

Disciplina de biochimie (cond.: prof. dr. A. Kovács, doctor în chimie)
și Disciplina de histologie (cond.: prof. dr. Gh. Roșca, doctor în medicină)
ale I.M.F. din Tirgu Mureș

MODIFICAREA CAPACITĂȚII ANTITRIPSINICE A SERULUI ÎN INFLAMAȚIA ȘI ÎN LEZIUNEA HEPATICĂ EXPERIMENTALĂ

L. Bukaresti, Maria Făgărășan, Gabriela Sikó, Ileana Nagy,
Stela Roșca, Angela Szövérfi, A. Kovács

În cursul cercetărilor noastre anterioare (5, 6) am obținut mai multe date privind rolul major al ficatului în biosinteza glicoproteinelor serice acidolubile (seromuroid). Rezultatele obținute sînt concordante cu majoritatea datelor din literatură.

Dintre componentele fracțiunii de seromuroid alfa₁-antitripsina (α_1 AT) a trezit un interes deosebit în ultimul deceniu, datorită legăturii între deficitul de α_1 AT genetic condiționat și bronhopneumopatiile cronice obstructive, respectiv ciroza la copii (1, 10, 13, 17, 19, 22).

Conform constatărilor mai multor autori, ficatul este probabil sursa majoră a α_1 AT (14).

Totuși în afecțiunile hepatice concentrația din ser a α_1 AT a fost găsită de obicei crescută (11, 14, 16, 21) și mai rar scăzută (18). O valoare scăzută în cursul unui icter hepatocelular acut poate prevesti o evoluție a bolii spre atrofia hepatică flavă (8). Totodată deficitul congenital de α_1 AT este un factor de predispoziție pentru afecțiuni hepatice (3, 4, 7, 9, 17, 19, 22). În procesele cu caracter inflamator concentrația serică a α_1 AT este crescută (2, 14), asemănător cu cea a seromuroidului.

Pornind de la aceste date și în continuarea experiențelor noastre anterioare privind rolul ficatului în biosinteza glicoproteinelor, ne-am propus studiul capacității antitripsinice a serului (CAT) în inflamația experimentală și în leziunea toxică a ficatului.

* Lucrare prezentată la Sesiunea științifică anuală de valorificare a cercetării științifice. Centrul de cercetări medicale, Tg. Mureș, 23 aprilie 1978.

Folosind ca substrat N-benzoil-arginin-p-nitranilidă (BAPNA), CAT se datorește în 90—95 % alfa₁-antitripsinei. Dintre celelalte antiproteaze majore α_2 -macroglobulina (α_2M) formează cu tripsina un complex care rămâne practic activ față de acest substrat, iar inter- α -tripsin-inhibitorul (I α I) contribuie foarte puțin la capacitatea totală antitripsinică a serului (14).

Astfel metoda furnizează date evaluabile în privința modificărilor concentrației α_1AT din ser (16).

Material și metodă

Experiențele au fost efectuate pe cobai masculi, cu greutatea 400—700 g, împărțiți în următoarele loturi:

Lotul nr. 1 (7 animale) a servit drept martor.

Lotul nr. 2 (6 animale) a fost tratat i.m. cu 0,2 ml 100 g corp soluție Coreine (Lab. Daniel-Brunet S.A. Paris) 2 %, cu 48 de ore înainte sacrificării. Lotul nr. 3 (5 animale) a primit i.p. 0,18 ml 100 g corp dintr-un amestec de CCl_4 și ulei de parafină 1 : 2, cu 20 de ore înainte de sacrificare. Lotul nr. 4 (7 animale) a fost tratat ca și lotul nr. 2, animalele primind în plus CCl_4 în condițiile descrise la lotul nr. 3.

CAT s-a determinat după metoda descrisă de Fritz și colab. (tampon de trietilamină, substrat: BAPNA, rezultatul exprimat în miliunități inhibitor/ml (m UI/ml), (12).

Concomitent s-au urmărit și modificările concentrației seromucoidului, estimate pe baza polarogramei filtratului obținut după tratarea serului cu acid percloric (5).

Prelucrarea statistică s-a făcut după metoda „t” Student.

Piesele pentru examinarea histopatologică a ficatului au fost fixate în formol neutru diluat (1 : 10), incluse în parafină și colorate cu hematoxilină-eozină.

Rezultate și discuții

După cum reiese din datele tabelului nr. 1, la 48 de ore după administrarea i.m. a soluției de Coreine, CAT crește semnificativ față de mărșită de obicei crescută (11, 14, 16, 21) și mai rar scăzută (18). O valoare tori. În schimb la 20 de ore după administrarea i.p. a CCl_4 se constată o descreștere semnificativă a CAT. Totodată se poate observa că tratarea cu CCl_4 a animalelor care în prealabil au primit soluția de Coreine, împiedică creșterea CAT. Polarograma (dependentă de concentrația seromucoidului) prezintă, ca și în experiențele noastre anterioare (5, 6), în general modificări similare. Însă în cazul leziunii hepatice descreșterea polarogramei este mai moderată, iar în inflamație creșterea ei este mai marcată decât cea a CAT, fenomen ce se explică ușor prin faptul că α_1AT este numai un component (iar din punct de vedere cantitativ nu cel mai important) al fracțiunii heterogene de seromucoid.

Examenul histopatologic al ficatului arată leziuni caracteristice la lotul tratat cu CCl_4 : steatoza degenerativă de diferite intensități până la necroze celulare izolate și mai rar în microfocare, corpi acidofili și infiltrate rotundocelulare în lobuli și în spații Kiernan. La lotul tratat cu Coreine modificările sînt mult mai reduse, caracterizate prin creșterea celularității

Tabelul nr. 1

Nr. lotului	Tratare	Capacitatea antitripsinică a serului în m UI/ml	Polarograma în mm
1.	Martor (n = 7)	1248 ±129	34,6 ±1,55
2.	Coreîne i.m. 48h (n = 6) P	2090 ±107 < 0,001	89,2 ±2,68 < 0,001
3.	CCl ₄ i.p. 20h (n = 5) P	655 ±64 < 0,01	25,6 ±3,53 < 0,05
4.	Coreîne i.m. 48h + CCl ₄ i.p. 20h (n = 7) P	1259 ±67 > 0,9	38,9 ±4,12 > 0,3

ții intravasculare, hiperplazia celulelor Kupffer și prin microfocare rotundocelulare intralobulare. La tratamentul combinat modificările sînt aproximativ similare cu cele constatate în intoxicația cu CCl₄.

Rezultatele obținute pot fi discutate din mai multe puncte de vedere.

Constatarea că creșterea CAT în cursul unui proces inflamator poate fi oprită prin provocarea unei leziuni hepatice, aduce un nou argument în favoarea rolului major al ficatului în biosinteza α_1 AT, fără pretenția de a exclude și rolul altor țesuturi (20). După unii autori (15) biosinteza proteinelor plasmactice de fază acută (între ele și α_1 AT) ar avea loc la nivelul celulelor Kupffer și nu în hepatocite cum indică alte date experimentale (14).

Pe baza rezultatelor prezente nu putem trage concluzii în acest sens, menționăm totuși — în concordanță cu experiențele noastre anterioare (5, 6) — hiperplazia celulelor Kupffer, observată în inflamație.

Scăderea CAT în urma leziunii hepatice experimentale are însă și o altă semnificație. Majoritatea lucrărilor referitoare la valoarea clinică a determinării α_1 AT din ser a studiat urmările unui deficit congenital al acestei antienzime. Mult mai puține sînt lucrările care s-au ocupat cu deficitul cîștigat în urma unei îmbolnăviri. Este adevărat că și numărul bolilor în care concentrația α_1 AT ar fi scăzută este redus. Pînă acum practic s-au obținut valori de α_1 AT scăzute numai în nefroză (prin filtrare renală) și în unele hepatopatii (22). Dar în acestea din urmă, după cum s-a văzut, rezultatele sînt contradictorii.

Datele noastre atrag atenția că în leziunile toxice ale ficatului se poate aștepta o scădere a activității α_1 AT.

Valoarea în practica clinică a acestei constatări, precum și consecințele unui deficit cîștigat și temporar a α_1 AT sînt probleme care ne indică unele direcții privind cercetările noastre în viitor.

Bibliografie

1. Anastasatu C., Păunescu E., Morgenstern H., Burnea D., Mușățeanu R.: *Medicina internă* (1977), 29, 129; 2. Barbu Z., Szabó S., Barbu E., Szabó A., Lakatos L.: Sesiunea științifică anuală de valorificare a cercetării științifice. Centrul de cercetări medicale, Tirgu Mureș, 1977. Rezumatele comunicărilor, 14; 3. Berg N. O., Eriksson S.: *New Engl. J. Med.* (1972), 287, 1264; 4. Brunt P. W.: *Gut.* (1974), 15, 573; 5. Bukaresti L.: Cercetări privind rolul ficatului în biosinteza glicoproteinelor serice acidosolubile. Teză de doctorat, București, 1972; 6. Bukaresti L., Făgărășan M., Sikó G., Nagy I., Kovács A., Almási S.: *Revista medicală* (1978), 24, 51; 7. Burke J. A., Kiesel J. L.: *Am. J. Dis. Child.* (1976), 130, 621; 8. Campra J., Ashcavai M., Peters R., Redeker A.: *Brit. Med. J.* (1973), 2, 616, cit. 14; 9. Endre L.: *Orvosképzés* (1975), 50, 307; 10. Eriksson S.: *Acta Med. Scand.* (1964), 175, 197; 11. Fehér J., Jakab L., Lengyel G., Romics L.: *Orv. Hetilap* (1977), 118, 2579; 12. Fritz H., Trautschold I., Werle E.: *Methoden der enzymatischen Analyse* vol. II sub red. Bergmeyer H.U. Acad. Verlag, Berlin, 1970, 1021; 13. Karitzky D., Lasch R., Goedde H. W., Witt I., Boehm N., Beckmann R., Jobke A., Künzer W.: *Dtsch. Med. Wschr.* (1978), 103, 161; 14. Laurell C. B., Jeppson J. O.: *The plasma proteins* vol. I, sub red. Putnam F. W. Acad. Press N. Y. 1975, 229; 15. Mehta N. G.: *Medical Hypotheses* (1977) 3, 63; 16. Miesch F., Bieth J., Metais P.: *Clin. Chim. Acta* (1971), 31, 231; 17. Sharp H. L., Bridges R. A., Krivit W., Freier E. F.: *J. Lab. Clin. Med.* (1969), 73, 934; 18. Störiko K.: *Blut.* (1968), 16, 200; 19. Streuli R., Grob P. J.: *Dtsch. Med. Wschr.* (1977), 102, 398; 20. Szabó S., Barbu Z., Lakatos L., László I., Szabó A.: Sesiunea științifică anuală de valorificare a cercetării științifice. Centrul de cercetări medicale, Tirgu Mureș, 1978. Rezumatele comunicărilor, 83; 21. Szczeklik A., Stachura J., Szczudrava J., Sowa J., Woznye E., Bogdal J., Pietun R.: *Pol. Tyg. lek.* (1977), 32, 1033; 22. Șerban M., Vlădescu C.: *Medicina internă* (1976), 28, 11.

Sosit la redacție: 15 ianuarie 1980

L. Bukaresti, Maria Făgărășan, Gabriela Sikó, Ileana Nagy, Stela Roșca, Angela Szövérfy, A. Kovács

MODIFICATION ON ANTITRYPSIN CAPACITY OF THE SERUM IN EXPERIMENTAL HEPATIC INFLAMMATION AND LESION

The authors have determined the capacity of antitrypsin of the serum (CAT), using N-benzoyl-arginine-p-nitranilide. In male guinea pigs treated with Coreïne (i.m. 0.2 ml 2% solution) 100 g body weight), 48 hours before sacrificing them, CAT increased significantly. In the animals treated with CCl_4 (i.p. 0.18 ml/100 g body

weight CCl_4 : paraffin-oil 1 : 2), 20 hours before sacrificing them, CAT decreased markedly. The administration of CCl_4 to the guinea pigs previously treated with Coreïne showed an average value which practically was the same as that of the controls. The concentration of seromucoid according to the polarogram of the serum filtrate indicates a marked increase when treated with Coreïne, a moderate decrease — although statistically significant — in CCl_4 administration and a value about the normal in combined treatment. The histopathological picture of the liver shows characteristic modifications in CCl_4 intoxication. The group treated with Coreïne presented much more reduced modifications characterized by the increase of intravascular cellularity, hyperplasia of the Kupffer cells and intralubular round-cell microfoci. In combined therapy the modifications are approximately similar to those seen in CCl_4 intoxication. The primordial role of the liver in the biosynthesis of certain glycoproteins is discussed.
