

MODIFICAREA ACTIVITĂȚII CATALAZEI SANGUINE LA ȘOBOLANII INOCULAȚI CU TUMORI

Ă. Csontos, L. Nüszl

Catalaza face parte din grupa heminproteinelor. Importanța ei biologică este numai parțial cunoscută (8). Catalaza, împreună cu peroxidaza iau parte la descompunerea peroxidilor de hidrogen. Având în vedere, că structura și acțiunea celor două enzime sînt asemănătoare, Theorell (6) propune să le numim hidroperoxidaze.

Cunoaștem numai un număr restrîns de publicații, care se ocupă cu modificările activității catalazei sanguine în condiții patologice. Bingold, Bach și Zubkova (1, 2, 9) și alții (5, 7) ne informează despre scăderea activității acestei enzime în anemiile hipochrome, în tuberculoză și în stări de cașexie, iar asupra creșterii ei în anemia pernicioasă. În cadrul cercetărilor noastre anterioare, am constatat* că în boala canceroasă, activitatea catalazei sanguine crește și manifestă scădere numai în faza de cașexie.

R. Abderhalden (1) a atras atenția asupra modificării activității enzimatice prin introducerea în organism a unor substanțe cu efect asupra anumitor grupări chimice din structura enzimelor. Bazați pe aceste constatări, am analizat acțiunea fierului, administrat per os, asupra activității catalazei sanguine. La sănătoși, administrarea fierului nu modifică activitatea catalazică; în schimb tratamentul cu fier, la bolnavii cu anemie hipocromă, a indus o creștere a activității enzimatice, iar la bolnavii canceroși o scădere**. Această scădere a activității enzimatice poate să fie și rezultatul activării mecanismelor de inhibare (2).

Pentru completarea cercetărilor la om, s-au executat experimente pe animale. În literatura de specialitate, nu am găsit date referitoare la activitatea catalazei sanguine la animalele de experiență sănătoase sau cu tumori.

Material și metodă

Metoda de punere în evidență a catalazei sanguine

Activitatea catalazei sanguine a fost dozată cu ajutorul metodei lui Bach și Zubkova (9) modificată de noi. Principiul metodei constă în incubarea singelui recoltat cu peroxid de hidrogen, dozînd cantitatea nedescompusă prin titrare cu permanganat de potasiu.

* Referat prezentat la U.S.S.M. Tg.-Mureș, secția oncologică, la 21. V. 1964.

** Referat prezentat la U.S.S.M. Tg.-Mureș, secția fiziologie biochimie, la 19. VI. 1964.

Se recoltează de la șobolani, din vena cozii, 0,02 ml de sînge și se diluează cu 20 ml apă distilată la 37° C (pH 7,2—7,4). Din această diluție, se introduce cîte 1 ml (= 1/1000 ml sînge) în două eprubete, fiecare conținînd cîte 1 ml apă distilată. Pentru inactivarea enzimei se fierbe conținutul primei eprubete timp de 2—3 minute și se adaugă la ambele eprubete cîte 2 ml de peroxid de hidrogen 0,34%, proaspăt diluat. Eprubetele le ținem timp de 30 de minute în baie de apă la 37° C, apoi la fiecare eprubetă adaugăm cîte 2,5 ml acid sulfuric 10%. Cantitatea de perhidrolului nedescompus de catalază se dozează prin titrare cu permanganat de potasiu N/10. Diferența dintre consumul de permanganat de potasiu din eprubetele inactivate și din cele neinactivate reprezintă cantitatea de permanganat, care corespunde perhidrolului descompus de către catalaza sanguină (n). Dat fiind faptul că 1 ml de permanganat de potasiu N/10 corespunde cu 1,7 mg perhidrol, valoarea obținută (n) se înmulțește cu 1,7.

Activitatea catalazei sanguine = n. 1,7 mg.

Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorul metodei „t” a lui Student.

Pe baza determinărilor executate la începutul experiențelor, am calculat valorile fiziologice ale activității catalazei sanguine la șobolani. În cadrul experiențelor, am analizat ulterior modificarea activității catalazice la șobolani grefați cu tumori. În acest scop două loturi a cîte 10 șobolani au fost grefate cu sarcomul Jensen (J—25 passage) și respectiv cu sarcomul K₁. Activitatea catalazei sanguine a fost determinată săptămînal. Unui alt lot de 10 șobolani li s-a administrat subcutanat o suspensie de celule hepatice, pentru a urmări dacă intervenția sau suspensia de celule însăși provoacă sau nu vreo modificare în activitatea catalazei sanguine.

În continuare, am urmărit acțiunea fierului asupra catalazei sanguine. În acest scop, am administrat zilnic, prin sondă, la 20 de șobolani cîte 0,5 mg, iar la 15 șobolani cîte 5 mg sulfat de fier oxidat. 25 de șobolani au fost ținuți în condiții asemănătoare cu o hrană mixtă, netratați cu fier. După 4 săptămîni, animalele ambelor loturi au fost inoculate cu sarcomul K₁ fără a întrerupe tratamentul cu fier. Activitatea catalazei sanguine am dozat-o săptămînal.

Organele interne ale șobolanilor ca: inima, ficatul, splina, rinichii, stomacul, duodenul și tumoarea au fost examinate și histopatologic. După includere în parafină — prezența fierului depozitat a fost pusă în evidență prin metoda cu albastru de Prusia.

Rezultate

Creșterea sarcomului Jensen a fost rapidă, așa încît la sfîrșitul săptămîinii a 3-a, 40% din animale au sucombat. Dezvoltarea sarcomului K₁ a fost mai lentă, dînd posibilitatea unei mai îndelungate observări a modificărilor activității catalazice. Decesul în număr crescut a început abia în a 6-a săptămîină.

În tabelul nr. 1 prezentăm variațiile medii ale catalazemiei la șobolani, înainte și după inoculare cu cele două feluri de tumori. Totodată este calculată și probabilitatea (P) semnificației diferenței dintre valorile medii înainte și după inoculare.

Activitatea catalazei sanguine crește foarte semnificativ numai după prima săptămîină de la inoculare atît cu sarcomul Jensen cît și cu sarcomul K₁. Această creștere se menține încă două săptămîni în cazul sarcomului K₁, dar nu și în cazul sarcomului Jensen. La interpretarea acestui fenomen, credem, că trebuie să ținem seama de gradul de cașexie foarte accentuată, care la sarcomul Jensen apare mult mai timpuriu.

La animalele inoculate cu homogenizat de ficat, catalazemia nu s-a modificat semnificativ față de grupa de control.

Sub acțiunea tratamentului cu fier, modificările obținute în activitatea catalazei sanguine sînt redate în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 1.

Durata experienței în săptămâni	Catalazemia în raport cu tumoarea inoculată					
	Sarcomul Jensen			Sarcomul K ₁		
	Media mg	Dev. mg±	P	Media mg	Dev. mg±	P
Valori inițiale: După inoculare:	3,01	±0,05	—	3,03	±0,05	—
la 1 săptămână.	3,81	±0,05	<0,001	3,92	±0,01	< 0,001
la 2 săpt.	3,27	±0,03	0,1	3,90	±0,01	< 0,001
la 3 săpt.	3,06	±0,05	0,4	3,52	±0,05	< 0,001
la 4 săpt.	2,96	±0,02	0,4	3,28	±0,05	0,1

Tabelul nr. 2.

Durata experienței în săptămâni.	Valorile medii, probabilitatea semnificației diferenței catalazemiei la șobolanii inoculați, netratați și tratați cu diferite doze de fier							
	Lotul de control (A)		Lotul care primește 0,5 mg fier (B)		P (B—A)	Lotul care (C) primește 5 mg fier		P (C—A)
	M. mg	Dev. ±	M. mg	Dev. ±		M. mg.	Dev. ±	
Valori inițiale:	3,01	0,06	3,00	0,05	—	3,07	0,02	—
1. săpt.	3,04	0,05	3,44	0,02	< 0,001	3,71	0,03	< 0,001
2. săpt.	3,02	0,05	3,34	0,05	< 0,001	2,95	0,03	> 0,3
3. săpt.	3,05	0,02	3,20	0,03	> 0,2	2,74	0,05	> 0,1
4. săpt.	3,03	0,02	3,13	0,05	> 0,5	2,18	0,02	< 0,001
5. săpt.	3,81	0,05	3,49	0,02	< 0,001	3,22	0,03	< 0,001
6. săpt.	3,27	0,05	3,06	0,03	> 0,2	3,25	0,02	> 0,5
7. săpt.	3,06	0,02	3,03	0,03	> 0,6	3,23	0,03	> 0,1
8. săpt.	2,96	0,02	2,85	0,02	> 0,3	3,14	0,05	> 0,1

Administruind zilnic 0,5 mg de fier, activitatea catalazei sanguine crește semnificativ (statistic) timp de 2 săptămâni. Inoculind tumori la același lot am obținut după 7 zile o creștere semnificativă în activitatea catalazei sanguine. Lotul ce primește zilnic 5 mg de fier prezintă o creștere netă a activității enzimatică, după prima săptămână de tratament, iar după aceea activitatea catalazei scade treptat și abia după 4 săptămâni de tratament, aceasta scădere devine importantă. Tumoarea asociată cu 5 mg Fe zilnic, la fel produce o creștere semnificativă în activitatea enzimatică, numai în prima săptămână.

După inocularea tumorii la lotul martor, activitatea catalazei sanguine a crescut semnificativ. La animalele care au primit zilnic fier aceasta creștere în activitate nu a atins valorile observate la martori. (Fig. nr. 1.)

La grupa animalelor tratate cu 0,5 mg fier, la care activitatea catalazei a crescut, tumoarea nu s-a dezvoltat. În schimb la animalele cu o activitate scăzută tumorile s-au dezvoltat atingând dimensiuni mari. (Fig. nr. 2.)

La lotul care primește zilnic 5 mg fier, tumoarea s-a dezvoltat la fiecare animal de experiență, atingând mărimi diferite. La animalele cu o activitate catalazică scăzută creșterea tumorilor a fost rapidă. (Fig. nr. 3.)

La martori, numai în splină am putut pune în evidență fier. După tratamentul cu fier am găsit o cantitate variată de fier în splină, ficat, rinichi, stomac, duoden și în țesutul tumoral.

Discuții

La șobolanii sănătoși activitatea catalazei sanguine are valori destul de constante. După grefarea sarcoamelor, activitatea catalazei sanguine prezintă o creștere și numai în ultima etapă a creșterii tumorale am putut constata scăderea ei.

În cercetările anterioare, urmărind activitatea catalazei sanguine la bolnavii canceroși am constatat valori crescute. Prin urmare, experiențele pe șobolani au confirmat rezultatele obținute la oameni.

În ultimul stadiu al bolii canceroase, în faza de cașexie, scăderea activității enzimatică a fost asemănătoare atât la oameni, cât și la animalele de experiență. Între fazele bolii canceroase și activitatea catalazei sanguine pare să fie o legătură. Pe de altă parte, suspensia de celule hepatice de la animalele sănătoase nu modifică activitatea catalazei sanguine. Probabil că determinarea activității catalazei sanguine ca o metodă simplă de laborator, este utilă în depistarea și în urmărirea evoluției imbolnăvirilor canceroase. Această problemă necesită extinderea cercetărilor, pentru a putea stabili în ce măsură comportarea catalazei sanguine este caracteristică pentru boala canceroasă.

Datele din literatură (*Euler*, 3) demonstrează faptul, că tumorile dispun de cantități foarte scăzute de catalază, prin urmare creșterea activității ei nu poate fi rezultatul eliberării enzimei din tumoare. Mult mai verosimilă ne pare presupunerea că din tumoare se eliberează anumite substanțe care activează catalaza sanguină, sau frânează substanțele inhibitoare. Rezultatele nu pot fi interpretate nici prin modificarea numărului hematiilor, deoarece în boala canceroasă crește nu numai activitatea catalazei sanguine, dar și indexul de catalază, adică raportul catalază/numărul hematiilor.

Experiențele dovedesc că administrarea perorală a fierului duce la creșterea activității catalazei sanguine, fapt observat și la oameni. 0,5 mg de fier au un efect pozitiv asupra activității catalazei sanguine, în schimb doza de 5 mg fier după o perioadă inițială de activare duce la scăderea activității enzimatică.

Menționăm că efectul feroterapiei asupra activității catalazei sanguine nu poate fi interpretat numai pe baza descompunerii perhidrolului. În urma unei resorbții de fier crescute trebuie să fie luat în considerare și faptul că aceasta poate să reprezinte o creștere a activității celorlalte hemenzime (peroxidaze etc., 4).

Datele histochimice dovedesc însă că în urma administrării diferitelor doze de fier, celulele reticulo-histiocitare, rinichii, mucoasa stomacală și duodenală, precum și substanța tumorală au depozitate o cantitate sporită de fier. S-a găsit și o legătură oarecare între activitatea catalazei sanguine și creșterea tumorii în urma tratamentului cu fier. Când activitatea enzimatică s-a menținut la un nivel înalt, tumoarea inoculată nu s-a dezvoltat, în schimb când activitatea enzimatică nu s-a modificat în urma tratamentului cu fier sau a prezentat o scădere, tumoarea s-a dezvoltat în fiecare caz. Acest fenomen pledează în favoarea faptului că, activitatea catalazei sanguine poate avea un rol de apărare în procesul tumoral.

În concluzie, putem constata că activitatea catalazei sanguine la șobolanii canceroși prezintă o creștere și numai în ultima fază a procesului tumoral scade. O mică cantitate de fier provoacă o creștere de lungă durată, în schimb o cantitate mare de fier, după o creștere inițială, provoacă scăderea activității enzimatică. Inocularea cu tumori a animalelor favorizează creșterea activității catalazei sanguine.

Pentru clarificarea relațiilor dintre activitatea enzimatică și procesul tumoral vor fi întreprinse noi cercetări.

Sosit la redacție: 13 iunie 1964.

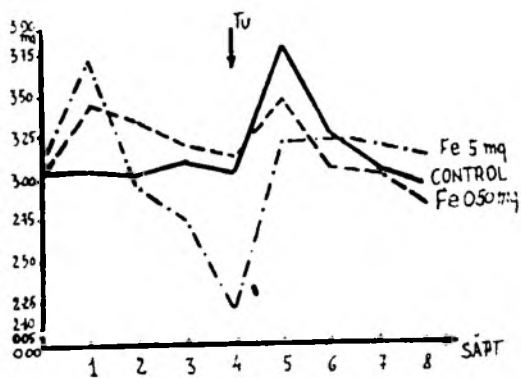


Fig. nr. 1: Activitatea catalazei sanguine la șobolani cu tumori și tratați cu fier.

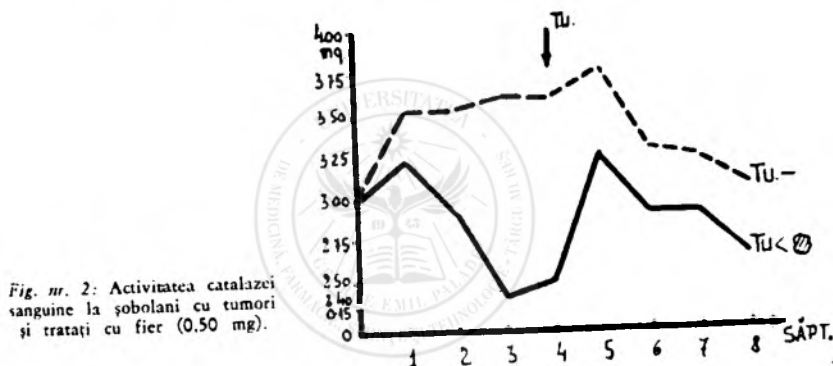


Fig. nr. 2: Activitatea catalazei sanguine la șobolani cu tumori și tratați cu fier (0.50 mg).



Fig. nr. 3: Activitatea catalazei sanguine la șobolani cu tumori și tratați cu fier (5.00 mg).

Bibliografie

1. ABDERHALDEN R.: Vitamine, Hormone, Fermente. Springer (1953);
2. RÜCHNER FR.: Der Stoffwechsel. Handb. allg. Path. Springer Verl. (1955);
3. EULER H.: Chemie der Enzyme (Kap. die Katalasen) München Verl. Gergmann (1934), Band. II/3;
4. E. R. POPESCU: Fiziopatologia fierului. Anemiile hipocrome. E. M. (1958);
5. MICU D., ȘTEFANIA MAXIMILIAN, EUGENIA MIHĂILESCU: Medicina Internă (1963), nr. 1;
6. SORU E.: Biochimie Medicală (1962), vol. I. II;
7. TAKAHARA S.: Klin. Wochenschrift (1962), 40, 4, 222;
8. WIESNER K.: Experientia (1962), 18, 3115;
9. ZBORSZKIJ N. SZOLNEEV: Biokémiai gyakorlatok (1950);