

Catedra de chimie biologică (cond.: conf. A Kovács, doctor în chimie), Catedra de igienă (cond.: prof. N. Horváth) ale I.M.F. Tg.-Mureș și Clinica de radiologie (cond.: conf. I. Krepsz, doctor în medicină) din Tg.-Mureș

## INCLUDEREA $^{75}\text{SE}$ -SELENOMETIONIEI ÎN DIFERITE ORGANE

I. *Hirschfeld*, Gh. *Fodor*, A. *László*, A. *Ábrahám*

În cursul unor investigații anterioare s-a pus în evidență, că dinamica includerii  $^{35}\text{S}$ -metioninei în ficatul animalelor cu leziune hepatică, reflectă vicierea metabolismului protidic (7, 8). Dat fiind locul central al ficatului în metabolismul proteic, s-a pus problema, în ce măsură se schimbă dinamica includerii aminoacizilor la nivelul diferitelor organe în cursul leziunii hepatice. În intoxicații acute și cronice cu tetraclorură de carbon și cloroform, efectuate pe șobolani albi, s-au remarcat diferențe în includerea  $^{35}\text{S}$ -metioninei și în diferite organe (9, 10). Alterările biochimice erau produse — după presupunerea noastră — parțial de acțiunea directă a toxicului asupra organelor, parțial fiind de origine hepatică. În vederea disocierii acestor două efecte, am utilizat în lucrarea de față lezarea ficatului cu un agent presupus specific — virusul hepatitei epidemice  $V_9$  (h.e.), izolat de către *László* și colab. (12, 13). Animalul de experiență susceptibil infecției virotice s-a dovedit hamsterul auriu (20).  $^{75}\text{Se}$ -selenometionina ( $^{75}\text{Se}$ -met) se pretează la aceste experiențe pe baza radiației sale gama, care poate fi măsurată în condiții tehnice mai simple, decât  $^{35}\text{S}$ -metionina cu beta-radiație foarte slabă. Radiația gama a  $^{75}\text{Se}$  este decelabilă și în organismul integru, acest fapt avînd și aplicări clinice.

Ne-am propus deci. urmărirea schimbărilor în dinamica includerii  $^{75}\text{Se}$ -met în diferite organe, în cursul infecției cu virusul h.e.V<sub>9</sub>, și acțiunea unui agent presupus hepatoprotector, ca seleniul (5, 18, 19).

#### Material și metodă

Investigările au fost efectuate pe 4 grupe de câte 10 hamsteri. Prima grupă (SE) — neinoculată — a fost tratată peroral zilnic cu selenit de sodiu 1,5 microg/100 g corp, timp de 40 de zile. A doua grupă (HE) a fost inoculată cu virusul h.e. intraperitoneal (6). A treia grupă (HE+SE) a fost inoculată cu virusul h.e. și tratată timp de 40 de zile de la inoculare cu 1,5 microg/100 g corp selenit de sodiu. A patra grupă a servit drept martor (M).

La 40 zile după începerea tratamentului, animalele au fost injectate i.m. în pulpa posterioară stângă cu câte 25 microcurie/100 g corp  $^{75}\text{Se}$ -met (Amersham, Anglia, act, spec. 380 mC(mM)). Din fiecare grupă câte 3—3 și 4 animale au fost sacrificate prin narcoză cu eter la 2 ore, 24 ore și 4 zile de la administrarea aminoacidului marcat. S-au prelevat următoarele organe și țesuturi: singe, miocard, ficat, pancreas, rinichi, intestine. După spălare cu ser fiziologic și uscarea cu hirtie de filtru, porțiuni aliquote (câteva zeci de mg) au fost cântărite precis pe balanță analitică și s-a determinat radioactivitatea lor într-un cristal cu puț GAMMA (de dimensiuni 50×50 mm, volumul 8 ml) cu ajutorul unui scaler automat ORION tip 1871. Rezultatele sînt exprimate în impulsuri pe minut (i.p.m.), referitor la 1 mg țesut proaspăt. Prelucrarea statistică s-a efectuat după metoda Student „t“

#### Rezultate

Rezultatele sînt redată în graficele 1—6.

1.—2. Includerea  $^{75}\text{SE}$ -met în singe și miocard oscilează între valori relativ scăzute (200—400 i.p.m.), neprezentînd diferențe semnificative între diferite grupe.

3. Includerea în ficat nu prezintă diferențe semnificative la 2 ore (valori în jur de 1300—1500 i.p.m.). După o scădere importantă la toate grupele ( $p < 0.05$ ), exceptînd grupa HE+SE, se remarcă o reincludere — creșterea includerii, după o prealabilă scădere — absență de asemenea doar la grupa HE-SE, statistic reincluderea în ficat nu este semnificativă.

4. În cazul pancreasului, includerea inițială a aminoacidului marcat este mult scăzută la grupele HE și SE (în jur de 1100 i.p.m.) ( $p < 0.01$ ) și foarte ridicată la grupa HE+SE (2600 i.p.m.,  $p < 0.01$ ), față de martori (1900 i.p.m.). Aceste diferențe se șterg la 24 ore (între 200—500 i.p.m.), după o cedare bruscă de izotopi. La 4 zile, grupele netratate cu seleniu — HE și M — elimină mai departe izotopul din pancreas, iar cele tratate — SE și HE-SE — reinclud aminoacidul marcat (diferențe semnificative față de grupa HE:  $p < 0.02$ ).

5. La nivelul rinichilor se remarcă în general valori inițiale ușor ridicate față de martori. Scăderea lentă la 24 ore este urmată de reincludere, cu valori superioare celor inițiale, cu excepția grupei SE. Și dinamica celorlalte 3 grupe este similară (curbe aproape paralele), cu valori maxime la grupa HE+SE.

6. În cazul intestinelor, cele 3 grupe tratate prezintă valori inițiale superioare martorilor. Panta de eliminare a izotopului la aceste 3 grupe este de asemenea mai abruptă ca la martori, reflectînd un metabolism proteic mai accentuat.

Din datele analitice prezentate rezultă următoarele, privind comportarea diferitelor grupe:

La martori, includerea în pancreas este cea mai activă, iar includerea intestinală cea mai scăzută. Probabil pancreasul cedează izotopul pentru reincluderea în rinichi și ficat. Remarcăm, că în cursul experiențelor cu  $\text{CCl}_4$  și clorofom, efectuate pe șobolani cu  $^{35}\text{S}$ -metionină, nu am observat niciodată reincluderea în omogenatul de ficat, numai în mitocondriile acestuia. (7, 8).

La grupa tratată cu seleniu includerea în pancreas este scăzută, iar în intestine și rinichi crescută, fără semne de reincludere. Probabil aceste organe cedează  $^{75}\text{Se}$ -met pentru reincluderea în pancreas și ficat.

La grupa inoculată cu virus (HE) includerea inițială în pancreas este scăzută. Dinamica includerii în rinichi și ficat este similară cu cea a grupei marțore, iar a intestinelor este similară cu aceea a grupei tratate cu seleniu.

La grupa HE+SE asistăm la diferențele cele mai mari, care sînt totodată și paradoxale. Includerea inițială este crescută la toate organele față de martori, exceptînd ficatul. Este caracteristică reincluderea accentuată în pancreas — probabil pe seama cedării intestinale — și lipsa reincluderii în ficat. Pare paradoxală includerea inițială mult crescută în pancreas a grupei HE+SE, față de valorile scăzute ale grupelor HE și SE, și lipsa reincluderii în ficat față de reincluderea în cazul grupelor HE și SE.

### Discuții

Ficatul, rinichii și pancreasul prezintă diferențe relativ mici față de martori în cursul infecției virotice. Aceasta se poate explica în parte prin patogenitatea redusă a virusului h.e., reflectată și de creșterea doar moderată a transaminazemiei (în jur de 50 U.I.). Valorile inițiale scăzute ale pancreasului și cele intestinale crescute denotă totuși o acțiune nocivă a virusului asupra acestor organe. Nu este clar, dacă aceste diferențe sînt de origine hepatică — acestea menținîndu-și echilibrul metabolic pe seama organelor amintite — sau este vorba de o acțiune directă a virusului h.e. asupra acestor organe. Oricum, date clinice par a susține și implicarea altor organe — în special ale celor digestive (enterite, colite, pancreatite) — în cursul unor hepatopatii.

În privința acțiunii seleniului, rezultatele nu sînt concludente. Inhibarea includerii  $^{75}\text{Se}$ -met în pancreas, sub acțiunea seleniului (grupa SE), și activarea acestei includeri la animalele infectate și cu virusul h.e. (grupa HE+SE), inhibarea includerii în ficatul infectat cu virus (grupa HE+SE) și activarea includerii în rinichii aceleiași grupe (HE+SE), pledează pe lângă o acțiune complexă și greu de interpretat.

Seleniții și selenatii inhibă o serie de enzime tiolice (16), dar pe de altă parte administrate parenteral, se leagă într-un procentaj foarte mare — pînă la 94% —, de proteine (11). Formarea legăturilor analoage cu cele disulfidice (S-S) de tipul S-Se au fost descrise de *Awad* (1) în experiențe efectuate pe șobolani cu  $^{75}\text{Se}$ -met, dar numai aprox. 10% din aminoacizii incluși în proteine se leagă sub această formă. După *Wilson* și *Bandurski* (3, 21) sulfatii și selenatii utilizează aceleași sisteme enzimatică pentru formarea de „sulfat activ” și „selenat activ”. În procesele de transmitere selenometionina s-a dovedit a lua parte chiar mai activ, decît compusul natural metionina (4, 14). Din toate acestea rezultă posibilitatea biosintezei selenoaminoacizilor din seleniu anorganic și la animalele superioare. Incorporarea acestora în proteine este similară aminoacizilor naturali (2, 15, 17).

Pe baza celor expuse se pot formula mai multe mecanisme de acțiune ale seleniului: a) inhibarea unor enzime necesare direct sau indirect sintezei proteice, și b) includerea în proteine sub formă de selenoaminoacizi, inhibînd astfel în mod competitiv includerea aminoacidului marcat administrat.

S-ar putea presupune deci, că activarea includerii în pancreasul și rinichii animalelor infectate cu virus și tratate cu seleniu (grupa HE+SE), se datorește lezării proceselor de transmitere și transsulfurare din ficatul infectat. Ca urmare nu s-au produs selenoaminoacizi, care să se includă în proteinele acestor organe, neînhibînd astfel acumularea  $^{75}\text{Se}$ -met.

Inhibarea includerii aminoacidului marcat în pancreasul animalelor tratate cu seleniu ar putea fi de origine enzimatică.

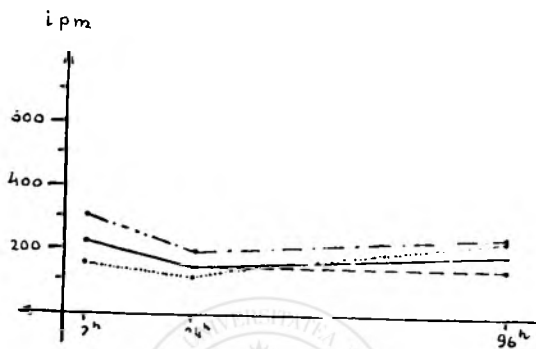


Fig. nr. 1.

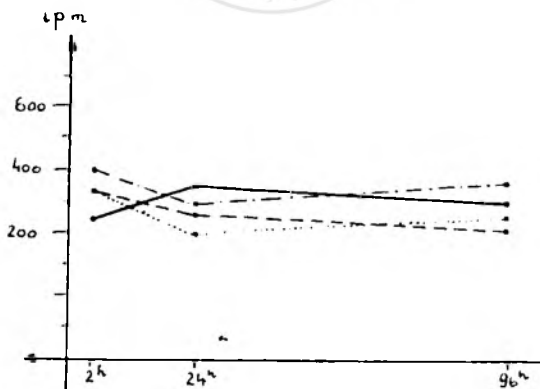


Fig. nr. 2.

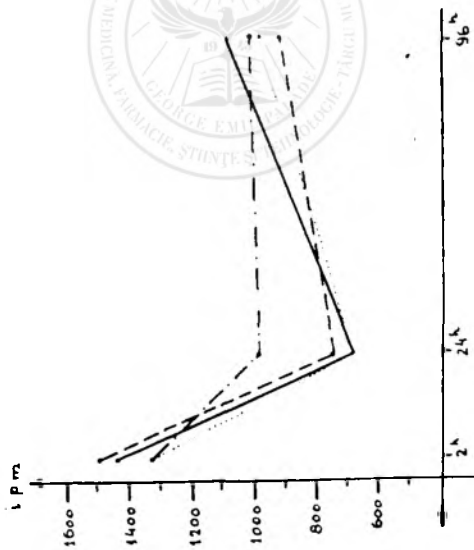


Fig. nr. 3.

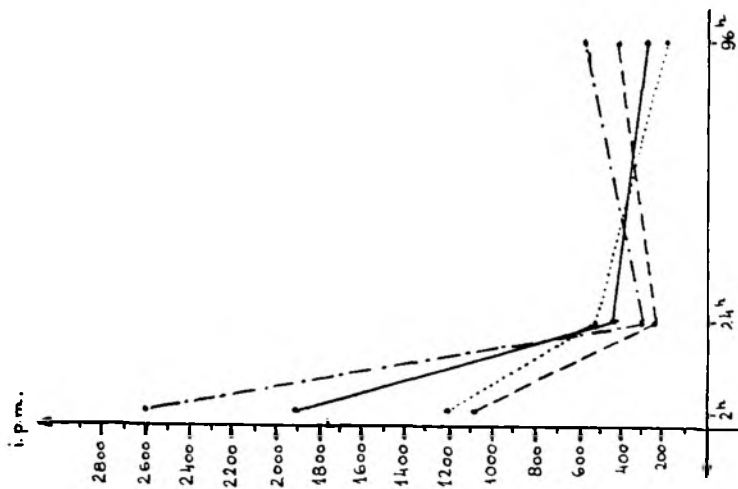


Fig. nr. 4.

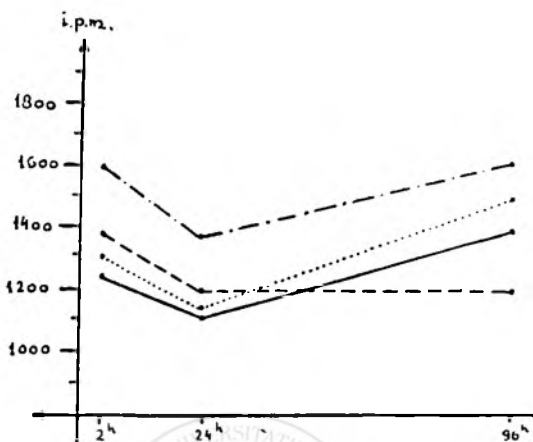


Fig. nr. 5

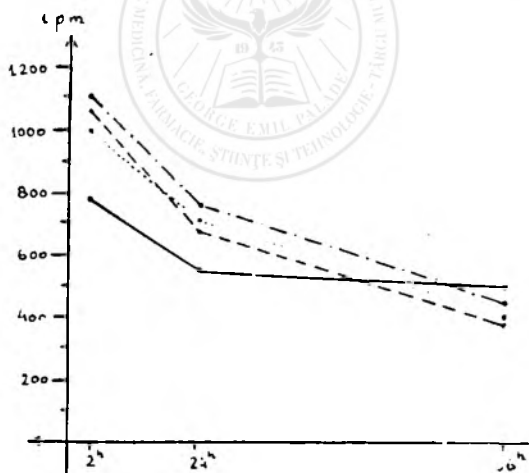


Fig. nr. 6

Fig. nr. 1—6.: Dinamica includerii  $^{75}\text{Se}$ -selenometioninei în diferite organe la 2 ore, 24 ore și 4 zile. 1. Singe. 2. Miocard. 3. Ficat. 4. Pancreas. 5. Rinichi. 6. Intestin.  
 — Martori (M); - - - - - Tratamente cu seleniu (SE); ..... Infectate cu virus (IE); - · - · - · - Infectate cu virus și tratate cu seleniu (IE+SE)

Inhibarea includerii  $^{75}\text{Se}$ -met în ficatul animalelor din grupa HE-SE s-ar datora însumării a două noxe, care fiecare în parte are un efect mult mai redus (vezi fig. 3). Desigur toate aceste speculații pot constitui doar ipoteze de lucru, în vederea unor investigații experimentale ulterioare.

Experiențele de față, efectuate pe un număr relativ mic de animale — dat fiind numărul mare de loturi — trebuie privite desigur în mod critic. Am dori totuși să accentuăm, că acest test experimental este ușor aplicabil și în clinică — prin măsurători in vivo — cu posibilități de a pune în evidență unele dereglări în metabolismul proteic al diferitelor organe și al interrelației dintre ele.

Sosit la redacție: 18 decembrie 1967

#### Bibliografie

1. AWWAD H. K., POTCHEN E. J., ADELSTEIN S. J., DEALY J. B. jr.: *Metabolism* (1966), 15/4, 370; 2. AWWAD H. K., ADELSTEIN S. J., POSCHEN E. J., DEALY J. B. jr.: *J. Biol. Chem.* (1967), 242/3, 492; 3. BANDURSKI R. S., WILSON L. G.: *Plant. Physiol. Suppl.* (1957), 32, 12; 4. BREMER J., GREENBERG D. M.: *Biochim. Biophys. Acta* (1960), 37, 173; 5. FODOR G., KEMÉNY G. L.: *Experientia* (Basel) (1965), 21, 666; 6. FODOR G., ABRAHÁM S., HIRSCHFELD J.: *Rev. Med.* (1965), XI, 3—4, 353; 7. HIRSCHFELD I., KOVÁCS A., GOINA E., FURDA P., GEANGALÁU V.: *Șt. și cerc. de biochim.* (1968), 1 (sub lipar); 8. HIRSCHFELD I., KOVÁCS A., GOINA E., LÁSZLÓ A., FURDA P.: *Ibidem*; 9. HIRSCHFELD I., KOVÁCS A., LÁSZLÓ A., GEANGALÁU V.: *Manuscris*; 10. HIRSCHFELD I., KOVÁCS A., LÁSZLÓ A., JAZIGIAN A.: *Manuscris*; 11. JACOBSON S. O.: *Acta Veterin. Scand.* (1966), 7/4, 303; 12. LÁSZLÓ I. și colab.: *Rev. Med.* (1962), 8, 1, 45; 13. LÁSZLÓ I. și colab.: *Nature* (1965), 207/4994, 326; 14. MUDD S. H., Cantoni G. L.: *Nature* (1957), 180, 1052; 15. NISMAN B., HIRSCH M. L.: *Ann. Inst. Pasteur* (1958), 95, 615; 16. PINSENT J.: *Biochem. J.* (1954), 57, 261; 17. ROSENFELD I., BEATH O. A.: *Selenium*, Acad. Press, N. Y. — London 1964, Cap. X, 363; 18. SCHWARZ K., MERTZ W.: *Proc. of Conference on Physiological Aspects of Water Quality*, Washington D. C., Sept. 1960; 19. SCHWARZ K.: *Fed. Proc.* (1961), 20/2, 666; 20. WILDFÜHR G.: *Z. ges. Inn. Med.* (1953), 8, 573; 21. WILSON L. G., BANDURSKI R. S.: *J. Biol. Chem.* (1958), 233, 975.