

HIPERTROFIA CARDIACĂ INDUSĂ DE ISOPROTERENOL DATE PRIVIND CREȘTEREA MASEI CARDIACE ȘI SINTEZA PROTEICĂ*

Anna Iazigian

Studiind necrozele infarct-like induse de isoproterenol, *Rona* și colab. (1959), au raportat pentru prima dată și o creștere a masei cardiace sub influența acestei catecolamine.

În ultimul timp numărul cercetărilor privind atât necrozele ce se produc în urma administrării de isoproterenol cât și hipertrofia cardiacă a crescut și în prezent este bine stabilit că doze mici de isoproterenol, între 5 și 0,2 mg/kg greutate corporală (*Stanton*, 1969; *Gordon* și colab.,

* Lucrare prezentată la U.S.S.M. Filiala Mureș, Secția fiziologie la 19 decembrie 1973

1972) și chiar de 0,02 mg/kg (Alderman și Harrison, 1971), cauzează o hipertrofie cardiacă considerabilă, de obicei fără semne vizibile de necroză iar doze mari de 50—80 mg/kg produc leziuni necrotice clare (Handforth, 1962; Rona și colab., 1959, 1963; Raab și colab. 1961).

În câteva lucrări mai noi s-a arătat că în hipertrofia cardiacă indusă de isoproterenol este crescută sinteza de acizi nucleici și proteine (Stanton, 1969; Stanton și colab., 1969; Wood și colab., 1972; Schwartz, 1971; Gordon și colab., 1972).

Datele biochimice existente în prezent sînt încă puține și se pot cu greu compara din cauza diferenței condițiilor experimentale utilizate de autori.

În lucrarea de față, folosind o doză mică de isoproterenol (5 mg/kg) am urmărit la șobolani reacția separată a ventriculului stîng și drept, determinînd modificările cantității de țesut/100 g greutate corporală, ale apei tisulare, concentrației proteinelor sarcoplasmice și ale proteinelor miofibrilare.

Material și metodă

S-au folosit șobolani albi de ambe sexe cu greutatea cuprinsă între 150—250 g. Loturile experimentale de cîte 12 animale au primit 2,4 respectiv 6 zile subcutanat cîte 5 mg/kg/zi isoproterenol (s-a folosit preparatul românesc bronhodilatin). La aproximativ 24 de ore, după ultima doză, animalele au fost sacrificate, inima s-a excizat rapid, s-au separat ventriculul stîng cu septul de ventriculul drept, s-au sugativat și s-au cîntărit fiecare la balanța analitică. O probă de aproximativ 50—100 mg din fiecare ventricul stîng și din cîte 3 ventriculi drepti analizați împreună, s-a folosit pentru determinarea greutății uscate. Cantitatea rămasă din fiecare ventricul stîng și cîte 3 ventriculi drepti reuniți s-a omogenizat și s-au extras cantitativ, folosind succesiv tampon fosfat 0,03M, pH 7,4 și soluție Edsal-Weber, 2 fracțiuni proteice în condițiile descrise de Ivanov și colab. (1959). Pentru determinarea cantitativă a proteinelor în extrase s-a utilizat metoda Lowry (variante Miller 1959), pentru fracțiunea extrasă cu soluție Edsal-Weber, clorura de potasiu precipitată în condițiile acestei metode fiind îndepărtată prin centrifugare (Vallejo și Lagunas, 1970). Pentru aprecierea modificărilor cantitative ale celor 2 fracțiuni proteice, s-a urmărit procentul acestora în țesutul ventricular. Rezultatele obținute s-au prelucrat statistic folosind testul „t” al lui Student.

Rezultate

După cum era de așteptat, isoproterenolul a indus creșterea masei cardiace. În această creștere au fost implicați ambii ventriculi. La numai 2 zile de tratament cu isoproterenol, s-a înregistrat o creștere marcată atât a ventriculului stîng cît și drept. Diferențele față de lotul martor sînt foarte semnificative și rămîn astfel în toată perioada cercetată ($p < 0,001$). Răspunsul ventriculului drept este relativ mai rapid și mai pronunțat decît al celui stîng (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1

Efectul isoproterenolului asupra masei ventriculare
(mg țesut ud/100 g greutate corporală)

	Animale normale	Durata tratamentului cu isoproterenol, 5 mg/kg/zi		
		2 zile	4 zile	6 zile
Ventricul stîng	213,4±6,05	248,9±8,09*	278,1±7,49*	265,6±7,15*
Ventricul drept	51,7±1,8	76,2±2,4*	80,5±2,2*	78,4±4,4*

* $p < 0,001$

Contribuția apei la creșterea miocardului este mică, greutatea uscată a ventriculului stîng care reprezintă cea mai mare parte a inimii, modificîndu-se numai probabil semnificativ în ziua a 2-a a tratamentului (tabelul nr. 2) ($0,05 > p > 0,01$). În urma unor experiențe similare, Stanton (1969), menționa de asemenea o oarecare creștere a conținutului de apă la începutul perioadei de tratament cu isoproterenol, fără ca aceasta să fie însă semnificativă.

Proteinele fracțiuni I-a — sarcoplasmatică — au scăzut foarte semnificativ în a patra zi de administrare a isoproterenolului ($p < 0,001$), pentru ca apoi să revină (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2

Efectul isoproterenolului asupra conținutului de apă
și proteine al ventriculului stîng

	Animale normale	Durata tratamentului cu isoproterenol 5 mg/kg/zi			
		2 zile	4 zile	6 zile	
% țesut uscat	22,6 ± 0,45	20,3 ± 0,71***	21,7 ± 0,44	23,4 ± 0,45	
Proteine fracțiunea I. — (sarcoplasmatică)	% țesut ud	5,26 ± 0,09	4,98 ± 0,11	4,00 ± 0,05*	5,80 ± 0,07**
	% țesut uscat	25,3 ± 0,62	24,6 ± 0,96	18,8 ± 0,68*	24,85 ± 0,66
Proteine fracțiunea II. — (miofibrilare)	% țesut ud	4,49 ± 0,10	6,23 ± 0,27*	6,39 ± 0,21*	5,86 ± 0,20*
	% țesut uscat	18,8 ± 0,97	29,6 ± 1,24*	29,4 ± 1,0*	25,0 ± 0,80*
Suma fract. I. + fract. II.	% țesut ud	9,79 ± 0,22	11,21 ± 0,32*	10,4 ± 0,29	11,61 ± 0,5*
	% țesut uscat	44,5 ± 1,10	53,9 ± 1,43*	48,3 ± 1,44**	49,86 ± 1,31**

* $p < 0,001$

** $0,01 > p > 0,001$

*** $0,05 > p > 0,01$

Proteinele fracțiunii a II-a — miofibrilare — sînt foarte semnificativ crescute ($p < 0,001$) deja după primele două zile de tratament și rămîn astfel în toată perioada cercetată (tabelul nr. 2).

Suma proteinelor solubilizate în total din miocardul hipertrofic prin cele două extracții succesive este foarte semnificativ crescută ($p < 0,001$) la începutul și la sfârșitul perioadei, datorită în principal creșterii marcate a sintezei proteinelor fracțiunii a II-a. Creșterea proteinelor totale este mai puțin marcată în ziua a patra când s-a înregistrat minimul pentru concentrația de proteine sarcoplasmice.

Discuții

Din punctul de vedere al clasificării generale a fazelor procesului de hipertrofie formulate de *Meerson* (1969), clasificare în prezent larg acceptată, experiențele noastre ar cuprinde perioada de prejudiciu, cu creșterea rapidă a masei miocardice și s-ar opri la începutul fazei de hipertrofie relativ stabilă, când greutatea miocardică este stabilizată, iar procesele biochimice fundamentale sînt într-o nouă stare de echilibru. Pentru toată această perioadă datele noastre cantitative arată o sinteză proteică crescută.

În legătură cu sinteza proteică în cursul acestui tip de hipertrofie cardiacă ne-a atras în mod deosebit atenția creșterea marcată a concentrației proteinelor fracțiunii a II-a miofibrilare.

Conform cercetărilor lui *Narayanan* și *Eapen* (1973) efectuate în legătură cu capacitatea miofibrilelor de a sintetiza proteine, miofibrilele ar putea fi un loc major al sintezei proteice în mușchiul cardiac, cu ribozomii miofibrilari ca unități funcționale. Acceptînd această ipoteză a lui *Narayanan* și *Eapen*, creșterea concentrației proteinelor fracțiunii a II-a miofibrilare s-ar putea explica prin extragerea din această fracțiune a proteinelor sintetizate sau în curs de sinteză din sistemul miofibrilar de sinteză proteică. Nu există încă date privind natura proteinelor sintetizate de miofibrile astfel că noi considerăm prematur ca în această lumină să facem presupuneri în legătură cu corelația dintre variația celor două fracțiuni proteice cercetate și ne mulțumim să subliniem numai oportunitatea unui studiu calitativ mai atent și al dinamicii proteinelor extrase din cele două fracțiuni.

Agentul chimic folosit pentru inducerea hipertrofiei cardiace, isoproterenolul, este o amină simpatomimetică cu proprietăți de stimulare a beta-receptorilor și cu o acțiune de intensificare a consumului de fosfați macroergici cardiaci (*Fleckenstein* și colab. 1969). Această acțiune s-ar datora atât fluxului transmembranal de calciu în cursul excitației (*Reuter*, 1965), cît și unei acțiuni cocatalitice adiționale cu calciul asupra ATP-azei miofibrilare Ca-dependente în cursul contractției (*Honig*, 1967).

Conform teoriei recent formulate de *Meerson* (1972), scăderea concentrației de ATP ar avea un rol central în determinarea oricărui tip de hipertrofie cardiacă, indiferent de stimulul primar.

Pe baza celor de mai sus, isoproterenolul, scăzînd depozitul de fosfați macroergici, ar crea condițiile pentru producerea creșterii compensatoare a masei miocardice.

Schwartz (1971), bazat pe datele experimentale privind sinteza de ARN a mers și mai departe în presupunerile sale admițînd posibilitatea că substanța în cauză ar acționa chiar la nivel genetic, inducînd derepresia unor gene responsabile pentru sinteza unor proteine miocardice.

O serie de cercetări efectuate de *Meerson* și colab. (*Meerson*, 1969), au evidențiat modificări ale conținutului de catecolamine în miocard în diferitele faze ale hipertrofiei cardiace, ceea ce i-a dus pe autori la presupunerea că acestea ar avea un rol important în desfășurarea procesului de hipertrofie a inimii. Mai mult decât atât, administrarea unor cofactori ai sintezei proteinelor și acizilor nucleici a prevenit atât tulburările în sinteza de proteine și acizi nucleici, cât și scăderea de concentrație a catecolaminelor în miocard, prelungind totodată considerabil faza de hipertrofie relativ stabilă. Aceasta sugerează de asemenea o legătură între catecolamine și aparatul genetic.

Experiențele efectuate de *Stanton* (1969) în legătură cu mecanismul de acțiune a isoproterenolului au reușit să dovedească că creșterea miocardică în urma administrării de isoproterenol este cel puțin în parte legată de efectul inotropic al acestei substanțe.

Cercetările lui *Gordon* și colab. (1972) au dus de asemenea la concluzia că efectul beta direct al isoproterenolului asupra inimii este asociat cu stimulul primar al hipertrofiei cardiace.

Datele autorilor citați, coroborate cu unele cercetări privind implicarea AMP-ului ciclic în efectele celulare ale catecolaminelor (*Sutherland* și colab., 1968, *Kukovetz* și colab., 1973) pledează în plus pentru un posibil rol al acestuia din urmă în complexul de reacții ce duc la hipertrofie.

Aspectele biochimice implicate în procesul de hipertrofie cardiacă indusă de isoproterenol sînt încă insuficient studiate pentru a permite concluzii ferme în legătură cu mecanismul de producere și punctele comune cu hipertrofiile induse de alți factori.

În orice caz, modelul experimental de producere a hipertrofiei cardiace discutat mai sus prezintă interes deoarece se pretează la inducerea unor hipertrofii relativ ușor de controlat prin doză, reproductibile și reversibile. Stimulul pentru hipertrofie pîrînd să fie, cel puțin în parte, efectul inotropic pozitiv al isoproterenolului, cu alte cuvinte supraîncărcarea mecanică, corelată într-un mod încă necunoscut cu activitatea aparatului genetic, modelul ar permite o abordare mai comodă, mai bine controlată, mai complexă și poate mai intimă a modificărilor biochimice ce se produc în cursul dezvoltării hipertrofiei cardiace în urma hiperfuncției compensatoare a inimii.

Sosit la redacție: 26 ianuarie 1974.

Bibliografie

1. *Alderman E. L., Harrison D. C.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1971), 136, 268; 2. *Fleckenstein A., Döring H. J., Leder O.*: in *M. Lamarche, R. Royer*: Drugs and metabolism of myocardium and striated muscle, 1969, 11: 3. *Gordon A. L., Inchiosa M. A. Jr., Lehr D.*: J. Mol. Cell. Cardiol. (1972), 4, 543; 4. *Handforth C. P.*: Arch. Pathol. (1962), 73, 161; 5. *Honig R. G.*: in *R. Tranz, F. Kavalier, J. Roberts*: Myocardial contractility, Acad. Press. New York—London, 1967, 373; 6. *Ivanov I. I., Zhakhova Z. N., Zinovieva I. P., Mirovich N. I., Moiseeva V. P., Parshina A. E., Tukachinsky S. E., Juriev V. A.*: Biochimia (1959), 24, 451; 7. *Kukovetz W. R., Pösch G., Wurm A.*: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol (1973), 278, 403; 8. *Meerson F. Z.*: Circ. Res. (1969), 25, suppl. II, 1—163; 9. *Meerson F. Z.*: Acta Biol. Med. Germ. (1972), 29, 271; 10. *Miller G. L.*: cit. de Ghe-

ție V.; Micușan V., *Analiza imunochimică*, Ed. Acad. R.S.R., București, 1966; 11. Narayanan N., Eapen J.: *Biochim. Biophys. Acta* (1973), 312, 413; 12. Raab W., Stark E., MacMillan W. H., Gigg W. R.: *Amer. J. Cardiol.* (1961), 8, 203; 13. Reuter H.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Pathol. u. Pharmakol.* (1965), 251, 401; 14. Rona G., Chappel C. J., Balázs T., Gaudry R.: *Arch. Pathol.* (1959), 67, 443; 15. Rona G., Chappel C. J., Kahn D. S.: *Amer. Heart. J.* (1963), 66, 389; 16. Schwartz A.: in N. Alpert, *Cardiac hypertrophy*, Acad. Press. Inc. New York—London, 1971, 511; 17. Stanton H. C.: in M. Lamarche, R. Royer, *Drugs and metabolism of myocardium and striated muscle*, 1969, 23; 18. Stanton H. C., Brenner G., Mayfield E. D. Jr.: *Amer. Heart. J.* (1969), 77, 72; 19. Sutherland E. W., Robison G. A., Butcher R. W.: *Circulation* (1968), 37, 279; 20. Valleje G. Carmen, Lagunas R.: *Anal. Biochem.* (1970), 36, 207; 21. Wood W. G., Lindenmeyer G. E., Schwartz A.: *J. Molec. Cell. Cardiol.* (1972), 3, 127.
