

Disciplina de biochimie — chimie sanitară (cond.: prof. dr. V. Bota,
doctor în chimie) a I.M.F. din Tîrgu-Mureş

INFLUENŢA UNUI SIROP CU Fe^{2+} ASUPRA MODIFICĂRILOR PRODUSE DE FENILBUTAZONA ÎN METABOLISMUL UNOR ENZIME ŞI ELECTROLIŢI

V. Bota, Alexandrina Oşan, Iulia Kovács, I. Máthé,
Mărioara Țambrea

Fenilbutazona este un derivat al pirazolidin 3,5-dionei folosit ca anti-inflamator nesteroidic în poliartrita reumatoidă și în alte afecțiuni reumatice inflamatoare. Proprietățile antiinflamatoare s-au dovedit utile și în criza gutoaasă. Prezintă acțiune analgezică și antipiretică cu eficacitate mai slabă, iar toxicitatea fenilbutazonei face să nu fie întrebuințată în durerile de altă natură decât cea reumatoidă, nici în stările febrile (1).

Toxicitatea fenilbutazonei interesează îndeosebi singele și măduva osoasă hematogenă, rinichiul, ficatul, metabolismul apei și al electroliților, pielea și alte structuri (2).

Datorită faptului că toxicitatea fenilbutazonei interesează îndeosebi singele, măduva osoasă, rinichii, ficatul și produce fenomenul de inducție enzimatică ne-am propus să cercetăm activitatea unor enzime sangvine și hepatice, variația sodiului și a potasiului seric la cobaii care au fost tratați oral cu fenilbutazonă.

Deoarece poliartrita reumatoidă este foarte adesea însoțită de anemie (3, 4, 5, 6), este indicat ca alături de tratamentul ei specific să se

administreze și preparate cu fier (7, 8, 9). De aceea s-a urmărit în ce măsură administrarea o dată cu fenilbutazonă a unui sirop cu Fe^{2+} a influențat activitatea enzimatică și metabolismul sodiului și al potasiului seric.

Material și metodă

Experiențele s-au efectuat pe loturi de câte 8 cobai, cu greutate medie de 630 g.

Lotul I, format din 8 cobai, a servit drept martor.

Lotul II a fost tratat zilnic cu fenilbutazonă în concentrație de 3 mg/kilocorp, timp de 4 săptămâni. Fenilbutazona a fost administrată per os sub forma unei suspensii într-un sirop de zaharoză.

Lotul III a fost tratat ca și precedentul, primind în plus zilnic un sirop cu fier divalent (Ferobot), în cantitate de 7 mg Fe^{2+} /kilocorp.

După 4 săptămâni de tratament, animalele au fost sacrificate prin secționarea venei jugulare, iar sângele s-a recoltat pe heparină.

Din sânge s-a determinat hemoglobina ca cianmethemoglobină și activitatea catalazei prin metoda volumetrică (10). Din eritrocite s-a determinat activitatea glucozo-6-fosfat dehidrogenazei (11), iar din ser activitatea transaminazelor GOT și GPT (10), sodiul și potasiul după diluare cu apă deionizată prin metoda flamfotometrică (aparatură Flapho-4K-Zeiss Jena).

Din ficatul proaspăt recoltat s-a preparat un omogenat 20% în apă distilată, din care s-a determinat activitatea catalazei și a transaminazelor.

Rezultatele experimentale au fost evaluate statistic prin testul „t” al lui Student, ele fiind considerate semnificative dacă $p \leq 0,05$.

Rezultate și discuții

În tabelul nr. 1 sînt prezentate comparativ rezultatele experimentale obținute la determinarea hemoglobinei și a catalazei sanguine și hepatice.

Tabelul nr. 1

Parametrii determinați	Lot martor	Lot tratat cu Phb	Diferența față de lotul martor	Lot tratat cu Phb + Fe^{2+}	Diferența față de lot martor	Diferența dintre lotul tratat cu Phb față de cel tratat cu Phb + Fe^{2+}
Cifra catalazică mg $\text{H}_2\text{O}_2/\mu\text{l}$ sânge	12,35 $\pm 0,6$	11,11 $\pm 3,0$	-10,04% _n $p > 0,1$	11,05 $\pm 2,23$	-10,52% _n $p > 0,1$	0,54% _n $p > 0,1$
Activitatea catalazică g $\text{H}_2\text{O}_2/\text{g}$ ficat	167,55 $\pm 2,62$	99,82 $\pm 1,368$	-40,42% _n $p < 0,001$	124,93 $\pm 2,5$	-25,43% _n $p < 0,001$	-25,15% _n $p < 0,01$
Hb g % _n	13,17 $\pm 0,68$	6,84 $\pm 0,70$	-48,06% _n $p < 0,001$	8,09 $\pm 0,65$	-38,57% _n $p < 0,001$	-18,27% _n $p < 0,01$

Administrarea de fenilbutazonă la cobai a avut ca urmare o scădere semnificativă cu 48⁰/₀ a hemoglobinei, iar la animalele care în paralel au primit Fe²⁺ scăderea a fost mai mică, de 38⁰/₀ față de lotul martor.

Anemia semnalată sub acțiunea fenilbutazonei poate să fie o expresie a inhibiției eritropoezei sau hemodiluției. Administrarea siropului cu Fe²⁺ a avut un efect protector asupra sistemului hematoformator.

Activitatea catalazei sangvine nu a prezentat modificări semnificative după tratamentul cu fenilbutazonă, respectiv fenilbutazonă și fier. În omogenatul de ficat la animalele tratate cu fenilbutazonă s-a constatat o scădere semnificativă cu 40⁰/₀ a activității catalazei, iar la animalele care au primit și fier scăderea a fost de numai 25⁰/₀. Siropul a avut proprietatea de a proteja catalaza hepatică, menținind la valori mai ridicate activitatea față de cea determinată la animalele tratate numai cu fenilbutazonă.

Tratamentul cu fenilbutazonă nu a modificat activitatea catalazei eritrocitare, ceea ce presupune că aceasta nu a alterat sistemele protectoare ale hemoglobinei existente în hematii, formate din glutat-ion-glutatio-n peroxidază, catalază și superoxid dismutază. Catalaza hepatică este legată structural de peroxizomi. Scăderea activității ei arată că fenilbutazona nu a avut efect de inducere ci de reducere a sintezei, respectiv de creștere a ratei de distrugere. Este posibil ca la animalele tratate cu fier, metabolizarea fenilbutazonei prin sistemul transportor de electroni microzomal (NADPH-citocrom P₄₅₀), în compoziția căruia intră și fier, să fie accelerată iar inhibarea catalazei astfel redusă.

Menționăm că unele cercetări arată că fenilbutazona produce și o decuplare a fosforilării oxidative (12) și inhibă resorbția unor aminoacizi (13, 14).

Scăderea activității catalazice a hematiilor a fost semnalată în deficitul de fier (15). Cercetările noastre anterioare au arătat că la cobai ținuți la regim sărac în fier are loc o scădere a activității catalazei sangvine și hepatice și a glucozo-6-fosfat dehidrogenazei, iar administrarea de Fe²⁺ pe cale orală micșorează procentul scăderii activității comparativ cu cea observată la animalele martor (16).

Activitatea transaminazelor serice (GOT și GPT) este prezentată în tabelul nr. 2.

În serul ambelor loturi tratate, activitatea transaminazelor GOT și GPT crește semnificativ, față de lotul martor, iar în ficat crește semnificativ numai activitatea GOT.

Gradientul hepatoseric pentru loturile tratate scade comparativ cu cel calculat la lotul martor, dar scăderea este mai mică la animalele care au primit și Fe²⁺.

Urmărind activitatea transaminazelor serice se observă că deși diferențele dintre loturile tratate sînt nesemnificative, totuși față de lotul martor, la animalele tratate cu fenilbutazonă și fier creșterea activității GPT este mai mică (+140⁰/₀), în timp ce la lotul tratat numai cu fenilbutazonă creșterea este mai mare (+243⁰/₀), ceea ce duce la scăderea raportului De Ritis de la 1,38 la lotul martor la 1,09 la lotul tratat cu fenilbutazonă, iar la animalele tratate și cu Fe²⁺ valoarea raportului De Ritis rămîne aproape de a lotului martor (1,41). Aceasta

Tabelul nr. 2

	Lot martor	Lot tratat cu Phb	Dif. față de lotul martor " "	Lot tratat cu Phb + Fe ²⁺	Dif. față de lotul martor " "	Dif. dintre lotul tratat cu Phb + Fe ²⁺ față de cel tratat cu Phb % ₀
GOT UI ser	13,42 ± 2,21	35,14 ± 2,93	+161,84 p<0,001	32,99 ± 6,61	+145,82 p<0,001	- 6,11 p<0,1
GPT UI ser	9,71 ± 1,31	32,22 ± 11,82	+231,82 p<0,001	23,38 ± 5,20	+140,78 p<0,001	-27,43 p<0,1
Rap. De Ritis	1,38	1,00	—	1,41	—	—
GOT UI omog.	1211,67 ± 70,58	1560,04 ± 192,75	+28,75 p<0,001	1738,10 ± 169,95	+43,44 p<0,1	+11,41 p<0,1
GPT UI omog.	441,25 ± 45,1	452,10 ± 204,2	+2,45 p<0,1	577,91 ± 178,69	+30,97 p<0,1	+27,92 p<0,1
Rap. hepato- seric — GOT — GPT	90,28 45,44	44,30 14,03	-50,89 -69,01	52,68 24,71	-41,64 -35,62	+18,67 +76,05

ne sugerează că sub acțiunea fenilbutazonei se poate produce o ușoară modificare a permeabilității hepatocitului, iar prezența Fe²⁺ contribuie la menținerea funcției de membrană.

La nivelul ficatului crește semnificativ numai activitatea GOT. Deși GOT nu participă direct la metabolizarea fenilbutazonei, se poate că inducerea ei are importanță în reacțiile de transaminare, cu rol în sinteza proteinelor și probabil a proteinenzimelor microzomale. Inducerea activității GOT în ficat poate fi explicată și prin nevoile crescute de NADPH₂ pentru oxidările microzomale cind celula consumă cantități crescute de glucoză, glicogen și chiar glutamat. Mai trebuie avut în vedere că transaminazele sînt enzime care necesită Fe²⁺ pentru activitate.

Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza prezintă o creștere semnificativă cu 158,27% față de animalele martor. Administrarea Fe²⁺ atenuază creșterea la 94,03%.

Creșterea activității glucozo-6-fosfat dehidrogenazei poate fi considerată ca rezultat al stării de anemie provocate de administrarea fenilbutazonei și este în concordanță cu rezultatele noastre anterioare obținute la animalele anemiate prin hrană lipsită de fier sau ca urmare a administrării de Pb²⁺. În aceste cazuri administrarea fierului divalent sub forma siropului Ferobot a contribuit la stimularea sintezei hemoglobinei.

Datorită faptului că fenilbutazona produce o dereglare a metabolismului hidromineral ne-am propus să cercetăm variația sodiului și potasiului în ser la cobaii tratați cu fenilbutazonă și acțiunea Fe²⁺ asupra metabolismului acestor ioni după administrare concomitentă de fenilbutazonă și sirop cu Fe²⁺.

Tabelul nr. 3

	Lot martor	Lot tratat cu Phb	Dif. față de lotul martor 0 _n	Lot tratat cu Phb + Fe ²⁺	Dif. față de lotul martor 0 _n	Dif. dintre lotul tratat cu Phb + Fe ²⁺ față de cel tratat cu Phb %
Glucozo-6-fosfat dehidrogenază μ moli/min/ g Hb	31,06 ± 2,64 p < 0,05	80,22 ± 7,91 p < 0,05	158,27 P < 0,001	60,27 ± 2,75 p < 0,05	94,05 P < 0,001	24,87 P < 0,001

Din tabelul nr. 4 se observă că sodiul prezintă o scădere ușoară la animalele tratate cu fenilbutazonă față de martor, dar nesemnificativă, iar potasiul o creștere semnificativă.

Scăderea concentrației sodiului este mai mică la animalele tratate cu Fe²⁺ iar creșterea potasiului este mai redusă.

Tabelul nr. 4

	Lot martor	Lot tratat cu Phb	Dif. față de lotul martor 0 _n	Lot tratat cu Phb + Fe ²⁺	Dif. față de lotul martor 0 _n
Na mg %	140,55 ± 3,66	129,86 ± 5,73	-7,60 p > 0,05	134,0 ± 3,37	-4,66 p > 0,05
K mg 0 _n	4,18 ± 0,28	7,44 ± 0,87	+77,93 p < 0,001	6,11 ± 0,78	+46,17 p < 0,001

Explicația dereglării metabolismului mineral ar putea fi inducția exercitată de fenilbutazonă asupra enzimelor de metabolizare a hormonilor corticosteroidi, diminuând astfel efectele lor farmacologice.

Sub acțiunea fenilbutazonei crește semnificativ concentrația potasiului și scade cea a sodiului din ser. La animalele tratate cu Fe²⁺, aceste schimbări sînt mai puțin pronunțate prezentînd o tendință spre normalizare.

Concluzii

Administrarea de Fe²⁺ în paralel cu fenilbutazonă contribuie la menținerea la valori mai ridicate a nivelului hemoglobinei față de animalele tratate numai cu medicament. De asemenea Fe²⁺ protejează activitatea catalazei hepatice, a glucozo-6-fosfat dehidrogenazei eritrocitare și menține la valori apropiate de cele normale K și Na seric.

Bibliografie

1. *Stroescu N.*: Farmacologie clinică. Ed. II, Ed. Medicală, București, 1977, 353; 2. *Mogoș Gh.*: Intoxicații acute. Diagnostic și tratament. Ed. Medicală, București, 1981, 324; 3. *Mc Crea F. C.*: An. Rheum. Dis. (1958), 17, 489; 4. *Mougan E. S., Jacox R. F.*: Arthr. and Rheum. (1964), 7, 481; 5. *Thiers H., Vignon, Morel R., Patet J.*: Rev. Rheumat. (1955), 22, 709; 6. *Seze S.*: Maladies des os et des articulations. Ed. Flammarion, Paris, 1970; 7. *Rákosfalvy Z.*: Rev. med. (1979), 1—2, 100; 8. *Lendvai M.*: Tratatamentul anemiei în poliartrita reumatoidă cu sirop „Ferobot”. Lucrare de diplomă, I.M.F. Tirgu-Mureș, 1980; 9. *Urseanu I.*: Reumatismul adulțului tînăr. Ed. Militară, București, 1978; 10. *Bergmeyer H. U.*: Methoden der enzymatischen analyses. Acad. Verlag, Berlin, 1970, vol. I și II; 11. *Tönz O., Betke K.*: Klin. Wschr. (1962), 40, 649; 12. *Ponz F., Lluch M.*: Rev. espan. Fisiol. (1968), 24, 203; 13. *Evered D. F., Randall H. G.*: Biochem. Pharm. (1962), 11, 373; 14. *Schaner I. S., Jeffrey J. J.*: Nature (1961), 140, 27; 15. *Mac Dougal L. G.*: J. Pediat. (1972), 80, 775; 16. *Bota V., Kovács Iulia, Oșan Alexandrina, Máthé J., Țambrea Mărioara*: În vol.: Al VII-lea Congres Național de Farmacie, București, 1979, Rezumatele lucrărilor, 473.

Sosit la redacție: 1 februarie 1985.

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

INFLUENCE OF A SYRUP WITH Fe^{2+} ON THE MODIFICATIONS PRODUCED BY PHENYLBUTAZONE IN THE METABOLISM OF CERTAIN ENZYMES AND ELECTROLYTES

The authors carried out investigations on influencing the activity of certain enzymes and electrolytes by phenylbutazone. It was found that after an oral treatment for four weeks in guinea pigs the activity of hepatic catalase decreased, while serum and hepatic transaminases (GOT and GPT) and erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase showed significant increases. It was also found that potassium was increased and serum sodium significantly decreased. The concomitant administration of a preparation with Fe^{2+} maintained the values of enzymes and electrolytes near those of the control animals.