

Disciplina de biochimie (cond.: conf. dr. L. Bukaresti, doctor în chimie) a I.M.F. și Clinica de Anestezie și Terapie Intensivă (cond.: dr. M. Chiorean, medic primar, doctor în medicină) din Tîrgu-Mureș

STUDIU ASUPRA RELAȚIEI DINTRE EFECTUL ANTIHEPARINIC ȘI HIPERGLICOPROTEINEMIE LA BOLNAVI HEPARINIZAȚI*)

L. Bukaresti, M. Chiorean, Eugenia Goina, Șt. Hobai, Maria Făgărășan, Gabriela Sikó, Ileana Csiki, A. Kovács

În cursul experiențelor noastre anterioare, începute în anul 1980, am constatat că în hiperglicoproteinemia experimentală, provocată printr-un proces inflamator, se manifestă un efect antiheparinic pronunțat. Astfel, timpul de trombină se scurtează, heparinemia măsurată pe baza

*) Lucrare prezentată la Simpozionul „Factori biochimici de risc în patologie”, U.S.S.M., Filiala București, Secția de biochimie, 11 mai 1985.

efectului antitrombinic descrește și rămâne la o valoare scăzută chiar și la administrarea heparinei (1, 2, 3). Aceste rezultate, obținute in vivo la animale de experiență, au fost în concordanță cu datele lui *Andersen* și *Godal* din 1977 (4) după care alfa₁-glicoproteina acidă (alfa₁-GPA) izolată are, in vitro, un efect antiheparinic marcat.

Intr-o lucrare următoare am urmărit efectul antiheparinic pe un material clinic, la bolnavi neheparinizați, în cazul unor boli în care apare frecvent hiperglicoproteinemia. Am constatat că în cazul bolnavilor cu hiperglicoproteinemie, toleranța la heparină crește iar în cazul celor cu hipoglicoproteinemie descrește față de valorile obținute la bolnavi cu glicoproteinemie normală (5).

În continuarea cercetărilor noastre ne-am propus urmărirea efectului antiheparinic tot pe un material clinic, dar de data aceasta și la bolnavi heparinizați.

Material și metodă

Determinările au fost efectuate pe 101 bolnavi internați la Clinica de Anestezie și Terapie Intensivă. Întrucât în cadrul acestei lucrări — încă în scopuri orientative — ne-am propus urmărirea efectului antiheparinic numai în funcție de valoarea glicoproteinemiei, bolnavii au fost împărțiți indiferent de natura bolii, în trei subgrupe: neheparinizați, heparinizați cu glicoproteinemie crescută (polarograma sub 100 mm) și heparinizați cu glicoproteinemie excesiv crescută. Cei heparinizați au primit heparina în perfuzie timp de câteva zile înaintea recoltării sângelui în doze care în medie nu diferă de la o grupă la alta (544 respectiv 465 U.I. pe 1 oră).

Bolnavii au suferit de următoarele maladii:

Neheparinizați:

Politraumatism	5 bolnavi
Intoxicații	5 „
Ulcer gastric sau duodenal	4 „
Tumoare cu diferite localizări	4 „
Stare după operație sau fractură	4 „
Pancreatită	3 „
Insuficiență renală	3 „
Atac cerebral	3 „
Anemie	2 „
Diabet zaharat	2 „
Empiem pulmonar	2 „
Pielonefrită, bronhopneumonie, ateroscleroză, hematom intracerebral, pneumotorace spontan, hepatită cronică, ciroză, tromboflebită, peritonită, emfizem pulmonar câte 1 bolnav	10 bolnavi
	47 bolnavi

Heparinizați cu polarograma sub 100 mm:

Stare după operație	6 bolnavi
Stare septică	4 „
Pancreatită	4 „
Ulcer gastric sau duodenal	2 „
Politraumatism	2 „
Edem pulmonar, tromboză, hematom epidural, apendicită, stenoză esofagiană, insuficiență renală, leucemie, abdomen acut, peritonită cite 1 bolnav	9 bolnavi
	27 bolnavi

Heparinizați cu hiperglicoproteinemie excesivă:

Peritonită	4 bolnavi
Pancreatită	4 „
Stare după operație sau fractură	3 „
Tumoare cu diferite localizări	3 „
Ulcer gastric sau duodenal	2 „
Poliradiculonevrită	2 „
Insuficiență renală	2 „
Abdomen acut	2 „
Stare toxico-septică	2 „
Apendicită, pneumonie, insuficiență respiratorie cite 1 bolnav	3 „
	27 bolnavi

Concentrația glicoproteinelor acidosolubile totale a fost estimată pe baza polarogramei filtratului obținut prin tratarea serului cu acid percloric (6). Din seromuroid (obținut prin precipitarea cu acid fosfowolframic a filtratului de ser tratat cu acid percloric) s-au determinat hexozele (7) și acidul sialic (8) din aceste glicoproteine. Totodată a fost dozat și acidul sialic total din ser (9).

Heparinemia a fost determinată pe baza reacției metacromatice pe care heparina o dă cu albastrul de toluidină (10). Metoda a fost modificată cu dublarea sensibilității.

Toleranța la heparină s-a determinat prin metoda obișnuită, amestecându-se 0,5 ml sînge citratat (1 parte de soluție de citrat de sodiu 3,8% și 4 părți sînge) preîncălzit la 37°C cu 0,5 ml soluție de heparină 0,2 u/ml, la fel, preîncălzită (11).

Fibrinogenul s-a determinat prin metoda colorimetrică Ratnoff și colab. (12), iar calciul total printr-o micrometodă (13), adaptată la titrare colorimetrică automată.

Capacitatea antitripsinică (CAT) a serului a fost determinată după metoda descrisă de Fritz și colab. (14) (folosind ca substrat N-benzoil-arginin-p-nitranilidă: BAPNA, CAT se datorește în 90—95% alfa₁-antitripsinei: alfa₁-AT).

Prelucrarea statistică s-a efectuat după metoda t Student.

Rezultate și discuții

Rezultatele obținute sînt cuprinse în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Subgrupe de bolnavi	Glico-proteine acidol. (Polarograma mm)	Hexoze din seromucoid (mg/100 ml)	Ac. sialic din seromucoid (mg/100 ml)	Ac. sialic total (mg/100 ml)	Heparina ($\mu\text{g/ml}$)	Toleranța la heparină (timpul de coag. în cursul testului (sec))	Fibrinogen (mg/100 ml)	Calciu total (mg/100 ml)	CAT (mUI/ml)
1. NEHEPARINIZAȚI (n = 47)	81 \pm 4,6	54,2 \pm 5,6	12 \pm 0,76	71 \pm 1,18	2,02 \pm 0,33	402 \pm 69	303	8,1	1214
2. HEPARINIZAȚI CU HIPERGLICO-PROTEINEMIE (POL < 100) (n = 27)	68 \pm 3,8 P > 0,05	47,8 \pm 5,2 > 0,4	15,1 \pm 1,47 < 0,05	76 \pm 4,21 > 0,1	3,38 \pm 0,52 < 0,05	421 \pm 79 > 0,9	276	8,0	1190
3. HEPARINIZAȚI CU HIPERGLICOPRETEI-NEMIE EXCESIVĂ (POL \geq 100) (n = 27)	127 \pm 5,3 P < 0,001 P' < 0,001	62,3 \pm 10,4 > 0,4 > 0,2	22,6 \pm 1,21 < 0,001 < 0,001	84 \pm 4,53 < 0,01 > 0,2	1,90 \pm 0,21 > 0,3 < 0,01	311 \pm 29 > 0,2 > 0,1	375 < 0,05	7,8	1212

P = față de subgrupa 1; P' = față de subgrupa 2.

Din datele tabelului nr. 1 reiese că atât la subgrupa 1 (neheparinizați) cât și la subgrupa 2 glicoproteinemia este crescută: media polarogramelor lor este de 100% respectiv de aprox. 75% mai mare decât limita superioară a valorilor normale (40 mm). La subgrupa 3 însă hiperglicoproteinemia este excesivă: media polarogramelor întrece de peste 3 ori limita superioară a valorilor normale. Determinările privind conținutul în hexoze respectiv în acid sialic al glicoproteinelor acidosolubile arată modificări în general asemănătoare.

Modificările concentrației acidului sialic total din aer — conform așteptărilor — nu sînt semnificative.

Heparinemia prezintă o creștere semnificativă (peste 67%) în subgrupa 2, dar practic nu se modifică în subgrupa 3 (chiar descrește puțin), unde hiperglicoproteinemia a fost excesivă. Cît privește modificările toleranței la heparină ele nu sînt statistic semnificative, dar direcțiile schimbărilor sînt în concordanță cu cele constatate la heparinemie, ea descrește în subgrupa 2 și chiar crește în subgrupa 3 față de neheparinizați. Menționăm că aceste modificări nu pot fi datorate faptului că în subgrupa 2 doza de heparină a fost de aprox. 17% mai mare decît în subgrupa 3, fiindcă modificările heparinemiei și toleranței la heparină au fost în subgrupa 3 față de subgrupa 2 de peste 77%, respectiv de peste 35%.

Prin urmare în cazul creșterii excesive a concentrației glicoproteinelor serice se manifestă un efect antiheparinic. Dacă, pe baza experiențelor noastre anterioare (1, 2, 3) schimbările constatate la toleranța la heparină au fost așteptate, modificările observate la heparinemia dozată pe cale chimică, au fost la prima vedere surprinzătoare.

Intrucît glicoproteinele nu pot să aibă o acțiune distrugătoare asupra heparinei, efectul antiheparinic — care s-a manifestat în experiențele noastre anterioare în împiedicarea heparinei în exercitarea efectului antitrombinic — se poate explica prin datele lui Andersen și Godal (15), după care aflai-GPA ar exercita acest efect antiheparinic printr-un mecanism steric.

Pornind de la aceste date poate fi explicată și scăderea heparinemiei — determinată pe cale chimică — în cazul unei hiperglicoproteinemii excesive: glicoproteinele tot printr-un mecanism steric ar împiedica reacția metacromatică a heparinei.

La ceilalți parametri urmăriți, modificări care ar aduce explicații din plus nu s-au constatat.

Fibrinogenemia a fost, cum era de așteptat, ridicată la toate cele trei subgrupe, creșterea concentrației acestei proteine în procese cu caracter inflamator este un fapt cunoscut clinic. Diferențele între valorile obținute la cele 3 subgrupe sînt mult mai mici decît cele constatate la glicoproteinemie.

Calcemia a fost scăzută în cele 3 subgrupe, fără diferențe semnificative între valori.

Valoarea CAT a fost crescută la toate subgrupele fără nici o diferență însă între aceste valori. Această constatare este în concordanță cu rezultatele noastre anterioare (3), cînd am observat că o creștere marcată a CAT sub influența heparinei nu are loc dacă concomitent este provocată și o inflamație experimentală. Alfa₁-AT de care depinde în pri-

mul rînd CAT în condițiile noastre de experiență, este pe de o parte un inhibitor al plasminei (16), pe de altă parte are o activitate antitrombinică (17).

Din datele de mai sus a reieșit clar că presupusul efect antiheparinic al glicoproteinelor, în cursul unei heparinizări masive se manifestă semnificativ numai în cazul unei hiperglicoproteinemii excesve.

Desigur, în cazul unui proces atît de complex cum este coagularea singelui, orice interpretare simplistă este foarte riscantă, cu atît mai mult încît bolnavii noștri s-au aflat sub un tratament medicamentos foarte bogat și variat. De asemenea se poate presupune că o hiperglicoproteinemie excesivă nu este cauza efectului constatat ci numai un parametru coexistent al cauzei adevărate (cauza legată de gravitatea procesului morbid).

Cu toate aceste posibilități un lucru se poate totuși afirma: rezultatele noastre prezentate precum și cele anterioare (1, 2, 3, 5) obținute in vivo sînt în concordanță cu cele in vitro ale lui *Andersen* și colab. (4, 18, 19).

Este adevărat că experiențele acestor autori au fost efectuate cu alfa₁-GPA izolată și purificată iar noi am determinat glicoproteinele acidosolubile totale. Dar este bine cunoscut faptul: că alfa₁-GPA este componentul major al acestor glicoproteine (aprox. 80%).

Pornind de la datele orientative obținute, ne propunem continuarea cercetărilor pentru a studia motivul, de la caz la caz, a apariției sau lipsei efectului antiheparinic în hiperglicoproteinemie, în vederea argumentării unor modificări în tratamentul cu heparină.

Bibliografie

1. *Bukaresti L.* și colab.: Sesiunea științifică anuală de valorificare a cercetării medicale, Tîrgu-Mureș (1981), 7, 173; 2. *Bukaresti L.* și colab.: *Ibidem* (1982), 8, 156; 3. *Bukaresti L.* și colab.: *Revista medicală* (1983, 29, 49; 4. *Andersen P., Godal H. C.*: *Hemostasis* (1977), 6, 339; 5. *Bukaresti L.* și colab.: Sesiunea științifică anuală de valorificare a cercetării medicale, Tîrgu-Mureș, 1983; 6. *Bukaresti L.* și colab.: *Revista medicală* (1981), 27, 81; 7. *Weimer H. E., Moshin J. R.*: *Am. Rev. Tuberc.* (1952), 68, 594; 8. *Aminoff D.*: *Biochem. J.* (1961), 81, 394; 9. *Winzler R. J.*: in *Methods of Biochemical Analysis*. vol. II, red. *Glick D.*, Interscience Publ. Inc., New York, 1955, 298; 10. *Jaques L. B., Bell H. J.*: in *Methods of Biochemical Analysis*. vol. VII, red. *Glick D.*, Interscience Publ. Ltd., London, 1959, 253; 11. *Manta I., Cucuianu M., Benga G., Hodárnău A.*: *Metode biochimice în laboratorul clinic*. Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976, 348; 12. *Ratnoff O. D., Manzie C. J., Astrup T.*: *J. Clin. Lab. Invest.* (1965), 17, 57; 13. *Siegmund P., Dulce H.*: *Z. Physiol. Chem.* (1960), 320, 149; 14. *Fritz H., Trautschold J., Werle E.*: *Methoden der enzymatischen Analyse*. vol. II, red. *Bergmeyer H. V.*, Akad. Verlag, Berlin, 1970, 1021; 15. *Andersen P., Godal H. C.*: *Thromb. Res.* (1979), 15, 857; 16. *Bagdy D.*: *A véralvadás orvosi biokémiája*. Ed. II, Medicina, Budapest, 1980, 108; 17. *Lebreton De Vonne T., Mouray H.*: *Int. J. Biochem.* (1980), 12, 479; 18. *Anderson P.*: *Hæmostasis* (1980), 9, 303; 19. *Anderson P., Kierulf P., Elde A. T., Godal H. C.*: *Thromb. Res.* (1980), 19, 401.

L. Bukaresti, M. Chiorean, Eugenia Goina, Șt. Hobai, Maria Făgărășan, Gabriela Sikó, Ileana Csiki, A. Kovács

STUDY ON THE RELATIONSHIP BETWEEN THE ANTIHEPARIN EFFECT AND HYPERGLYCOPROTEINAEMIA IN PATIENTS TREATED WITH HEPARIN

The patients, most of them suffering from diseases with inflammatory character or from malignant proliferation, were divided in three groups: untreated with heparin (I), treated with heparin, having increased glycoproteinaemia (II) and treated with heparin, having excessively increased glycoproteinaemia (III).

The authors have determined the concentration of acid-soluble serum glycoproteins, their hexose and sialic acid contents, the concentration of total sialic acid in the serum, that of total serum calcium, of fibrinogen and heparin in the plasma, the tolerance to heparin, as well as the antitrypsin capacity of the serum.

It has been pointed out that heparinaemia increases significantly in group II as compared with the group of patients untreated with heparin, and it remains practically unchanged in group III. The tolerance to heparin actually shows the same tendency of modifications. Fibrinogenaemia, increased in all three groups, indicates the highest value in group III. Calcaemia is lower, and the antitrypsin capacity of the serum is higher than the normal values, without showing, however, any differences between the groups.
