

## DETERMINAREA SENSIBILITĂȚII HEMOGLOBINEI LA AGENȚII METHEMOGLOBINO-FORMATORI

dr. Ramona Pântea, Ana Iazigian, L. Merlescu

Consecințele nefavorabile ale prezenței, chiar în cantități mici, a substanțelor methemoglobino-formatoare în aer, apa potabilă sau în unele alimente sînt în prezent în atenția unor cercetători, avînd în vedere că în unele cazuri s-au înregistrat reacții anormale, datorite unei sensibilități crescute la acțiunea acestor agenți toxici.

În mod normal, methemoglobina ce se formează în eritrocite se transformă din nou în hemoglobină prin intervenția unui sistem enzimatic reductor, care menține fierul în formă bivalentă cu ajutorul nicotin-adenin-dinucleotidului redus (NADH), format în glicoliza intraeritrocitară. Cînd concentrația agentului toxic este mare și permanent întreținută, poate să apară la persoanele sănătoase methemoglobinemia toxică.

Sînt însă indivizi la care, printr-un mecanism încă neelucidat deplin, chiar în prezența unor cantități reduse de substanțe methemoglobino-formatoare, methemoglobinemia este crescută, iar fenomenele toxice apar mult mai repede.

Studiind modificările concentrației hemoglobinei și methemoglobinei, pe cobai intoxicați experimental cu oxizi de azot, am observat o distribuție largă a rezultatelor, unele animale menținîndu-și concentrația scăzută de methemoglobină pînă la sfîrșitul perioadei de intoxicație, iar altele avînd concentrația crescută chiar în prima parte a perioadei experimentale.

Reactivitatea diferită a lotului nostru de animale de experiență și datele din literatură, ne-au determinat să investigăm problema cunoașterii sensibilității animalelor de experiență la agenții toxici cu acțiune methemoglobino-formatoare, studiați de noi din mai multe puncte de vedere.

Gorn, a pus la punct o metodă relativ simplă și rapidă de determinare a sensibilității anormale a hemoglobinei intraeritrocitare față de acțiunea substanțelor methemoglobino-formatoare. Am determinat sensibilitatea animalelor de experiență la methemoglobino-formatori cu ajutorul acestei metode, încercînd totodată să elucidăm și factorii ce influențează sensibilitatea.

Am ales un lot de 65 de cobai cu greutatea medie între 600—700 g. La toate animalele am determinat hemoglobina pe cale fotometrică, prin metoda Evelyn Malloy, modificată de Kiese și Magos.

Sensibilitatea hemoglobinei față de agenții methemoglobino-formatori am determinat-o la 40 de animale, folosind inițial metoda lui Gorn. Unele observații experimentale ne-au determinat să urmărim cinetica formării methemoglobinei în proba cu 100% methemoglobină. În urma rezultatelor obținute, am modificat timpul de incubare al acestei probe de la 30 de minute la 90 de minute.

Media valorilor determinării hemoglobinei la 65 de animale a fost de 11,43 g %, valoare concordantă cu  $11,66 \pm 0,42$ , găsită de noi cu prilejul unei serii de experiențe anterioare. În continuare, determinînd pe un lot de 20 de cobai normali sensibilitatea hemoglobinei la acțiunea agenților methemoglobino-formatori, am constatat că deși s-au respectat întru totul condițiile cerute de Gorn, valorile noastre pentru sensibilitate au fost toate peste 60% (Gorn fixează ca valori normale cifre în jur de 50%). Observînd aceste diferențe, ne-am pus problema verificării unor condiții fixate de autor pentru efectuarea determinării. De la început ne-am

opriți suspiciunile asupra probei care trebuie să prezinte în calcul hemoglobina transformată 100% în methemoglobină, deoarece am observat o discordanță destul de mare între valorile concentrației hemoglobinei și extincțiile acestora pentru probele cu methemoglobină 100%, acestea având valori diferite pentru concentrații egale sau apropiate de hemoglobină.

Pe un lot de 10 cobai am urmărit cinetica transformării hemoglobinei în methemoglobină, măsurând extincția probei din 10 în 10 minute, până la 30 de minute de incubare și apoi din 30 în 30 de minute, până la 120 de minute de incubare. Din rezultatele obținute (tabelul nr. 1), am ajuns la următoarele concluzii:

Tabelul nr. 1

Nr. crt.	% methb. formată în intervalul de timp de				Sensibilitatea
	10'	20'	30'	60'	
1.	37,0	59,2	79,6	100,0	51,8
2.	23,7	44,7	73,0	97,4	52,6
3.	33,9	54,7	71,7	96,3	50,9
4.	41,5	52,8	75,4	92,5	45,2
5.	42,2	52,5	75,0	92,2	48,4
6.	39,2	53,3	71,4	94,7	53,6
7.	35,0	54,3	72,0	92,9	54,4
8.	37,9	55,1	74,1	93,1	43,1
9.	38,2	58,1	72,7	92,7	49,1
10.	35,2	55,5	74,0	92,6	46,3
±ES	36,38± 1,65	54,2± 1,3	73,89± 0,76	94,4± 1,21	52,9± 1,22
CV	14,28	7,56	3,25	3,81	12,45

Timpu necesar pentru transformarea hemoglobinei în methemoglobină este cuprins între 60 și 90 de minute, ceea ce ne-a determinat ca de aici înainte să fotometrăm această probă abia după 90 de minute. Calculând procentul de methemoglobină formată cu ajutorul extincției maxime (100%) și a extincției la timpul respectiv de incubare, se și poate face o apreciere asupra unuia dintre factorii ce influențează sensibilitatea hemoglobinei față de agenții methemoglobino-formatori.

Hemoglobina, din proba animalelor, se transformă în diverse momente experimentale în proporție diferită în methemoglobină (această comportare fiind cel mai bine evidențiată la 10 minute), probabil datorită activității variate a sistemului enzimatic reducător, responsabil de transformarea methemoglobinei în hemoglobină și în eritrocitul intact, sistem enzimatic care după cum am arătat, acționează cu ajutorul NADH-ului furnizat de glicoză intraeritrocitară.

Calculând sensibilitatea după formula folosită în metoda lui Gorn, în care se înlocuiește methemoglobina 100% obținută ca mai sus, iar methemoglobina intraeritrocitară obținută conform metodei, se poate aprecia rolul unui alt factor important pentru caracterizarea comportării hemoglobinei la acțiunea agenților methemoglobino-formatori, și anume, permeabilitatea membranei eritrocitare.

Nu putem încă să ne pronunțăm categoric asupra preponderenței vreunui din factori, dar credem că ar prezenta un interes deosebit studiile experimentale, care să lămurească importanța sistemului enzimatic amintit, cele privind intensitatea glicolizei intraeritrocitare, precum și acelea ale permeabilității eritrocitului în comportarea hemoglobinei, în prezența substanțelor methemoglobino-formatoare.

### Concluzii

Determinînd cu metoda Gorn, cu corectivele expuse anterior, nivelul sensibilității hemoglobinei cobailor la substanțele methemoglobino-formatoare — pe un lot de 30 de animale — am găsit că acesta este de  $52,9 \pm 1,22\%$  (CV 12,45).

Unii indivizi prezintă însă o sensibilitate mult crescută față de nivelul mediu, această sensibilitate mergînd pînă la valori de 76,9. Astfel, modul diferit de a reacționa la substanțele methemoglobino-formatoare are o deosebită valoare în alegerea loturilor omogene de animale pentru experiențe.

De asemenea, extrapolînd rezultatele experimentale la om, sensibilitatea anormală la acțiunea substanțelor methemoglobino-formatoare este de o reală importanță în angajarea muncitorilor la locurile de muncă, unde vin în contact cu asemenea substanțe, persoanele în cauză putînd să dea fenomene de methemoglobinemie toxică. Considerăm foarte potrivită propunerea lui Gorn, privind aplicarea metodei ca examen de laborator obligatoriu, în cadrul examenului medical pentru angajare, în aceste condiții de muncă.

Sosit la redacție: 19 iunie 1972.

### Bibliografie

1. COOPER W. C.: Arch. Environm. Hlth. (1966), 12, 522; 2. FILIPIUC M., COTRAU M.: Date privind corelația dintre  $\text{NO}_2$  din apă și methemoglobinemie. Lucrare comunicată la Filiala U.S.S.M. Iași, 1969; 3. GORN E. L.: Ghig. i Sanit. (1966), 10, 59; 4. POPESCU E. R.: Hematologia Clinică. Methemoglobina. Ed. Med. București, 1966, 137; 5. SORU E.: Methemoglobina, Biochimia medicală, Ed. Med., București, 1959, vol. I, 33.

