

CERCETĂRI EXPERIMENTALE ÎN DOMENIUL ATEROSCLEROZEI

II.

Rezultatele obținute cu o metodă personală de cercetare a proteinelor
miocardice în ateroscleroza experimentală

E. Módy, St. Szabó, I. Székely, P. Dóczy

Este cunoscută legătura strinsă ce există între proteinele plasmatice și cele tisulare. În acest sens, procesele patologice din diferite țesuturi și organe dau naștere la disproteinemii. Totodată modificările proteinelor plasmatice duc la tulburări funcționale sau chiar organice în anumite organe. Tulburările miocardice care iau naștere în acest fel sînt numite de către *Wuhrmann* și *Niggli* miocardoze.

În cursul aterosclerozei experimentale produse prin administrare de colesterol se observă o disproteinemie remarcabilă, caracterizată prin creșterea globulinelor, diminuarea coeficientului A/G și creșterea cantitativă a lipo- și glicoproteinelor. Am considerat deci necesar să examinăm pe iepuri cu ateroscleroză experimentală dacă există o corelație între modificările proteinelor plasmatice și cele ale proteinelor miocardice solubile și în al doilea rînd dacă aceste tulburări organice pot fi influențate prin anumiți factori metabolici și electrolitici (ionici).

Proteinele solubile ale diferitelor organe și țesuturi, deci și ale miocardului, au fost examinate cu electroforeză de numeroși autori (1—9, 11—24). *Nowy* și colab. (14—19) precum și *Mantieva* (11) au putut izola din miocard 3 fracțiuni, iar alți autori (1, 2, 20) 5, 8 și mai multe. Datele bibliografice, fiind numeroase și contradictorii, îngreunează orientarea în acest domeniu. Metodele utilizate pînă acum prezintă dezavantajul că nu permit decît extragerea unei părți a proteinelor tisulare solubile (solvent puțin, pH necorespunzător) sau că extractele conțin și suspensii labile ale proteinelor insolubile, care dînd precipitate în cursul electroforezei, falsifică rezultatele.

Eliminînd aceste inconveniente am reușit să elaborăm o metodă care este ușor de executat, iar prin asigurarea unor condiții identice dă rezultate uniforme ce se pot reproduce.

Metoda de lucru

Procedul nostru constă în trei faze succesive (omogenizare, extracție și concentrare prin ultrafiltrare). În esență miocardul este bine spălat cu ser fiziologic uscat în hîrtie de filtru, cîntărit și apoi fărîmîțat cu un omogenizator electric pînă la dimensiunile unor fărîmături celulare, într-o soluție tampon medinal-veronal cu pH=8,6, într-un volum de 10 ori mai mare. Se centrifughează cu o viteză 6000 pe minut și soluția supernatantă conținînd proteine în cantitate mică se concentrează cu ultrafiltrul cu sac de colodiu al lui Kerekes și Kovács (16) pînă la concentrația de 6—8 g% proteine.

Prin electroforeza acestui extract miocardic se izolează 5 fracțiuni bine delimitate, cărora le-am dat numere romane (fig. nr. 1.). Proporția relativă a fracțiunilor de proteine solubile din miocardul sănătos este prezentată în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1.

Valorile medii ale fracțiunilor proteinelor solubile din miocard la iepuri sănătoși (în procente)

Fracțiunea				
I.	II.	III.	IV.	V.
23—27	14—16	27—32	19—21	8—10

Administrarea susținută de colesterol a produs pe lingă modificările proteinelor plasmatiche și a lipo- și glicoproteinelor, modificări caracteristice cantitative ale proteinelor din miocardul de iepure.

Cantitatea fracțiunii nr. 1. care migrează mai rapid a scăzut în raport cu fracțiunile care migrează încet (fig. nr. 2, tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2.

Fracțiunile proteinice solubile din miocard la iepuri tratați cu colesterol (în procente)

Nr. crt.	Numi- rea	Fracțiunea				
		I.	II.	III.	IV.	V.
1.	I/1	15,8	15,1	38,7	24,9	5,5
2.	1/2	18,2	14,6	28,0	28,0	10,1
3.	1/3	11,3	10,1	34,8	30,0	13,6
4.	1/4	16,4	12,4	29,4	31,6	10,2
5.	1/5	21,1	12,8	31,4	27,6	7,1
	Media:	16,7	13,0	32,5	26,6	9,3

Fenomenul nu a putut fi influențat în mod demonstrabil prin administrare concomitentă de glucoză și fructoză (fig. nr. 3, 4, tabelul 3 și 4).

Tabelul nr. 3.

Fracțiunile proteinice solubile din miocard la iepuri cărora li s-a administrat colesterol (în procente)

Nr. crt.	Numi- rea	Fracțiunea				
		I.	II.	III.	IV.	V.
1.	II/2	15,0	18,3	32,3	23,5	12,9
2.	II/3	18,0	13,2	34,6	23,5	10,7
3.	II/4	19,5	15,2	37,7	19,8	7,8
4.	II/5	15,4	11,8	43,8	16,8	12,2
	Media:	17,0	14,1	34,6	20,9	10,9

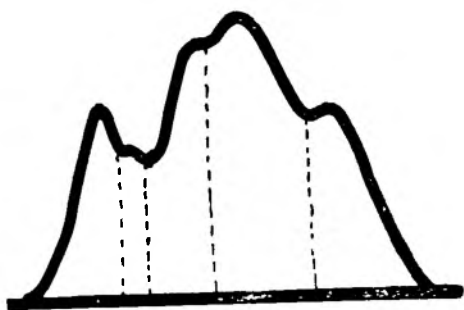


Fig. nr. 1. - Diagrama electroforetică a proteinelor miocardice la un iepure sănătos



Fig. nr. 2. - Diagrama electroforetică a proteinelor miocardice la un iepure căruiua i s-a administrat colesterol

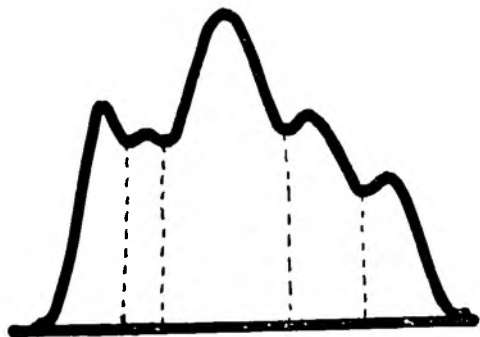
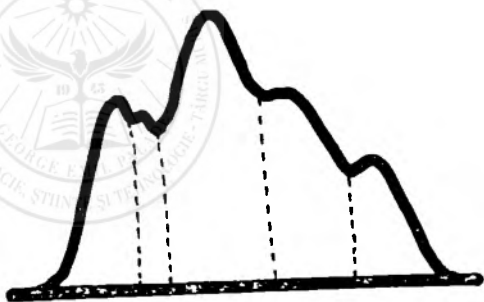


Fig. nr. 3. - Diagrama electroforetică a proteinelor miocardice la un iepure căruiua i s-a administrat colesterol și glucoză

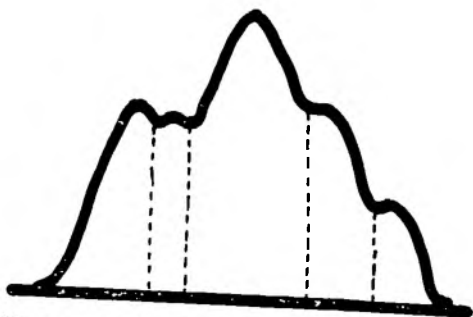


Fig. nr. 4. - Diagrama electroforetică a proteinelor
miocardice la un iepure căruia i s-a administrat coleste-
rol și fructoză

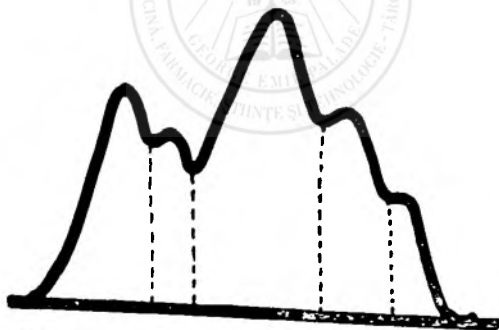


Fig. nr. 5. - Diagrama electroforetică a proteinelor
miocardice la un iepure tratat cu colesterol și soluție
de KCl

Tabelul nr. 4.

Fracțiunile proteinice solubile din miocard la iepurii tratați cu colesterol și fructoză

Nr. crt.	Numi- rea	I.	II.	Fracțiunea III.	IV.	V.
1.	III/1	24,9	13,1	27,5	22,3	12,2
2.	III/2	12,8	18,6	40,0	19,6	9,0
3.	III/3	20,6	17,0	30,3	23,0	9,1
4.	III/4	19,8	18,6	36,2	22,2	3,2
5.	III/5	18,0	10,9	34,0	21,0	16,1
	Media:	19,2	15,6	33,6	21,6	9,9

Remarcăm însă, că modificările proteinelor miocardice au fost mai atenuate la iepurii tratați în prezența colesterolului și potasiului (fig. 5, tabel 5).

Tabelul nr. 5.

Fracțiunile proteinice solubile din miocard la iepurii tratați cu colesterol și potasiu

Nr. crt.	Numi- rea	I.	II.	Fracțiunea III.	IV.	V.
1.	IV/1	22,6	16,5	34,2	18,1	8,6
2.	IV/2	20,1	17,2	35,6	16,2	10,6
3.	IV/3	28,2	19,5	33,2	12,5	6,6
4.	IV/4	18,3	16,2	31,6	18,3	10,6
5.	IV/5	25,1	12,9	36,4	15,7	9,9
	Media:	22,9	16,26	35,20	16,2	9,26

Interpretarea rezultatelor

Referitor la relația dintre proteinele plasmatice și cele tisulare părerile diferă. După *Kaplanski* și colab. (7, 8, 9) fracțiunea care migrează rapid e identică și imunologic cu albumina plasmatică, iar fracțiunile mai lente se deosebesc de globuline. Utilizând imunoelectroforeza *Neuhoff* (13) nu a putut dovedi însă nici identitatea dintre fracțiunea I. și albumina serică.

Conform cercetărilor noastre anterioare (21), disproteinemia inflamatoare este însoțită de modificări cantitative ale proteinelor solubile din miocard. Acest fapt l-am putut stabili acum și referitor la modificările fracțiunilor seroproteice din ateroscleroza experimentală. Toate acestea pledează pentru existența unor legături strânse între proteinele tisulare și cele sanguine și chiar dacă nu putem vorbi despre o identitate completă a acestor proteine, înrudirea lor strânsă e totuși verosimilă.

De asemenea am putut stabili că și în urma disproteinemiei alimentare în miocardul iepurilor apar modificări decelabile după un interval de timp relativ scurt de 5 luni, paralele cu degenerările aterosclerotice ale vaselor. Leziunea miocardică nu este deci neapărat o consecință a alterării sau stenozei vasculare etc., ci poate fi o manifestare paralelă concomitentă a tulburării metabolice care dă naștere aterosclerozei.

Observațiile noastre arată că fosfatul de potasiu împiedică ieșirea lipoizilor din sine, deoarece în grupa respectivă cantitatea acestor substanțe a fost ridicată din plasmă. S-ar putea întâmpla ca această împrejurare să ducă la evitarea modificărilor tisulare mai grave, care s-au manifestat în cazul proteinelor miocardice la alte grupe de animale. Această acțiune e probabil legată de influența pe care ionii de potasiu o exercită asupra permeabilității membranei celulare.

Concluzii

Am studiat cu ajutorul electroforezei proteinele miocardice solubile extrase cu ajutorul unei metode personale. Precedeul acesta a permis totdeauna izolarea a

5 fracțiuni. Am putut constata că iepurii cărora li s-a administrat colesterol timp de 5 luni au prezentat modificări caracteristice în proteinele miocardice, asemănătoare celor din miocardoză lui Wuhrmann: fracțiunea I a migrat rapid, dar a prezentat o diminuare cantitativă, și anume în favoarea fracțiunilor rmai lente. Leziunea miocardică în ateroscleroză nu este deci neapărat consecința unor leziuni vasculare, ci poate fi o manifestare concomitentă, paralelă tulburării metabolice de bază, numită miocardoză. Administrarea simultană de glucoză sau fructoză nu are nici o repercusiune decelabilă asupra procesului. Trebuie însă să notăm că modificările proteinelor miocardice la animalele cărora pe lângă colesterol li s-a administrat și fosfat de potasiu au fost evident mai atenuate. Sărurile de potasiu împiedică probabil trecerea lipozilor prin peretele vascular și implicit producerea leziunilor tisulare mai grave în miocard.

Sosit la redacție: 18 iunie 1962.

Bibliografie

1. CRUCK S.: Arch. Internat. Physiol. (1957), 65, 117; 2. DEMLING Klin. Wschr. (1952), 30, 3/4, 74; 3. EMMART E. W., HELANDER E.: Arch. Path. (1960), 70, 6, 730;
4. IVANOV I. I., JAKOVA Z. N., ZINOVIEVA I. P., MIROVICI N. I., TUCACINSKI S. E., JLREV V. A.: Biochimia (1959), 24, 3, 451; 5. KAPLAN M. H., DALLENBACH F. D.: J. Exp. Med. (1961), 113, 1, 1; 6. KAPLAN M. H., MEYESERIAN MARY, KUSHNER I.: J. Exp. Med. (1958) 113, 1, 17; 7. KAPLANSKI SZ. O., KUZOVLEVA O. B., STAROSEIEVA L. P.: Vopr. Med. Him. (1957), 3, 451; 8. KAPLANSKI S. I., KUZOVLEVA O. B.: Biochimia (1957), 22, 162; 9. KAPLANSKI SZ. I., GURVICI A. E., STAROSEIEVA L. K.: Biochimia (1958), 23, 114; 10. KEREKES M., KÖVACS E.: Comunicare susținută la Simpozionul de electroforeză, București 4 octombrie 1961;
11. MANTIEVA A.: Buil. eksp. Biol. i. med. (1959), 6, 52; 12. MODY J., SZÉKELY J.: I. S. Secția de fiziologie 2 martie 1962, în curs de apariție; 13. NEUHOFF Z. ges. exp. Med. (1959), 131, 611; 14. NOWY H.: Zschr. exp. Med. (1955), 126, 1; 15. NOWY H., SEITZ W.: Zschr. ges. exp. Med. (1955), 126, 1; 16. NOWY H., BLASIUS R., KARL O.: Z. ges. exp. Med. (1955), 126, 1, 12; 17. NOWY H., FRINGS H. D., WALCHER A., TENDERICH L.: Z. ges. exp. Med. (1959), 131, 5, 478; 18. NOWY H., FRINGS H. D., TENDERICH L.: Naturwiss (1959) 1, 18; 19. NOWY H., FRINGS H. D., WALCHER A., TENDERICH L.: Z. ges. exp. Med. (1960), 131, 6, 748; 20. SOBEL H., MYERS S. M., COHEN F.: Exp. Med. Surg. (1959), 17, 119, 128; 21. SZABO I., SZÉKELY J., GYERGYAI F., MODY J.: Fiziologia (1961), 4, 259; 22. WUHRMANN F., NIGGLI S.: Die Miokardosa, Bennis Schwabe, Basel (1956); 23. WUHRMANN F.: Wieser Med, Wschr. (1959), 109, 41, 788;