

**LA CATALASA A L'ORINA.  
DADES CLÍNIQUES I EXPERIMENTALS**

Comunicació presentada el dia 12 de març de 1970 pel doctor

**J. F E R R É**

Cap de Departament a l'Institut d'Urologia (Fundació Puigvert)  
Hospital de la Santa Creu i de Sant Pau. Barcelona

## INTRODUCCIÓ

La catalasa és un enzim que catalitza la reacció  $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}$  accelerant-la. És un enzim àmpliament distribuït a l'escala animal i vegetal, i en els individus extensament difós en òrgans i teixits. La importància fisiològica de la catalasa en els animals superiors no és gaire gran, car són coneguts casos d'acatalasèmia en l'home que evolucionen pràcticament sense donar lloc a manifestacions clíniques. Per contra, sembla que en animals d'èpoques pretèrites la catalasa tenia un paper molt important; per aquest motiu hi ha autors que la consideren un enzim «fòssil».

La catalasa es troba dins la cèl·lula, concretament en unes inclusions citoplàsmiques dites perioxisomes, juntament amb una peroxidasa i una oxidasa. El pes molecular de la catalasa varia segons la seva procedència. La catalasa treta de fetge de rata té un pes molecular aproximat de 40 000.

En condicions normals l'orina no conté catalasa. L'any 1959, BRAUDE<sup>1</sup> descriví la presència de catalasúria a les orines infectades. Aquesta observació despertà l'interès d'alguns autors, i fou proposada la determinació de la catalasúria com a mètode indirecte per a detectar la presència d'infecció urinària. Per a aquesta finalitat es pot emprar una prova qualitativa d'orientació; la utilitat del mètode depèn precisament de llur simplicitat, com descrivim més endavant.

Hom comprovà aviat que la catalasúria no és específica de la infecció urinària. També són catalasa-positives les orines hematúriques o les que presenten gran quantitat de cèl·lules de descamació epitelial en el sediment. Més endavant (1965), BROMBERG-SZNECK i col.<sup>2</sup>, descriviren el valor de la catalasúria com a indicador de l'activitat evolutiva de les glomerulonefritis.

Nosaltres mateixos, treballant al Centre Clínic de Trasplantaments del Prof. D. M. HUME, a Richmond, Virgínia, USA, aplicarem la determinació de la catalasúria al diagnòstic de les crisis de refús dels homòmpelts renals en l'home<sup>3</sup>. Ha estat proposada una gran quantitat de proves de laboratori amb aquesta finalitat sense que fins ara en tinguem una de totalment específica i precoç.

### MATERIAL I MÈTODES

Per a aquesta investigació emprarem un mètode de determinació de catalasa extraordinàriament senzill, descrit per GAGNON el 1959<sup>4</sup>. Hom mulla un disc de paper de filtre altament absorbent (discs de paper 57-GH, fabricats per Schleicher i Schuell, a Keene, NH, USA) amb l'orina-problema, i hom l'introdueix tot seguit en un tub d'assaig de més de 16 mm de diàmetre on hi ha 5 ml de sol. al 3% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Mantenint el tub en posició vertical durant 3 minuts es veu com el paper de filtre puja a la superfície del líquid en cas que l'orina estudiada tingui catalasa, essent les bombolletes d'oxigen les que el fan pujar. Naturalment, si la prova és negativa, el paper no puja.

Férem aquestes observacions en un material clínic abundant: 838 mostres d'orina obtingudes de 40 malalts trasplantats. El nombre de determinacions per malalt varià entre 1 i 70; el temps entre l'operació de trasplantament i la recollida d'orina oscil·là entre 1 dia i 38 mesos. En els malalts hospitalitzats foren recollides mostres diàriament; en els que, ja donats d'alta, acudien a revisió, només de tant en tant foren recollides mostres aïllades. En tots els malalts de la sèrie de trasplantaments fets pel grup de Virgínia havia estat feta un nefrectomia bilateral del receptor, al temps de l'operació de trasplantament o prèviament; per tant, no hi ha dubte que l'orina assajada procedia del ronyó trasplantat. En tots els casos, en fer la determinació de la catalasúria hom mirava també el sediment urinari, i periòdicament, o sempre que el quadre clínic ho requeria, hom feia cultius d'orina. Tots aquests malalts estaven sota l'observació acurada d'un grup de metges amb gran experiència en la clínica del trasplantament.

### RESULTATS

Observarem els resultats següents:

Total de mostres d'orina: 838. D'aquestes foren catalasa-positives 190, i catalasa-negatives, la resta, o sigui 648.

Dels casos de catalasúria, en distingirem tres grups: positius, 106 (durant crisi de refús); positius explicats per alteracions del sediment, 57; i falsos positius (o sigui positivitats no explicades), 27.

Els resultats negatius es poden dividir en 612 de negatius (casos amb sediment normal i sense presentar crisi de rebuig) i 36 de falsos negatius (mostres d'orina catalasa-negativa de malalts en què clínicament havia estat diagnosticada una crisi de refús). En general, aquests falsos negatius

corresponen al començament de la crisi; de fet, de les 17 crisis de refús que es presentaren en els 40 malalts estudiats, només en dues deixà d'ha-ver-hi catalasúria, i aquestes dues crisis es produïren en un mateix malalt, foren de molt escassa intensitat i respongueren fàcilment al tractament instaurat.

Pel que fa al valor de la catalasúria per al diagnòstic precoç de les crisis de refús, comprovarem que, bé que en una crisi l'orina fou catalasa-positiva ja el dia abans d'ésser fet el diagnòstic i en cinc la catalasúria aparegué el dia del començament clínic del refús, en la resta la clínica ens permeté de fer amb anticipació el diagnòstic.

### DISCUSSIÓ

Amb tot, la prova té un clar valor pronòstic, car la desaparició de la catalasúria assenyala l'acabament de la crisi. I en casos de diagnòstic dubtós, que no són excepcionals, una catalasa-positiva pot ésser una dada orientadora.

La simplicitat de la prova ens permet de trobar-li una altra aplicació: el control a domicili que pot fer el mateix malalt. En aquesta situació la prova és doblement útil com a senyal d'alarma. En casos de positivitat, el trasplantat ha d'acudir a revisió per tal de descartar l'aparició d'una crisi de refús o la presència d'infecció urinària, d'hematúria, etc.

Fora dels casos d'infecció en què els bacteris i els piòcits són probablement els responsables de la catalasúria, crec que la presència de catalasa a l'orina s'ha d'acceptar com a produïda, sigui per destrucció o lisi de les cèl·lules tubulars, sigui per un augment de permeabilitat de llurs membranes cel·lulars. Així hom podria entendre la catalasúria dels trasplantats, car és sabuda la importància que els fenòmens d'isquèmia tenen en la crisi de refús. Considerant, per tant, que hi ha una relació entre isquèmia renal i aparició de catalasa a l'orina, hem iniciat un treball experimental per a aclarir-la\*.

Per a aquest mètode quantitatiu les determinacions són fetes en un espectrofotòmetre Beckman DU<sub>2</sub>. En una cubeta de 3 ml hom posa 2,99 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0,16 %, en fosfat amortidor a pH de 7,4, 0,15 M. Aquesta solució té una absorció de 340 unitats d'absorció òptica. Hom hi afegeix 0,01 ml de l'orina a assajar. Hom posa en una altra cubeta 2,99 ml d'aigua amb 0,01 ml d'orina, que serveix per a sostreure l'absorció

\* En aquest treball hem comptat amb la col·laboració del Dr. Pinto, del laboratori clínic d'aquest Institut d'Urologia, el qual ha posat a punt una tècnica de determinació quantitativa de la catalasúria, naturalment molt més fina que el mètode qualitatiu de què ens servirem per al nostre estudi clínic en trasplantats.

intrínseca de l'orina (produïda bàsicament pels nucleòtids de l'orina, el més important dels quals és l'àcid úric). Si hi ha activitat enzimàtica, al cap d'un minut disminueix l'absorció.

Hom defineix arbitràriament la unitat com el descens d'absorció que produeix un mil·limicromol de  $H_2O_2$  en presència d'una preparació patró de fetge de rata a una concentració de 50 mg de proteïna per ml (en aquestes condicions el descens de l'absorció és de 0,017 UOD).

El model experimental ha estat fet amb gossos. Induïm l'anestèsia amb pentotal sòdic i la mantenim amb èter administrat per tub endotraqueal. Durant la intervenció donem sèrum Ringer lactat per goteig endovenós. Laparotomia mitjana extensa. Exposats els dos urèters lumbar, s'hi introdueix una sonda de polietilè, tot lligant-hi l'urèter al tombant de manera que tota l'orina produïda pel ronyó corresponent resta recollida per la sonda. Els animals han estat en dejú el dia de l'operació i generalment la diüresi és molt escassa. Després d'hidratar-los, hem afegit en general manitol endovenós, el qual produeix una poliúria ja al cap d'1 a 2 minuts de començar la infusió.

Han estat fetes determinacions en 6 gossos, és a dir en l'orina procedent de 12 ronyons. En la primera mostra d'orina, tant si havia començat la perfusió de manitol com si no, no s'ha demostrat activitat catalasa en 8 de les 12 mostres. En les altres determinacions foren trobades 333 U en el ronyó esquerre d'un animal, 3,6 U en el ronyó dret d'un altre, i, finalment, 2000 U al costat dret i 3000 U a l'esquerre d'un altre animal. En aquest cas no hi havia diüresi durant una bona estona després del cateterisme ureteral, i després de donar una bona dosi de manitol aparegué una orina hematúrica; aquest cas, doncs, resta per aclarir. La gran majoria de les mostres basals d'orina són, per tant, catalasa-negatives, i la perfusió de manitol no ho modifica.

Havent aïllat l'artèria renal, la pinçarem amb un clamp vascular durant 5 minuts. El pinçament de l'artèria fa que es pari sobtadament la diüresi. En treure la pinça comença a sortir orina al cap de poc temps: entre uns segons i dos o tres minuts. Després de 5 minuts d'isquèmia renal completa a la temperatura de l'organisme (ronyó «in situ»), recollirem 7 mostres d'orina. En 6 casos recollirem una segona mostra al cap de 15 minuts. Els resultats foren els següents, en aquestes mostres:

#### *Unitats de catalasúria*

— després de 5 minuts d'isquèmia	100, 300, 400, 500, 500, 800, 85000
— 15 minuts més tard	20, 30, 0, — 60, 0, 80000

## CONCLUSIONS

Tenim aquí, doncs, una prova que reflecteix els trastorns renals deguts a la isquèmia. Evidentment, aquest treball porta a tota una sèrie d'incògnites que cal estudiar detalladament per a esbrinar els factors que modifiquen llur influència. Tenim el projecte de prosseguir aquest estudi amb l'esperança que ens pugui proporcionar un mètode per a avaluar les lesions isquèmiques en els ronyons a empeltar.

En cas d'aconseguir-ho tindríem una prova molt útil per a valorar mètodes de preservació d'empelts, tema que constitueix un capítol molt important en la problemàtica dels trasplantaments. Tampoc no fóra sorprenent que la catalasúria tingués aplicació clínica en les lesions renals isquèmiques; en aquest sentit hem comprovat ja catalasúries en un malalt operat per hipertensió vàsculo-renal.

## BIBLIOGRAFIA

1. BRAUDE, A. I. — *Catalase activity of infected urine*. «J. Clin. Invest», 38: 990 (1959).
2. BROMBERGS-SZNEK, S., LORSKAM, D., PICHULA, K., KWICK, S. i STOLARSKA, A. — *Catalase urinaire dans les maladies rénales*. «Presse Med.», 73: 21 (1965).
3. FERRÉ, J. — *La catalasa urinaria en las crisis de rechazo en homoinjertos renales humanos*. «Rev. Clin. Esp.», 108: 18 (1968).
4. GAGNON, M., HUNTING, W. M. i ESSELEN, W. B. — *New method for catalase determination*. «Analytical Chemistry», 31: 144 (1959).