

ACTIVITATEA AMILAZEI ȘI ALDOLAZEI CEREBRALE ÎN CURSUL ANAFILAXIEI GENERALE ȘI LOCALE

M. Kerekes, A. Kovács, Ileana N. Csiki, J. Kelemen, Mirela Becuș-L.

Producerea și dinamica reacțiilor alergice ale sistemului nervos central prezintă o serie de probleme neclarificate. Ținând seama de frecvența îmbolnăvirilor neuroalergice, studierea mai profundă a implicațiilor metabolice ale fenomenelor alergice este justificată. În anii precedenți, studiind biochimismul encefalomielitei alergice experimentale (EAE), mai multe colective, ca cele conduse de Benetato (1), Manta (5) și Saragea (11), respectiv colectivul nostru, au reușit să demonstreze o serie de modificări importante ale metabolismului sistemului nervos central.

Este de așteptat ca în cursul proceselor alergice acute să intervină modificări funcționale, care să se reflecte, printre altele, și în variația activității unor enzime sau sisteme enzimatică. Având în vedere marea importanță a metabolismului glucidic ca sursă energetică a SNC, ne-am propus studierea vicierii acestuia, în cursul anafilaxiei generale și locale. Lucrarea de față cuprinde date referitoare la două enzime legate de metabolismul glucidic, aldolaza și amilaza.

Material și metodă

Cercetările s-au făcut pe 47 de cobai de ambele sexe, de aproximativ aceeași greutate și vîrstă. Cobaii s-au sensibilizat cu albumină serică umană liofilizată, în soluție de 10% în ser fiziologic, administrînd intraperitoneal, fiecărui animal cîte 0,3 ml soluție de două ori, la interval de 2 zile. La 15 zile după sensibilizare s-a declanșat șocul anafilactic, administrînd cobailor aceeași cantitate de antigen. La primul grup de experiență (13 cobai) administrarea albuminei s-a făcut pe cale intracardiacă. La al doilea grup (12 cobai) antigenul s-a injectat intracerebral în substanța albă a emisferei drepte.

Ca martori au servit două grupuri de animale, unul compus din 13 cobai, sensibilizați în felul descris, fără însă a se declanșa reacția anafilactică, al doilea grup martor compus din 9 animale nesensibilizate primește aceeași cantitate de antigen, pe cale intracerebrală. Animalelor sucombate în urma șocului li s-a scos imediat creierul. Cele care au supraviețuit au fost sacrificate prin administrare intracardiacă a 10 ml aer, la intervale de 1—7 zile de la declanșarea șocului, creierul fiind prelevat și supus analizei. Creierul a fost omogenizat în aparat Potter cu soluție de fosfat de sodiu bibazic 0,1 M, în diluția de 1:10.

Determinarea activității aldolazice s-a făcut după metoda lui Bruns și Puls (6), diluția finală a omogenatului fiind de 1:300. Diluția s-a făcut cu soluție de fosfat de sodiu. Citirea s-a efectuat într-un fotocolorimetru SPECTROMOM 400, la 520 nm, exprimînd activitatea în unități uzuale, înmulțind cu 100 diferența dintre extincția probei și cea a martorului.

Determinarea activității amilazice s-a efectuat cu o metodă proprie, elaborată pe baza principiului metodei cu acid dinitrosalicilic (7), folosind în locul acestuia acid picric. Reactivi:

1. Acid picric 1% în soluție apoasă. Se dizolvă prin încălzire ușoară.
2. Na_2CO_3 1 M. Se dizolvă 28,6 g Na_2CO_3 , 10 H_2O la 100 ml apă

3. Soluție de amidon. Se dizolvă prin încălzire 2 g de amidon solubil (Reactivul, București) în 30 ml tampon fosfat 0,1 M cu pH 7,5. Se adaugă 3,8 g NaCl, se completează la 100 ml cu tampon și se filtrează. Soluția poate fi păstrată maximum o săptămână la frigider.

Mersul determinării: la 1 ml soluție de amidon se adaugă 1 ml omogenat de creier, diluat de 50 ori. Se ține 10 min. în baie de apă la 40°C, se adaugă 1 ml de soluție de carbonat de sodiu și 2 ml acid picric, ținând apoi eprubeta timp de 10 min. la 100°C. Se răcește sub robinet și se citește extincția la 520 nm, în cuvă de 1 cm. Proba în alb se execută la fel, cu excepția incubăției.

Din extincția probei se scade cea a matorului. Activitatea se exprimă în unități de glucoză, calculate pe baza unei curbe de etalonare. Aceasta se obține cu ajutorul unei serii de diluții din soluții de 5—10—15—20 mg% de glucoză, din care se iau câte 2 ml și se execută reacția de culoare în felul descris mai sus. O unitate este egală cu echivalentul a 1 mg glucoză, eliberată de 100 g țesut proaspăt în condițiile descrise.

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute sînt redată în tabelul următor:

Grupul de animale	Numărul anima- lelor	Aldolază	Amilază
Martori sensibilizați	13	76,8±4,57	99,1±6,21
Martori nesensibilizați, antigen intracerebral	9	72,0±4,31	89,6±5,28
Anafilaxie generală	13	65,1±4,36 0,02 < P < 0,05	29,1±2,03 P < 0,01
Anafilaxie locală	12	69,3±3,92 P > 0,05	36,7±3,17 P < 0,01

Activitatea aldolazică și amilazică în țesutul cerebral al cobailor după declanșarea anafilaxiei generale, respectiv locale. Probabilitatea de transgresiune s-a calculat separat față de ambele grupuri de martori.

Activitatea aldolazică, nu se modifică în mod semnificativ în urma șocului anafilactic, o ușoară scădere constatîndu-se doar în cazul anafilaxiei generale. Se cunoaște că activitatea aldolazei din creier este relativ mare, variînd în funcție de repartitia topografică. După datele lui *Palladin* (9) și *Lowry* (3) activitatea cea mai mare se află în scoarța emisferelor cerebrale, în substanța albă și în cerebel activitatea este mai redusă. În creierul animalelor tinere și în special în starea embrionară, activitatea aldolazică globală din creier este mult redusă față de cea a animalelor adulte (12).

În EAE, am reușit să punem în evidență o scădere a activității aldolazice (2). În cazul acesta, se pare că procesul cronic impietează mai profund asupra activității acestei enzime, decît drasticul șoc anafilactic. De altfel, în procesele degenerative, ca cea *Walleriană*, se întîlnește de asemenea scăderea activității aldolazice (4).

Mult mai importante sînt modificările activității amilazice, constînd într-o scădere semnificativă în urma șocului anafilactic. Scăderea se instalează rapid, constatîndu-se și la animalele care au sucombat în urma șocului. În continuare, se instalează o scădere progresivă, după cum reiese din figură.

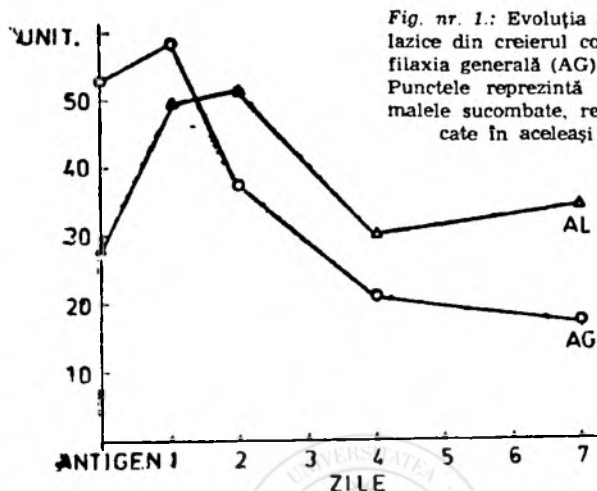


Fig. nr. 1.: Evoluția activității amilazice din creierul cobailor, în anafilaxia generală (AG) și locală (AL). Punctele reprezintă media la animalele sucombrate, respectiv sacrificate în aceleași zile.

Aceste rezultate pledează pentru „cronicizarea biochimică“, cel puțin pentru una temporară. Nu am urmărit procesul o perioadă suficient de lungă, pentru a putea decide, dacă aceste leziuni biochimice sînt reversibile sau ireparabile.

De altfel nu se cunoaște nimic asupra rolului amilazei din creier. Totuși, nu este probabil ca această enzimă, care hidrolizează legături alfa-1-4-glicozidice și care în tubul digestiv al organismului contribuie în mod esențial la degradarea polizaharidelor, să fie prezentă doar formal în țesutul nervos, fără un rol deosebit. Există foarte puține lucrări referitoare la amilaza cerebrală. *Palladin* și colab. (10) au constatat că în stările convulsive produse prin cardiazol, activitatea amilazică se intensifică, în timp ce inhibiția sistemului nervos central prin narcoză are ca urmare scăderea activității amilolitice. *Milcu* și colab. (8) au constatat că prin acțiunea tiroxinei se produce o stimulare în metabolismul glucidic al creierului, care printre altele se reflectă și în creșterea activității amilazice.

Scăderea accentuată a activității amilazice din creier observată de noi în cursul șocului anafilactic general și local poate fi interpretată deci ca expresia blocării amilazei. Luînd în considerare și celelalte date referitoare la metabolismul energetic al creierului, putem constata că acesta se caracterizează printr-o labilitate relativ mare, determinată de starea funcțională a sistemului nervos central.

Concluzii:

1. În urma șocului anafilactic general, activitatea aldolazică din creierul cobailor scade ușor. În cazul șocului anafilactic local, activitatea aldolazică nu se modifică semnificativ.

2. Activitatea amilazică din creierul cobailor suferă modificări importante în urma șocului anafilactic general și local, în sensul scăderii activității. Scăderea se instalează rapid, constatîndu-se la scurt timp după declanșarea șocu-

lui. Fenomenul se explică probabil prin eliberarea, în urma șocului anafilactic, a unor substanțe care inhibă amilaza.

Sosit la redacție: 13 martie 1968.

Bibliografie

1. BENETATO GR., GABRIELESCU E., BOROȘ I.: Stud. cerc. fiziol. (1964), 1, 87;
2. KEREKES M., KELEMEN I., FURDA P., FESZT T., GÜNDISCH M.: Rev. Med. (1966), 12, 169;
3. LOWRY O. H.: In vol. Waelsch. H: Biochemistry of the developing nervous system, Academic Press, New York, 1955, 350;
4. MAC CAMAN R. E., ROBINS E.: J. Neurochem. (1959), 5, 32;
5. MANTA I., DUMA D., LAZAR TR. C., POPOVICI L., CĂTANĂ R., PÎRVU M., ȘERBAN M.: Fiziologia (1965) 3, 237;
6. Metodele laboratorului clinic, Ed. Med. București, 1964, 210;
7. MEYER K. H., FULD M., BERNFELD P.: Experientia (1947), 3, 411;
8. MILCU ȘT. M., POTOP I., FELIX E., JUVINĂ E., BOERIU V.: Bul. Științ. Secția științe med. (1955), 4, 1159;
9. PALLADIN A. V.: Analele româno-sovietice, Med. generală (1951), 6, 7;
10. PALLADIN A. V., HAIKIN B. I., POLIAKOVA N. M.: Docl. Acad. Nauc. U.R.S.S. (1952), 54, 785;
11. SARAGEA M., CLOPOTARU M., ROTARU N., NEGRU T., SICĂ M., VLĂDUȚIU A.: Fiziologia (1965), 3, 243;
12. SZÉKELY C., KEREKES M., BECUȘ L. M., FESZT T.: Stud. cerc. embriol. (1968), 5, 21.