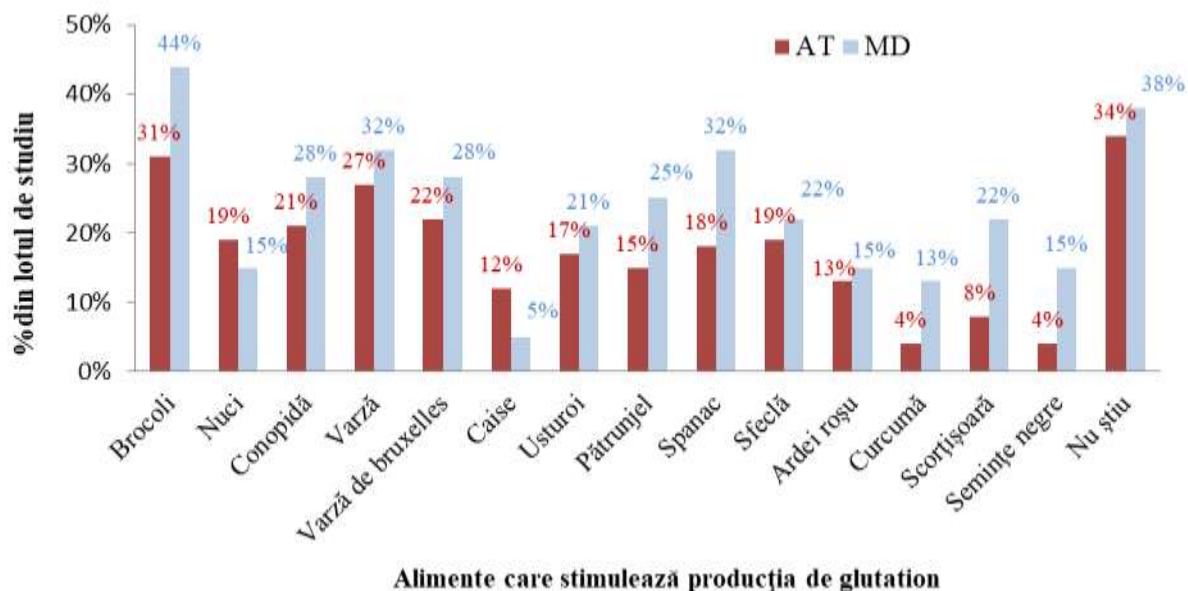


Fig. 8. Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Alimente care stimulează producția de glutatation"

Consumul de fructe și legume oferă un echilibru foarte bun între radicalii liberi și statusul antioxidant și ajută la reducerea stresului oxidativ, a riscului de cancer, a bolilor cardiovasculare și a îmbătrânirii [17.]. Antioxidanții alimentari cuprind un grup larg

răspândit de molecule responsabile pentru efecte bioactive multiple. Avantajele unei alimentații complete și beneficiile pentru sănătate pot fi atinse prin combinarea lor, deoarece acestea acționează sinergic.

Principalii factorii externi, menționați în

literatura de specialitate, care conduc la o concentrație scăzută de glutathion sunt: stresul cronic [6], anxietatea [31], depresia [11], poluarea (inclusiv datorate substanțelor asociate fumatului) [10, 24], dieta săracă în minerale și

vitamine [9] și respectiv, vârsta [35]. Se remarcă faptul că studenții MD, comparativ cu studenții AT, dețin mai multe cunoștințe despre acest subiect, figura 9. fiind sugestivă pentru răspunsurile obținute în urma studiului.

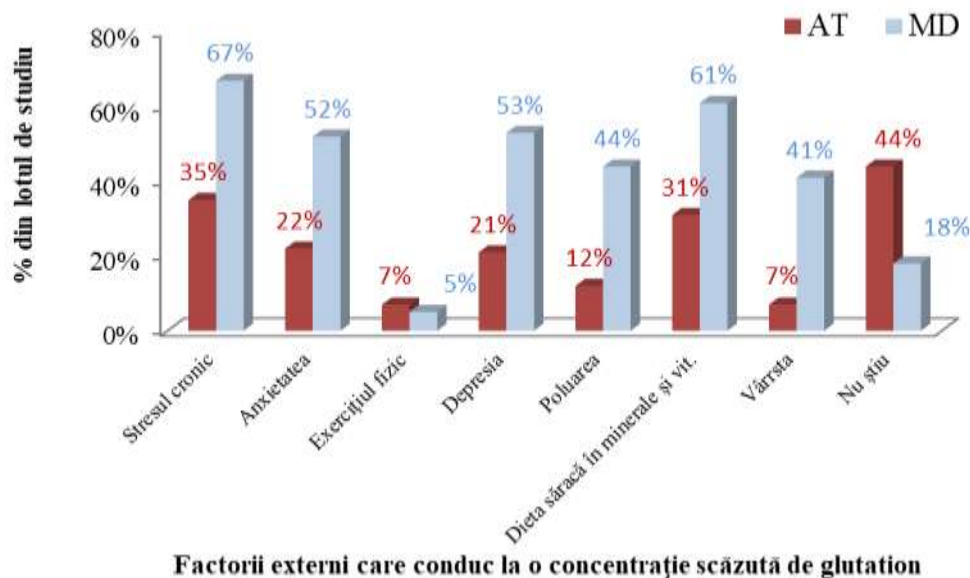


Fig. 9 Distribuția răspunsurilor participanților chestionați la itemul "Factorii externi care conduc la o concentrație scăzută de glutathion"

Analizând unele studii de specialitate, s-a observat că unele afecțiuni precum următoarele: Alzheimer [1, 32], astm bronșic [30], sindromul oboselii cronice [34], tulburări autoimune [1], hepatită [3], scleroză multiplă [5], cancerul de sân [19], boala Parkinson [18], precum și diabet [18] pot fi corelate cu concentrația sanguină de glutathion.

Concluzii

Statusul de glutathion este modulată atât de oxidanți, cât și de factori nutriționali și de mediu și poate influența structura și activitatea proteinelor prin schimbări în echilibrul tiol-disulfidic.

Astfel, glutathionul este un traductor care integrează informațiile de mediu în rețeaua celulară. Chiar dacă nu toate mecanismele de acțiune ale glutathionului sunt elucidate, sunt de remarcat studiile de specialitate care evidențiază implicarea glutathionului și ale sistemelor dependente în apărarea biosistemelor împotriva stresului extern și a diferitelor afecțiuni și necesitatea studierii acestora în cadrul programelor educaționale universitare din domeniile științelor vieții.

Mulțumiri

Autorii mulțumesc Universității Transilvania din Brașov pentru susținerea studiilor prin proiectul de finalizare a lucrării de licență 2018 și respectiv proiectul de finalizare a lucrării de disertație 2018.

Bibliografie:

1. Benhar M, Shytaj IL, Stamler JS, Savarino A., Dual targeting of the thioredoxin and glutathione systems in cancer and HIV., J Clin Invest. 2016 May 2;126(5):1630-9. doi: 10.1172/JCI85339.
2. Bhabak KP, Mughesh G., Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants., Acc Chem Res. 2010 Nov 16;43(11):1408-19. doi: 10.1021/ar100059g. Epub 2010 Aug 6
3. Bhatnagar G, Sharma S, Kumar A, Prasad S, Agarwal S, Kar P., Reduced glutathione in hepatitis E infection and pregnancy outcome. J Obstet Gynaecol Res. 2016 Jul;42(7):789-95. doi: 10.1111/jog.12986
4. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. The World Allergy Organization journal. 2012;5(1):9-19.].
5. Carvalho AN, Lim JL, Nijland PG, Witte ME, Van Horssen J., Glutathione in multiple sclerosis: more than just an antioxidant?, Mult

- Scler. 2014 Oct;20(11):1425-31. doi: 10.1177/1352458514533400
6. Corcoba A, Gruetter R, Do KQ, Duarte JMN, Social isolation stress and chronic glutathione deficiency have a common effect on the glutamine-to-glutamate ratio and myo-inositol concentration in the mouse frontal cortex., *J Neurochem.* 2017 Sep;142(5):767-775. doi: 10.1111/jnc.14116.
 7. Deponte M., Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes, *Biochim Biophys Acta.* 2013 May;1830(5):3217-66
 8. Deresz LF, Schöler CM, de Bittencourt PIHJ, Karsten M, Ikeda MLR, Sonza A, Dal Lago P., Exercise training reduces oxidative stress in people living with HIV/AIDS: a pilot study., *HIV Clin Trials.* 2018 Oct 27:1-6. doi: 10.1080/15284336.2018.1481247
 9. Elwej A, Ghorbel I, Chaabane M, Soudani N, Marrekchi R, Jamoussi K, Mnif H, Boudawara T, Zeghal N, Sefi M., Protective effects of dietary selenium and vitamin C in barium-induced cardiotoxicity., *Hum Exp Toxicol.* 2017 Nov;36(11):1146-1157.
 10. Farhat Z, Browne RW, Bonner MR, Tian L, Deng F, Swanson M, Mu L., How do glutathione antioxidant enzymes and total antioxidant status respond to air pollution exposure?, *Environ Int.* 2018 Mar; 112: 287-293. doi: 10.1016/j.envint.2017.12.033.
 11. Freed RD, Hollenhorst CN, Weiduschat N, Mao X, Kang G, Shungu DC, Gabbay V., A pilot study of cortical glutathione in youth with depression., *Psychiatry Res Neuroimaging.* 2017 Dec 30; 270: 54-60. doi: 10.1016/j.psychresns.2017.10.001.
 12. Giustarini D, Colombo G, Garavaglia ML, Astori E, Portinaro NM, Reggiani F, Badalamenti S, Aloisi AM, Santucci A, Rossi R, Milzani A, Dalle-Donne I., Assessment of glutathione/glutathione disulphide ratio and S-glutathionylated proteins in human blood, solid tissues, and cultured cells, *Free Radic Biol Med.* 2017 Nov;112:360-375. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.008
 13. Go Y-M, Jones DP. Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease. *Free radical biology & medicine.* 2011;50(4):495-509
 14. Guevara-Flores A, Martínez-González JJ, Rendón JL, del Arenal IP. The architecture of thiol antioxidant systems among invertebrate parasites. *Molecules.* 2017; 22(2):259.
 15. Mercer BA, Lemaître V, Powell CA, D'Armiento J. The Epithelial Cell in Lung Health and Emphysema Pathogenesis. *Curr Respir Med Rev.* 2006 May;2(2):101-142
 16. Kostov K, Halacheva L., Role of Magnesium Deficiency in Promoting Atherosclerosis, Endothelial Dysfunction, and Arterial Stiffening as Risk Factors for Hypertension., *Int J Mol Sci.* 2018 Jun 11;19(6). pii: E1724
 17. Kumar, P.; Chand, S.; Maurya, P.K. Quercetin-modulated erythrocyte membrane sodium-hydrogen exchanger during human aging: Correlation with atpase's. *Arch. Physiol. Biochem.* 2016, 122, 141–147
 18. Lagman M., Ly J., Saing T., Singh MK, Tudela EV, Morris D, Chi PT, Ochoa C, Sathananthan A, Venketaraman V, Investigating the Causes for Decreased Levels of Glutathione in Individuals with Type II Diabetes, *PLoS One.* 2015; 10(3): e0118436. Published online 2015 Mar 19. doi: 10.1371/journal.pone.0118436
 19. Lien EC, Lyssiotis CA, Juvekar A, Hu H, Asara JM, Cantley LC, Toker A., Glutathione biosynthesis is a metabolic vulnerability in PI(3)K/Akt-driven breast cancer, *Nat Cell Biol.* 2016 May;18(5):572-8. doi: 10.1038/ncb3341
 20. Ljubisavljevic S, Oxidative Stress and Neurobiology of Demyelination., *Mol Neurobiol.* 2016 Jan;53(1):744-758. doi: 10.1007/s12035-014-9041-x. Epub 2014 Dec 11
 21. McBean GJ. Cysteine, glutathione, and thiol redox balance in astrocytes. *Antioxidants.* 2017;6(3):62
 22. Min YN, Niu ZY, Sun TT, Wang ZP, Jiao PX, Zi BB, Chen PP, Tian DL, Liu FZ., Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene., *Poult Sci.* 2018 Apr 1;97(4):1238-1244.
 23. Misra UK, Kalita J, Singh SK, Rahi SK., Oxidative Stress Markers in Vitamin B12 Deficiency., *Mol Neurobiol.* 2017 Mar;54(2):1278-1284
 24. Mons U, Muscat JE, Modesto J, Richie JP Jr, Brenner H., Effect of smoking reduction and cessation on the plasma levels of the oxidative stress biomarker glutathione--Post-hoc analysis of data from a smoking cessation trial., *Free Radic Biol Med.* 2016 Feb;91:172-7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.018.
 25. Pahwa S, Sharma R, Singh B. Role of glutathione S-transferase in coronary artery disease patients with and without type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR.* 2017;11(1):BC05-BC08
 26. Passaia G, Margis-Pinheiro M., Glutathione peroxidases as redox sensor proteins in plant cells., *Plant Sci.* 2015 May;234:22-6.

27. Patrick L., Mercury toxicity and antioxidants: Part 1: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity., *Altern Med Rev.* 2002 Dec;7(6):456-71
28. Paul R, Phukan BC, Thenmozhi J A, Manivasagam T, Bhattacharya P, Borah A., Melatonin protects against behavioral deficits, dopamine loss and oxidative stress in homocysteine model of Parkinson's disease., *Life Sci.* 2018 Jan 1;192:238-245. doi: 10.1016/j.lfs.2017.11.016
29. Pawar, R.K.; Bhagure, G.R.; Chavan, R.P. Antioxidants and their role in nurture human life and industry: A review. *Int. J. Chem. Stud.* 2016, 4, 22–26
30. Pité H, Morais-Almeida M, Rocha SM., Metabolomics in asthma: where do we stand?, *Curr Opin Pulm Med.* 2018 Jan;24(1):94-103
31. Preissmann D, Dépré M, Schenk F, Gisquet-Verrier P., Anxiety modulates cognitive deficits in a perinatal glutathione deficit animal model of schizophrenia., *Brain Res.* 2016 Oct 1;1648(Pt A):459-468. doi: 10.1016/j.brainres.2016.07.042.
32. Saharan S, Mandal PK., The emerging role of glutathione in Alzheimer's disease., *J Alzheimers Dis.* 2014;40(3):519-29. doi: 10.3233/JAD-132483
33. Salehi B, Martorell M, Arbiser JL, Sureda A, Martins N, Maurya PK, Sharifi-Rad M, Kumar P, Sharifi-Rad J., Antioxidants: Positive or Negative Actors? *Biomolecules.* 2018 Oct 25;8(4). pii: E124. doi: 10.3390/biom8040124
34. Sarvaiya K, Goswami S., Investigation of the effects of vanilloids in chronic fatigue syndrome., *Brain Res Bull.* 2016 Oct;127:187-194. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.09.015
35. Tong J, Fitzmaurice PS, Moszczynska A, Mattina K, Ang LC, Boileau I, Furukawa Y, Sailasuta N, Kish SJ, Do glutathione levels decline in aging human brain?, *Free Radic Biol Med.* 2016 Apr;93:110-7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.01.029
36. Ullegaddi R, Powers HJ, Gariballa SE., B-group vitamin supplementation mitigates oxidative damage after acute ischaemic stroke., *Clin Sci (Lond).* 2004 Nov;107(5):477-84
37. Zlobin IE, Kartashov AV, Shpakovski GV, Different roles of glutathione in copper and zinc chelation in *Brassica napus* roots. *Plant Physiol Biochem.* 2017 Sep;118:333-341. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.06.029. Epub 2017 Jun 28.