

ANOMALII CALITATIVE ÎN COMPONENTA FIBRINEI ÎN BOLI REUMATICE

Éva Kótay Lakatos, E. Kífor și A. Fall

În bolile reumatice se constată o serie de tulburări în metabolismul protidic. Tabloul electroforetic al serului, metabolismul modificat al aminoacizilor aromatici, ameliorarea clinică și de laborator după o dietă lipsită de fenilalanină și tirozină confirmă acest fapt.

În bolile reumatice pe lângă o sinteză proteică defectuoasă se poate observa depunerea tisulară a unei substanțe de natură proteică, denumită fibrinoid. Din datele lui *Thomas* (6) reiese că acest fibrinoid este de fapt un fibrinogen modificat. *Ziff* și colab. (4) analizând compoziția fibrinoidului, găsesc că substanța are un conținut mare (7%) de polizaharide. După datele lui *Conden* (1), această substanță nu conține oxiprolina, aminoacidul caracteristic colagenului. Pe baza rezultatelor obținute la microscopul electronic *Albertini* a găsit că structura acestei substanțe este foarte asemănătoare cu a fibrinei. Datele de mai sus sugerează concluzia, că fibrinoidul ar fi fibrinogenul depus în țesuturi și că această depunere ar fi favorizată de factori locali.

Având în vedere rezultatele obținute la 31 de cazuri cu artrită reumatică, a căror activitate fibrinolitice era diminuată (3), (date similare cu ale lui *Kopec* (2) în 11 cazuri de artrită reumatică) — am studiat fibrinogenul, care este de fapt substratul complexului de fibrinoliză. Cercetările le-am efectuat pe un lot de 72 de cazuri, cuprinzând 50 de persoane sănătoase și 22 bolnavi suferind de poliartrită cronică evolutivă, febră reumatică.

Se știe că nivelul fibrinemiei este influențat pe de o parte de o serie de factori patologici: astfel în maladiile ficatului (unde între gravitatea afecțiunii hepatice și fibrinogenemie poate fi o oarecare corelație), în leucemii, panmielopatii, după intervenții chirurgicale cu pierderi masive de sânge, găsim valori scăzute, în timp ce în inflamațiile acute și cronice (cu excepția ficatului) în anumite forme de plasmocitoame, în graviditate, după röntgenterapie, se pot întilni valori cres-

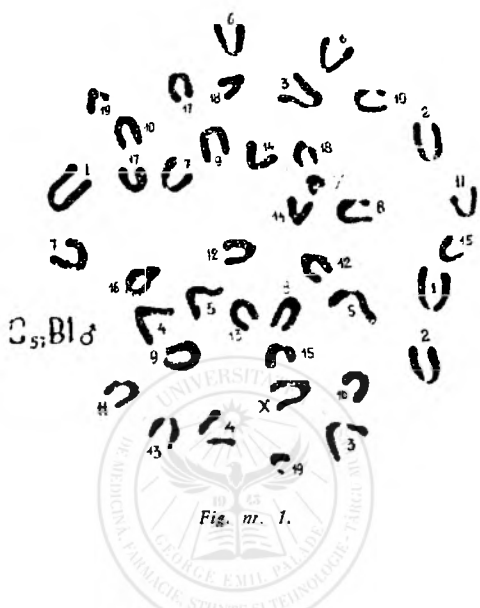


Fig. nr. 1.

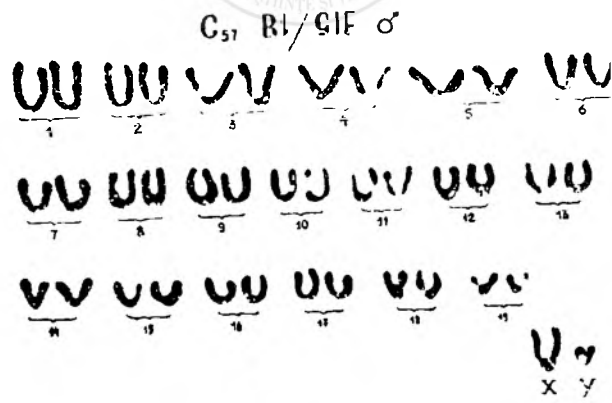


Fig. nr. 2.

cute. Pe de altă parte și valorile fiziologice sînt supuse unor oscilații în legătură cu vîrsta, sexul, ciclul menstrual și altele. Rezultă de aici că interpretările trebuie să fie făcute cu multă prudență.

Metode de lucru

La începutul cercetărilor am determinat fibrinogenemia din același singe prin metode diferite, cu scopul de a determina valorile normale pentru fiecare metodă, creînd posibilități de comparație între valorile normale și patologice.

La fiecare metodă folosită de noi, fibrina am izolat-o în prealabil din singe prin recalcificare, iar pentru determinarea gravimetrică a fibrinei am folosit paralel cu recalcificarea și precipitarea cu trombină. Pentru determinarea cantitativă a fibrinei am folosit metodele întrebuițate în general pentru cercetarea proteinelor, adaptate studiului fibrinei. În principiu am folosit metode fotometrice și gravimetrice.

1. În cadrul metodelor fotometrice am întrebuițat metoda *Folin-Ciocilteu*, cu care am determinat componentul tirozinic.

2. Am determinat componența glucidică din fibrină cu ajutorul antronei, la care proporția glucidică a fost stabilită ca fiind de 2,3% (după *Hoppe-Seyler*).

Metoda, în principiu, este utilizată pentru determinarea glucidelor: noi am adaptat-o însă pentru determinarea cantitativă a fibrinei, în modul următor: fibrina izolată prin recalcificare din 0,5 ml. plasmă oxalatată se spală de trei ori cu apă distilată, după care se dizolvă într-un ml de NaOH sol. 10% și se hidrolizează 10 minute în baie de apă fierbinte, apoi se răcește. După introducerea cantității de 0,5 ml. de apă distilată eprubetele se așează în baie la temperatura de 0 grade, adăugînd 4 ml din reactivul cu antronă proaspăt preparat (0,2 g antronă recristalizată în 100 ml H₂SO₄ conc.). După amestecarea conținutului se introduce din nou în baie de apă fierbinte pe timp de 5 minute. Întreruperea reacției se face prin reșezarea eprubetelor în baie de 0 grade, în care se păstrează timp de 10 minute. Citirea se face cu fotometrul Pulfrich, filtru S—61. Etalonarea se execută cu o soluție echimoleculară de galactoză—manoză.

Coagularea fibrinei în scopul determinărilor colorimetrice s-a efectuat prin recalcificare. Din motive teoretice am abandonat coagularea cu trombină — cu care am studiat fibrina într-o altă serie de 60 cazuri — aceasta pentru eventualul efect reducător al trombinei și pentru eventuala reacție de culoare a ei cu reactivii proteinelor. S-a dovedit ulterior că n-au fost diferențe considerabile între cele două metode de coagulare.

3—4. Am procedat și la determinarea directă gravimetrică a fibrinei, folosînd de astă dată în mod paralel coagularea prin recalcificare precum și cu trombină. Pentru uscarea fibrinei după tratarea ei cu alcool-eter și eter am folosit aparatul Abderhalden, în care ca absorbant a fost întrebuițat fosforpentaoxid, la o temperatură de 100° C.

Considerațiuni pe marginea metodelor folosite

Fibrina provenită de la 50 de persoane sănătoase ne-a dat valori diferite în funcție de metoda folosită.

— Pe baza determinării conținutului de tirozină a fibrinei, valorile au oscilat între 170—350 mg %, cu o frecvență maximă a valorilor cuprinse între 230—290 mg %. Limitele normale cu această metodă sînt relativ bine determinate și nu sînt prea îndepărtate.

— Rezultatele bazate pe determinarea componentului glucidic diferă de rezultatele obținute cu prima metodă, avînd limite mai largi, cu o curbă de frecvență mai plată. Valorile au fost între 160—450 mg %, cu o frecvență maximă între 360—400 mg %.

— Cu metodele gravimetrice am obținut valori mai ridicate. Prin coagulare cu trombină am găsit valori între 200—450 mg %, cu o frecvență maximă în jurul lui 320 mg %.

— Valori considerabil mai ridicate am obținut prin recalificare, ele oscilind între 400—600 mg %, cu frecvența maximă de 500 mg %.

Pentru explicarea diferențelor dintre rezultatele obținute prin metoda gravimetrică a coagulării cu recalificarea și prin celelalte metode, am analizat conținutul de calciu și clor al fibrinei, plasmei și al serului. Pe baza acestor analize am putut constata că în cazul recalificării, fibrina fixează calciul, care atinge un procent mediu de 9,7 % față de greutatea uscată. Este de remarcat faptul, că și prin coagulare cu trombină urmele de calciu rămase în plasmă după adăugarea anticoagulantului se fixează de fibrină. Conținutul de calciu al fibrinei coagulate cu ajutorul trombinei este de 1,6 % față de greutatea uscată.

Cu toate că conținutul de calciu al fibrinei obținute prin recalificare este cu aproape 8 % mai mare, această diferență nu acoperă diferența găsită la determinarea gravimetrică cu trombină, respectiv cea colorimetrică. Din rezultatele determinărilor clorului din plasmă, din fibrină și din ser reiese că clorul nu este legat de fibrină ci rămâne cantitativ în ser.

Considerațiuni privind fibrinemia în reumatism

În cazul bolnavilor cu reumatism am pus în evidență o creștere cantitativă a fibrinei. În raport cu valorile medii la persoane sănătoase, această creștere este în medie de 127% când s-a utilizat recalificarea pentru metoda gravimetrică și de 149% în cazul coagulării cu trombină.

Prin determinarea conținutului tirozinic am observat o creștere de 146% față de normal. Determinând fibrina pe baza conținutului glucidic, s-a putut observa o creștere pronunțată de 230% (fig. 1).

Aceste rezultate sugerează că în cazul reumatismului, pe lângă o creștere cantitativă de fibrinogen apar și modificări calitative ale sale. În această boală fibrina are un conținut glucidic mărit, relevat prin creșterea accentuată a componentei glucidice în comparație cu valorile date de celelalte metode.

Analizând limitele și frecvența valorilor la sănătoși și bolnavi putem constata, că frecvența maximă a valorilor obținute prin metodele gravimetrice și metoda Folin-Ciocalteu nu diferă între ele. În cazul bolnavilor însă creșterea medie apare pe curba frecvențelor ca un al doilea maximum. Limitele valorilor patologice se contopesc cu cele normale. (fig. 2 și 3).

Valorile obținute prin determinarea componentei glucidice se deosebesc de celelalte prin apariția unui nou maximum de frecvență, care diferă mult de maximumul pus în evidență la sănătoși: în același timp între limitele normale și patologice nu se observă o contopire ci numai o joncțiune. Aceste rezultate au fost interpretate de noi drept dovezi pentru existența unor deosebiri calitative nete între fibrina celor sănătoși și a celor cu afecțiuni reumatice. Rezultatele noastre sînt în concordanță cu publicațiile recente ale lui Stoichiță și colab. (5).

Concluzii

Analizînd și comparînd rezultatele obținute cu diferite metode, constatăm următoarele:

Rezultatele analizelor cantitative ale fibrinei diferă după metoda întrebuințată. Valorile obținute prin metoda gravimetrică folosind pentru coagulare recalificarea, sînt considerabil mai mari față de celelalte metode. Analizînd aceste probleme am stabilit, că ionul calciu necesar la transformarea fibrinogenului în fibrină se fixează de fapt de aceasta din urmă.

Cantitatea fibrinei plasmatică este mărită în bolile reumatice, constatare făcută folosind 4 metode de determinare a fibrinemiei. Gradul creșterii fibrinei însă diferă la cele 4 metode aplicate. Metoda bazată pe dozarea componentei glucidice a fibrinei a dat valori deosebit de ridicate. (Tabelul nr. 1.)

Rezultatele obținute le-am interpretat ca fiind consecințele unor modificări în componența fibrinei în boli reumatice. Prin dozarea fibrinei cu antronă, se evidențiază net aceste diferențe.

EVA KOTAY-LAKATOS ȘI COLAB.: ANOMALII CALITATIVE IN COMPONENTA FIBREI ÎN BOLI REUMATICE.

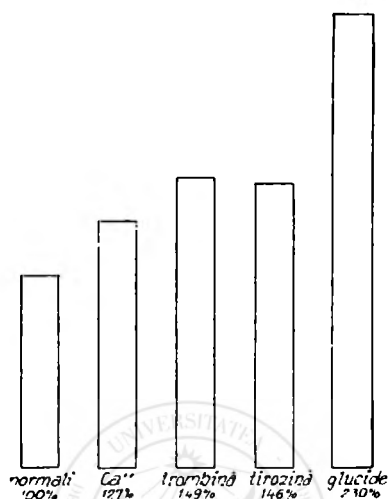


Fig. nr. 1: Creșterea fibrinei față de normal la bolnavii reumatici.

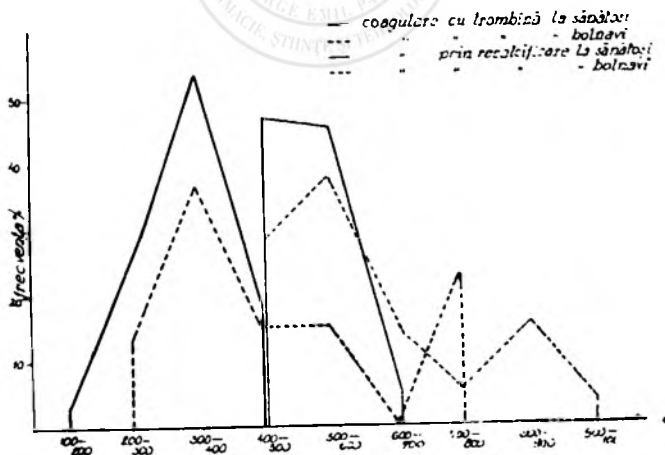


Fig. nr. 2: Frecvența valorilor de fibrină la bolnavii reumatici și sănătoși obținută prin metode de gravimetrie.

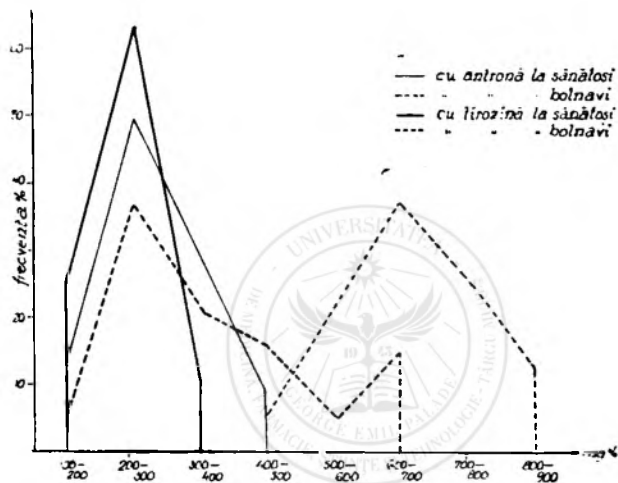


Fig. nr. 3: Frecvența valorilor de fibrină la bolnavi reumatici și sănătoși, obținută prin metode colorimetrice.

Tabelul nr. 1

Valorile medii și deviațiile fibrinemiei calculate după diferite metode de dozare

	Glucide mg %		Tirozină mg %		Grav. cu recalc. mg %		Grav. cu trombină mg %					
	+	-	+	-	+	-	+	-				
Sănătoși	302,0	49	47	253,6	38	37	489,4	22	18	337,2	33	40
Bolnavi	662,3	31	36	382,0	80	39	622,2	50	35	477,5	66	48

Sosit la redacție: 12 febr. 1964.

Bibliografie

1. R. CONSDEN, L. GLYNN, W. M. STANIER: Biochem. J., (1952), XIX, 50;
2. M. KOPEC, H. AMATUNI: Pol. Tyg. Lek. (1961), 34, 1031;
3. E. LAKATOS: Rev Med. (1962), 4, 479;
4. A. RICHTER: A mozgásszervi megbetegedések. Bp. (1955), 105;
5. STOICHIȚA MICHAELA, CIOBANU V., MARIA TEICAN-GHEORGHIU, VLĂDESCU C.: St. Cerc. Med. Int. (1963), 1, 97;
6. L. THOMAS, J. A. SMITH, J. A. BRUNSON: J. Exp. Med. (1955), 3, 249;
7. HOPPE-SEYLER, THIERFELDER: Handbuch der Phys. und Path. Chem. Anal., Springer, Berlin, (1953), Vol. IV., 256;
8. PERLICK E.: Gerinnungslaboratorium in Klinik und Praxis, Leipzig, (1960).