

## MONOAMINOXIDASE NA DIABETES \*

M. S. Azevedo, F. Fernandes, P. Lisboa, C. Manso

Instituto de Química Fisiológica, Faculdade de Medicina de Lisboa e Departamento de Diabetes, Hospital de Santa Maria. Lisboa

### RESUMO

Foi feito um estudo da monoaminoxidase do soro (MAO-s) de indivíduos normais, de dadores de sangue, de um grupo de diabéticos com menos de 2 anos de evolução da doença e de um grupo de diabéticos com mais de 10 anos de evolução. Não há diferença significativa entre normais e dadores de sangue. Porém ambos os grupos de diabéticos diferem significativamente do grupo normal e também entre si. Nos diabéticos com mais de 10 anos há uma correlação positiva, estatisticamente significativa entre a actividade da MAO-s e a glicémia.

Monoaminoxidases (MAO) são enzimas que catalisam a seguinte reacção (Blaschko 1937):



Neste grupo incluem-se uma multiplicidade de enzimas, consoante a sua localização mitocondrial ou microsómica, e ainda, a sua afinidade para diferentes substratos e inibidores.

Uma MAO com características específicas foi isolada do soro (Tabor, Tabor e Rosenthal 1953) susceptível de actuar sobre substratos como a tiramina, dopamina, triptamina, quinuramina (McEwen 1965), espermina, espermidina (Yamada e Yasunobu 1962a).

É uma enzima estável e homogénea de  $PM = 255\,000$ , formada por duas subunidades, contendo 2 moléculas de cobre cúprico e 2 moléculas de fosfato de piridoxal (Yamada e Yasunobu 1962b, Yamada e Yasunobu 1963, Achee, Chervanka, Smith, Yasunobu 1965).

Alguns autores denominam-na Benzilamina Oxidase, em virtude da facilidade com que actua sobre este substrato, que forma a base do ensaio de rotina (Lindström e Petterson 1978).

Por imunofluorescência demonstrou-se que a MAO do plasma era análoga à do tecido conjuntivo e localizável no tendão de Aquiles, na aorta (entre o tecido elástico e colagénico e especialmente na adventícia), nos túbulos e glomérulos renais, no tecido conjuntivo interlobular do fígado e nos vasos e meninges no cérebro (Buffoni e Corte 1977). A comparação entre a enzima purificada a partir da aorta de boi e a do plasma

\* Subsidiado pelo Instituto Nacional de Investigação Científica.

permitiu concluir acerca da analogia entre os substratos transformados pelas duas, admitindo-se a hipótese de a sua função ser a catalise de reacções que estabilizam o colagénico e a elastina, por formação de ligações cruzadas (Rucker e O'Dell 1971).

A MAO do soro (MAO-s) apresenta variações importantes em patologia diversa, designadamente foi descrito um aumento de actividade na diabetes, na insuficiência cardíaca congestiva e tirotoxicose (Nilsson, Tryding e Tufvesson 1968) bem como na patologia hepática acompanhada de tendência para fibrose (McEwen e Castell 1967; Lin e Castell 1974; Nakano et al 1978 e Ito et al 1971). A sua diminuição de actividade foi descrita em tumores e em queimaduras, sendo neste caso a baixa de actividade considerada como de mau prognóstico (Lewinsohn 1977).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os doentes estudados pertenciam à Consulta de Diabetes do Hospital de Santa Maria e foram divididos em dois grupos: o Grupo 1 tinha menos de dois anos de evolução da doença, o Grupo 2 tinha mais de 10 anos de evolução. O número de homens e de mulheres era aproximadamente igual em qualquer dos grupos. (Grupo 1 — 23 homens, 28 mulheres; Grupo 2 — 24 homens, 25 mulheres). As idades variavam entre 3 e 72 anos para o Grupo 1 e entre 18 e 75 anos para o Grupo 2.

Como comparação usou-se um grupo de indivíduos normais (pessoal do laboratório e estudantes) e um grupo de dadores de sangue. Este segundo grupo controle tinha interesse, em virtude de a sua idade ser comparável com a dos doentes.

A determinação da actividade da MAO-s foi feita pelo método de McEwen e Cohen (1963). Este método baseia-se na oxidação enzimática da benzilamina, com formação de benzaldeído por acção da enzima, seguida de extracção desta em ciclohexano. A absorvância do extracto é medida contra a de um extracto controle a 242 nm. Foi utilizado um espectrofotómetro Unicam SP-1800.

Os resultados são expressos nas unidades definidas por McEwen. Estas unidades representam a diferença de absorvância entre o ensaio e o controle multiplicada por 100. A partir destas unidades podem obter-se unidades internacionais multiplicando por 12. Desta forma obtemos os micromoles/ml/hora de benzaldeído formado durante a reacção enzimática.

## RESULTADOS

O Quadro 1, apresenta os resultados obtidos. Não existe diferença estatisticamente significativa da actividade da MAO entre o grupo de indivíduos normais e o de dadores de sangue, o que aliás era de esperar.

Qualquer dos grupos de diabéticos tem uma diferença altamente significativa em relação ao grupo normal. Além disso, há uma diferença significativa ao nível de 2,5 % entre os dois grupos de diabéticos.

É de salientar o facto de a população de dadores de sangue ser aproximadamente do mesmo grupo etário de a população de diabéticos, facto que não sucede com o grupo designado normal, muito mais jovem.

Finalmente, o estudo das correlações entre a actividade da MAO e a glicémia (doseada na mesma amostra de sangue) para os dois grupos de diabéticos permitiu encontrar uma correlação directa altamente significativa, apenas para o grupo de diabéticos com mais de 10 anos de evolução. As glicémias variavam entre 60 e 401 mg/dl para o Grupo 1 e entre 62,5 e 402 mg/dl para o Grupo 2.

Quadro 1

*Actividade da MAO em normais, dadores de sangue e diabéticos com menos de 2 anos e mais de 10 anos de evolução*

	NORMAIS	DADORES DE SANGUE	DIABÉTICOS < 2 ANOS	DIABÉTICOS > 10 ANOS
n	35	76	51	49
Actividade MAO (u)	25,471	22,329	43,304	52,590
s	12,559	8,903	17,308	27,568

n = número de casos;  $\bar{x}$  = média; s = desvio-padrão

*Test de Student* (Comparação das médias)

Normais vs Dadores:  $t=1,510$   $P < 0,10$  (não significativo)

Normais vs Diabéticos < 2 anos:  $t= -5,221$   $P < 0,0005$  (altamente significativo)

Normais vs Diabéticos < 2 anos:  $t= -5,221$   $P < 0,005$  (altamente significativo)

Diabéticos < 2 a. vs > 10 a.:  $t= -2,026$   $P < 0,025$  (significativo)

*Correlações*

Diabéticos < 2 anos: glicémia vs MAO  $R=0,250$  (não significativo)

Diabéticos > 10 anos: glicémia vs MAO  $R=0,378$  (correlação directa significativa  $P < 0,01$ )

## DISCUSSÃO

Embora não haja, ainda hoje, uma demonstração segura de que a MAO-s seja identificável a qualquer das MAO descritas no tecido conjuntivo, tudo leva a crer que a sua origem é mais provavelmente, o tecido conjuntivo do que qualquer outro tecido, o que é confirmado pelo seu aumento de actividade em processos que cursam com fibrose. Até que ponto esta maior actividade de enzima na diabetes pode estar correlacionada com agravamento de um processo aterosclerótico na diabetes é, por enquanto, apenas susceptível de especulação.

Os nossos resultados confirmam a afirmação de Nilsson e col., atrás mencionados de que existe um aumento significativo da actividade da MAO-s em diabéticos. Diferem porém em alguns aspectos. Com efeito, estes Autores admitem que a actividade da MAO-s na diabetes é independente da duração da doença, da idade e da terapêutica com insulina.

No nosso estudo, porém, verifica-se uma indiscutível relação com o tempo de duração da doença e ainda uma correlação positiva com a glicémia nos casos com mais de 10 anos de evolução.

A confirmar-se este facto, poderíamos admitir que a MAO-s poderia ser um índice de evolução da diabetes do mesmo tipo que a hemoglobina  $A_{1c}$  (Gonnen e Rubenstein 1978; Bunn, Gabbay e Gallop 1978).

## SUMMARY

### MONOAMINOXIDASE IN DIABETES

Serum monoamine oxidase (MAO-s) was studied in normal individuals, blood donors, a group of diabetics with less than two years of evolution of the disease and in a group of diabetics with more than ten years of evolution.

There is no significant difference between the normal group and that of blood donors. But both groups of diabetics show a significant increase in MAO-s in comparison with normal. Besides MAO-s is significantly higher in long standing diabetics.

In this last group there is a significant positive correlation between MAO-s activity and glycemia.

## BIBLIOGRAFIA

- ARCHEE F, CHERVENKA C, SMITH R, YASUNOBU K: Amine oxidase. XII—The association and dissociation and number of subunits of beef plasma amine oxidase. *Biochemistry* 7: 4329, 1968.
- BLASCHKO H: Amine oxidase and amine metabolism. *Pharmacol Rev* 4: 415, 1952.
- BUFFONI P, CORTE L: Immunofluorescence histochemistry of porcine tissues using antibodies to pig plasma amine oxidase. *Proc R Soc Lond B* 195: 417, 1977.
- BUNN F, GABBAY K, GALLOP P: The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science* 200: 21, 1978.
- GONNEN B, RUBENSTEIN A: Haemoglobin A<sub>1</sub> and diabetes mellitus. *Diabetologia* 15: 1, 1978.
- ITO K, NAKAGAWA J, MINAKUCHI C, FUSAKE M: A clinical evaluation of serum monoamine oxidase, with special reference to hepatic fibrosis. *Digestion* 4: 49, 1971.
- LEWINSOHN R: Human serum amine oxidase. Enzyme activity in severely burnt patients and in patients with cancer. *Clin Chim Acta* 81: 247, 1977.
- LIN A, CASTELL D: Comparative studies of human plasma monoamine oxidase in normal subjects and in fibrotic liver disease. *Biochem Med* 9: 373, 1974.
- LINDSTRÖM A, PETTERSON G: Active site titration of pig plasma benzylamine oxidase. *Eur J Biochem* 83: 131, 1978.
- McEWEN C: Human plasma Monoamine Oxidase. *J Biol Chem* 240: 2003, 1965.
- McEWEN C, CASTELL D: Abnormalities of serum monoamine oxidase in chronic liver disease. *J Lab Clin Med* 70: 36, 1967.
- McEWEN C, COHEN J: An amine oxidase in normal human serum. *J Lab Clin Med* 62: 766, 1963.
- MARTIN G, MECCA C, PIEZ K: The biosynthesis of elastin cross-links. *J Biol Chem* 240: 3623, 1965.
- NAKANO H, YAMAMOTO Y, OHNISHI S, ITO K, IMURA H: Serum monoamine oxidase assayed with a new synthetic benzylamine derivative as substrate. Its clinical significance with special reference to hepatic fibrosis. *Clin Chim Acta* 88: 315, 1978.
- NILSSON S, TRYDING N, TUFVESSON G: Serum monoamine oxidase in diabetes mellitus and some other internal diseases. *Acta Med Scand* 184: 105, 1968.
- RUCKER R, O'DELL B: Connective tissue amine oxidase. *Biochem Biophys Acta* 235: 32, 1971.
- TABOR C, TABOR H, ROSENTHAL S: Purification of amine oxidase from beef plasma. *J Biol Chem* 208: 645, 1954.
- YAMADA H, YASUNOBU K: Monoamine oxidase. I-Purification, crystallisation and properties of plasma monoamine oxidase. *J Biol Chem* 237: 1511, 1962.
- YAMADA H, YASUNOBU K: Monoamine oxidase. II-Copper, one of the prosthetic groups of plasma monoamine oxidase. *J Biol Chem* 237: 3077, 1962.
- YAMADA H, YASUNOBU K: Monoamine oxidase. IV-Nature of second prosthetic group of plasma monoamine oxidase. *J Biol Chem* 238: 2669, 1963.

Pedido de separatas: M. S. Azevedo

Instituto de Química Fisiológica  
Faculdade de Medicina de Lisboa  
1600 Lisboa - Portugal