

CERCETARI ASUPRA ACTIVITĂȚII CATALAZEI ȘI GLUCOZO-6-FOSFAT-DEHIDROGENAZEI ÎN ANEMIA FERIPRIVA EXPERIMENTALĂ LA COBAI

V. Bota, Iulia Kovács, Alexandrina Oșan, I. Măthé, Mărioara Țambrea

Anemia hipocromă se caracterizează prin scăderea neproportională a numărului de eritrocite și a cantității de hemoglobină. Sinteza redusă de hemoglobină este datorată scăderii cantității de fier și determină o încărcare redusă absolută și procentuală de pigment pe eritrocit micșorînd astfel valoarea globulară. În cazuri grave hemoglobina poate scădea la valori sub 4 g 100 ml sînge și este însoțită și de scăderea indicelui de saturare a transferinei. Examenle biochimice relevă: scăderea valorilor fierului plasmatic, scăderea concentrației mioglobinei și citocromului C, mai ales în mușchii scheletali și în mucoasa intestinală.

Unele cercetări indică modificări în activitatea unor enzime: catalaza, enzime glicolitice, transaminaze, monoaminoxidaza (1, 2, 3). Contrar unor opinii admise pînă recent, unele hemenzime ca citocromii și catalaza pot prezenta în carențele de fier reduceri cantitative în mușchii scheletali, mucoasa intestinală, creier, miocard, ficat și rinichi (1, 4). Scăderea activității catalazei hepatice a fost semnalată în cursul deficitelor experimentale de cupru, iar scăderea activității catalazice a hematiilor în deficitul de fier.

În asigurarea supraviețuirii eritrocitului alături de glutation, peroxidază și catalază un rol important îl deține glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza (G-6-PDH) (5, 6, 7, 8, 9).

Rezultatele discordante la care au ajuns cercetătorii în ceea ce privește activitatea catalazei și a G-6-PDH în deficitul experimental de fier ne-au determinat să cercetăm activitatea acestor enzime în singele și ficatul cobailor, care au fost hrăniți timp de 4 săptămîni cu alimente sărace în fier și la cobai care au fost alimentați ca și precedenții, dar care au fost tratați în paralel cu un sirop obținut din extracte vegetale și îmbogățit în Fe II și acid ascorbic.

Material și metodă

S-au efectuat experiențe pe un lot de 24 cobai masculi, cu greutate medie de 680 g, împărțiți în 3 grupe. O grupă de 8 animale a servit drept martor pentru determinarea valorilor normale ale catalazei sanguine și hepatice și a G-6-PDH eritrocitare. A doua grupă de 8 cobai a fost hrănită timp de 4 săptămîni cu alimente sărace în fier, cu scopul de a se provoca anemie feriprivă. Animalele au fost hrănite zilnic cu o pastă umedă obținută din 50 g lapte praf degresat și 25 g făină de orez în care s-au incorporat 20 mg acid ascorbic. A treia grupă a fost hrănită la fel ca a doua, primind în plus zilnic prin sondă un sirop obținut din extracte vegetale și îmbogățit cu Fe II și acid ascorbic. Cantitatea de sirop administrată a fost corespunzătoare la un conținut de 5 mg Fe II/kg corp.

La sfârșitul acestei perioade animalele au fost sacrificate prin secționarea venei jugulare. Din sângele recoltat pe heparină s-a determinat catalaza după metoda volumetrică (10) și G-6-PDH, după Richerich (7). Din ficatul proaspăt izolat s-a preparat un omogenat 10⁰ în apă distilată utilizând un omogenizator cu cuțite, la o turație de 3000 rot. min., timp de 10 minute. În omogenat s-a determinat activitatea catalazei după diluarea a 20^{ul} omogenat la 20 ml apă.

Rezultate și discuții

Rezultatele experimentale obținute la determinarea activității catalazei din sânge și rezultatele calculului statistic (testul t), sînt cuprinse în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Nr. crt.	Cifra catalazică mg H ₂ O ₂ / μ l sânge 30'		
	Animale martor	Animale ținute la regim sărac în fier	Animale ținute la regim sărac în fier tratate cu sirop cu Fe II
1	12,80	9,97	12,50
2	12,94	8,14	11,70
3	13,94	7,65	12,78
4	10,10	6,83	11,84
5	12,45	8,00	11,97
6	12,97	6,67	12,60
7	12,77	7,50	10,58
8	11,60	9,00	10,70
Valori medii	12,35 ± 0,6	7,97 ± 1,09	11,83 ± 0,77
Diferența procentuală față de animalele ținute la regim sărac în fier tratate cu sirop Fe II	+4,22 p < 0,1	-35,47 p < 0,001	+48,43 p < 0,001

Tabelul nr. 2 cuprinde rezultatele experimentale obținute la determinarea activității catalazei din omogenizat de ficat.

Din examinarea datelor experimentale expuse în tabelele nr. 1 și 2 rezultă că activitatea catalazei eritrocitare și hepatică este scăzută la animalele ținute la regim sărac în fier. Scăderea activității catalazei cu peste 35⁰ are o înaltă semnificație statistică (p < 0,001), calculat prin testul

Nr. crt.	Cifra catalazică g H ₂ O ₂ / g ficat / 30'		
	Animale martor	Animale ținute la regim sărac în fier	Animale ținute la regim sărac în fier tratate cu sirop cu Fe II
1	199,0	103,3	117,0
2	159,0	95,0	110,5
3	200,0	77,4	114,4
4	150,3	94,7	109,2
5	161,0	75,1	129,2
6	136,0	102,4	115,6
	Val. medie 167,55 ± 2,62	Val. medie 91,3 ± 2,47	Val. medie 115,98 ± 6,49

Diferența procentuală față de animalele ținute la regim sărac în fier tratate cu sirop cu Fe II

+ 30,78% p < 0,001

Diferența procentuală față de animalele martor

- 44,51%
p < 0,001

Diferența procentuală față de animalele ținute la regim sărac în fier

+ 27,08%
p < 0,001

t, în timp ce la animalele tratate cu sirop îmbogățit în fier scăderea este numai de 4%₀. Diferența procentuală între animalele tratate și cele carentiate este de +48%₀.

Activitatea catalazei hepatice prezintă o scădere mai marcată. La animalele carentiate diferența este de 44,5%₀. În cazul animalelor tratate cu fier diferența este de numai 30%₀ față de animalele martor.

Glucozo-6-P-dehidrogenaza eritrocitară arată o activitate crescută la animalele carentiate, comparativ cu animalele martor și cele tratate cu fier. Creșterea activității la animalele carentiate este de +61,64%₀. La animalele tratate în paralel cu sirop îmbogățit cu Fe II diferența activității glucozo-6-P-PDH față de animalele martor este de numai 9,31.

Catalaza (EC.1.11.1.6) joacă rolul unei peroxidaze specifice și coexistă în peroxizomi cu enzime producătoare de H₂O₂ (D-aminoacidoxidaza, uricaza). În eritrocite exercită o funcție de apărare întocmai ca și glutationperoxidaza pentru hemoglobină și proteine enzimatică cu funcții SH (hexochinazo-glucozo-6-P-dehidrogenaza, glutationreductaza). Cu cât activitatea catalazică a eritrocitelor este mai scăzută, cu atât mai repede se formează methemoglobina sub acțiunea agenților oxidanți (apă oxigenată și alți agenți oxidanți) (11).

G-6-PDH (EC.1.1.1.49) este implicată în metabolismul eritrocitelor prin rolul pe care îl are în producerea de NADPH+H⁺ în ciclul pentozofosfaților.

Tabelul nr. 3

Nr. crt.	Glucozo-6 P — dehidrogenaza μ moli/min. ⁻¹ /g Hb		
	Animale martor	Animale ținute la regim sărac în fier	Animale ținute la regim sărac în fier tratate cu sirop cu Fe II
1	12,11	24,85	12,21
2	14,43	21,10	11,96
3	13,32	23,02	12,59
4	14,32	19,18	13,65
5	13,37	23,88	12,59
6	13,79	26,17	13,85
7	14,13	21,31	12,41
8	17,16	22,56	12,94
Val. medii	14,08 ± 1,47	22,76 ± 2,35	12,77 ± 0,84

Diferența față de animalele ținute la regim sărac în fier tratate cu sirop Fe II (proc.) +9,31% p < 0,01

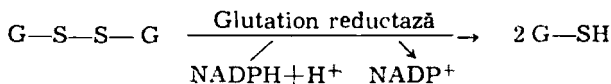
Diferența procentuală față de animalele martor +61,64% p < 0,01

Diferența procentuală față de animalele ținute la regim sărac în fier -43,9% p < 0,01

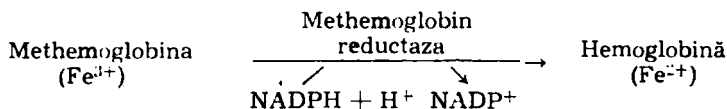
Scăderea activității catalazei eritrocitare și hepatice s-ar explica prin micșorarea sintezei feriproteineizimei datorată lipsei fierului în hrană.

Creșterea activității G-6-PDH dehidrogenazei eritrocitare la animalele carentiate la care s-a constatat scăderea activității catalazei s-ar putea explica prin intensificarea activității ciclului pentozofosfaților.

Creșterea producției de glutation redus (G-SH) în reacția specific eritrocitară :



are ca urmare o intensificare a activității G-6-PDH pentru a se realiza $\text{NADPH} + H^+$. $\text{NADPH} + H^+$ este necesar și reacției catalizate de methemoglobinreductază care se opune oxidării hemoglobinei la methemoglobină.



În acest fel deficitul de catalază observat la animalele carentiate, care are rol de a descompune H_2O_2 toxică și de a preveni oxidarea Fe^{2+} la Fe^{3+} ar fi suplinit de creșterea activității methemoglobinreductazei. Cercetări întreprinse de Jacob și colab. (12) pe familii acatalazice au arătat intensificarea ciclului pentozofosfaților la acestea. Scăderea activității catalazei concomitent cu scăderea G-6-PDH ar afecta serios supraviețuirea eritrocitelor.

Faptul că la animalele hrănite cu alimente sărace în fier și tratate cu sirop de fier II scăderea activității catalazei hepatice și eritrocitare este foarte mică, comparativ cu cea determinată la animalele martor, demonstrează că acest sirop, pe lângă efectul hematoformator demonstrat (13), are și rol de a furniza fierul necesar sintezei de hemenzime cum este catalaza și de a stimula activitatea unor enzime implicate în metabolismul energetic, G-6-PDH.

Bibliografie

1. *Dallman P. R.*: Iron Biochemistry and Medicine. Academic Press, London—New York, 1974, 437; 2. *Veveřa V.*: Fiziopatologia și clinica fierului. Ed. medicală, București, 1978, 165; 3. *Symes A. L., Missala K., Sorkes T. L.*: Science (1971), 147, 153; 4. *Mac Dougal L. G.*: J. Pediat. (1972), 80, 775; 5. *Cohen G., Hochstein P.*: Science (1961), 134, 3492, 1956; 6. *Cohen G., Hochstein P.*: Biochemistry (1964), 3, 895; 7. *Richterich R.*: Chimie Clinique Théorique et Pratique. Ed. Doin, Paris, 1967; 8. *Tönz O., Betke K.*: Klin. Wschr. (1962), 40, 649; 9. *Teodorescu Exacru I.*: Patologie biochimică. Ed. medicală, București, 1974, 1066; 10. *Nuță Gh., Bușneag G.*: Investigații biochimice. Ed. did. și ped. București, 1977, 252; 11. *Bergmeyer H. U.*: Methoden der enzymatischen analyse. Band I, 2 Auflage. Akademik Verlag, Berlin, 1970, 599; 12. *Jacob H. S., Ingbar S. H., Jandl J. H.*: J. Clin. Invest. (1965), 44, 7, 1187; 13. *Bota V., Măthé I., Oșan A., Kovács I.*: Cercetări asupra efectului hematoformator al unor siropuri obținute din fructe sau extracte vegetale îmbogățite în Fe II și acid ascorbic. Lucrare prezentată la Congresul Național de Farmacie, București, 1979.

Sosit la redacție : 13 iunie 1983

V. Bota, Iulia Kovacs, Alexandrina Oșan, I. Măthé, Marioara Țambrea

RESEARCH ON THE ACTIVITY OF CATALASE AND GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE IN EXPERIMENTAL HYPOFERRAEMIC ANAEMIA OF GUINEA PIGS

The activity of catalase, as well as that of the erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase has been studied in the blood and liver homogenates of guinea pigs, in order to determine how they are influenced by hypoferraemic anaemia.

The researches were carried out by using three groups of animals: a control group and two groups affected by anaemia, having been fed for four weeks with food containing little Fe II ions. One of these two groups received per os a vegetal syrup rich in Fe II and ascorbic acid. After determining the activity of enzymes for all groups of animals, the data showed differences between the groups characteristic for hypoferraemic anaemia: the diminution of the activity

of the blood and liver catalase and the increase of the erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase.

In the group of animals which received the syrup with Fe II at the same time, the values showing the activity of the enzymes mentioned before remained nearly the same as those determined in the control group.
