

SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA

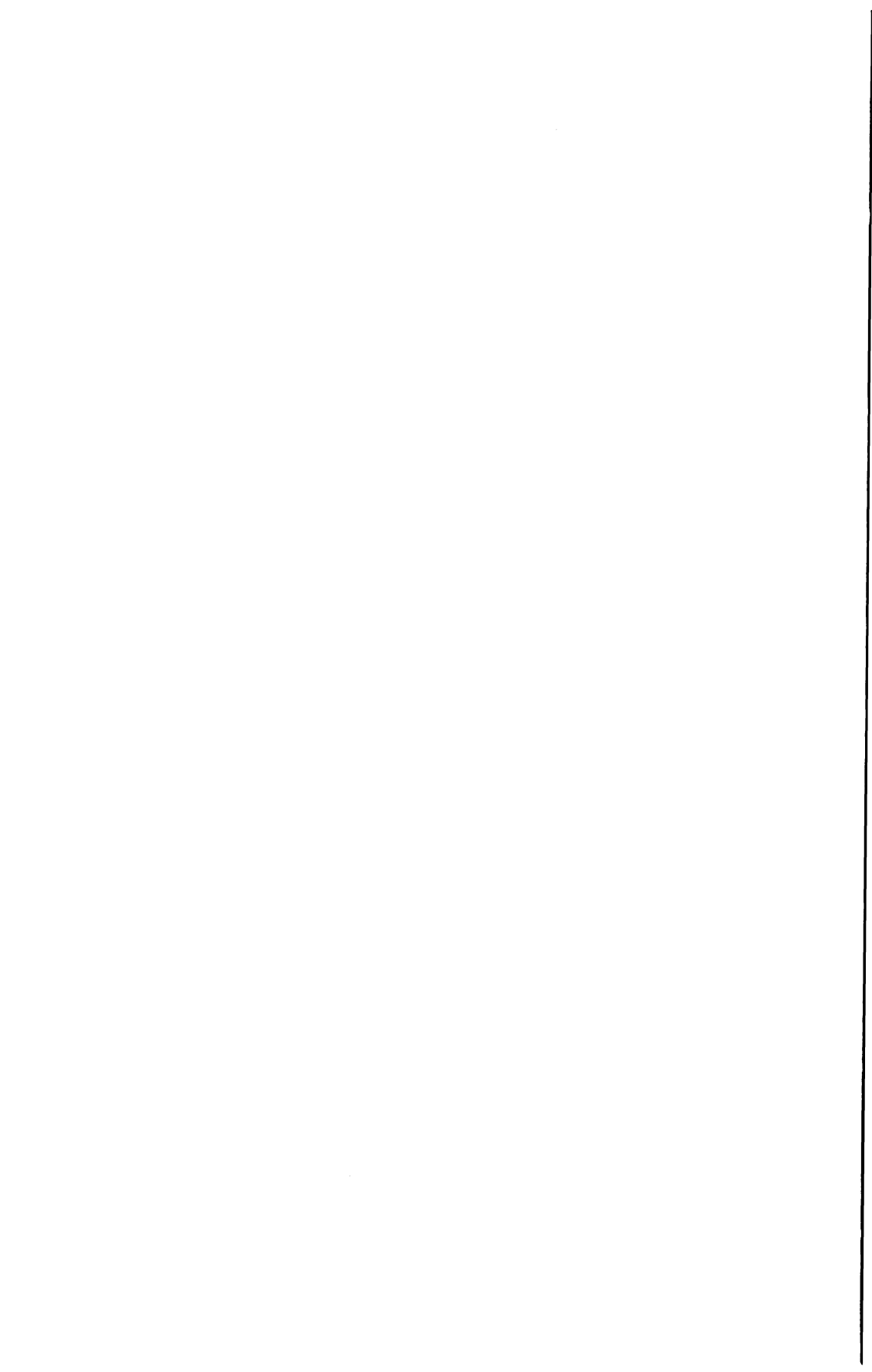
FILIAL DE L'INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

COL·LOQUIS-IV

ENZIMS

BARCELONA

1971



COL·LOQUIS
DE LA
SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA

IV
ENZIMS

This One



1PST-564-FYJP

SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA

FILIAL DE L'INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

COL·LOQUIS - IV

ENZIMS

BARCELONA

1971

AQUEST VOLUM HA ESTAT IMPRÈS
AMB LA COOPERACIÓ ECONÒMICA DE
LABORATORI FIDES (M. CUATRECASAS, S. A.)
LABORATORIS DEL DR. ESTEVE, S. A.
INFORMACIÓ MÈDICA «LETI-UQUIFA»
LABORATORI P. E. V. Y A.
LABORATORIS ROBERT, S. A.
ESPECIALITATS FARMACÈUTIQUES BIOHORM (J. URIACH I CIA., S. A.)
LABORATORIS ALMIRALL, S. A.

El dia 18 de juny de 1966 tingué lloc el quart dels colloquis de la SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA, i fou dedicat a l'estudi dels Enzims. La sessió se celebrà a Barcelona sota la presidència del Dr. JOSEP ALSINA i BOFILL.

SALUTACIÓ

Pocs capítols de la Bioquímica han resultat tan fructífers com l'Enzimologia. Les investigacions que s'hi han dut a terme en els darrers anys han donat la clau per a penetrar cada vegada més profundament en la intimitat de la fisiologia cel·lular, han fornit procediments de diagnòstic d'extrema finor i prometen mitjans terapèutics d'eficàcia especial.

Tot això justificava plenament que la SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA invités ara fa cinc anys bioquímics, fisiòlegs, farmacòlegs i clínics a fer l'inventari del que hom sabia i el que hom podia esperar dels enzims. Els textos d'aquella confrontació formen el present volum que, per motius que no cal especificar, no ha pogut sortir fins ara.

Aquest retard, però, no li lleva pas l'interès. Certament alguns dels capítols haurien d'ésser ampliat per a posar-los al dia, però com que res del que hi consta no ha estat desmentit, el valor documental resta intacte. I estic segur que els lectors aprofitaran i agrairan sincerament l'esforç de sistematització i de clarificació dut a terme pels autors dels treballs aplegats en aquest volum.

J. A. i B.

ASPECTES GENERALS

BIOQUÍMICA DELS ENZIMS

pel doctor FERRAN CALVET

Cap del Departament de Bioquímica a la Facultat de Ciències
de la Universitat de Barcelona

Aquestes paraules inicials que m'han encomanat d'adreçar-vos, volen ésser com una introducció al col·loqui que tinc l'honor i el plaer d'obrir, sense altra pretensió que la de recordar coses ben sabudes sobre els enzims, catalitzadors metabòlics presents en tots els citoplasmes cel·lulars dels organismes vivents. L'alteració dels enzims caracteritza moltes malalties, les quals seran discutides pels metges especialistes que seguiran la meua disertació. Crec que per a una millor comprensió d'aquestes malalties convé tenir ben presents les principals característiques d'aquests biocatalitzadors.

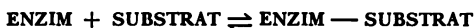
Els enzims són uns catalitzadors d'origen biològic que garanteixen que les reaccions bioquímiques tinguin lloc amb una gran eficàcia a les baixes temperatures corporals dels éssers vius (entre 0 i 45°C).

Químicament considerats, els enzims són proteïnes, és a dir, posseeixen macromolècules integrades per una concatenació d'aminoàcids —units mitjançant enllaços peptídics— d'acord amb una determinada seqüència, anomenada estructura primària de la proteïna. Moltes d'aquestes cadenes es mantenen orientades paral·lelament entre elles mitjançant enllaços transversals de cistina —ponts de sofre—, ponts d'hidrogen i forces de van der Waals, tot constituint així una fibra que sovint adopta una configuració helicoïdal, com la d'una escala de caragol. Aquesta és l'estructura secundària establerta gràcies a la interpretació dels diagrames de raigs X. Moltes d'aquestes fibres espirals es mantenen rígidament travades entre elles per forces electrostàtiques i de van der Waals, i formen una estructura filiforme (proteïnes filamentoses), a voltes entortolligada en forma de cabdell (proteïnes globulars). Aquesta estructura ternària es veu completada per l'anomenada quaternària, referent a l'associació de diferents d'aquestes estructures que ocupen situacions fixes en l'espai i constitueixen polímers de pes molecular elevat.

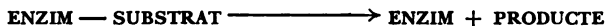
Tot això dóna idea de la complexitat de l'edifici molecular de les proteïnes, així com de llur labilitat o sensibilitat a les variacions de l'ambient físico-químic en què es troben disperses.

De la gran macromolècula proteica col·loïdal, la part més important per a l'acció catalitzadora és la zona, o zones específiques, de la seva superfície, «locus» d'activitat indispensable, que estigui lliure —no clos— perquè es pugui manifestar sense obstacle la cinètica de la reacció específica que catalitza.

L'actuació d'un enzim comença per la seva junció al substrat, formant un complex enzim-substrat, segons una reacció incompleta que respon a la llei de Guldberg i Waage de l'equilibri químic:



Després té lloc la bioreacció veritable.



L'enzim queda alliberat i en condicions de tornar-se a combinar amb una nova quantitat de substrat i de transformar-lo en el producte final del canvi bioquímic.

CARACTERÍSTIQUES D'ACTUACIÓ DELS ENZIMS

En primer lloc cal remarcar que els enzims són efectius en quantitats realment minúscules, i que actuen a dilucions tals que no permeten d'ésser reconeguts com a proteïnes, fins i tot utilitzant els reactius proteics més sensibles. L'activitat és prodigiosa, i l'enzim més potent, la catalasa, és capaç de transformar fins a tres milions de volums d'aigua oxigenada per minut i per mol d'enzim.

Els enzims no resulten transformats en la bioreacció que catalitzen, bé que amb el temps perden llur activitat perquè, com a proteïnes natives que són, es desnaturalitzen progressivament.

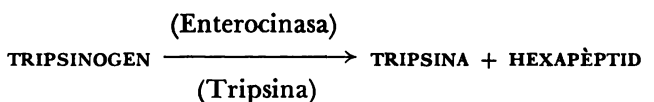
No afecten de cap manera l'equilibri final de la reacció, i solament en fan augmentar les velocitats.

En llur actuació, els enzims són específics en el sentit que cadascun actua solament sobre un cert substrat o un grup determinat de substrats afins; el clàssic símil d'Emil Fischer del pany i la clau és aplicable encara amb un sentit menys restringit, i amb certes generalitzacions.

La classificació tradicional dels enzims consistia a fer-ne dues grans agrupacions: les hidrolases (que amb les proteases, carbohidrases i esterases,

provoquen, per hidròlisi, el trencament d'enllaços C-O i C-N), i les desmolases (que per desmòlisi —òxido-reducció— catalitzen la ruptura de lligams C-C). La Comissió d'Enzims de la Unió Internacional de Bioquímica, l'any 1961, en publicà una classificació oficial en sis grups: 1. *Oxido-reductases*. 2. *Transferases* (transaminases, transaldolases, etc.). 3. *Hidrolases*. 4. *Liases* (separen agrupacions atòmiques: carboxilasa, carbònic-anhidrasa, aspartasa, etc.). 5. *Isomerases* (epimerasa, fosfohexosa-isomerasa, etcètera). 6. *Ligases o sintetases* (acoblament de dues molècules amb degradació de l'ATP: glutatio-sintetasa, pantotènic-sintetasa, etc.).

Els enzims, sovint, es troben als citoplasmes en unes formes anomenades zimògens (inactives) que es transformen ràpidament en actives una vegada segregades, com a resultat de certes accions catalítiques:



A molts enzims, per a actuar, els cal la presència i la col·laboració de determinats cofactors anomenats *coenzims*, substàncies de baix pes molecular, dialitzables, cristallitzables, i d'estructura molecular perfectament coneguda, com són les codeshidrogenases I i II (NAD i NADP, nicotín-adenín-dinucleòtid i el seu fosfat). El FMN (flavín-mononucleòtid) i el FAD (flavín-adenín-dinucleòtid). Alguns coenzims tenen caràcter vitamínic, com la cocarboxilasa o vitamina B₁ (pirofosfat de tiamina). D'altres, són inespecífics, com els ions magnèsic, manganèsic i càlcic.

Hi ha moltes substàncies que retarden o impedeixen les accions enzimàtiques. Són els anomenats inhibidors, els quals constitueixen veritables tòxics de la vida cel·lular; en són exemples ben coneguts els ions mercúric, argèntic, àuric, cianur, fluorur, iodacetat, els oxidants com el permanganat i l'aigua oxigenada, l'arsènic, el formaldehid, els raigs X i el radi.

TEMPERATURA I PH ÒPTIMS

L'activitat d'un enzim augmenta amb la temperatura. Hom admet que les reaccions químiques dupliquen aproximadament la velocitat de reacció per cada augment de 10°C. En el cas dels enzims, això és així a temperatures no massa altes: més amunt de l'escala termomètrica la proteïna es desnaturalitza i l'activitat enzimàtica minva fins a fer-se igual

a zero. Precisament un assaig senzill que permet d'esbrinar si una reacció és o no enzimàtica, consisteix a escalfar el sistema reaccionant a 100 °C durant cinc minuts; si en refredar la barreja a la temperatura original la reacció continua, hom pot assegurar que no es tracta d'una acció catalitzada per enzims. Tots els enzims es desnaturalitzen totalment a temperatures pròximes als 70°C. La majoria treballen perfectament entre 37 i 45°C.

EFFECTE DE LA TEMPERATURA

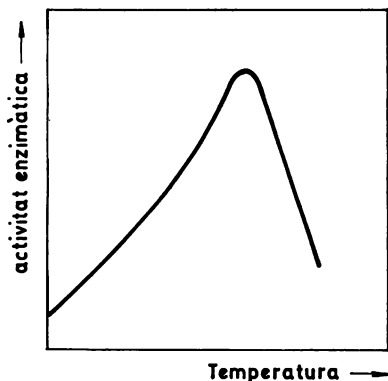


FIG. 1

Per a experimentar «in vitro» amb reaccions enzimàtiques, és imprescindible de disposar d'un bon termòstat. Únicament així, mantenint la temperatura fixada entre límits ben estrets, hom pot tenir mesures d'activitat comparables.

El concepte de temperatura òptima d'un enzim no és una bona constant del biocatalitzador. És el resultat de la combinació de dos efectes: l'augment d'activitat i la desnaturalització que en resulta en incrementar la temperatura.

Alguns enzims són més estables en presència dels seus substrats específics. Aquest fenomen segurament és degut al fet que els «loci» actius, que són les parts més sensibles de la macromolècula enzimàtica, es troben protegits per l'adherència del substrat.

INFLUÈNCIA DEL pH

Les proteïnes enzimàtiques són electròlits amfòters perquè contenen, al mateix temps, grups $-\text{COOH}$ i $-\text{NH}_2$ lliures. Prosseeixen, per tant, un punt isoelectríc o pH de solubilitat mínima. Es comprèn que exhibeixen un pH òptim, o d'activitat màxima característic, en el qual es troben dissoltes a l'estat d'anió o de catió. L'activitat específica d'un enzim varia gra-

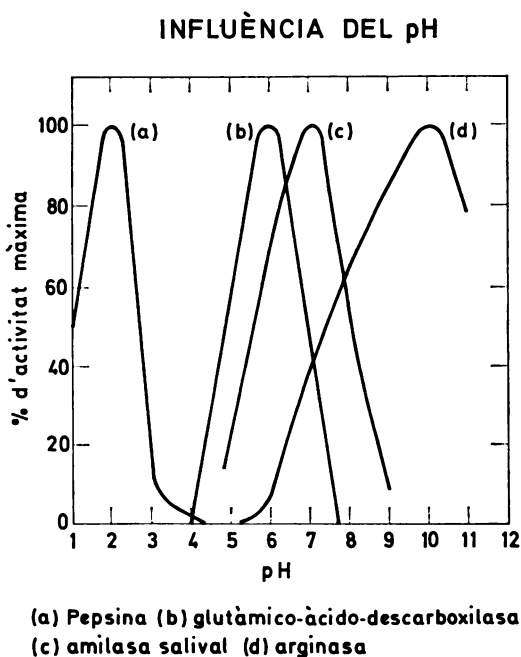


FIG. 2

dualment en funció del pH, passa per un punt màxim i constitueix una corba gràfica de forma de campana. En els casos de la tripsina i de la pepsina, per exemple, els pH òptims d'ambdós enzims coincideixen amb els pH fisiològics dels llocs del tractus gastrointestinal on precisament actuen normalment.

Aquest fenomen obliga els enzimòlegs a tenir cura d'operar sempre en medis curosament amortits quan experimenten amb sistemes enzimàtics, a fi d'assegurar la consecució de resultats comparables i reproductibles.

EXTRACCIÓ, PURIFICACIÓ I VALORACIÓ DELS ENZIMS

L'aspiració del bioquímic enzimòleg consisteix a aïllar un enzim en la forma més concentrada i més purificada possible, a fi de poder estudiar perfectament les seves propietats i característiques d'actuació, i reconstruir «in vitro» el sistema enzimàtic que funciona naturalment en l'organisme dels éssers vius.

Els enzims es troben molt extensament distribuïts arreu dels diversos teixits integrants dels vegetals, dels animals i en els microorganismes. Per a beneficiar-los, s'extreuen generalment de certes glàndules, teixits o cultius, on hom ha establert prèviament que es troben en gran concentració. Així hom aconsegueix que l'extracció sigui més efectiva i que el líquid extret contingui el mínim de substàncies inertes acompanyants. En les plantes hom parteix de fulles, flors, brots, arrels, fruits o llavors. En els animals hom utilitza, com a matèries de partida, certes glàndules delimitades, com el fetge i pàncreas, cervell, os o múscul, etc. Amb els microorganismes hom tracta la totalitat del cultiu, sigui de llevats, fongs o bacteris. En tots els casos cal procedir primerament a esmicolar o trinxar el teixit o el cultiu, utilitzant diferents mitjans mecànics, a fi que el contacte amb el dissolvent d'extracció sigui com més íntim millor. Com a dissolvent hom pot utilitzar aigua, però és millor d'utilitzar dissolucions d'electròlits, com és ara sèrum fisiològic, àcids o bases diluïts. En alguns casos hom utilitza procediments diversos especials. Per purificar les dissolucions obtingudes, hom aprofita les propietats proteiques dels enzims: utilització del salat o de les precipitacions isoelectriques, les adsorcions selectives amb alumina, sílico-gel, caolí, septacell, hidrocèl·lulosa, DEAE-cellulosa, mitjançant columnes cromatogràfiques i elucions selectives. En alguns casos, hom aplica l'electroforesi preparativa de Tiselius.

Finalment, hom intenta la cristallització de l'enzim. Això no és sempre possible d'aconseguir; generalment és difícil, i requereix tota l'experiència i l'habilitat de l'enzimòleg. Actualment ha estat aconseguida amb bastants enzims (uns 90) i constitueix una garantia de la uniformitat del producte obtingut.

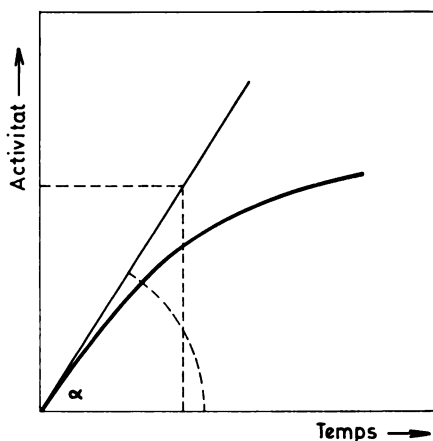
La cristallització d'un enzim, però, no sempre és un bon criteri de màxima puresa o concentració. Per hidròlisi de la pepsina cristallitzada hom ha obtingut una pepsina amorfa que posseeix una més gran activitat per mil·ligram de nitrogen proteic.

CRITERI DE CONCENTRACIÓ I PURESA

En cada una d'aquestes fases d'extracció i purificació de l'enzim cal comprovar si realment augmenta la concentració enzimàtica del preparat; és l'única manera de saber si realment hom avança pel bon camí.

Per a mesurar l'activitat d'un preparat enzimàtic cal establir la velocitat inicial de la bioreacció específica que catalitza, en els primers moments de l'acció: hom treballa sempre amb un excés de substrat, per tal que el

VELOCITAT DE REACCIÓ



$$\text{Pendent: } \operatorname{tg} \alpha = \frac{\sin \alpha}{\cos \alpha}$$

FIG. 3

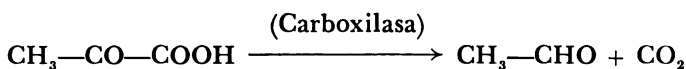
factor limitant sigui l'enzim. Aleshores s'admet proporcionalitat entre la velocitat de reacció (v) i la concentració o activitat enzimàtica, tot operant a temperatura i pH constants, i tot tenint en compte la presència o absència d'inhibidors o activadors.

La velocitat és constant en els primers moments de la reacció, però més endavant minva —desnaturalització de l'enzim—. L'activitat de l'or-

denada és expressada per les quantitats de substrat consumides o reaccionades, o per l'augment de concentració dels productes de la reacció. La tangent en l'origen de la corba és la mesura de la velocitat.

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{\sin \alpha}{\cos \alpha}$$

Per exemple: en la reacció que catalitza la carboxilasa, hom pot determinar la quantitat d'àcid pirúvic que desapareix en temps coneguts, o bé les d'aldehid acètic o de gas carbònic produïts. Hom pot emprar tècniques químiques, colorimètriques, gasomètriques, etc.



La unitat internacional d'activitat enzimàtica d'un preparat és definida com el nombre de micromols de substrat transformat per minut i per gram de preparació de l'enzim catalitzador:

$$\text{U.I.} = \mu\text{M/g/minut}$$

Per a determinar les concentracions de substrat o dels metabòlits produïts segons els casos, són utilitzades tècniques físiques, químiques o físico-químiques, com polarimetria, refractometria, interferometria, espectrofotometria, colorimetria, viscosimetria, nefelometria, dilatometria, gasometria, etc.

IMPORTÀNCIA I APLICACIONS DELS ENZIMS

Bé que la importància creixent dels enzims és un concepte ben generalitzat avui dia, convé recordar algunes de les seves múltiples aplicacions. Les classificarem en tres grans subdivisions: aplicacions industrials o de fabricació de productes, aplicacions al diagnòstic clínic i aplicacions com a agents terapèutics.

Des de temps molt antic han estat utilitzades les accions enzimàtiques per a la fabricació de productes dietètics tan importants com el pa, el vi, el vinagre, la cervesa, el quefir, el iogurt i el formatge. Més modernament han estat emprades per a preparar àcid làctic i altres àcids orgànics, butanol-acetona, i en l'actualitat per a fabricar antibiòtics com penicil·lina, tetraciclina i cloramfenicol, vitamines B₂ i B₁₂, i aminoàcids, entre altres.

Molt recentment s'han desenvolupat modernes tècniques de determina-

ció d'enzims a la clínica, les quals permeten el diagnòstic de diversos estats patològics: en constitueixen exemples il·lustratius la determinació de nivells de transaminases com la glutàmico-oxalacètic (GOT), la glutàmico-pirúvic (GPT) i la làctico-deshidrogenasa (LDH), en l'infart de miocardi, insuficiència coronària, hepatitis, etc.; l'aldolasa en les distròfies musculars, en la miastènia gravis i en les hepatitis, i en el càncer de pròstata, etc., la fosfatasa àcida.

Finalment, alguns enzims troben cada dia més aplicació en el tractament de diferents malalties. Avui són ben conegudes les propietats antiinflamatòries de la tripsina, la qual també hom emprà per al desbridament de ferides, úlceres i cremades; l'ús antiinflamatori de l' α -quimotripsina injectable (que no coagula la sang), i la seva aplicació en la periartritis i en l'anomenada zonulòlisi enzimàtica, la qual facilita la cirurgia de la cataracta; les propietats lisants de la desoxiribonucleasa i de la ribonucleasa; la interferència inhibidora de la catalasa en la biosíntesi del colesterol i de l'àcid úric; i la influència d'un coenzim, la cocarboxilasa (vitamina B₁), en el metabolisme dels glúcids. És d'esperar que la terapèutica enzimàtica tindrà un esdevenidor insospitat pocs anys a venir.

Per a acabar, permeteu-me de recordar que la vida dels éssers és basada en les múltiples bioreaccions coordinades que s'esdevenen en la intimitat dels citoplasmes cel·lulars, les quals tenen lloc amb molta subtilitat i eficàcia. Tot aquest metabolisme funciona gràcies a les accions catalitzadores de nombrosos enzims, la majoria encara per descobrir. Quan aquesta coordinació d'accions enzimàtiques experimenta alguna alteració, es produeix un estat patològic. I quan els enzims es desborden i actuen caòticament, com quan sorgeix una anòxia —les catepsines que són poc actives en la seva forma oxidada passen a les formes reduïdes molt actives—, en resulta la mort de les cèl·lules (autòlisi) i de l'ésser a qui pertanyen.

Com a exemples de malalties ben conegudes que responen a disfuncions dels sistemes enzimàtics, tenim les anomenades malalties moleculars o enzimàtiques. Mencionarem solament l'alcaptonúria (defecte d'homogentísico-oxidasa), l'albinisme (defectuós funcionament de la tirosinasa), la cistinúria (reabsorció tubular dificultada), la pentosúria (inhibició del cicle de les pentoses), l'hematoporfíria congènita (aberració del metabolisme porfirínic), l'oligofrènia fenilpirúvica o fenilcetonúria (inhibició del pas de fenilalanina a tirosina), l'anèmia falciforme (biosíntesi d'una hemoglobina amb anormal seqüència d'aminoàcids) i la miastènia gravis (excés d'activitat colinesteràsica).

Si amb aquesta resumida i elemental exposició he aconseguit de fer-vos recordar alguns aspectes de l'enzimologia i dels enzims, em consideraré molt satisfet, perquè creuré haver-vos estat d'alguna utilitat envers la millor comprensió de les exposicions dels qui em segueixen.

FISIOLOGIA DELS ENZIMS

CONTROL FISIOLÒGIC DE LES ACCIONS ENZIMÀTIQUES *

pel doctor S. VIDAL i SIVILLA

Professor de Fisiologia a la Facultat de Medicina
de la Universitat de Barcelona

Per control fisiològic de l'acció dels enzims cal entendre la regulació de les activitats enzimàtiques dintre la cèl·lula i en l'organisme, tal com es desenvolupen i combinen per a donar les diverses manifestacions funcionals dels éssers vivents.

Tenint en compte que els enzims són els protagonistes de les reaccions metabòliques i que d'aquestes depenen tots els fenòmens funcionals, resulta evident que el control de l'acció dels enzims ha d'ésser molt important i decisiu per a regular totes les activitats vitals.

En les reaccions enzimàtiques investigades «in vitro», amb la finalitat d'estudiar les propietats bioquímiques dels enzims aïllats, hom pot demostrar influències o factors capaços de modificar l'activitat enzimàtica, però aquestes influències sols poden ésser acceptades com a factors de regulació fisiològica si hom comprova que intervenen també «in vitro», dins l'organisme i en circumstàncies fisiològiques.

Cal tenir present que les accions enzimàtiques dintre la cèl·lula poden resultar fins i tot diferents de les que mostren els enzims aïllats en el tub d'assaig. A més, en la cèl·lula es tracta no de controlar una sola reacció enzimàtica, sinó de regular sistemes de reaccions, cada un amb participació de múltiples factors, enzimàtics i no enzimàtics, i tots combinats entre ells de manera que originen processos metabòlics. Finalment, en la regulació de les reaccions enzimàtiques de l'organisme intervenen, a més de senzills agents de control, complexos sistemes que regulen activitats fisiològiques i no simplement accions enzimàtiques.

* Treball lliurat a Secretaria el dia 27 de gener de 1971.

Actualment els agents i els mecanismes de regulació coneguts o suposats són tan nombrosos i comporten tantes interferències que resulta difícil de fer una exposició sistemàtica de tots els que intervenen en el control fisiològic de l'acció dels enzims. A més, molts dels coneixements actuals són encara fragmentaris o aconseguits en unes condicions experimentals més o menys artificioses, cosa que dona lloc a interpretacions dubtoses i a la incorporació constant de dades noves que obliguen sovint a rectificar conceptes o a variar les classificacions.

Per a revisar el control fisiològic de l'acció dels enzims, cal primerament ordenar i classificar les influències reguladores. Tot seguit convé de recordar algunes nocions sobre la fisiologia dels enzims, principalment les referents als processos de llur síntesi, activació, distribució, inactivació i destrucció. Amb aquestes dades fisiològiques hom pot entendre fàcilment els diversos mecanismes que es combinen per a regular l'acció dels enzims d'acord amb les necessitats fisiològiques.

CLASSIFICACIÓ DE LES INFLUÈNCIES REGULADORES

Per a distingir les influències que controlen l'acció dels enzims, hom pot tenir en compte, com a criteri de classificació, l'origen dels agents de control, el lloc o el procés on actuen i el mecanisme de les accions reguladores. En lloc d'utilitzar un sol criteri de classificació és millor servir-se conjuntament desl tres esmentats, ja que les propietats corresponents es presenten barrejades i combinades.

Considerant l'origen i la complicació de les influències reguladores, STADIE⁷ proposà la distinció entre regulacions intrínseques o primitives i regulacions extrínseques o sobreafegides.

Les regulacions intrínseques o primitives s'originen en els sistemes enzimàtics de la mateixa cèl·lula, per les propietats i reaccions de llurs components, i depenen de les pròpies activitats cel·lulars. Per tant, les regulacions intrínseques funcionen automàticament, de manera que l'acció dels enzims i les activitats metabòliques resulten autoregulades per mecanismes semblants als dels circuits de retroalimentació.

Les regulacions extrínseques o sobreafegides actuen en els mateixos sistemes enzimàtics cel·lulars, però s'originen fora de la cèl·lula i depenen de factors o de sistemes exogènics. En els organismes pluricel·lulars, els agents de regulació extrínseca provenen generalment d'algunes cèl·lules especialitzades i van a les altres cèl·lules per a actuar-hi com a missatgers dels sistemes de regulació hormonal i nerviosos.

En els éssers més inferiors, i especialment en els unicel·lulars, el control fisiològic de les accions enzimàtiques és aconseguit mitjançant regulacions

primitives o intrínseques, bé que aquestes poden ésser influïdes, més o menys directament, pels factors exogènics dels canvis ambientals i donar lloc a respostes d'adaptació.

En les cèl·lules dels organismes superiors les accions enzimàtiques són controlades igualment per regulacions intrínseques, però són regulades també, addicionalment, per sistemes de regulació extrínseca, hormonals i nerviosos, que reaccionen enfront dels canvis del medi exterior i donen lloc a respostes coordinades d'adaptació.

Tenint en compte el mecanisme de l'acció reguladora i seguint en bona part KREBS ², hom pot distingir els següents tipus o mecanismes de regulació intrínseca: a) Autoregulació per la reversibilitat d'algunes reaccions enzimàtiques. b) Autoregulació per influències específiques degudes als substrats i als metabòlits o productes de les reaccions enzimàtiques. c) Autoregulació per la necessitat de reaccions acoblades. d) Autoregulació per efectes de competició entre cofactors i substrats d'ús comú. e) Autoregulació per la diferent distribució dels components del sistema enzimàtic entre els diversos compartiments de l'estructura cel·lular.

Deixant a part que els agents extrínsecs, provinents del medi que envolta la cèl·lula, poden modificar o condicionar el funcionament dels diferents mecanismes de regulació intrínseca, la cosa més avinent és classificar les regulacions extrínseques per la localització de l'acció reguladora, segons la reacció o el nivell del metabolisme cel·lular on actuïn els agents o missatgers reguladors. Aquest criteri, útil per a classificar les accions reguladores de les diverses hormones, també és aplicable per a catalogar l'acció dels transmissors nerviosos i la de qualsevol substància activa provinent del medi que envolta la cèl·lula.

Tenint en compte la localització de l'acció reguladora i seguint VILLEE ³, hom pot distingir els següents tipus o mecanismes de regulació hormonal o extrínseca: a) Accions en la síntesi de l'enzim. b) Accions en l'activitat de l'enzim. c) Accions en la permeabilitat de les estructures membranoses de la cèl·lula. d) Accions en la mateixa reacció enzimàtica, participant-hi directament, com a cofactor o cosubstrat, o bé condicionant-la indirectament per efectes de competició. Hom hi podria afegir, com a una possibilitat encara poc coneguda, les accions reguladores capaces d'influir els processos del catabolisme normal dels enzims.

PROPIETATS FISIOLÒGIQUES DELS ENZIMS

Per a analitzar les diverses accions reguladores i llurs mecanismes, convé de recordar algunes nocions sobre les propietats funcionals dels enzims dintre la cèl·lula i en l'organisme, que són justament les que poden ésser

agrupades sota el títol de *fisiologia dels enzims*. Els mecanismes d'acció de les diverses regulacions, intrínseques i extrínseques, són més fàcils d'entendre després d'esbossar els processos fisiològics que determinen la *concentració enzimàtica* i els que condicionen l'*activitat enzimàtica*.

Les variacions de la concentració enzimàtica en els diferents compartiments cel·lulars depenen dels processos fisiològics de síntesi, distribució i destrucció dels enzims i de les influències que controlen aquests processos en l'organisme. Les variacions de l'activitat enzimàtica depenen dels diversos processos fisiològics d'activació i d'inactivació dels enzims, entre els quals hom atribueix avui dia especial valor funcional a les modificacions anomenades alostèriques.

PROCESSOS FISIOLÒGICS DETERMINANTS DE LA CONCENTRACIÓ ENZIMÀTICA

La concentració enzimàtica en els diversos compartiments cel·lulars depèn molt dels processos de la síntesi dels enzims. Per aquesta dependència, tots els agents que activen o inhibeixen la síntesi de proteïnes enzimàtiques poden actuar com a factors reguladors o modificadors del contingut cel·lular d'enzims.

Però s'ha de tenir present que el contingut enzimàtic de la cèl·lula depèn en qualsevol moment, no sols dels factors que influeixen la síntesi, sinó també dels processos del catabolisme dels enzims, condicionats probablement per mecanismes i factors múltiples, potser més nombrosos i variables que els que influeixen la síntesi dels enzims.

Veritablement, la concentració enzimàtica de les cèl·lules depèn, en qualsevol moment, del balanç entre la síntesi i la destrucció dels enzims. Per tant, tots els agents i mecanismes que determinen o condicionen la inactivació i destrucció dels enzims poden actuar també com a factors modificadors o reguladors de la concentració enzimàtica.

Mentre que la concentració cel·lular d'alguns enzims es manté força constant, com si els processos de llur síntesi i de llur destrucció variessin conjuntament però conservant un cert equilibri entre ells, la concentració cel·lular d'altres enzims ofereix oscil·lacions capaces de fer variar les accions enzimàtiques i, per tant, amb valor per a regular les activitats metabòliques i funcionals. En aquests casos cal suposar que les activitats metabòliques o les necessitats funcionals influeixen els processos de síntesi i els d'inactivació i destrucció dels enzims d'una manera desigual o amb un cert asincronisme.

CONTROL DE LA CONCENTRACIÓ ENZIMÀTICA DE LA SÍNTESI DELS ENZIMS

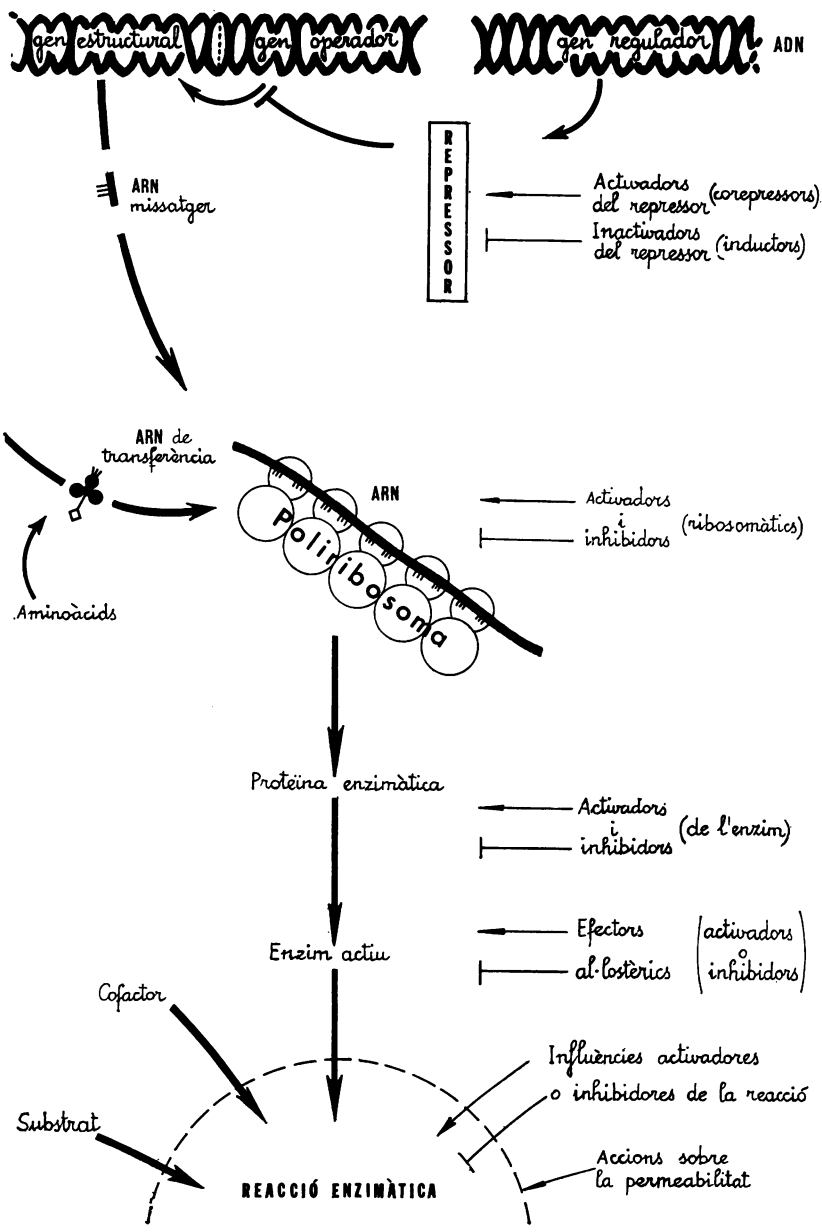
La possibilitat de fabricar els diferents enzims ve planificada en el material genètic, però la producció de cada un d'ells esdevé efectiva o no, en les diferents cèl·lules, segons llur especialització funcional, i varia, a cada cèl·lula i en diferents moments, d'acord amb les necessitats fisiològiques. En els organismes pluricel·lulars, el potencial o el material genètic de totes les cèl·lules és idèntic i fix (genotip), però en el transcurs de la diferenciació, les cèl·lules dels diversos teixits manifesten quadres metabòlics particulars i diferències molt acusades en la fabricació d'enzims (fenotip).

Les variacions enzimàtiques observades en el transcurs de la diferenciació i de l'adaptació cel·lulars, persistint invariable el material genètic, són proves evidents que la síntesi dels enzims és influïda per factors i mecanismes extragenètics, capaços de fer-la variar o de regular-la segons les circumstàncies de cada cèl·lula i d'acord amb les necessitats de cada moment.

En les variacions i anomalies enzimàtiques degudes a alteracions del material genètic, per selecció o per mutació en el transcurs de generacions successives, la intervenció de factors extragenètics és també possible. Aquestes variacions degudes a canvis del material genètic no són pròpies del control fisiològic dels enzims, però hom en fa esment per indicar que alguns factors exogènics, a més de condicionar el funcionament genètic, poden contribuir a l'aparició d'alteracions del material genètic i donar lloc així a variacions o anomalies enzimàtiques que no són funcionals sinó constitucionals i hereditàries, o patològiques.

La síntesi de proteïnes enzimàtiques és el resultat d'una sèrie de processos en els quals participen essencialment els àcids desoxiribonucleics del material genètic del nucli (ADN), els àcids ribonucleics del citoplasma i dels ribosomes (ARN), els enzims propis de la síntesi de proteïnes i la primera matèria de nutrients adequats, principalment aminoàcids. Cal tenir present també la participació de factors extragenètics que poden modificar o regular els processos de la síntesi de proteïnes enzimàtiques, actuant a diferents nivells i per diversos mecanismes.

Els àcids desoxiribonucleics (ADN) del material genètic nuclear estan distribuïts ordenadament en els cromosomes i formen els anomenats gens estructurals, gens operadors i gens reguladors (vegeu l'esquema adjunt). Els *gens estructurals* comporten els patrons o models de la síntesi de totes les cadenes polipeptídiques i també de les combinacions d'aquestes per a formar les proteïnes possibles. Per a utilitzar els gens estructurals calen els *gens operadors*, que poden ésser situats en els mateixos cromosomes.



SÍNTESI

DELS

ENZIMS

ACTIVITAT

ENZIMÀTICA

Cada gen operador és capaç de promoure la utilització de diversos gens estructurals, però la seva influència promotora és reprimida pels anomenats *gens reguladors*, els quals poden ésser situats en altres cromosomes.

L'acció frenadora dels gens reguladors és exercida per mitjà d'uns repressors la naturalesa dels quals no és encara ben coneguda (nucleòtids, proteïnes o nucleopròtids). A nivell d'aquest *mecanisme genètic de repressió* poden influir o interferir alguns dels factors extragenètics que regulen la síntesi de proteïnes enzimàtiques o provoquen variacions del contingut enzimàtic de les cèl·lules en el transcurs de la diferenciació i en els fenòmens d'adaptació.

Els factors reguladors que actuen a nivell del mecanisme genètic de repressió són els que han estat anomenats, des del principi, amb tota propietat i en el sentit més restringit, inductors i corepressors. Els *inductors* anul·len el mecanisme genètic de repressió, tot inactivant els repressors i alliberant els gens operadors corresponents, de manera que aquests puguin fer funcionar els gens estructurals necessaris per a la síntesi de determinats enzims. Els *corepressors* estimulen el mecanisme genètic de repressió, activen els repressors en llur acció frenadora dels gens operadors, de manera que resulta difícil o impossible la utilització dels gens estructurals corresponents a la síntesi de determinades proteïnes enzimàtiques.

Hom ha demostrat que alguns bacteris i cèl·lules animals, en trobar-se amb substrats no habituals, poden reaccionar iniciant la fabricació dels enzims necessaris per a atacar-los, i hom suposa que aquests substrats actuen com a inductors, inactivant el mecanisme genètic de repressió que s'oposa normalment a la síntesi d'aquells enzims. A la inversa, hom observa sovint que quantitats abundants de productes finals d'un cicle metabòlic fan disminuir la síntesi dels enzims iniciadors del cicle, i hom suposa que aquests productes actuen sobre el mecanisme genètic de repressió, com a corepressors, activant el repressor que frena la síntesi d'aquells enzims.

Mentre que els enzims susceptibles d'inducció o de repressió són anomenats *enzims adaptatius*, els que fins ara no s'han mostrat induïbles ni reprimibles s'anomenen *enzims constitutius*. Però cal aclarir que aquesta distinció no significa l'absència, en els darrers, del mecanisme genètic de repressió i dels gens operador i regulador corresponents.

PARDEE ⁴ i d'altres investigadors han suggerit que la síntesi de totes les proteïnes enzimàtiques és sotmesa al control de metabòlits intracel·lulars que actuen com a inductors o com a repressors o corepressors, bé que la demostració experimental d'aquest control resulta encara difícil o impossible per a molts enzims. Segons aquesta hipòtesi, totes les activitats metabòliques de la cèl·lula podrien ésser molt justament autocontrolades gràcies a múltiples regulacions de mecanisme intrínsec que funcionarien com a

circuits de retroalimentació i farien variar la síntesi i el contingut cel·lular de tots els enzims d'acord amb les necessitats fisiològiques.

També poden actuar com a inductors o com a repressors o corepressors, a més dels substrats i dels productes de les reaccions metabòliques intracel·lulars, substàncies exogèniques d'estructura semblant i les hormones, que regulen el metabolisme per llur acció de provocar variacions de la síntesi d'enzims. Per tant, les influències reguladores exercides a nivell del mecanisme genètic de repressió poden ésser intrínseques o extrínseques, segons la natura i l'origen dels agents reguladors.

Han estat observats *efectes d'inducció aparent* que no poden ésser interpretats pel mecanisme suara descrit d'inactivació de la repressió genètica a nivell del nucli, sinó per fenòmens d'activació de la síntesi dels enzims a nivell citoplasmàtic o ribosomàtic, en fases ulteriors de la síntesi de proteïnes que seran exposades tot seguit i en relació amb els àcids ribonucleics.

La *síntesi dels àcids ribonucleics (ARN)* té lloc sobre el patró de gens estructurals (ADN) que esdevenen utilitzables gràcies a la influència no reprimida de gens operadors. A nivell dels gens estructurals del nucli, prèviament desplegats, es disposen ordenadament ribonucleòtids procedents del citoplasma, justament els adequats i amb la seqüència de bases convenient per a formar àcids ribonucleics que es corresponguin amb els àcids desoxiribonucleics genètics («*transcripció del codi genètic*). D'aquesta manera i per l'acció d'enzims ARN-polimerases, són sintetitzats els anomenats *ARN missatgers (m-ARN)*, que es desprenen tot seguit del nucli, migren pel citoplasma i van a fixar-se en els ribosomes, formant agrupacions poliribosomàtiques.

En el nucli i per un procés de replicació inicialment semblant al de la síntesi dels ARN missatgers, són sintetitzats també, per una part, els *ARN ribosomàtics (r-ARN)*, destinats a acoblar-se amb proteïnes i formar els ribosomes, i d'altra banda, els diversos *ARN de transferència (t-ARN)*, que passen al citoplasma com a àcids ribonucleics solubles (s-ARN). Aquests són els àcids ribonucleics més coneguts fins ara: n'han estat aïllats uns 60, tots de molècula relativament senzilla (70 nucleòtids) i alguns amb estructura ben determinada, de cadena plegada figurant com una fulla de trèvol.

Cada ARN de transferència, després de captar en un extrem de la cadena el corresponent aminoàcid activat, va a situar-se en cert lloc del poliribosoma, just on la cadena de l'ARN missatger, prèviament fixat pels ribosomes, presenta un triplet de bases determinat, acoblable amb un triplet central i característic de l'ARN de transferència. Això fa que a nivell del poliribosoma resultin disposats els aminoàcids ordenadament, amb una seqüència que tradueix l'ordenació dels ribonucleòtids integrats en la cadena de l'ARN missatger («*traducció del codi genètic*).

A nivell de cada ribosoma, els aminoàcids, ordenats pels ARN de transferència segons el codi dels ARN missatgers, s'acoblen seguidament entre ells i formen, per l'acció d'enzims sintetases, les unions peptídiques corresponents. Al mateix temps que es formen les unions peptídiques de l'estructura primària, es produeixen també acoblaments i plegaments de les cadenes polipeptídiques que donen lloc a les estructures secundària i terciària i finalment a l'alliberament de la proteïna enzimàtica.

Perquè tinguin lloc totes aquestes reaccions de la síntesi de proteïnes enzimàtiques, en el nucli, en el citoplasma i en els ribosomes, calen, a més dels àcids nucleics, els enzims específics que les catalitzen, l'aportament de primera matèria en forma d'aminoàcids i el subministre de molta energia en forma d'ATP. Les variacions d'aquests elements indispensables condicionen la velocitat de síntesi de les proteïnes enzimàtiques i poden donar lloc a variacions de la concentració enzimàtica.

Les *variacions de l'aportació material* (aminoàcids i altres nutrients) i *del subministre d'energia* (ATP procedent de les reaccions del metabolisme energètic) poden afectar la síntesi enzimàtica, principalment en el sentit de limitació, si les variacions són per defecte, i comporten disminució de la síntesi i de la concentració d'enzims. En el cas contrari, baldament els subministres de substrats i d'energia siguin molt abundants, la síntesi de proteïnes enzimàtiques no resulta necessàriament augmentada, ja que la concentració dels substrats més enllà d'un cert límit no accelera les reaccions enzimàtiques.

En canvi, les *variacions de concentració i d'activitat dels enzims catalitzadors de la síntesi de proteïnes enzimàtiques* poden provocar variacions molt importants del contingut celular d'enzims i contribuir indirectament a regular l'acció d'aquests mateixos enzims. En aquests casos, l'agent regulador pot actuar a nivell del nucli, afectant principalment els enzims ARN-polimerases, a nivell dels poliribosomes, tot afectant també els enzims sintetases d'unions peptídiques, o a nivell del citoplasma afectant els enzims activadors dels aminoàcids. L'acció de molts antibiòtics contra els bacteris es produeix justament per influències inhibidores d'alguna d'aquestes reaccions enzimàtiques que contribueixen a la síntesi de proteïnes.

Tenint present, doncs, la multiplicitat de reaccions i de factors involucrats, resulta que la síntesi de les proteïnes enzimàtiques pot ésser interferida o regulada per molts agents i a diferents nivells o llocs d'acció, més que els assenyalats en l'esquema adjunt. I encara resulten més possibilitats de regulació si hom té en compte les que es dedueixen de les dades i consideracions afegides a continuació i no representades tampoc en l'esquema.

A nivell del nucli, a més d'influir el mecanisme genètic de repressió,

els agents reguladors poden actuar provocant variacions de la síntesi dels diversos àcids ribonucleics, és a dir, dels ARN ribosomàtics, dels ARN missatgers o dels ARN de transferència, segons quin sigui l'agent regulador o modificador.

Hom obté del citoplasma diverses fraccions o grups d'enzims capaços d'activar i transferir aminoàcids amb especificitats diferents. L'acció d'aquests enzims activadors dels distints aminoàcids pot ésser afectada diversament per agents reguladors diferents.

A nivell dels poliribosomes, les influències activadores o inhibidores tampoc no es limiten a una sola reacció. Dels agents inhibidors que actuen en els ribosomes, els uns priven la fixació dels ARN missatgers i els altres la incorporació dels ARN de transferència amb llurs aminoàcids, alguns s'oposen al creixement de la cadena polipeptídica i d'altres a l'alliberament de la proteïna enzimàtica.

A més de les influències que afecten els enzims catalitzadors de la síntesi, també es poden produir variacions importants de la síntesi de proteïnes enzimàtiques per fenòmens d'acció de masses, principalment a nivell dels poliribosomes. Per exemple, l'abundància de substrats amb afinitat envers els enzims sintetitzats pot fer anticipar llur despesa dels ribosomes i deixar-hi lloc per a accelerar la síntesi de noves molècules enzimàtiques. També la presència de substàncies o de factors favorables al plegament de les cadenes polipeptídiques pot accelerar, de manera semblant, la despesa de la proteïna enzimàtica i la síntesi de les noves molècules. A la inversa, les variacions o les influències de sentit contrari poden retardar, també per acció de masses, la despesa i la síntesi de noves molècules de l'enzim.

Sovint és difícil d'esbrinar si un agent activador o inhibidor de la síntesi d'un determinat enzim actua a nivell dels ribosomes o del nucli, i en aquest cas, si l'acció és directa o bé indirecta, mitjançant l'hipotètic mecanisme genètic de repressió. Per això, alguns autors usen les denominacions d'inducció i de repressió amb un significat molt ampli, no restringit a les accions indirectes pel suposat mecanisme genètic de repressió, sinó aplicable igualment a totes les influències activadores o inhibidores de la síntesi de proteïnes en general, tant si actuen a nivell del nucli com si llur acció és exercida a nivell dels ribosomes.

Darrerament, uns treballs de SPIRIN ^{6, 6'}, demostratius que els ARN missatgers migren en el citoplasma no aïllats sinó units amb proteïnes i formant complexos nucleoproteics de diferents pesos moleculars, han plantejat una nova possibilitat de regulació de la síntesi de proteïnes, el lloc d'acció de la qual ha de situar-se entre el nucli i els ribosomes, a nivell dels complexos descoberts per SPIRIN i anomenats *informosomes*. La formació d'aquests complexos a nivell del nucli i llur dissociació a

nivell dels ribosomes, són reaccions fàcilment reversibles i influenciables, condicionadores del transport dels ARN missatgers des del nucli fins als ribosomes. L'investigador més amunt alludit atribueix als informosomes, a més de la funció de transport, un efecte protector dels ARN missatgers i un valor regulador de la síntesi de proteïnes.

Segons SPIRIN, les possibilitats de transport i lliurament dels ARN missatgers podrien condicionar la síntesi de proteïnes d'una manera decisiva. Fins i tot és possible que algunes variacions de la síntesi d'enzims, explicades fins ara per influències a nivell del mecanisme genètic de repressió, siguin degudes a variacions del transport dels ARN missatgers i a influències exercides a nivell de les reaccions reversibles de formació i de dissociació dels informosomes corresponents.

Deixant a part el possible encert d'aquestes interpretacions, les dades aportades per SPIRIN tenen almenys el valor d'un argument més per a justificar la importància creixent que diversos investigadors han atribuït darrerament a les *unions proteïques dels àcids nucleics*. Mentre que, fins fa poc, l'atenció dels investigadors de la síntesi proteica es limitava als àcids nucleics, actualment hom atribueix també importància a les fraccions proteïques, principalment a les histones, com a factors capaços de condicionar i regular la síntesi de proteïnes.

Entre nosaltres, a Barcelona, el professor SUBIRANA i els seus col·laboradors han dut a terme investigacions sobre les interaccions dels àcids desoxiribonucleics amb les histones i les protamines. SUBIRANA⁸ suposa que les proteïnes bàsiques nuclears poden condicionar o regular la síntesi de proteïnes d'una manera especial, no limitada a una simple acció repressora.

CONTROL DE LA CONCENTRACIÓ ENZIMÀTICA PEL CATABOLISME DELS ENZIMS

Fins fa poc les variacions de la concentració cel·lular d'enzims eren atribuïdes principalment a l'augment o a la disminució dels processos de síntesi, i hom gairebé no feia referència al catabolisme o destrucció fisiològica dels enzims com a factor de variació de la concentració enzimàtica.

Darrerament les inactivacions irreversibles d'alguns enzims, observades en condicions normals, han desvetllat l'interès envers el possible valor funcional de tals inactivacions, provocades per factors o circumstàncies fisiològics.

Les molècules enzimàtiques que sofreixen una inactivació irreversible no poden tenir altre destí que el de llur desintegració pels processos normals del catabolisme proteic. Per tant, les inactivacions irreversibles que es produeixen en condicions fisiològiques poden ésser considerades com un primer pas del catabolisme normal dels enzims. D'això hom dedueix que

els factors fisiològics capaços de provocar inactivacions irreversibles poden actuar com a agents reguladors de la concentració enzimàtica i donar lloc així a efectes de regulació de les reaccions metabòliques.

Entre els fenòmens d'inactivació irreversible observats en condicions fisiològiques, són especialment interessants els d'alguns enzims que resulten inactivats per concentracions normals de productes o de substrats participants en el mateix cicle metabòlic.

En qualsevol cicle metabòlic, els productes d'una reacció enzimàtica passen a ésser substrats d'un altre enzim, de manera que s'estableix una dependència en cadena entre les successives reaccions del cicle. A més d'aquesta relació encadenada entre reaccions immediates, alguns substrats o productes metabòlics poden influir també altres reaccions més o menys llunyanes del mateix cicle mitjançant efectes modificadors de l'activitat o de la concentració dels enzims corresponents.

Les variacions de concentració enzimàtica produïdes per l'alteració de la síntesi són les més conegudes i ja han estat exposades en descriure els efectes d'inducció i de repressió; poden ésser provocades per l'acció dels substrats o dels metabòlits intracel·lulars a nivell de qualsevol de les múltiples reaccions involucrades en els processos de síntesi. Les variacions de concentració enzimàtica provocades per l'acció dels substrats i de productes metabòlics en els processos d'inactivació i catabolisme dels enzims són encara poc conegudes, però cal tenir-les en compte i és probable que elles resultin cada dia més importants per a la regulació del metabolisme.

GRISOLIA ^{1, 2} ha cridat l'atenció envers aquest darrer tipus d'autoregulació i suposa que l'enzim, en presència de substrats i cofactors o per la influència de productes i factors metabòlics normals, pot sofrir canvis de configuració, les anomenades *modificacions elastoplàstiques de la proteïna enzimàtica*, que alteren l'estabilitat molecular, comporten la inactivació i faciliten el catabolisme de l'enzim. Les modificacions elastoplàstiques són relativament inespecífiques i els agents que les provoquen són productes o factors metabòlics normals que no tenen relació directa amb el grup actiu ni amb els grups anomenats alostèrics.

Segons aquesta hipòtesi, l'enzim, si bé no és consumit per la reacció catalitzada, pot resultar inactivat, dins la cèl·lula i en condicions normals, per substrats i productes del mateix cicle metabòlic o relacionats amb l'activitat de l'enzim. D'aquesta manera indirecta, per les anomenades modificacions elastoplàstiques, la mateixa activitat enzimàtica provocaria la inactivació o un cert desgast de l'enzim, amb una pèrdua d'estabilitat de la proteïna enzimàtica, que facilitaria el catabolisme i limitaria la «vida» o la persistència intracel·lular de l'enzim actiu. Aquests processos normals de destrucció obligarien a una renovació constant del

contingut intracel·lular d'enzims, cosa que explicaria, segons GRISOLIA, el gran dinamisme del metabolisme proteic en els éssers vivents.

GRISOLIA i els seus col·laboradors han descobert que l'enzim glutàmicodeshidrogenasa, relacionat amb la ureogènesi, és acilat i resulta inactivat per concentracions normals de carbamil-fosfat, producte intermediari del cicle de la ureogènesi, i consideren aquesta inactivació com una varietat de modificació elastoplàstica, provocada per l'acilació de la proteïna enzimàtica. A més, han demostrat que l'acilació pel carbamil-fosfat pot afectar també proteïnes no enzimàtiques, especialment les histones amb contingut abundant de lisina i d'arginina, i pot ésser interferida per l'enzim acil-fosfatasa, capaç d'hidrolitzar el carbamil-fosfat. Això sembla indicar que la inactivació fisiològica de l'enzim glutàmicodeshidrogenasa pel carbamil-fosfat depèn de diversos factors metabòlics, uns de favorables i uns altres de desfavorables, i permet de suposar que tots plegats poden contribuir a regular la ureogènesi, ja que l'enzim glutàmicodeshidrogenasa resulta decisiu per al funcionament del cicle.

Malgrat que de l'estabilitat dels enzims dintre la cèl·lula i dels factors que la condicionen, igual que del catabolisme normal dels enzims, hom en coneix poca cosa, podem suposar que depenen de processos fisiològics múltiples i diversos, potser més nombrosos i variats que els que contribueixen a la síntesi dels enzims. Les variacions d'aquells processos i els factors que els controlen poden provocar canvis de concentració enzimàtica més ràpids i més importants que els deguts a variacions de la síntesi d'enzims. A més, en moltes adaptacions dels enzims intracel·lulars, és probable que les variacions dels processos d'inactivació siguin primàries i que les variacions de la síntesi es produeixin secundàriament, a remolc de les necessitats suscitées pel catabolisme dels enzims.

Tenint present que per a mantenir la constància del contingut enzimàtic intracel·lular cal que la síntesi s'adapti al catabolisme dels enzims, hom pot suposar que les alteracions ocasionals i passatgeres de la concentració enzimàtica, fisiològiques, poden presentar-se més aviat per variacions del catabolisme que per variacions de la síntesi. Els processos de síntesi només donarien lloc a variacions del contingut enzimàtic d'una manera eventual, en fracassar llur adaptació al catabolisme dels enzims.

Amb el temps, quan els processos normals d'inactivació i catabolisme dels enzims siguin més coneguts que ara, és probable que llur influència reguladora del metabolisme resulti evident i superior a la dels processos de síntesi. Aleshores, la regulació de la síntesi enzimàtica seguirà éssent important per a explicar les anomalies i algunes desviacions metabòliques, però ho seria menys per a explicar la regulació del metabolisme en condicions normals i patològiques.

VARIACIONS DE L'ACTIVITAT ENZIMÀTICA I DEL SEU VALOR REGULADOR

Després d'ésser sintetitzades i alliberades pels poliribosomes, les proteïnes enzimàtiques solament poden actuar com a enzims si el grup actiu és en forma reactiva, apte per a reaccionar amb el substrat. L'adopció de la forma reactiva, o *activació de la proteïna enzimàtica*, depèn dels diversos factors i de les circumstàncies que poden influir o modificar la molècula proteica i repercutir en l'afinitat o capacitat de reacció del grup actiu.

En uns casos, l'activació depèn simplement de circumstàncies ambientals inespecífiques, com el pH o la presència de diversos ions, que condicionen la ionització de la proteïna enzimàtica a nivell del grup actiu o en les seves proximitats. En altres casos, l'activació depèn de factors més o menys específics, que provoquen canvis de configuració en la proteïna enzimàtica i en el grup actiu. En el cas dels anomenats zimògens o pre-enzims, l'activació és el resultat de veritables reaccions químiques que modifiquen l'estructura de la proteïna i del grup actiu mitjançant la incorporació o la separació d'algun component.

El canvi o la reacció química que converteix la proteïna enzimàtica en l'enzim actiu pot dependre també de l'acció d'altres enzims més o menys específics. En aquest cas, l'activació és una reacció enzimàtica i pot ésser condicionada per diversos factors activadors o inhibidors, involucrats de manera que la conversió de la proteïna enzimàtica en l'enzim actiu es produeixi sols en determinats llocs i en determinades ocasions o circumstàncies.

La necessitat d'activar la proteïna enzimàtica, o de convertir el pre-enzim en l'enzim actiu, comporta una possibilitat de regulació molt important, ja que permet de controlar el lloc, el moment i la intensitat de l'acció enzimàtica, per mitjà dels factors activadors i dels que s'oposen a l'activació.

Les activacions de proteïnes enzimàtiques més evidents i conegudes són les que tenen lloc en el medi extracel·lular, com les dels enzims digestius, segregats per les cèl·lules en forma de pre-enzims i activats en el tub digestiu. També actuen en el medi extracel·lular, on arriben en forma de pre-enzims i pendent de complicats mecanismes d'activació, alguns enzims que catalitzen importants processos fisiològics i de defensa o protecció, com els de la coagulació de la sang.

Les activacions de proteïnes enzimàtiques que tenen lloc en el medi intracel·lular no són tan fàcilment demostrables, però hom en coneix ja algunes de prou importants per a poder atribuir a aquestes activacions

i als factors que les determinen o condicionen un gran valor regulador de l'acció enzimàtica i del metabolisme.

Entre els activadors i els inhibidors intracel·lulars cal distingir especialment els que provoquen les anomenades *variacions allostèriques de l'activitat enzimàtica*, a les quals hom atribueix actualment una gran importància per a la regulació del metabolisme.

En aquests darrers anys, hom ha demostrat que alguns enzims varien en llur activitat, i resulten inhibits o activats, per la presència de certs productes o factors metabòlics, els efectors allostèrics, que intervenen no com a cosubstrats o cofactors sinó com a «senyals metabòlics» orientadors i reguladors de l'activitat enzimàtica. Mentre la relació dels cosubstrats o cofactors amb l'enzim s'estableix a nivell del grup actiu, els efectors allostèrics actuen en un altre lloc o grup específic de la proteïna enzimàtica, on poden ésser fixats de manera reversible. Aquest altre lloc o grup específic fou anomenat allostèric per MONOD, CHANGEUX i JACOB³, i el mateix qualificatiu fou aplicat, per extensió, als enzims posseïdors de grups allostèrics i als productes o factors metabòlics que s'hi fixen i fan variar, ensems, l'activitat enzimàtica (efectors allostèrics).

La fixació de l'efector específic, inhibidor o activador, en el lloc allostèric de l'enzim, provoca un canvi de configuració de la proteïna enzimàtica que repercuteix en el grup actiu disminuint o augmentant la seva afinitat per a reaccionar amb el substrat. La fixació de l'efector i la modificació de l'enzim són reversibles, de manera que l'efector es pot separar sense experimentar transformacions i l'enzim recobra tot seguit la forma i l'activitat que tenia abans de fixar l'efector allostèric.

La propietat reguladora dels enzims allostèrics depèn d'ells mateixos, ja que els efectors allostèrics, amb llurs variacions de concentració, sols tenen el valor funcional de senyals metabòlics, per a orientar i graduar l'activitat enzimàtica de manera que resulti adaptada a les necessitats del metabolisme. Mitjançant investigacions i arguments d'ordre cinètic, ha estat demostrat que la capacitat receptora i la resposta d'adaptació d'aquests enzims reguladors depenen de la possessió dels grups específics o llocs allostèrics, diferents del lloc actiu. Fins i tot és possible «insensibilitzar» la propietat receptora i suprimir la resposta d'adaptació dels enzims allostèrics, per certs factors o influències que ocupen i priven el grup allostèric, sense resultar anul·lada l'aptitud catalítica de l'enzim, depenent del grup actiu.

És notable que la majoria dels enzims coneguts fins ara com a allostèrics són iniciadors de cicles metabòlics o tenen accions que resulten decisives per a orientar la direcció del metabolisme en els entrecreuaments de diverses vies metabòliques. Per exemple, l'enzim aspàrtico-transcarbamilasa, els substrat i cosubstrat del qual són el carbamilsfosfat i l'àcid aspàrtic,

inicia la biosíntesi de les pirimidines i pot ésser activat o inhibit, com a enzim al·lostèric, pels nucleòtids ATP i CTP, de manera que la síntesi pirimidínica progressa o no segons predomini l'ATP o el CTP, els quals actuen com a efectors al·lostèrics, activador el primer i inhibidor el segon.

SOLS ^{5, 5'} i els seus col·laboradors de l'Institut de Enzimologia de Madrid, han investigat les propietats al·lostèriques de dos enzims molt importants i decisius per a la regulació de la glucòlisi: l'enzim glucoquinasa hepàtica, que inicia el metabolisme de la glucosa en catalitzar la formació de glucosa-6-fosfat, i l'enzim fosfofructoquinasa, que determina el curs progressiu de la glucòlisi fins a formar finalment ATP. Aquest nucleòtid actua com a inhibidor al·lostèric de l'enzim fosfofructoquinasa, de manera que la intensitat de la glucòlisi resulta autoregulada pel nivell d'ATP, que és a la vegada producte final, portador de l'energia i efector o regulador al·lostèric de tot el procés.

En els exemples esmentats, quan els efectors al·lostèrics procedeixen del metabolisme cel·lular i no depenen d'influències extrínseques, les variacions al·lostèriques de l'activitat enzimàtica han d'ésser considerades com a un mecanisme de regulació intrínseca. Si els efectors al·lostèrics són substàncies exogèniques, arribades del medi exterior o produïdes per altres cèl·lules del mateix organisme (metabòlits, hormones, transmissors nerviosos), les variacions al·lostèriques de l'activitat enzimàtica han d'ésser considerades com a un mecanisme de regulació extrínseca. Alguns efectors al·lostèrics s'originen i actuen en la mateixa cèl·lula, però llur síntesi és determinada o condicionada per hormones o missatgers exogènics.

Dels agents o metabòlits intracel·lulars que exerceixen accions reguladores dins la mateixa cèl·lula d'origen, hom podria dir que són missatgers o *hormones intracel·lulars*, les anomenades citohormones o citomones, sigui el que sigui llur mecanisme d'acció, al·lostèric o de qualsevol altre tipus.

En els exemples d'enzims al·lostèrics abans esmentats, el caràcter hormonal dels efectors al·lostèrics és indiscutible, per tal com són nucleòtids l'adenosina-trifosfat (ATP) i la citidina-trifosfat (CTP), que intervenen en el metabolisme com a cosubstrats i l'acció reguladora dels quals apareix com a sobreafegida o secundària. En canvi, d'altres efectors al·lostèrics que s'originen i actuen en la mateixa cèl·lula tenen una missió purament reguladora i mereixen amb tota propietat el nom d'hormones intracel·lulars.

El més important o conegut dels efectors al·lostèrics amb funció purament reguladora és l'àcid *adenilic cíclic* (AMP cíclic), que s'origina en el metabolisme cel·lular, a partir de l'ATP i per l'acció de l'enzim adenilciclase. Dins la mateixa cèl·lula on s'origina, l'àcid adenilic cíclic actua d'agent hormonal capaç de regular processos metabòlics tan diversos com la síntesi i la desintegració del glucogen en els teixits hepàtic i muscular,

la lipòlisi en el teixit adipós, la formació i secreció d'hormones en algunes glàndules endocrines, etc.

Dels diversos efectes reguladors atribuïts a l'àcid adenílic cíclic, els més coneguts són els corresponents a la síntesi i a la desintegració del glucogen. L'àcid adenílic cíclic influeix aquests processos actuant com a efector al·lostèric capaç d'activar reversiblement dos enzims, un que modifica l'enzim glucogen-sintetasa, amb el resultat de disminuir la síntesi de glucogen, i un altre que modifica l'enzim glucogen-fosforilasa, amb el resultat d'augmentar la glucogenòlisi. Per aquests mecanismes, complexos i de doble via, l'àcid adenílic cíclic exerceix una important acció reguladora del metabolisme dels glúcids, posada de manifest per dos efectes simultanis, l'activació de la glucogenòlisi i la inhibició de la síntesi del glucogen.

En relació amb el metabolisme del glucogen, no serà per demés esmentar, encara que sigui sols de passada, les importants contribucions de ROSELL i col·laboradors (*Estudis en els sistemes enzimàtics de la biosíntesi de glucogen*), amb les quals ha investigat les propietats i modificacions de l'enzim glucogen-sintetasa en cèl·lules diverses, de teixits i espècies diferents.

La formació intracel·lular de l'àcid adenílic cíclic per l'acció de l'enzim adenil-ciclasa, està sota el control de diverses hormones i transmissors exògens. El glucagon, l'adrenalina, la noradrenalina, l'ACTH i la serotonina activen l'enzim adenil-ciclasa i augmenten la formació d'àcid adenílic cíclic, i així hom pot explicar llurs efectes d'augment de la glucogenòlisi i de disminució de la síntesi del glucogen. L'efecte d'estimular la lipòlisi, que tenen les mateixes hormones, és explicat igualment per llur acció d'augmentar la formació d'àcid adenílic cíclic en les cèl·lules adiposes. A la inversa, la insulina fa disminuir la concentració d'àcid adenílic cíclic i, per això, provoca els efectes antagònics d'accelerar la síntesi del glucogen i de frenar la glucogenòlisi i la lipòlisi.

En el teixit ossi, la concentració d'àcid adenílic cíclic augmenta per la influència de la hormona paratiroidea i disminueix per l'acció de la tirocalcitonina, cosa que està d'acord amb l'antagonisme dels efectes metabòlics d'ambdues hormones. FORN DALMAU ha contribuït a investigar el control neuro-hormonal de la formació d'àcid adenílic cíclic en el teixit nerviós.

Per l'acció d'un enzim fosfodiesterasa, l'àcid adenílic cíclic produït dins les cèl·lules resulta hidrolitzat i passa a la forma oberta (AMP), inactiva. Qualsevol factor capaç d'influir aquesta reacció pot fer variar la concentració d'àcid adenílic cíclic i determinar que els seus efectes metabòlics resultin més o menys intensos i persistents. La tirocalcitonina és capaç d'activar l'enzim fosfodiesterasa, i aquesta acció fa disminuir la concentració d'àcid adenílic cíclic o s'oposa als seus augments. En canvi, algunes substàncies exògeniques, com la cafeïna o la teofilina, inactiven l'enzim fosfodiesterasa i donen lloc que els augments d'àcid adenílic cíclic, pro-

vocats per diverses hormones, resultin més elevats i persistents, cosa que comporta el reforçament de llurs efectes metabòlics.

Els efectes de les hormones que actuen per mitjà de la formació d'àcid adenílic cíclic són variables segons les cèl·lules, probablement per llurs distintes especialitzacions metabòliques i també, possiblement, per particularitats de les adenil-ciclastes corresponents (isoenzims?). En tot cas, els diversos efectes de regulació provocats per mitjà de l'àcid adenílic cíclic justifiquen que aquest nucleòtid especial sigui considerat com una hormona intracel·lular, capaç de regular i coordinar diversos processos de dins d'una mateixa cèl·lula (regulació intrínseca) i també, de transmetre i amplificar el missatge de les hormones o transmissors exogènics (missatger intracel·lular de les regulacions extrínseques).

INFLUÈNCIES I FACTORS DE REGULACIÓ QUE ACTUEN A NIVELL DE LA REACCIÓ ENZIMÀTICA

Després de considerar els mecanismes de regulació que actuen fent variar la concentració i l'activitat dels enzims, cal tenir present que la velocitat de la reacció enzimàtica depèn, també, de les concentracions dels substrats i dels cosubstrats i, de més a més, de les influències d'alguns factors i circumstàncies que poden accelerar o retardar la reacció.

Altrament, la presència d'estructures membranoses separa compartiments cel·lulars que comporten concentracions i circumstàncies físico-químiques diferents i variables. Això vol dir que cal comptar també amb la influència reguladora dels canvis de permeabilitat i dels factors capaços de provocar-los.

Tots aquests factors i influències, bé que no actuen a nivell de l'enzim, condicionen el resultat de l'acció enzimàtica i contribueixen així a regular el metabolisme cel·lular. Cal tenir-los en compte en exposar la regulació del metabolisme, però en podem prescindir si es tracta només d'explicar el control fisiològic dels enzims. Per això, i per no repetir conceptes de cinètica enzimàtica, propis de la bioquímica dels enzims, aquests factors i influències que actuen a nivell de la reacció enzimàtica són esmentats només com a mecanismes de regulació, però no correspon d'exposar-los en aquest resum, dedicat principalment a la fisiologia dels enzims.

BIBLIOGRAFIA

1. GRISOLIA, S. — *The catalytic environment and its biological implications*. «Physiol. Rev.», 44: 657 (1964).
- 1'. GRISOLIA, S., i KENNEDY, J. — *On specific dynamic action, turnover and protein synthesis*. Perspectives in Biology and Medicine, 9: 4 (1966).
2. KREBS, H. A. — *Control of cellular metabolism*. «The molecular control of cellular activity», p. 279, McGraw-Hill Book Company, Nova York, 1962.
3. MONOD, J., CHANGEUX, J. P., i JACOB, F. — *Allosteric proteins and cellular control systems*. «J. of Molecular Biology», 6: 306 (1963).
4. PARDEE, A. B. — *Aspects of genetic and metabolic control of protein synthesis*. «The molecular control of cellular activity», p. 265, McGraw-Hill Book Company, Nova York, 1962.
5. SOLS, A. — *Regulation of glycolysis and gluconeogenesis at the enzyme level*. «Biochem. J.», 112: 2 (1969).
- 5'. SOLS, A., i MARCO, R. — *Concentrations of metabolites and binding sites. Implications in metabolic regulation*. «Current topics in cellular regulation», vol. 2, p. 227, Academic Press, Nova York, 1970.
6. SPIRIN, A. S. — Citat per ZH. A. MEDVEDEV, «Protein Biosynthesis», p. 538 (apèndix de la traducció anglesa), Oliver and Boyd, Edimburg i Londres, 1966.
- 6'. SPIRIN, A. S. — Conferència de clausura del 6th Meeting of the Federation of European Biochemical Societies (FEBS), celebrat a Madrid, 1969.
7. STADIE, W. C. — *Current concepts of the action of insulin*. «Physiol. Rev.», 34: 52 (1954).
8. SUBIRANA, J. A. — *Histones and Differentiation*. «Macromolecules. Byosynthesis and function», p. 243, vol. 21, FEBS Symposium (Proceedings of the 6th Meeting, Madrid), Academic Press, Londres, 1970.
9. VILLEE, C. A. — *The role of steroid hormones in the control of metabolic activity*. «The molecular control of cellular activity», p. 297, McGraw-Hill Book Company, Nova York, 1962.

FARMACOLOGIA DELS ENZIMS

pel doctor P. PUIG i MUSET

Professor extraordinari del Departament de Farmacologia a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona

Segons aquest concepte, el camp de l'enzimoteràpia, tal com és designada tot tractament que impliqui no sols l'ús directe d'un enzim o d'un coenzim, sinó, segons les paraules d'ABDERHALDEN, «tota pràctica o mesura terapèutica que repercuteixi en l'acció d'un dels enzims de l'organisme».

Sota aquest concepte, el camp de l'enzimoteràpia, tal com és designada aquesta nova terapèutica, és extensíssim. En efecte, hi entren de ple una sèrie de medicaments provinents de la síntesi orgànica com és ara els diürètics, l'acció dels quals consisteix a inhibir l'enzim renal carbònic-anhidrasa, la sèrie d'antidepressius que inhibeixen l'amino-oxidasa, i molts d'altres fàrmacs dels quals la inquietud investigadora actual ha pogut demostrar, en llur acció, una interferència sobre un enzim.

I en el sentit positiu, és a dir, el d'augmentar una acció enzimàtica, també en tenim abundants exemples, com és tot el grup de les hormones, ja que ara resulta que si profunditzem en llur mecanisme d'acció sobre el teixit endocrí específic, trobem que, de fet, l'hormona estimula la formació d'àcid ribonucleic o de la ARN-polimerasa de les cèl·lules específiques, i per aquest mecanisme es produeix ràpidament la resposta de tot el teixit hormonal. Així ha estat demostrat en el cas de l'acció dels estrògens, dels andrògens, dels corticoides, de les hormones del tiroide, etc.

Nosaltres en aquest moment estem treballant amb un altre exemple: l'any 1956 fou sintetitzat i estudiat un fàrmac, la fenil-oxo-oxazolidina, que tenia una acció estimulante. Aquest producte fou utilitzat sense tons de sensacionalisme fins que fa uns mesos als EE.UU. ha estat observat que aquest cos, i només aquest, actua per via enzimàtica estimulante l'ARN neuronal. En conseqüència, aquest producte de síntesi química ha passat a ésser estudiat intensament com a factor pro-enzimàtic.

Com hom pot suposar, per aquests camins —donada la ubiqüitat dels enzims en el metabolisme i funcions orgàniques—, sempre queda la pos-

sibilitat que un dia es demostrí que el fàrmac en aparença més distanciat dels enzims actua estimulant o interferint-se amb un sistema enzimàtic.

Per tant, citem aquest extens grup que segons ABDERHALDEN constitueix un dels grups en què pot ésser dividida l'enzimoteràpia, solament en les paraules anteriors.

Els altres dos grups, segons el vell autor germànic, són l'administració de fraccions prostètiques dels enzims en forma de coenzim o dels seus precursors, i l'administració dels enzims pròpiament dits.

En la utilització dels coenzims i precursors, ens trobem també davant un grup extensíssim, ja que pràcticament tota la vitaminoteràpia pot ésser considerada enzimoteràpia.

En efecte, en estudiar el mecanisme d'actuació de quasi totes les vitamines, hom observa que actuen com a grups prostètics dels enzims. Així, en una de les més ben estudiades, l'aneurina o vitamina B₁, hom va veure que actuava en el metabolisme de l'àcid pirúvic, metabolisme que és dirigit per una carboxilasa, i poc després LOHOMAN I SHULTZER van demostrar que el grup prostètic d'aquell enzim és la vitamina B₁ a l'estat d'ester pirofosfòric. I en l'organisme la vitamina B₁ sempre, abans de la seva actuació metabòlica, és transformada en aquest factor co-carboxil.

En el cas de la vitamina B₂ es repeteix aquest exemple, ja que constitueix la part més específica dels flavín-nucleòtids i flavoproteïnes (entre elles l'anomenat «enzim groc», un dels primers enzims respiratoris, l'aïllament del qual per WARBURG I CHRISTIAN marcà una època en la bioquímica).

I així podríem continuar amb d'altres vitamines fins a arribar a una de les últimes estudiades, la vitamina B₁₂, en la qual la diferència entre la vitamina i la seva forma de coenzim consisteix solament que en aquesta última l'àtom de cobalt és unit a una adenosina.

Prosseguint per aquests camins, dintre els nucleòtids sorgeixen tants factors enzimàtics com vitamines. Així, del conjunt de la nicotinamida, de l'adenina, la ribosa i àcid trifosfòric, es forma el coenzim I, denominat DPN i més recentment NAD, coenzim que en aquests moments desperta un gran interès terapèutic ja que segons estudis de l'escola canadenca de HOFFER I OSMON (estudis que nosaltres estem intentant de comprovar aquí, a Barcelona), actua precisament en el malalt esquizofrènic, tot modificant alguns aspectes de la seva personalitat patològica.

Entrem ara en el que podríem denominar grup «autèntic» de l'enzimoteràpia: la utilització d'enzims complets i purs com a medicaments.

Indubtablement, a primera vista sembla molt lògica la utilització d'un component que coneixem que actua en el metabolisme orgànic, com a mitjà terapèutic en les deficiències o disfuncions. Però contra aquesta simple apreciació sorgeixen una sèrie de dificultats pràctiques i teòriques.

En primer lloc, la constitució de quasi tots els enzims és proteínica i de gran complexitat estructural. Aquesta característica implica que la seva obtenció a l'estat totalment pur és marcadament difícil. La cristallització d'un enzim proteic és una filigrana de tècnica que en els seus començaments arribava a ésser «notícia de premsa diària». Doncs bé, fou la falta de puresa allò que impedí durant molt de temps l'ús terapèutic d'aquests magnífics agents. En els llibres recents d'enzimoteràpia, hom troba relacionats els fracassos que, des del començament de segle i fins més enllà dels anys trenta, foren acumulats en els intents d'aquesta nova branca terapèutica. No volem transcriure aquí aquest aspecte anecdòtic, ja recollit en molts llibres, sinó simplement citar-ne un de collita pròpia.

En el n.º 1 dels «Anales de la Academia de Obstetricia y Ginecología y Pediatría», que es publicà a Madrid l'any 1908, el doctor BOURKAIB feia una comunicació sobre l'interès d'utilitzar els enzims proteolítics en el tractament del càncer i, després de glossar-ne les experiències, deia taxativament —en la llengua de Cervantes— això:

«El principal defecto, quizá el único, que presenta el empleo de los fermentos proteolíticos es lo exagerado de su acción, la gran cantidad de tejido neoplástico destruido, y la rapidez de su destrucción, fenómenos que se producen quizá por una absorción de toxinas puestas en libertad, coincidiendo con aquella destrucción, hasta el punto de que en los casos de cánceres antiguos se puede llegar a una auto-intoxicación tal que determina la muerte.»

Fins l'any 1930 no fou cristallitzada la pepsina per NORTHROP, i fins l'any següent la tripsina per KUNITZ. A continuació vingué la de molts d'altres enzims, entre ells, per exemple, la quimotripsina, que fou descoberta i purificada com una substància activa que restava en les aigües mares d'obtenir la tripsina.

Arribà doncs el moment de poder utilitzar aquests enzims, però en contra d'allò que hom podia esperar, el primer d'aquests que fou utilitzat en terapèutica no va ésser un dels productes que acabem d'assenyalar que havien estat cristallitzats, sinó un altre factor enzimàtic de menys antecedents en la història però que portava un intens treball acumulat en poc temps. Aquest producte era fruit dels estudis d'un català situat en la màxima categoria de la investigació als EE.UU. i d'ell el laboratori Wyet va treure totes les normes per a extreure (de testicles de brau) i presentar el primer enzim en forma d'especialitat farmacèutica. Aquest català amb força per a imposar un nou camí terapèutic es deia FRANCESC DURAN I REYNALS, i l'enzim que començà a estudiar aquí a Barcelona amb el nom de «factor de difusió», fou presentat amb el nom genèric de hialuronidasa.

Tots sabem la història, l'ús i les característiques d'aquest enzim, motiu pel qual jo no entraré en la seva descripció, però sí que voldria fer constar

aquesta important contribució del nostre compatriota en el camp actualment brillant de l'enzimoteràpia, que ja és història!

Un segon escull que es presentava en el progrés d'aquesta terapèutica era més aviat de tipus teòric, ja que hom considerava que si la composició d'aquestes macromolècules enzimàtiques era proteínica, es podria pensar que, per llur administració a un animal, o bé s'obtidria una degradació i subsegüent assimilació, com en el cas d'una proteïna alimentària, o bé donaria lloc a una reacció de tipus immunitari amb formació d'anticossos i la rècula de reaccions que això pressuposa.

D'altra banda, teòricament també, quedava el dubte si aquestes macromolècules es podrien difondre fàcilment a través dels humors, teixits o interior de les cèl·lules.

La resposta a aquestes incògnites, com és natural, ha vingut en forma taxativa, a la vegada que sorprenent, de l'experimentació i de l'ús clínic. En efecte, si l'enzim és pur, pot ésser injectat i fins i tot ingerit per animals superiors, els quals presenten tot seguit uns efectes evidents —és a dir, sense destrucció inespecífica— i pràcticament sense donar les reaccions que la seva natura feia témer. És a dir, donen una proporció d'intoleràncies i de reaccions de l'ordre dels altres medicaments no proteics. I per això diem que el resultat ha estat sorprenent. Naturalment, les intoleràncies estan en proporció directa amb el volum de la molècula, de tal manera que, segons la nostra experiència, mentre que la ribonucleasa (que té el pes molecular més baix de tots els enzims) és extraordinàriament ben tolerada (i gairebé igualment ho foren la quimotripsina i la tripsina), no és possible administrar la catalasa (que té un grup prostètic complex i una composició proteica molt elevada) ni endovenosament ni en forma de gota a gota.

Un altre aspecte del màxim interès general en enzimoteràpia és que aquí passa igual que en la vitaminoteràpia o que en l'hormonoteràpia. És a dir, que en moltes ocasions l'actuació que resulta més interessant sembla a primera vista totalment deslligada de la seva actuació específica, o sigui que difícilment hauria pogut ésser establerta «a priori».

Els exemples són molt abundants i un dels que han promogut més polèmica ha estat l'intent d'explicació de com i per què la quimotripsina i la tripsina tenien acció antiinflamatòria. Tòpic realment complicat si tenim en compte que el mecanisme bioquímic de la inflamació és també ple d'incògnites. En resum, hom accepta que els mecanismes poden ésser múltiples, entre ells la dissolució dels microtrombus que fan que es produeixi una zona anòxica com a primer estadi de la inflamació; que es destrueixin alguns pèptids inflamatoris i així mateix que s'activin els factors catepsínics i d'altra natura que normalment eviten la inflamació. En aquests estudis fins i tot hom pensa en una acció inespecífica, és a dir, deslligada

de l'activitat proteolítica i exercida per mitjà de les suprarenals, com succeeix amb altres factors antiinflamatoris. Els assaigs amb tripsina i quimotripsina inactivades de la seva activitat proteolítica, així com els fets en animals suprarenalectomitzats, desferen aquestes hipòtesis i demostraren que l'activitat antiinflamatòria i la proteolítica eren paral·leles.

En altres tipus d'enzims com la trombina, un dels primers utilitzats, l'acció terapèutica semblava lògica si tenim en compte la definició de la seva actuació bioquímica. I així mateix la de la plasmina o fibrinolisisina, com a factor lític contra els coàguls. Però en la seva acció a nivell molecular hom troba que tots dos són uns factors proteolítics, però amb diferències qualitatives i quantitatives. Així, mentre que la trombina o fibrinòferment actua hidrolitzant part de la molècula del fibrinogen —tot alliberant un fibrinopèptid gràcies al qual el fibrinogen residual pot copolimeritzar-se fins a formar el trombus—, la fibrinolisisina o plasmina, en actuar sobre altres seqüències de la molècula, pot conduir a la seva desintegració total, almenys «in vitro».

I aquí passem a un altre aspecte important de l'enzimoteràpia, com és el que les molècules enzimàtiques, a més d'actuar en els humors i espais extracel·lulars, puguin també penetrar a l'interior de les cèl·lules. La primera impressió és negativa, atesos els coneixements que tenim de la membrana cel·lular, la qual només és franquejable per molècules petites i amb càrrega elèctrica definida. Doncs bé, en el cas d'alguns enzims, com és ara la ribonucleasa, l'escola belga del professor BRACHET, i en especial el seu deixeble LUCIEN LEDOUX, demostrà que aquest enzim era capaç de penetrar en una estructura cel·lular ben definida com és l'ou de grana, i altres tipus de cèl·lules.

Però el cas més freqüent és que l'enzim no penetri dins la cèl·lula, per dos motius: 1) perquè el seu volum molecular li ho impedeixi. 2) perquè en la constel·lació enzimàtica que existeix en tota cèl·lula hi hagi antienzims i d'altres factors que regulin el nivell de cada component. Això, per exemple, podem apreciar-ho quan és aplicat un enzim proteolític sobre un teixit necrosat i hom observa fàcilment com només resulten atacats i digerits els residus cel·lulars i resten amb tota la seva vitalitat (augmentada per l'element nutritiu que els és facilitat) totes les cèl·lules que prèviament es trobaven en bon estat. Per això hom ha pogut parlar justament del «bisturí enzimàtic».

Un altre exemple, que ha estat transcendental en la cirurgia oftàlmica, és que, aplicant l' α -quimotripsina a la cambra anterior de l'ull, cap cèl·lula vital no resulta alterada, però en canvi són atacades plenament les fibres zonulars que sostenen el cristallí, fins al punt que aquest queda alliberat. Evidentment, la zònula no és una cèl·lula viva, sinó unes fines fibres d'estructura proteica atacable en les seqüències peptídiques per

l' α -quimotripsina. Puc assegurar que aquest descobriment del doctor BARRAQUER, descobriment que jo he seguit amb detall, ha fet molt de cara al coneixement, a tot arreu del món, de la medicina de Barcelona.

En altres casos, l'actuació d'un enzim no es pot comprendre si prèviament hom no té en compte les característiques de l'element patogen sobre el qual volem actuar. Així, davant una mucositat bronquial, l'acció d'una quimotripsina o d'una desoxiribonucleasa estarà en relació directa amb la quantitat de proteïna o d'ADN que aquella mucositat contingui. I realment l'actitud lògica seria de fer unes determinacions analítiques abans d'instituir un tractament, cosa en completa contradicció amb el sentit de l'estandardització que actualment hom dóna a tot tractament.

En altres aspectes, per a comprendre l'acció d'uns enzims, cal tenir prèviament notícies de quines poden ésser les lesions bioquímiques. Així, en el cas d'utilització de l'hepatocatalasa, independentment dels resultats empírics (que són realment els que compten) no es pot comprendre la seva acció sobre el colesterol, l'àcid úric i d'altres metabòlits, si hom no coneix el significat patogen que alguns processos de peroxidació poden tenir en la seva etiopatogènia. Aquest és un aspecte sobre el qual, en altres ocasions, hem tingut ocasió d'exposar el nostre criteri en aquesta tribuna.

**ASPECTES DIAGNÒSTIC I TERAPÈUTIC
EN LES ESPECIALITATS**

ELS ENZIMS EN PATOLOGIA CARDIOVASCULAR

pel doctor M. GARCIA i MOLL

Director de la Unitat Coronària de l'Hospital
de la Santa Creu i de Sant Pau de Barcelona

El fet que el miocardi sigui un teixit ric en enzims i d'altra banda la realitat que en alguns casos l'infart miocàrdic clínicament evident no tingui una traducció electrocardiogràfica ben definida (això pot succeir en traçats amb alteracions del ritme o de la conducció, o amb signes de necrosi anteriors), impulsà diversos autors a buscar quin valor podia tenir una elevació patològica de diverses activitats enzimàtiques com a signe revelador d'una necrosi cel·lular miocàrdica. WROBLEWSKI fou un dels introductors d'aquesta idea, que ell mateix denominà «biòpsia química».

Per aquest camí, LA DUE, el 1954, fou el primer a publicar la seva experiència amb les *GOT*. D'aquest treball ençà, nombrosíssims autors han deixat ben definides les característiques de les *GOT*. La sensibilitat de les *GOT* a la necrosi miocàrdica és molt notable: la seva taxa s'eleva molt aviat després del començament del dolor (cap a les dues hores), i arriba a valors aproximadament sis vegades més alts que el normal cap al segon o tercer dia; després baixa a poc a poc fins als valors inicials cap al cinquè dia (tots aquests són valors mitjans). Una nova elevació de les *GOT* indica un nou infart o una ampliació del que ja existia. La seva efimeritat limita, doncs, el seu valor a posar de manifest només les necrosis recents i sembla que és deguda a la formació d'un autoinhibidor que l'anulla ràpidament. No sabem quin element és aquest, ni per què passa això amb la *GOT* d'origen miocàrdic però no amb la d'origen muscular esquelètic.

Un altre inconvenient és el de la seva manca d'especificitat. La seva abundor en teixits molt diversos (fetge, miocardi, cervell, hematia, múscul esquelètic) fa que aquest enzim augmenti no solament en altres afeccions cardíaques —com una miocarditis, una pericarditis amb participació miocàrdica, una taquiarrítmia amb freqüència ventricular superior a les 180

pulsacions per minut (CHINSKY), o una insuficiència cardíaca aguda—sinó també en moltes altres afeccions, com són la pancreatitis aguda (diagnòstic diferencial gràcies a l'*amilasa*), moltes hepatopaties (l'*aldolasa* i la *TGP* poden ajudar al diagnòstic diferencial), els accidents vasculars cerebrals, algunes miopaties com la distròfia muscular progressiva o moltes afeccions musculars traumàtiques o isquèmiques, l'hemòlisi, l'infart de pulmó (encara que en aquest cas l'augment no es produeix fins el sisè o setè dia i no supera el doble del valor normal, si no hi ha infarts múltiples). També pot ésser causa d'error l'administració de drogues com els opiacis, els anticoagulants, l'aspirina o la noradrenalina; hom ha comprovat que poden augmentar l'activitat enzimàtica *GOT*.

A partir d'aquests primers estudis han estat multiplicats els esforços per a trobar l'enzim ideal que no tingui els defectes de les *GOT*, és a dir que sigui altament específic de la necrosi miocàrdica i que conservi els valors patològics en el sèrum durant un llarg període de temps. La majoria dels enzims estudiats fins ara fallen en algun d'aquests dos punts, si no en tots dos.

El 1955 WROBLEWSKI i LA DUE utilitzaren la *deshidrogenasa làctica (DL)*. La seva sensibilitat a la necrosi miocàrdica és paral·lela a la de la *GOT*, i la duració dels nivells patològics un xic més llarga; en canvi, la seva especificitat és molt més baixa.

ELLIOT i WILKINSON, el 1961, proposaren l'ús de la *deshidrogenasa de l'àcid α -hidroxibutíric (DHB)*. Hom discuteix encara la identitat d'aquest enzim amb la *DL*. WIEME, per enzimoforesi, demostrà que aquesta comporta cinc fraccions de diferent velocitat de desplaçament a l'electroforesi. La més ràpida, o *DHB*, es troba sobretot en el miocardi. SCEBAT ha vist en l'infart elevacions tan ràpides com les de les *GOT*, però en canvi més persistents (fins el dia onzè com a valor mitjà). Així, doncs, la seva sensibilitat és bona, l'especificitat més marcada que la de la *DL*, i la durada molt superior.

La *deshidrogenasa màlica (DM)*, estudiada sota aquest prisma per BANG el 1957, té una sensibilitat àdhuc superior a la de les *GOT* per a la necrosi miocàrdica, i alguna vegada també una duració una mica superior, però la seva especificitat és molt baixa (pot augmentar en les pancreatitis agudes, en els infarts pulmonars, en els *shocks*, en les insuficiències cardíques agudes, etc.).

La *criatinocinasa (CC)*, introduïda per DREYFUS i SCHAPIRA el 1960, sembla tenir un interès especial per la seva alta especificitat, puix que només es troba en el teixit muscular cardíac i esquelètic; amb això les possibilitats d'error queden reduïdes a les miopaties. Malhauradament, la seva elevació, bé que generalment important, és una mica més breu que la de la *GOT*.

La resta dels enzims proposats (*aldolasa*, *PHI*, *glucomutasa*, etc.) té molt poc d'interès, sigui per la poca especificitat, sigui per la dificultat de la determinació.

En realitat no es pot dir encara, doncs, que hagi estat trobat l'enzim ideal. Els que més s'hi acosten d'una manera parcial són la *CC* quant a l'especificitat, i la *DHB* i menys la *DM* quant a la persistència. De tota manera, la determinació d'enzims és encara de tècnica laboriosa i no apta per a ésser emprada d'una manera rutinària.

Per tot això, a la pràctica, la *GOT* continua essent la més utilitzada. És realment molt eficaç en les necrosis recents. En la isquèmia coronària sense necrosi, no augmenta (i si ho fa en algunes crisis anginoses agudes permet de sospitar la formació de microinfarts). Per a poder valorar-la, cal una determinació diària des del segon dia fins al cinquè. Cal ésser molt prudent a acceptar tota elevació de les *GOT* com a signe de necrosi miocàrdica. Com ja veurem després, pot correspondre únicament a un brot d'insuficiència cardíaca aguda.

Pel que fa, no al diagnòstic, sinó al pronòstic, hom ha mirat de valorar la significació del grau d'elevació dels nivells d'activitat enzimàtica, especialment de les *GOT*.

Tothom està d'acord en un fet: com més alt és el nivell enzimàtic, pitjor és el pronòstic.

Però en l'explicació d'aquest fet empíric ja hi ha més diversitat d'opinions. Experimentalment hom ha comprovat l'existència d'un paral·lisme estret entre taxa d'enzims i quantitat de miocardi necrosat, però en la pràctica això falla sovint (d'altra banda, encara que aquesta identitat fos prou exacta, la quantitat de miocardi necrosat no és l'únic factor a tenir en compte a l'hora d'establir el pronòstic). Cal recordar que no mesurem la concentració de l'enzim, sinó la seva activitat. Així, amb una concentració igual, l'acció de certes drogues ja esmentades o la presència d'activadors o inhibidors pot fer variar l'activitat d'aquell enzim.

A més, amb una igualtat de massa necrosada, l'activitat pot veure's incrementada en alguns casos per l'aparició d'enzims procedents d'altres teixits, per exemple d'origen hepàtic. Per això molts autors han pogut comprovar que sempre que la *GOT* en un infart miocàrdic supera les 500 u. cal pensar que s'ha instaurat un sofriment hepàtic fruit de l'acció de la hipòxia o, i també, del *shock*, la qual ve acompanyada de necrosi centrolobulillar i alliberament de *GOT* (KILLIP, SHIELDS). Aquí podria ajudar la determinació simultània de la *TGP*. Segurament per a aquests autors és aquest component extramiocàrdic hepàtic el que fa que en un infart la taxa molt alta de *GOT* sigui de mal pronòstic. Aquesta deu indicar una marcada tendència a la insuficiència circulatòria, fins i tot sense cap altre signe clínic de *shock*. Cal dir també que OKA i col·laboradors comprovaren el

1954 l'aparició d'un descens en els valors de l'activitat colinesterasa en els infarts de miocardi. La duració d'aquest descens és proporcional a la seva evolució, i hom considera un allargament excessiu com un signe de mal pronòstic.

Tornant al terreny diagnòstic, també en la insuficiència cardíaca la dosificació d'alguns enzims pot ésser profitosa.

En la insuficiència cardíaca crònica sense altres complicacions (infart pulmonar, etc.) el comportament dels diferents enzims és molt divers. La *fosfohexosaisomerasa*, l'*aldolasa* i la *deshidrogenasa làctica*, tots tres enzims glicolítics, augmenten amb una certa regularitat (en un 63, 43 i 39 % de casos, respectivament). Ben a l'inrevés, d'altres es modifiquen amb constància més petita: la *deshidrogenasa màlica* en un 30 %, i la *GOT*, la *GPT*, la *deshidrogenasa isocítrica*, la *reductasa glutatiònica*, etc... només d'una manera insignificant. De tots, la *GPT* és l'única que s'eleva exclusivament en la insuficiència ventricular dreta, mentre que la resta ho fa de manera semblant tant en la dreta com en l'esquerra, la qual cosa demostra que a la hipertensió venosa amb congestió hepàtica cal associar altres factors patogènics, com per exemple la hipòxia.

Per a molts autors el control de les anomalies enzimàtiques podria ésser un bon signe per a mesurar la gravetat i seguir l'evolució d'una insuficiència cardíaca crònica.

En formes agudes, RICHMAN, KILLIP, SHIELDS i molts d'altres han trobat augmentos importants de les *GOT* i les *GPT* en un percentatge ja significatiu d'insuficiències agudes dretes o esquerres. Sembla que llur origen deu ésser hepàtic i deuen alliberar-se gràcies a una necrosi centrolobelar produïda per la interacció de tres agents: la hipertensió venosa amb congestió hepàtica, la hipòxia i el *shock*:

1) La congestió venosa hepàtica deu jugar un paper important en l'alliberament de les *GPT*, però en la de les *GOT* només deu ésser predisposadora o sensibilitzadora.

2) Són nombroses les comprovacions clíniques i experimentals que demostren la relació entre la hipòxia i l'elevació de les *GOT* i de les *GPT*. LUCAS GALLEGO, fent respirar a gossos oxigen al 10'7 i al 5 % (saturació d'oxihemoglobina portada a 92,90 i a 88 %), troba valors progressivament ascendents de *GOT* i *GPT*. REFSUM, el 1963, mostra l'estreta relació entre la taxa d'aquests enzims i la severitat de la hipòxia en la insuficiència respiratòria. EL-SHABOURY, el 1964, troba augmentos de la *GOT* en crisis asmàtiques agudes sense insuficiència cardíaca. En tots aquests treballs ha pogut ésser demostrada l'existència d'una necrosi centrolobelar.

3) Pel que fa al *shock*, sembla provat que el rendiment hepàtic varia paralel·lament al cardíac quan aquest baixa d'un cert nivell crític. Un

descens suficient de la irrigació perifèrica, tant si és d'origen central (insuficiència cardíaca, infart de miocardi, taquicàrdia extrema, etc.), com perifèric (*shock* tòxic, hemorràgic, etc.), podria augmentar les *GOT* a través d'una necrosi centrolobellar, la qual cosa ja ha estat comprovada necròpsicament en malalts morts d'insuficiència cardíaca acompanyada de *shock*.

En conjunt, el mecanisme final comú seria una necrosi centrolobellar, a la qual hom pot arribar per l'acció sumada o isolada de tres factors: la hipertensió venosa (com a predisposant a través d'una hipòxia local amb reducció crònica de la tensió d'O₂ local), la hipòxia arterial (a través del descens de la quantitat d'O₂ aportat per unitat de volum), i el *shock* (a través de la disminució de les unitats de volum aportades).

Malgrat tot, molts fenòmens queden encara inexplicats, com per exemple que les *GOT* augmentin tant en la insuficiència ventricular esquerra com en la dreta, i en canvi les *GPT* només en la insuficiència ventricular dreta.

El fet que la *GOT* pugui assolir un nivell patològic en la insuficiència cardíaca pura, pot complicar el diagnòstic enzimàtic de l'infart miocàrdic. En un malalt cardíac caldrà, doncs, ésser molt prudent en interpretar una discreta elevació efímera de les *GOT* com a signe d'infart, en absència de cap manifestació clínica o elèctrica que hi faci pensar. Potser en aquest cas ens podrà ajudar la *GPT*: si s'eleva igual o més que les *GOT*, és molt probable que es tracti només d'una insuficiència cardíaca.

Finalment, i dintre ja del capítol de la terapèutica, els enzims representen l'esperança de la terapèutica trombolítica, cada dia més necessària. El tractament anticoagulant té per missió d'evitar l'extensió dels trombus ja constituïts, i lluitar profilàcticament contra la formació de nous processos trombòtics, però la seva acció directa sobre el trombus ja format és pràcticament nul·la. Això justifica l'interès d'una terapèutica trombolítica, amb capacitat per a destruir el trombus ja ben constituït, sigui a través d'un augment de l'activitat fibrinolítica de la sang, sigui a través d'una actuació directa sobre els mateixos components del trombus. Experimentalment i en la clínica, hom té ja una certa experiència de diversos agents fibrinolítics, com és ara la *plasmina* o *fibrinolisisina* humana, una determinada fracció de placenta humana, la *urocinasa* i l'*estreptocinasa*. L'única que ha demostrat tenir una eficàcia pràctica sense massa inconvenients greus és aquesta última, la qual és emprada actualment en forma d'*estreptocinasa* purificada, per via endovenosa. La dosi inicial, destinada a neutralitzar les *antistreptocinases* circulants, és determinada practicant un test de resistència a l'*estreptocinasa*. En general, hom l'administra associada a la corticoteràpia, per tal de prevenir la possibilitat d'un *shock* iatrogen i de disminuir el risc d'hemorràgia. La tolerància és molt bona, i emprant aquesta forma purificada només cal notar la presència d'algunes crisis

hipertèrmiques, en general moderades. Cap autor no indica haver vist embòlies per fragmentació del trombus en curs de lisi. Les contraindicacions d'aquesta terapèutica seran les mateixes que les del tractament anticoagulant, més els casos de malalts ja tractats recentment amb *estreptocinasa*.

Encara és aviat per a poder valorar d'una manera exacta l'eficàcia d'aquesta modalitat terapèutica de desobstrucció vascular incruenta i precisar el seu paper al costat de la terapèutica anticoagulant i de la cirurgia. De tota manera, algunes idees semblen ja adquirides amb fermesa: una bona indicació és l'obstrucció arterial en un membre, d'una duració inferior a tres dies. Alguns autors han tingut amb l'*estreptocinasa* un 75 % d'èxits en l'obstrucció per embòlia, i un 25 % en l'obstrucció per trombosi primitiva «in situ». Però per a molts autors la cirurgia arterial directa és encara un mètode d'elecció. Una bona indicació sembla ésser la trombosi venosa perifèrica de menys de tres dies: la majoria dels autors han obtingut amb dosis baixes d'*estreptocinasa* una desobstrucció ràpida en un percentatge alt de casos, i amb menys embòlies pulmonars i amb menys ròssecs que amb l'ús d'anticoagulants. És encara difícil de valorar els resultats obtinguts en el tractament de l'embòlia pulmonar, l'infart de miocardi i l'obstrucció arterial aguda renal, mesentèrica o retiniana. Aquests resultats potser serien millors en les trombosis venoses d'aquests tres mateixos territoris. En els accidents vasculars cerebrals l'agreujament és més freqüent que la millora, fins al punt que alguns autors els consideren àdhuc com una contraindicació de la terapèutica trombolítica.

En conjunt podríem dir que en la pràctica les possibilitats d'aplicació d'aquest tractament són encara força limitades, en part per raons de tipus econòmic, i en part per requerir un internament en instal·lacions hospitalàries amb un control molt estricte. Malgrat tot, som indubtablement davant un camí terapèutic de brillant esdevenidor.

ASPECTES DIAGNÒSTIC I TERAPÈUTIC DELS ENZIMS EN LES MALALTIES DE L'APARELL DIGESTIU

pel doctor A. GALLART-ESQUERDO

Director de l'Escola de Patologia Digestiva Gallart-Monés i del Servei
de Patologia Digestiva de l'Hospital del Sagrat Cor de Barcelona

AMILASA EN LA SALIVA

L'únic enzim que conté la saliva és la ptialina o amilasa salival, el qual hidrolitza el midó i el converteix en dextrina i en maltosa. El midó procedent de l'alimentació només queda exposat a l'acció enzimàtica de la saliva durant breus moments puix que, quan l'aliment arriba a l'estómac, l'amilasa salival és inactivada per l'àcid clorhídric.

Sovint, l'amilasa serosa i la urinària es troben en quantitat elevada en la litiasi de les glàndules salivals i en les parotiditis agudes. Rarament són objecte d'investigació per a corroborar el diagnòstic d'aquestes afecions, perquè aquest no sol oferir dificultats en la pràctica.

PEPSINA EN LA SECRECIÓ GÀSTRICA

El pepsinogen, secretat per les cèl·lules principals o zimògenes de les glàndules fúndiques, és activat per l'àcid clorhídric i esdevé pepsina. Aquesta, en medi àcid (pH: 1,2-2,4), hidrolitza les proteïnes a proteoses i peptones, com a fase preparatòria de la degradació més completa d'aquelles a l'intestí prim.

Aproximadament el 99 % dels grànuls de pepsinogen són alliberats a la cavitat gàstrica (*secreció exocrina*); la resta (1 %) penetra a la sang (*secreció endocrina*) i és eliminada pel ronyó (uropepsina).

Rarament hom observa en la clínica deficiències o absència de pepsina en el suc gàstric, encara que es tracti de casos d'hipoclorhídria intensa o d'aclorhídria. Aquests dèficits són fàcilment compensats pels enzims pro-

teolífics intestinals. La dosificació de la pepsina gàstrica té escàs valor pràctic.

PEPSINOGEN PLASMÀTIC I URINARI

Hom desconeix el mecanisme exacte pel qual el pepsinogen passa de les cèl·lules principals de les glàndules fúndiques a la sang. Per a uns, l'enzim es difon a través de la part de la cèl·lula principal en contacte amb un capil·lar; per a altres, la cèl·lula principal, en desintegrar-se, allibera el seu contingut en el líquid intercel·lular.

En l'úlçera duodenal les concentracions mitjanes de pepsinogen plasmàtic són d'1,5 a 2 vegades més altes que en els individus normals. En l'úlçera gàstrica, són lleugerament elevades. En el càncer gàstric són normals o un xic baixes. En l'anèmia perniciosa, la concentració del pepsinogen plasmàtic és escassa. En la urèmia es troba augmentada proporcionalment a l'acumulació del nitrogen no proteic.

En l'úlçera duodenal l'excreció d'uropepsina és d'1,5 a 4 vegades superior a la del subjecte normal. En l'úlçera gàstrica es troba molt poc augmentada o és normal. En alguns casos de càncer gàstric es troba molt disminuïda o és nul·la.

La histamina i els altres estimulants de la secreció gàstrica, l'atropina i els seus similars, i la vaguectomia bilateral, no tenen cap acció sobre l'excreció del pepsinogen urinari, malgrat que els anticolinèrgics i la vaguectomia bilateral redueixen notablement la secreció gàstrica de pepsina. En canvi, l'excreció d'uropepsina augmenta després d'administrar ACTH o corticosteroides.

Per ara, ni les dosificacions del pepsinogen plàsmic ni les de l'urinari poden substituir els mètodes d'exploració directa de la secreció gàstrica (sovint no hi ha paral·lisme entre la secreció del pepsinogen gàstric i la seva excreció per l'orina).

LIPASA EN EL SUC DUODENAL

Els mètodes que posseeixen valor diagnòstic són els que estimulen directament la secreció pancreàtica externa, i, d'aquests, les proves de la secretina i especialment la de la secretina-pancreozimina.

La lipasa és el ferment pancreàtic que pot ésser dosificat amb més garanties, ja que la seva acció només pot ésser substituïda per la de la lipasa intestinal, però aquesta és molt poc activa en el suc duodenal obtingut per sondatge en dejú.

En les pancreopaties cròniques i en el càncer del cap del pàncreas sovint hi ha disminució o absència de lipasa en el suc duodenal. En canvi, en el càncer corporocaudal, l'excreció de lipasa sol ésser normal. En la litiasi pancreàtica l'excreció de lipasa pot quedar reduïda a zero quan hi ha un càlcul enclavat a la porció terminal del conducte de Wirsung, i en els casos de litiasi generalitzada a tota la glàndula.

AMILASA SEROSA

L'amilasèmia està augmentada en el començament de les pancreopaties agudes, però ràpidament davalla a valors normals. Les xifres més altes es troben entre les 5 i les 12 hores de la iniciació de l'atac agut. Cal recalcar que en la necrosi pancreàtica amb destrucció massiva del parènquima l'amilasèmia pot ésser baixa.

En les afeccions renals que van acompanyades de retenció ureica, l'amilasèmia pot estar augmentada, però no l'amilasúria. Per tant, la hiperamilasèmia només parla a favor d'una afecció pancreàtica quan el funcionament renal és normal.

Cal tenir en compte que l'amilasa serosa també pot estar augmentada en l'úlcera duodenal que penetra en el pàncreas, en la peritonitis aguda, en l'obstrucció intestinal aguda, en la litiasi coledocal, en les malalties de les glàndules salivals (litiasi i parotiditis agudes, com ja hem fet constar en ocupar-nos de l'amilasa salival), en la intoxicació per metanol (alcohol metílic o de fusta), després de la ingestió d'etanol (alcohol etílic) i després d'administrar morfina per via parenteral. Per tant no injectarem mai morfina o similars a cap malalt al qual hom vulgui dosificar l'amilasa serosa.

AMILASA URINÀRIA

Tot el que hem dit referent a l'amilasa serosa podríem repetir-ho aquí. La determinació de l'amilasa urinària és un mètode més groller per a l'estudi de la funció pancreàtica que la investigació de l'amilasa serosa. En termes generals els nivells de l'amilasa urinària són paral·lels als de l'amilasa serosa, i, quan la funció renal és normal, els valors d'aquella clarament superiors als normals parlen a favor d'una pancreopatia aguda.

Cal recalcar que les xifres màximes d'amilasa en l'orina tendeixen a presentar-se un xic més tard que les de la sang. Per tant, la determinació de l'amilasa urinària pot tenir valor diagnòstic quan la sang no ha pogut ésser examinada en el moment més favorable.

LIPASA SEROSA

És més difícil de dosificar que l'amilasa, i com que en general hom accepta que ambdós enzims presenten activitats paral·leles en les afeccions agudes del pàncreas, en la clínica només se sol dosificar l'amilasa a la sang. No obstant això, aquest criteri no és correcte, puix que sembla que en les pancreopaties agudes l'augment de la lipasa serosa és més persistent que el de l'amilasa; quan aquesta última ja ha recuperat el seu valor normal, la investigació de la lipasa pot ésser útil per a confirmar el diagnòstic de procés pancreàtic agut.

FOSFATASA ALCALINA SEROSA

(valor normal: 1,5-4 u. Bodansky/100 ml. o 3-13 u. King-Armstrong)

La fosfatasa alcalina serosa està augmentada especialment en les obstruccions biliars, i, en més petita escala, en les afeccions del parènquima hepàtic.

Hom desconeix el mecanisme pel qual augmenta aquest enzim en les malalties hepatobiliars, però és probable que depengui dels factors següents: *a*) Que estigui dificultada la seva excreció per la bilis (normalment hi és eliminat); *b*) Que estigui augmentada la seva producció pel fetge.

La fosfatasa alcalina del sèrum augmenta en: *a*) L'obstrucció biliar extrahepàtica completa o incompleta, no complicada; *b*) La cirrosi biliar primitiva; *c*) La colangitis; *d*) La icterícia hepatocel·lular; *e*) Alguns casos de cirrosi portal, d'abscess hepàtic i de quist hidatídic del fetge; *f*) El càncer primitiu i el metastàtic del fetge; *g*) Quan la sarcoïdosi, la malaltia d'Hodgkin, la tuberculosi, etc., afecten el fetge.

La fosfatasa alcalina serosa és normal en l'atrèsia congènita de les vies biliars i en la icterícia hemolítica.

En la icterícia obstructiva el seu valor sol ultrapassar les 10 u. Bodansky/100 ml. o les 30 u. King-Armstrong. En la icterícia hepatocel·lular hom observa també valors elevats, però quasi sempre inferiors als esmentats per a la icterícia obstructiva. Aquestes dades tenen valor clínic, però no categoria de regla per a establir el diagnòstic diferencial entre les icterícies obstructives i les hepatocel·lulars. En les icterícies obstructives són poc freqüents els valors baixos. En termes generals hom pot acceptar que l'augment de la fosfatasa alcalina serosa és una dada més fidedigna d'estasi biliar que l'augment de la bilirubinèmia. L'obstrucció biliar incompleta (estenosi de l'hepatocolèdoc o cirrosi biliar primitiva) provoca augment

considerable de la fosfatasa alcalina, augment que no guarda relació amb el de la bilirubinèmia, a vegades, poc alta.

En els tumors hepàtics malignes, primitius o metastàtics, la fosfatasa alcalina pot estar augmentada, malgrat que no vagin acompanyats d'icterícia ni de metastasis òssies. Davant un càncer de l'estómac, del còlon o del recte, la fosfatasa alcalina normal, no descarta la presència de metastasis hepàtiques; per tant la seva dosificació no es pot utilitzar com a índex de l'operabilitat del tumor primitiu.

Els valors de la fosfatasa alcalina serosa no reflecteixen el dany hepatocel·lular; són normals en moltes cirrosis hepàtiques que evolucionen sense icterícia o que es troben en fase de compensació clínica.

TRANSAMINASES SEROSES GLUTÀMICO-OXALACÈTICA I GLUTÀMICO-PIRÚVICA
(valors normals: inferiors a 40 u./ml. per a la glutàmico-oxalacètica
i a 30 u./ml. per a la glutàmico-pirúvica)

Normalment ambdós enzims gairebé en la seva totalitat són intracel·lulars. L'ur nivell serós augmenta quan els teixits que els contenen són destruïts en forma aguda, probablement perquè les cèl·lules lesionades alliberen els enzims al torrent circulatori.

La transaminasa glutàmico-oxalacètica (GOT) es troba en gran quantitat al cor, al fetge, als músculs esquelètics i al ronyó. La transaminasa glutàmico-pirúvica (GPT) es troba també al fetge, però en quantitat absoluta més petita si es compara amb la GOT que conté. No obstant això, la GPT està en una més gran proporció en el fetge que en el cor i en els músculs esquelètics. Per aquest motiu l'elevació de la GPT serosa és més específica de lesió hepàtica que la de la GOT, i el nivell de la primera augmenta més en la necrosi hepatocel·lular que en l'infart de miocardi.

La determinació de les transaminases és útil sobretot per a confirmar el diagnòstic precoç de l'hepatitis vírica durant les epidèmies i per a descobrir les formes anictèriques. La investigació cal fer-la en iniciar-se la malaltia, car passats 8-10-15 dies ja es poden obtenir resultats normals.

Valors de la GOT serosa superiors a les 800 u./ml., gairebé sempre indiquen hepatitis vírica o mononucleosi infecciosa (pràcticament el diagnòstic diferencial entre aquestes dues afeccions i amb l'infart de miocardi no ofereix cap dificultat).

En l'hepatitis vírica l'augment de la GPT és relativament més alt que el de la GOT.

L'elevació sostinguda de les transaminases induïx a creure que l'afecció hepàtica és en plena activitat. Per a valorar aquest dubte, cal tenir

present el quadre clínic del malalt i el nivell de la bilirubinèmia (quan el pacient és icteric).

La determinació de les transaminases també és útil per a conèixer les lesions hepàtiques provocades pel tetraclorur de carboni, la iproniazida, etc. En canvi, hom troba valors normals en la icterícia que hom atribuïa, creiem que erròniament, a la clorpromacina (largactil).

La cirrosi recidivant del fetge i la cirrosi juvenil activa solen provocar augments marcats de les transaminases, les quals es normalitzen després de l'administració de corticosteroides.

Hom troba augments moderats en les icterícies obstructives i en els tumors malignes del fetge, primitius o secundaris.

La GOT també pot estar augmentada en la trombosi mesentèrica aguda i en les pancreopaties agudes o subagudes.

És important de recalcar que la sang hemolitzada no serveix per a investigar les transaminases, ja que conté deu vegades més enzims que el sèrum sanguini no hemolitzat.

El quocient GOT/GPT disminueix en l'hepatitis vírica, augmenta considerablement en l'infart de miocardi i està lleugerament augmentat en la cirrosi recidivant del fetge.

ALTRES ENZIMS

Molt menys valor diagnòstic que les dosificacions de la fosfatasa alcalina i de les transaminases tenen les determinacions del enzim que citem a continuació:

a) *5-nucleotidasa serosa*. — És una fosfomonoesterasa alcalina. El seu nivell normal és de 0,3 a 3,2 u.Reis/100 ml. de sèrum. Està augmentada especialment en la icterícia obstructiva. Segons dades de la literatura, el 90 % de les icterícies hepatoceHulars presenten valors inferiors a 10 u., mentre que en el 95 % de les icterícies obstructives són superiors a aquesta xifra.

b) *Glucosa-6-fosfatasa serosa*. — És pràcticament absent en l'emmagatzematge de glicogen pel fetge (malaltia de von Gierke). En canvi, augmenta a vegades considerablement en la majoria d'afeccions hepatocel·lulars de l'adult.

c) *Deshidrogenases seroses làctica i isocítrica*. — La deshidrogenasa làctica està augmentada en l'hepatitis aguda, però no en la icterícia obstructiva ni en la cirrosi hepàtica. També pot estar elevada en el càncer metastàtic del fetge i en les pancreopaties agudes. La deshidrogenasa isocítrica està augmentada en la majoria de lesions hepatoceHulars (hepatitis

vírica, mononucleosi infecciosa, càncer hepàtic, obstrucció biliar, cirrosi hepàtica). Com que no està elevada en l'infart de miocardi, per a alguns autors és més específica de lesió hepàtica que la GOT.

d) *Pseudocolinesterasa serosa*. — Està augmentada en la cirrosi hepàtica que tendeix a compensar-se i durant la recuperació de l'hepatitis aguda. En canvi, es troba disminuïda en la cirrosi hepàtica descompensada, en l'hepatitis aguda activa, en el càncer metastàtic del fetge i en totes les hepatopaties en què el pacient està mal nodrit. En l'obstrucció biliar no complicada és normal.

e) *Leucino-aminopeptidasa serosa*. — En general està augmentada en el càncer del cap del pàncreas que evoluciona amb icterícia; aquesta dada no permet establir el diagnòstic diferencial amb altres tipus d'icterícia obstructiva ni altres malalties hepàtiques (cirrosi, hepatitis vírica, colecistitis). Davant un càncer de qualsevol localització, l'augment de la leucino-aminopeptidasa indueix a pensar en metastasis hepàtiques (sempre que el tumor primitiu no radiqui en el cap del pàncreas).

TERAPÈUTICA PELS ENZIMS DIGESTIUS

Des del punt de vista teòric la terapèutica substitutiva pels enzims digestius és lògica i satisfà l'esperit del clínic, però en la pràctica proporciona resultats descoratjadors en la majoria dels casos.

Això és degut principalment a factors d'ordre tècnic, com és ara la dificultat d'obtenir productes farmacològics d'eficàcia i estables; al fet que la via d'administració, necessàriament oral en la majoria dels casos, exposa el medicament a processos de degradació, i que es requereixen condicions especials de pH i de contacte dels fàrmacs amb els aliments perquè la seva eficàcia sigui real i no alterada especialment per l'acidesa gàstrica.

D'altra banda, la resposta de l'organisme pot ésser —i de fet ho és sovint— contradictòria i paradoxal. Hi ha molts malalts amb trastorns funcionals de l'aparell digestiu en els quals no es troba cap dèficit secretori enzimàtic, i malgrat això guareixen o, almenys, els desapareixen els símptomes clínics en administrar-los enzims digestius. Però també succeeix que certes insuficiències glandulars secretòries, com, per exemple, l'aclorhídria, són perfectament tolerades; aquests individus gaudeixen de perfecta salut, llur equilibri nutritiu és normal i no necessiten cap tractament. En canvi, quan l'aclorhídria provoca trastorns digestius, aquests no responen o responen deficientment a la terapèutica substitutiva.

Deixant de banda la insuficiència salival, que és molt poc freqüent i que tampoc no altera el funcionalisme digestiu, i la insuficiència intes-

tinal, que sempre és associada a una síndrome de mala absorció, direm algunes paraules del tractament de la insuficiència enzimàtica de l'estómac i del pàncreas. No ens ocuparem de l'inactivador de la caliceïna-tripsina en el tractament de les pancreopaties agudes perquè ho farà el Dr. Pi-Figueras. No obstant això, volem dir que, segons la nostra experiència, encara és prematur d'emetre un judici definitiu sobre l'eficàcia d'aquest tractament. Tenint en compte la gravetat dels processos pancreàtics aguts i la bona tolerància del producte, és aconsellable la seva administració, però a condició de fer-ho a dosis elevades (450.000 a 900.000 u. o més/dia), per via endovenosa.

a) *Insuficiència enzimàtica gàstrica*

L'estómac té dues funcions: la de reservori i la digestiva. Com és natural passarem per alt la funció de reservori i el paper de l'àcid clorhídric i direm solament que el dèficit de pepsina és de molt rara observació en la pràctica.

La pepsina no ha d'ésser mai administrada barrejada amb àcid clorhídric perquè aquella és destruïda per l'acció d'aquest darrer en un temps relativament curt. Més racional és l'associació de la pepsina amb el clorhidrat de betaïna, producte sòlid que únicament en dissoldre's en aigua allibera àcid clorhídric. La papaïna és un enzim proteolític, obtingut de la planta *Carica papaya*, que pot substituir amb èxit tant la pepsina com la tripsina.

L'administració de pepsina no té cap acció sobre la síndrome del «dumping» ni sobre els trastorns nutritius que sovint presenten els gastrectomitzats. Tampoc la pepsina no millora els trastorns digestius que relativament sovint pateixen els malalts d'anèmia perniciosa (que és del tipus de l'agàstria secretòria); en canvi, aquells desapareixen amb la vitamina B₁₂, malgrat que l'aquília persisteix invariable.

b) *Insuficiència enzimàtica pancreàtica externa*

Per tal de no allargar més la nostra intervenció passarem per alt l'opoteràpia pancreàtica externa (ingestió de pàncreas cru, de suc pancreàtic, de pols de pàncreas i d'extrets pancreàtics comercials). Qui s'interessi per aquest assumpte el trobarà descrit amb detall en el nostre treball *Tratamiento médico de las pancreopatías crónicas* («Progresos de Terapéutica Clínica» 17: 5-31, 1964). Només recordarem que SCHÖN, el 1962, estudià detingudament l'activitat tripsina, quimotripsina, lipàsica i amilàsica dels dotze preparats farmacèutics del comerç considerats com els més actius. Llur potència enzimàtica variava d'un preparat a l'altre, però especial-

ment el poder lipolític fou escàs en tots. Segons l'autor citat, amb 5-10 pastilles per dia, que són les dosis que hom aconsella d'aquests específics, els resultats terapèutics són nuls des del punt de vista enzimàtic; hom pot esperar només respostes eficients amb dosis tan considerables com són 100 pastilles per dia.

El *pàncreas liofilitzat* (dessecat al buit a -30°C), recentment introduït en terapèutica, i del qual no tenim experiència personal, constitueix versemblantment un progrés. A més d'ésser agradable al paladar, segurament conserva millor les seves propietats enzimàtiques, probablement perquè les proteïnes pancreàtiques el protegeixen, en part, contra els efectes destructors de la digestió gàstrica. Hom l'administra a la dosi de 10 g. diaris, en dues preses.

Com que els enzims pancreàtics són destruïts en travessar l'estómac (la tripsina per la pepsina a pH inferior a 3,5; la lipasa per l'àcid clorhídric i la pepsina), hom ha intentat protegir-los mitjançant càpsules voltades de gluten, cera, ceratina, etc. Aquests artificis no serveixen per a res: si són poc resistents, són destruïts a l'estómac, i si són massa resistents, necessiten l'acció de la tripsina que està en dèficit per a atacar-los i digerir-los i resulta que el preparat arriba a l'íleon i al cec sense haver actuat a causa de la seva protecció.

Per acabar recordem que els enzims pancreàtics no han d'ésser mai associats a l'àcid clorhídric, a la pepsina, ni als altres ferments proteolítics, com la papaïna, puix que aquells són destruïts per aquests darrers.

ELS ENZIMS EN PATOLOGIA RESPIRATÒRIA

pel doctor RAIMON CORNUDELLA

Cap del Departament de Fisiopatologia Respiratòria de l'Hospital
de la Santa Creu i de Sant Pau de Barcelona

L'enzimologia aplicada a la patologia de l'aparell respiratori té uns horitzons limitats. Per a sistematitzar la meua intervenció em referiré primer a la seva aplicació al diagnòstic, i després faré esment dels aspectes terapèutics.

ASPECTES DIAGNÒSTICS

En els darrers anys, diversos investigadors han observat un augment dels enzims serosos, especialment de la transaminasa glutàmico-oxalacètica i la deshidrogenasa làctica en els pacients neoplàsics. En el cas concret de les afeccions pulmonars, GOLD (1961) troba valors elevats de deshidrogenasa làctica en el carcinoma bronquial i en el càncer pulmonar metastàtic i constata els nivells més elevats en casos de tumor extens i en aquells que han metastatitzat; els valors tornen a límits normals després de l'exèresi quirúrgica i en bon nombre de casos després de la irradiació.

El mateix autor assenyala que en les pneumònies bacterianes i víriques i en els infarts pulmonars també augmenta la taxa de deshidrogenasa làctica, cosa que no succeeix en la tuberculosi i en les altres afeccions pulmonars. En canvi, observa valors normals de les transaminases glutàmico-pirúvica i glutàmico-oxalacètica en el carcinoma broncogènic (fora dels casos que han fet metastasis hepàtiques) i en les pneumònies víriques o bacterianes.

El sofriment hepàtic per aportació insuficient d'oxigen ha estat conegut durant molts anys gràcies als exàmens anatomo-patològics de casos d'hipòxia experimental. Recentment, els exàmens biològics sanguinis, especialment aquells que es refereixen a l'estudi dels enzims serosos d'origen hepàtic, han permès d'investigar el sofriment del parènquima hepàtic en les insuficiències respiratòries.

Ha estat descrit un augment de les transaminases seroses en els asmàtics en crisi (H. COLLEDAHL, 1961; A. H. EL-SHABOURY i col·laboradors, 1964), en els episodis d'insuficiència respiratòria aguda (H. E. REFSUM, 1963, 1964) i en els episodis de descompensació aguda dels insuficients respiratoris crònics (bronquítics crònics, emfisematosos, pneumoconiòtics, tuberculosos) (CH. GERNEZ-RIEUX, H. WAREMBOURG i col·laboradors, 1964, 1965). La importància de les modificacions de les transaminases és funció de la brutalitat i de la intensitat de l'episodi de descompensació aguda. Si bé les transaminases poden tenir orígens extrahepàtics, el grau d'augment i la participació important de les glutàmico-pirúviques pledegen a favor de la participació preponderant del fetge en llur elevació en el curs de la hipòxia. Les taxes més altes són observades a l'inici de la descompensació i, en absència d'agreujament, els valors tornen a la normalitat en menys de vuit dies.

Hom ha constatat (H. COLLEDAHL; F. GUERRIN, 1965) un augment de l'ornitín-carbamil-transferasa en el curs de les descompensacions agudes respiratòries. Atesa l'especificitat d'aquest enzim, el seu augment signa de manera indubtable l'afecció hepàtica per la hipòxia. Sembla estar en relació directa amb la gravetat de l'episodi de descompensació. El retorn a la normalitat és progressiu, més lent que per a les transaminases.

També han estat descrits valors mitjans elevats d'aldolasa (1-6 fosfat) en les grans síndromes d'hipòxia-hipercàpnia. El retorn a la normalitat encara és més lent que per a l'ornitín-carbamil-transferasa.

La deshidrogenasa làctica està sovint augmentada, però de manera discreta.

En canvi hom no ha observat modificacions en la taxa de fosfatases alcalines, la qual cosa no és sorprenent perquè llur augment no està en relació directa amb el sofriment cel·lular hepàtic.

És molt possible que en el sofriment hepàtic en el curs de la hipòxia participin perturbacions d'ordre vascular, ja que les regulacions vasculars hepàtiques són extremadament làbils. També és possible que la hipercàpnia i l'acidosi de les descompensacions respiratòries siguin factors agreujants: de fet, les elevacions més importants s'observen en aquells casos en què la hipòxia és acompanyada d'una hipercàpnia important. La significació pronòstica d'aquesta afecció hepàtica en el curs de les insuficiències respiratòries és encara mal coneguda.

ASPECTES TERAPÈUTICS

La utilitat dels enzims en terapèutica pneumològica és de valor secundari i es limita a l'ús dels enzims proteolítics pancreàtics tripsina i

α -quimotripsina, dels enzims bacterians estreptoquinasa-estreptodornasa i de la proteïnasa papaïna, obtinguda de la planta tropical *Carica papaya*.

En aplicació local hom ha emprat la tripsina, l' α -quimotripsina i l'estreptoquinasa-estreptodornasa en el tractament dels empiemes pleurals i dels hemotòraxs amb la finalitat de dissoldre el pus i els coàguls de fibrina; indirectament posseeixen un efecte antibacterià pel fet de la destrucció del medi nutricional en hidrolitzar les proteïnes i perquè augmenta l'aparició de nous granulòcits. L'absorció dels productes de degradació proteica pot ocasionar febre, cefalees i nàusees; les reaccions febrils són especialment violentes amb l'estreptoquinasa-estreptodornasa.

Per via aerosòlica, la tripsina i l' α -quimotripsina provoquen una líquefacció de les secrecions viscoses. Hom ha descrit, però, reaccions col·laterals: irritació de la mucosa, febre i dispnea. FARBER i col·laboradors, el 1954, cridaren l'atenció sobre les alteracions histològiques que es produïen en l'epiteli bronquial del tipus de metaplàsies atípiques i de disceratosi que persisteixen mesos després d'abandonat el tractament.

La via intramuscular i la via oral també han estat emprades. Els resultats, però, no són massa brillants.

ELS ENZIMS EN PATOLOGIA QUIRÚRGICA DE L'APARELL LOCOMOTOR

pel doctor A. FERNÁNDEZ i SABATÉ

Del Centre de Rehabilitació i Traumatologia de la Seguretat Social.
Barcelona

Per tal de seguir una sistemàtica en l'exposició del tema en els seus aspectes de recerca, diagnòstic i tractament, parlarem de diversos enzims ordenats d'acord amb la classificació de Baldwin en els quatre grups següents: I) Enzims de partició; II) Enzims d'addició i subtracció; III) Enzims de transferència; IV) Enzims d'òxido-reducció.

I) ELS ENZIMS DE PARTICIÓ

En aquest grup, on la majoria dels enzims són hidrolases, trobem els més importants per a la clínica de l'aparell locomotor.

Esterases

Lipasa

A conseqüència d'una gran fractura o d'una intervenció ortopèdica pot produir-se una embòlia greixosa. Augmenta la lipèmia, sobretot a la circulació pulmonar, i hom troba una hiperlipasèmia. Els darrers estudis sobre l'aclariment del sèrum lipèmic recerquen el factor que desdobra els greixos neutres, components importants de les lipoproteïnes. Aquest factor ha estat anomenat lipoprotein lipasa, i deu tenir una funció activadora de la hidròlisi dels greixos sumada a l'heparina. S'obre un nou camp a la terapèutica enzimàtica en els estats d'hiperlipèmia aguda, els quals amb una certa freqüència compliquen la cirurgia ortopèdica.

Fosfatases

Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina dirigeix el procés de fixació càlcica de l'osseïna o substància preòssia. Actua en dos temps: primer hidrolitza els esters fosfocàlcics i allibera àcid fosfòric i el fosfat càlcic insoluble que s'acumula en el plasma intersticial; després afavoreix l'adsorció d'aquestes sals càlciques per l'osseïna. En el teixit ossi, la fosfatasa és segregada pels osteoblasts, les cèl·lules del cartílag de creixement, i alguns elements del periosti. El nivell és elevat en l'os en creixement; en l'adult, l'os amb prou feines en conté. Com que el seu origen essencial és ossi, el nivell de fosfatasa alcalina del sèrum reflecteix l'activitat dels osteoblasts.

En condicions patològiques les seves elevacions tradueixen una hiperactivitat osteoblàstica. La hiperfosfatàsèmia és essencial per al diagnòstic de diverses afeccions òssies: malaltia de Paget (on presenta els valors més alts, fins a 150 unitats Bodanski o més), malaltia òssia de Recklinghausen o hiperparatiroidisme primari (elevacions més moderades, de 20-30 u. Bod), raquitisme i osteomalàcia, sarcoma osteogènic i, de forma inconstant, mieloma. La hipofosfatàsèmia pot trobar-se a vegades en malalties on hi ha una depressió de l'activitat osteoblàstica, com l'osteoporosi i l'hipoparatiroidisme.

Fosfatasa àcida

La fosfatasa àcida de la sang procedeix de la secreció prostàtica. Es troba en quantitat important en les metàstasis òssies de la neoplàsia de la pròstata. Una fosfatàsèmia àcida superior a deu unitats Gutman, permet afirmar que una neoplàsia òssia és secundària a una de prostàtica, sovint ignorada. La hiperfosfatàsèmia àcida és favorablement influïda per la castració, la injecció d'estrògens o la prostatectomia. En les fosfatases àcides, com en les alcalines, el retorn a la normalitat és índex de l'eficàcia d'un tractament.

Glicosidases

Hialuronidasa

El líquid sinovial rep la seva viscositat de la mucina, la qual és rica en àcid hialurònic; les grans molècules de l'àcid produeixen una forta atracció oncòtica cap a l'interior de la cavitat articular. Hom pot obtenir la degradació de l'àcid hialurònic amb la hialuronidasa, que és una mucopolisacaridasa. Injectada intraarticularment disminueix la viscositat del líquid sinovial, i en injecció periarticular produeix un augment de la

permeabilitat del teixit conjuntiu subsinovial. Aquests efectes són utilitzats en terapèutica per a facilitar l'evacuació dels vessaments sanguinis articulars posttraumàtics i per a ajudar a la reabsorció dels vessaments articulars residuals i de les sinovitis cròniques.

L'acció desdobladora de l'àcid hialurònic i de l'àcid condroïtinsulfúric, elements bàsics de la substància fonamental del teixit conjuntiu, fa que la hialuronidasa sigui de gran eficàcia en l'anestèsia local perifocal de les fractures, gràcies a la major difusió de l'anestèsic. En l'anestèsia de conducció, la hialuronidasa facilita a la novocaïna la penetració a través del perineuri, amb uns efectes anestèsics més ràpids i més amplis. Els petits hematomes subcutanis es reabsorbeixen més ràpidament després de la injecció local de hialuronidasa; els grans són afavorits en la seva reabsorció total pel ferment després d'una correcta evacuació.

Proteïnases

T r i p s i n a

L'acció proteolítica de la tripsina i de la quimotripsina ha estat molt utilitzada en tots els processos on hi ha una necrosi hística. Ambdós ferments digereixen els constituents proteics dels teixits morts i de les parets desvitalitzades i faciliten llur eliminació; s'aconsegueix així un desbridament enzimàtic mitjançant el que ha estat anomenat el «bisturí enzimàtic». No ataquen en canvi les cèl·lules vives gràcies a l'activitat antienzimàtica de què estan dotades; aquesta acció o protecció antitripsínica de les cèl·lules vives és un fet fisiològic.

La tripsina i la quimotripsina en aplicació local estan indicades en les supuracions, les cremades, les úlceres infectades, les úlceres per decúbit i les lesions necròtiques, totes les quals coses sovint compliquen les lesions traumàtiques o algunes vegades la gran cirurgia òsteo-articular.

Un augment de pressió en una cavitat tancada, dificulta la circulació i actua nocivament sobre l'activitat enzimàtica afegida; s'evita aquest trastorn assegurant l'evacuació dels líquids per drenatge o aspiració. Sota l'acció dels enzims els coàguls es lisen, els exsudats purulents es fluidifiquen, i els teixits necròtics es desprenen i deixen progressar un bon teixit de granulació.

Els enzims proteolítics han estat utilitzats també per via general, amb bons resultats, en traumàtics i en operats. Acceleren la reabsorció dels petits edemes i l'organització dels coàguls que queden en els espais dissecats durant la intervenció. No actua, en canvi, en les col·leccions hemàtiques o purulentes, les quals han d'ésser desbridades i drenades prèviament.

El tractament enzimàtic postoperatori té un lloc important en cirurgia ortopèdica i traumatologia sempre que, però, hagin estat rigorosament observades les regles bàsiques d'aquesta cirurgia: hemostàsia correctíssima, reconstrucció rigorosa dels plans de la ferida, eliminació d'espais buits, asèpsia i drenatge amb aspiració. Quan el tractament antibiòtic és indicat, l'acció dels enzims proteolítics n'afavoreix l'efecte. No seguir aquestes regles quirúrgiques farà fracassar la terapèutica enzimàtica postoperatoria.

La quimotripsina és utilitzada per via intraarticular amb bons resultats en el tractament de les rigideses articulars posttraumàtiques i en la periartritis escapulohumeral, i també en algunes tendinitis.

L'experimentació ha demostrat que la tripsina i la quimotripsina per via local augmenten llur acció amb l'associació de la hialuronidasa.

Hom ha aconseguit també el desbridament enzimàtic amb enzims proteolítics obtinguts de l'estreptococ, com són l'estreptoquinasa i l'estreptodornasa. L'associació ha donat resultats locals en ferides i focus purulents i necròtics, anàlegs als de la tripsina i quimotripsina.

P a p a ï n a

És un enzim proteolític d'origen vegetal extret de la *Carica papaya*. Per via general es mostra molt eficaç en traumàtics i postoperats perquè facilita la reducció de la inflamació, accelera la desaparició de l'edema i de l'equimosi i despolimeritza els dipòsits dèbils de fibrina; així hom afavoreix els mecanismes de reparació dels teixits i cicatrització de la ferida. L'experimentació en rates en creixement ha demostrat que la papaïna en injecció repetida produeix desorganització permanent del cartílag epifisari, soldadura permanent dels cartílags de creixement epifisaris i vertebrals i finalment escurçament dels ossos llargs i dels cossos vertebrals. Aquests fets contraindiquen la utilització de la papaïna en infants.

C a t e p t a s a

L'interès d'aquest enzim radica en el fet que d'ell depenen els canvis que sofreix l'osseïna o substància preòssia. Aquesta és la proteïna de l'os que en l'estadi que precedeix l'ossificació definitiva adquireix propietats calciafins, les quals faran possible la fixació de sals minerals en la matriu proteica. L'aprofundiment en aquests fenòmens enzimàtics permetrà de conèixer millor la patologia de l'ossificació i el seu tractament. Potser per aquesta via la terapèutica enzimàtica arribarà a tenir un lloc important en l'estimulació o el frenament de l'activitat osteoblàstica de l'os.

II) ELS ENZIMS D'ADDICIÓ I SUBTRACCIÓ

Deshidrases

Anhidrasa carbònica

L'acció de l'anhidrasa carbònica sobre l'equilibri àcid-base a nivell del ronyó mitjançant la regulació de l'eliminació de bicarbonats, és de vital importància en els traumàtics cranials o toràcics que tenen hipoventilació. La hipoventilació origina una acidosi respiratòria que necessita un augment de la reserva alcalina per a compensar-se. Si per motius d'oligúria o anúria hom utilitza diürètics inhibidors de l'anhidrasa carbònica, s'eliminaran els bicarbonats que compensaven l'acidosi, i aquesta es descompensarà. La descompensació d'una acidosi respiratòria en un traumàtic hipoventilat és de greus conseqüències. Per tant, en aquests malalts cal no utilitzar els diürètics inhibidors de l'enzim.

Isomerases

Fosfoglicoisomerasa

Ha estat estudiada la seva reducció a totes les àrees dels cartílags de creixement epifisials de les rates joves a les quals hom ha induït lesions latríques amb l'administració d'aminoacetnitrils. A partir d'aquests fets i de les escoliosis obtingudes, ha nascut una de les teories patogèniques de l'escoliosi.

III) ELS ENZIMS DE TRANSFERÈNCIA

Transaminases

Les transaminases seroses sofreixen un increment en el postoperatori i en els traumatismes musculars greus. La GOT augmenta en els accidentats, especialment en aquells que presenten lesions generalitzades per esclafament. En aquests casos la determinació de les transaminases seroses no té valor per a determinar altres alteracions.

IV) ELS ENZIMS D'ÒXIDO-REDUCCIÓ

Deshidrogenases

Làctico-deshidrogenasa

Aquest enzim ha estat estudiat també en les rates tractades amb aminoacetonitrils com a aliment únic. Sofreix una gran depressió en els cartilags de creixement epifisaris.

Glicosa-6-fosfat-deshidrogenasa

Com l'anterior, sofreix depressió en les rates alimentades amb dieta latírica.

Màlico-deshidrogenasa

Dels quatre enzims estudiats en el creixement ossi de rates latíriques aquest és l'únic que no sofreix depressió. Els resultats d'aquests estudis del creixement de l'os podem dir que encara es troben en fase incipient en el terreny dels fenòmens enzimàtics.

ENZIMS EN PATOLOGIA INFANTIL. ASPECTES DIAGNÒSTICS I TERAPÈUTICS

pel doctor FRANCESC PRANDI i FARRÀS

Professor adjunt de Fisiologia a la Universitat de Barcelona

En tractar dels aspectes diagnòstics i terapèutics dels enzims en Pediatria, cal escollir aquells angles específicament pediàtrics, sense que això vulgui dir que no donem importància als aspectes diagnòstics i terapèutics de la resta de l'enzimologia, també aplicables a la patologia infantil. I l'angle específicament pediàtric de l'enzimologia ve donat pels trastorns congènits del metabolisme.

BEADLE i TATUM (1941) demostraren que un gen controla la formació d'un enzim, i que la mutació d'un gen pot determinar la pèrdua de l'activitat d'un enzim, i en conseqüència determinar un bloqueig més o menys complet de la síntesi que aquest controla.

Revisaré ràpidament les malalties hereditàries del metabolisme en el nen en l'aspecte enzimàtic.

La *galactosèmia* es manifesta des de la primera setmana de la vida, dies després del començament de l'alimentació làctia, amb trastorns digestius, anorèxia intensa, vòmits i diarrea. La icterícia és constant i precoç, i s'accentua progressivament. El fetge és gros. Després es desenrotlla una cataracta. Hom fa el diagnòstic en descobrir una galactosúria amb proteïnúria i amb hiperaminoacidúria. La galactosèmia resulta del bloqueig metabòlic de la transformació de la galactosa en glucosa, per dèficit d'un enzim, de la galactosa-1-fosfat-uridil-transferasa o bé P-Gal-transferasa. Aquest dèficit és determinable en els eritròcits i constitueix la prova més sensible i específica de la galactosèmia. En els casos que he pogut estudiar ha fet la determinació d'aquest enzim el professor HERS, de Lovaina.

El tractament es basa en la prescripció d'un règim sense galactosa tan aviat com es pugui, amb la qual cosa els trastorns van desapareixent.

Les *glicogenosis* adopten tipus clínics diferents perquè la tesaurismosi de glucogen pot afectar més el cor o el fetge o els músculs; això depèn de gens diferents. Ja en coneixem nou tipus, i n'existeixen probablement d'altres. A l'examen clínic l'aspecte del nen és característic: petit, cara de nina i ventre voluminos. Els trastorns biològics observats en la forma clàssica, hepatorenal, són conseqüència més o menys directa del bloqueig de la transformació de la glucosa-6-fosfat en glucosa, per falta de l'activitat de la glucosa-6-fosfatasa. L'estudi anatòmic i químic del fetge en la glucogenosi és característic i l'estudi de l'activitat de la glucosa-6-fosfatasa segons la tècnica de CORI o bé la de HARRIS i OLMO demostra que l'activitat enzimàtica de la glucosa-6-fosfatasa és extremament reduïda. En alguns casos el quadre clínic és el d'una glucogenosi hepàtica, però l'activitat de la glucosa-6-fosfatasa es normal. En la glucogenosi tipus III de CORI hi ha un dèficit d'amilo-1,6-glucosidasa, en el tipus IV de CORI hi ha un dèficit de l'amilo-1-4-1-6-transglucosidasa, etc., i encara hi ha altres formes en què el dèficit enzimàtic no és conegut amb tota seguretat.

En altres anomalies del metabolisme (dels aminoàcids aromàtics, hiperplàsies congènites de les suprarenals, anomalies del transport tubular, diabetis insípides, esfingolipoïdosis, gargoïlismes, hipoglucèmies congènites, etc.), la valoració dels enzims no passa d'ésser una investigació sense fruits pràctics, de moment.

En el *raquitisme clàssic*, per manca de vitamina D, la síndrome biològica fosfocàlcica és ben coneguda: hipofosfatèmia, hiperfosfatèsèmia, calcèmia subnormal o baixa. Els valors de fosfatases són molt variables i quan hom administra vitamina D disminueixen lentament fins a normalitzar-se. En els raquitismes congènits vitaminoresistents, el valor d'aquest enzim varia. En el raquitisme hipofosfatèmic familiar, el valor de les fosfatases alcalines és moderadament elevat, generalment entre 15-25 u. Bodansky.

En la *hipofosfatàsia de Rathburn* l'infant presenta grans deformitats òssies i trastorns generals diversos amb retard de creixement. Radiològicament les lesions són més aviat metafíiques, i es troben valors molt baixos de fosfatases alcalines en el sèrum. En la forma precoç, els valors d'aquestes fosfatases en el sèrum són, generalment, inferiors a una unitat Bodansky; com, també, són disminuïdes en els ossos.

En la *fibrosi cística de pàncreas* el malalt presenta trastorns digestius, bronquials i una accentuada eliminació d'electròlits per la suor. Hom fa diagnòstic de la insuficiència enzimàtica del pàncreas per sondatge duodenal i determinació fonamentalment de la tripsina. Si hi ha dubtes hom pot

determinar també la quimotripsina, l'aminopeptidasa, la lipasa i l'amilasa. Si es tracta d'un cas típic no cal fer aquestes determinacions i n'hi ha prou generalment amb la demostració de l'augment d'electròlits en la suor, principalment recollint la suor gràcies a la diaforesi que produeix la iontoforesi de pilocarpina. La terapèutica substitutiva amb ferments pancreàtics administrats per via oral i a grans dosis compensa la insuficiència digestiva relativament, bé que és més important el tractament adequat de la broncopneumopatia mucoviscidòsica, com he pogut demostrar en la casuística de malalts estudiats en l'Institut d'Asmatologia de l'Hospital de Sant Pau, dotze malalts en total.

Les investigacions últimes d'absorció intestinal com són les proves de sobrecàrrega amb els disacàrids corresponents al dèficit enzimàtic i a la biòpsia peroral de mucosa intestinal amb el seu estudi macroscòpic i microscòpic i amb la determinació d'aquestes formes de malabsorció, han obert el camí al coneixement de les denominades enzimopaties intestinals, que es poden classificar fonamentalment en *malaltia celiaca*, *intolerància a la lactosa* i *intolerància a la sacarosa* i a la *isomaltosa*. En un cas d'intolerància a la lactosa en el curs d'una lambliasi intestinal, presentat per mi a la Societat Catalana de Pediatria, el diagnòstic es va fundar en les proves de sobrecàrrega a la lactosa d'una banda i a la glucosa i galactosa d'una altra, així com a altres sucres. El tractament amb un antilambliàsic aconseguí de guarir la malaltia diarreica crònica i a la vegada la normalització de les corbes de glucèmia per sobrecàrrega de lactosa.

En les *icterícies neonatals* cal pensar també que alguns casos són deguts al dèficit de glucosa-6-fosfat deshidrogenasa o també a dèficits d'altres ferments (piruvatoquinasa, triosa-fosfat-isomerasa, etc.).

En l'*anèmia de Fanconi*, el meu benvolgut mestre, s'ha demostrat recentment una disminució de l'exoquinasa en els estròcits, leucòcits i plaquetes.

Finalment en el *mongolisme*, ROSNER i col·laboradors diferencien la trisomia per no disjunció i la trisomia per translocació amb la determinació de ferments diversos (fosfatases àcides i alcalines, glucosa-6-fosfat deshidrogenasa dels eritròcits, etc.) que estan molt augmentats en la disjunció i no en la translocació. Suposant que la no disjunció s'observi en el cas de mare d'edat avançada, hi haurà poc risc de tenir un altre fill mongòlic en aquest cas, a l'inrevés del que s'esdevé en la translocació de mares joves amb ferments normals.

ELS ENZIMS EN LES MALALTIES QUIRÚRGIQUES

pel doctor J. PI-FIGUERAS

Director del Servei de Cirurgia General de l'Hospital
de la Santa Creu i de Sant Pau de Barcelona

També en algunes malalties quirúrgiques certs enzims presenten importància en dos aspectes distints que considerarem separadament:

- a) A vegades actuen com a agents patològics.
- b) Altres serveixen com a agents terapèutics.

a. — 1) En les pancreopaties agudes és ben coneguda l'acció patogènica dels enzims alliberats i activats pels mecanismes patològics, més o menys ben coneguts, amb els quals s'inicia la malaltia. Hom coneix bé que l'acció proteolítica de la triptasa produeix l'autòlisi de la glàndula i també dels teixits més o menys veïns en les formes més greus i sovint mortals de l'afecció.

Hom ha tractat en els darrers anys de contraposar a l'acció patològica de la tripsina l'efecte neutralitzant de medicaments antienzimàtics, concretament del *trasytol*. Tanmateix no sembla pas haver-se aconseguit una modificació substancial en el pronòstic de les pancreopaties agudes greus.

La lipasa pancreàtica produeix l'esteatonecrosi tan característica per a identificar l'afecció en el transcurs d'una laparotomia.

L'amilasa pancreàtica també alliberada passa a la sang i a l'orina, i si tanmateix el seu paper patològic sembla escàs, la seva presència té una valor considerable per al diagnòstic de l'afecció. La investigació de l'amilasèmia o de l'amilasúria quan demostra la presència de quantitats considerables del ferment, té significat patognomònic i permet assegurar el diagnòstic de pancreopatia en les fases inicials de la malaltia.

Així mateix la dosificació dels enzims al suc duodenal i la investigació de l'anomenat *descarrilament de ferments* poden ésser proves valuoses per al diagnòstic de les pancreopaties cròniques i dels tumors del pàncreas exocrí. En el nostre Servei de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, la

nostra col·laboradora doctora M. Teresa RIBERA ha aportat treballs interessants sobre aquestes qüestions.

2) Hom ha assenyalat l'existència de reflux de líquid pancreàtic a les vies biliars, el qual en certes condicions pot tenir un efecte patològic, especialment sobre la vesícula.

Els meus col·laboradors J. PUIG i LA CALLE i M. T. RIBERA, en una comunicació a la Societat de Cirurgia, han aportat llurs investigacions sobre la presència d'enzims pancreàtics en quantitats elevades (de 2.000 a 4.000 u.) a la vesícula biliar en alguns casos de colecistitis aguda i creuen que en ells l'acció enzimàtica és responsable de la inflamació aguda vesicular. El seu efecte patològic sobre la vesícula seria degut al fet que la bilis embassada i sovint infectada activa els enzims pancreàtics que produeixen la digestió de les proteïnes, i en separar la taurina i la glicina de les sals biliars conjugades, alliberen àcids biliars molt tòxics. Bé que els enzims pancreàtics es troben igualment a les vies biliars extrahepàtiques sense produir-hi lesions importants, això seria degut a la presència de calicreïna, la qual inactiva els enzims.

Tal vegada, però, l'acció enzimàtica en certes condicions podria exercir-se també sobre la via biliar principal i explicar els casos observats de colerèritoneu o coleretroperitoneu per transsudació.

3) Recentment hom ha assenyalat diferències notables en el contingut de fosfatasa alcalina de les mucoses gàstrica i duodenal: molt escàs en la primera, abundant en la segona. Segons DE ANDRÉS i col·laboradors, les diferències del medi enzimàtic en què es desenvolupen les úlceres gàstriques i duodenals, tenen tal vegada alguna valor patogenètica, però en tot cas constitueixen un argument més en favor de la hipòtesi que considera l'úlcerà gàstrica i la duodenal com a malalties substancialment distintes.

b. — Com a agents terapèutics els enzims han estat emprats en diferents processos, amb resultats variables.

1) L'acció proteolítica de la tripsina i de l' α -quimotripsina ha estat aplicada per evitar la formació i consolidació d'adherències entre superfícies revestides de serosa, especialment entre les nanses intestinals. La *triptasa* és utilitzada en aplicació local o bé s'administra per via parenteral, i són nombrosos els treballs que semblen assegurar un efecte beneficiós d'aquesta medicació enzimàtica.

2) Així mateix l'acció proteolítica de la tripsina ha estat emprada en el tractament de ferides, cicatrius, queloides i úlceres infectades (bisturí enzimàtic); en les periartritis i certes artropaties; en el tractament d'alguns edemes. Els resultats són inconstants però en tot cas no semblen pas desfavorables.

3) La *hialuronidasa* ha estat emprada per al tractament de les inflamacions de les seroses (peritoneal, pleural, sinovial) i també en els flemons d'evolució lenta.

4) L'*estreptoquinasa*, elaborada per les capes d'estreptococs Lancefield, és una quinasa activadora del plasminogen que transforma la plasmina enzimàticament en la proteasa fisiològica. La plasmina, en digerir el fibrinogen o la fibrina que es troben als focus inflamatoris i en els coàguls sanguinis, contribueix a la lisi d'aquests coàguls i a la reducció de l'edema i de la inflamació.

Hom indica l'estreptoquinasa pel tractament de l'edema inflamatori dels flemons, abscessos, cel·lulitis, tromboflebitis, etc., associada a l'antibioteràpia; i així mateix, per reduir l'hematoma i els edemes en els traumatismes de parts toves, ossos i articulacions.

* * *

En general, però, cal considerar solament la terapèutica enzimàtica en Cirurgia com a un mitjà coadjuvant a d'altres mesures clàssiques en el tractament de les afeccions que hem esmentat en els paràgrafs anteriors. I ens cal dir, també, que si bé els resultats favorables no semblen pas sempre indiscutibles, tampoc són de témer efectes nocius. En tot cas la terapèutica enzimàtica pot ésser un nou camí que s'obre, però mentrestant cal emprar-la amb reserves.

PARTICIPANTS

ALSINA i BOFILL, J.	7
CALVET, F.	11
CORNUDELLA, R.	65
FERNÁNDEZ i SABATÉ, A.	69
GALLART-ESQUERDO, A.	55
GARCIA i MOLL, M.	49
PI-FIGUERAS, J.	79
PRANDI i FARRÀS, F.	75
PUIG i MUSSET, P.	41
VIDAL i SIVILLA, S.	21

T A U L A

<i>Salutació del President, Dr. J. ALSINA i BOFILL</i>	7
<i>Aspectes generals</i>	9
<i>Bioquímica dels enzims, pel doctor FERRAN CALVET</i>	11
<i>Fisiologia dels enzims. Control fisiològic de les accions enzimàtiques, pel doctor S. VIDAL i SIVILLA</i>	21
<i>Farmacologia dels enzims, pel doctor P. PUIG i MUSET.</i>	41
<i>Aspectes diagnòstic i terapèutic en les especialitats</i>	47
<i>Els enzims en patologia cardiovascular, pel doctor M. GARCIA i MOLL</i>	49
<i>Aspectes diagnòstic i terapèutic dels enzims en les malalties de l'aparell digestiu, pel doctor A. GALLART-ESQUERDO.</i>	55
<i>Els enzims en patologia respiratòria, pel doctor RAIMON CORNUDELLA</i>	65
<i>Els enzims en patologia quirúrgica de l'aparell locomotor, pel doctor A. FERNÁNDEZ i SABATÉ</i>	69
<i>Enzims en patologia infantil. Aspectes diagnòstics i terapèutics, pel doctor F. PRANDI i FARRÀS</i>	75
<i>Els enzims en les malalties quirúrgiques, pel doctor J. PI-FIGUERAS</i>	79
<i>Participants</i>	83



ACABAT D'IMPRIMIR ALS
TALLERS GRÀFICS AGUSTÍ NÚÑEZ
DE BARCELONA
EL DIA 31 DE JULIOL
DE 1971

