

Disciplina de biochimie (cond.: conf. dr. L. Bukaresti a I.M.F. și Clinica de Anestezie și Terapie Intensivă (cond.: dr. M. Chiorean, medic primar) din Tirgu-Mures.

### STUDIUL EFECTULUI HEPARINIZĂRII ASUPRA CAPACITĂȚII ANTITRIPSINICE SERICE ÎN HIPERGLICOPROTEINEMIE

L. Bukaresti, A. László, Șt. V. Hobai, Maria Olariu, M. Chiorean

În cursul cercetărilor noastre anterioare (1,2,3) am constatat că în hiperglicoproteinemie experimentală precum și în diferite boli cu hiperglicoproteinemie (HGP) se manifestă un efect antiheparinic chiar și în urma heparinizării. Aceste rezultate au fost în concordanță cu cele ale lui Andersen și Godal (4) conform cărora alfa<sub>1</sub>-glicoproteina acidă (alfa<sub>1</sub>-GPA) izolată are *in vitro* un efect antiheparinic.

Am studiat între altele și modificările capacității antitripsinice (CAT) serice în condițiile sus-amintite. Valorile CAT, determinate prin metoda folosită, se datoresc în proporție de 90—95% alfa<sub>1</sub>-antitripsinei (alfa<sub>1</sub>-AT), antienzima cu efect în hemostază.

Lucrarea de față prezintă o sinteză a rezultatelor obținute de-a lungul anilor, privind modificările CAT.

#### Material și metodă

#### Hiperglicoproteinemie experimentală

Experiențele au fost efectuate pe cobai masculi de greutate 500—700 g, repartizați în următoarele loturi:

*Lotul nr. 1* (8 animale) care a servit drept martor a primit i. card. 0,14 ml NaCl 0,9%<sub>0</sub>/100 g corp cu 15 min. înainte de sacrificare. *Lotului nr. 2* (9 animale) în vederea provocării HGP prin inflamație, i s-a administrat i.m. 0,2ml/100 g corp soluție de 2 % de Coreine (preparat farmaceutic ce conține carrageenin), cu 46 ore înainte de sacrificare. Totodată și acest lot a primit, cu 15 min. înaintea sacrificării, 0,14 ml NaCl 0,9%<sub>0</sub>/100 g corp i. card. *Lotul nr. 3* (8 animale) a fost tratat i. card., tot cu 15 min. înainte de sacrificare cu 7 U.I. heparină/100 g corp (sol. de heparină a fost diluată cu NaCl 0,9%<sub>0</sub> în așa fel, încît 0,14 ml din amestec a conținut 7 U.I. heparină). *Lotul nr. 4* (8 animale) a fost tratat combinat, a primit atit Coreine cit și heparină, după modul descris la lotul nr. 2 și 3.

Sîngele pentru plasmă (1 parte de soluție de citrat de sodiu 3,8 %<sub>0</sub> și 4 părți sînge) a fost obținut prin puncția cardiacă, iar pentru ser prin sîngerare.

#### Materialul clinic

Determinările au fost efectuate pe 116 bolnavi internați la Clinica de Anestezie și Terapie Intensivă.

Intrucit în cadrul acestei lucrări ne-am propus numai urmărirea efectului HGP, bolnavii au fost repartizați indiferent de natura bolii în trei subgrupe: neheparinizați, heparinizați cu glicoproteinemie crescută (polarograma sub 100 mm) și heparinizați cu glicoproteinemie excesiv crescută. Bolnavii heparinizați au primit heparina în perfuzie timp de câteva zile înaintea recoltării singelui în doze care în medie nu diferă practic de la o grupă la alta (550 respectiv 464 U.I. pe oră). Bolnavii au suferit de următoarele boli: politraumatism, intoxicații, ulcer, tumoare, stare după operație, pancreatită, insuficiență renală, atac cerebral, anemie, diabet zaharat, empiem pulmonar, pielonefrită, bronhopneumonie, ateroscleroză, hematom cerebral, hepatită cronică, ciroză, tromboflebită, peritonită, emfizem pulmonar, stare septică, edem pulmonar, tromboză, hematom epidural, apendicită, stenoză esofagiană, insuficiență renală, leucemie, abdomen acut, poliradiculonevrită.

Concentrația glicoproteinelor acidosolubile totale a fost estimată pe baza polarogramei filtratului obținut prin tratarea serului cu acid percloric (5). Totodată din seromuroid (obținut prin precipitarea cu acid fosfowolframic a filtratului de ser tratat cu acid percloric) s-a determinat acidul sialic (6) din aceste glicoproteine. Heparinemia a fost dozată în HGP experimentală după metoda Studer și Winterstein (7), ce se bazează pe activitatea antitrombinică, și rezultatele sînt exprimate în U.I. heparină/1 ml plasmă, pe baza unei curbe de etalonare.

În materialul clinic heparinemia a fost dozată pe baza reacției metacromatice pe care heparina o dă cu albastrul de toluidină (8). Metoda a fost modificată cu dublarea sensibilității.

Toleranța la heparină s-a determinat prin metoda obișnuită, amestecîndu-se 0,5 ml singe citratat preîncălzit la 37 °C cu 0,5 ml soluție de heparină 0,2 μg/ml, la fel, preîncălzită (9).

CAT a fost determinată după metoda descrisă de Fritz și colab. (10) folosind ca substrat n-benzoil-arginin-p-nitranilida (BAPNA).

#### Rezultate și discuții

Rezultatele obținute în HGP experimentală sînt cuprinse în tabelul nr. 1. Din datele tabelului reiese că în urma heparinizării (lotul nr. 3) CAT crește semnificativ față de valoarea obținută la lotul martor. Această creștere însă nu are loc dacă heparinizarea a fost efectuată la lotul nr. 4 la care în prealabil a fost provocată HGP.

Rezultatele materialului clinic (cuprinse în tabelul nr. 2) ne arată că heparinizarea, efectuată la bolnavii cu HGP (subgrupa nr. 2), respectiv cu HGP excesivă (subgrupa nr. 3) nu modifică valoarea CAT obținută la bolnavii neheparinizați (subgrupa nr. 1), avînd și ei HGP (valoarea normală în condițiile noastre de lucru, a polarogramei a fost cuprinsă între 20—40 mm, iar cea a CAT între 600—1100 m U.I./ml).

Datele de mai sus sînt în concordanță cu cele obținute în cursul cercetărilor noastre anterioare (1), după care în HGP se constată un efect antiheparinic. De altfel și în cursul cercetărilor prezente s-a constatat că heparinemia nu crește în urma heparinizării dacă concomitent există și HGP (în HGP experimentală tab. nr. 1) sau HGP excesivă (în materialul clinic tab. nr. 2). Toleranța la heparină, deși nu a prezentat schimbări semnificative, este în concordanță cu celelalte date.

Tabetul nr. 1

Lotul	Glicoproteine acidosolubile (Polarograma in mm)	Ac. sialic din seromuroid (mg/100 ml)	Heparina (U.I./ml)	Capacitatea antitripsinică serică (CAT) (m U.I./ml)
<b>Nr. 1</b> Martor (n=8)	45	2,6	0,15	1704
<b>Nr. 2</b> Inflamație experimentală (n=9)	106 P<0,001	4,6 <0,001	0,08	1880 >0,05
<b>Nr. 3</b> Tratat cu heparină (n=8)	47 P>0,8	3,2 <0,05	>0,48	2468 <0,001
<b>Nr. 4</b> Inflamație experimentală + Tratat cu heparină (n=8)	118 P<0,001 P'<0,05 P''<0,001	4,6 <0,001 <0,001	0,08	1716 >0,9 >0,1 <0,001

P=Față de lotul Nr. 1, P'=Față de lotul Nr. 2, P''=Față de lotul Nr. 3

Tabetul nr. 2

Subgrupa de bolnavi	Glicoproteine acidosolubile (Polarograma in mm)	Ac. sialic din seromuroid (mg/100 ml)	Heparina (μg/ml)	Toleranța la heparină (Timpul de coag. in cursul testului) (sec.)	Capacitatea antitripsinică serică (CAT) (m U.I./ml)
1. Neheparinizați (n=32)	82	12,3	2,05	393	1205
2. Heparinizați cu hiperglicoproteinemie (Pol. <100) (n=32)	67 P>0,05	14,7 <0,05	3,37 <0,05	398	1208
3. Heparinizați cu hiperglicoproteinemie excesivă (Pol. >100) (n=32)	125 P<0,001 P'<0,001	21,7 <0,001 <0,001	1,97 <0,01	298 >0,1 >0,1	1202

P=Față de subgrupa 1, P'=Față de subgrupa 2

Alfa<sub>1</sub>-AT, de care depinde in primul rind CAT in condițiile noastre de experiență, este pe de o parte un inhibitor al plasminei (11), pe de altă parte are o activitate antitrombinică (12), creșterea concentrației

alfa<sub>1</sub>-AT s-ar putea deci să fie unul dintre mecanismele de acțiune a heparinei.

Desigur, se poate presupune că HGP nu este cauza efectului constatat ci numai un parametru coexistent al cauzei adevărate (cauza legată de procesul morbid).

Totuși este de remarcat faptul că modificările constatate intervin în HGP, stare care poate să apară în multe afecțiuni, (boli cu caracter inflamator, distrucții tisulare sau de proliferare malignă).

#### Concluzii

1. În cursul cercetărilor experimentale s-a constatat că în urma heparinizării capacitatea antitripsinică (CAT) a serului crește semnificativ.

2. Acest fenomen nu are loc dacă heparinizarea a fost efectuată în hiperglicoproteinemie (HGP) provocată.

3. Comparând rezultatele obținute la un grup de bolnavi neheparinizați având HGP, cu cele ale altor două grupe de bolnavi heparinizați având HGP și respectiv HGP excesivă s-a constatat că nu sînt modificări semnificative între valorile CAT.

4. Rezultatele obținute confirmă cele constatate în cursul cercetărilor anterioare privind efectul antiheparinic al glicoproteinelor serice acidosolubile.

#### Bibliografie

1. Bukaresti L., Făgărășan Maria, Sikó Gabriela, Goina Eugenia, Hobai St., László A., Chiorean M.: St. cerc. biochim. (1987), 30, 150;
2. Bukaresti L., Chiorean M., Goina Eugenia, Hobai St., Făgărășan Maria, Sikó Gabriela, Csiki Ileana, Kovács A.: Revista medicală (1986), 32, 65;
3. Bukaresti L., Făgărășan Maria, Goina Eugenia, Sikó Gabriela, Hobai St., László A., Chiorean M.: Revista medicală (1987), 33, 170;
4. Andersen P., Godal H. C.: Hemostasis (1977), 6, 339;
5. Bukaresti L., Sikó Gabriela, Nagy Ileana, Erdélyi Ana, Hadnagy Cs., Módy E., Kovács A.: Revista medicală (1981), 27, 81;
6. Aminoff D.: Biochem. J. (1961), 81, 394;
7. Perlick E., Bergmann A.: Gerinnungslaboratorium in Klinik und Praxis. Thieme Verlag. Leipzig, 1971, 284;
8. Jaques L. B., Bell H. J.: in Methods of biochemical analysis vol. VII. red. Glick D. Interscience Publ. LTD. London, 1959, 253;
9. Manta I., Cucuianu M., Benga G., Hodârniu A.: Metode biochimice în laborator clinic. Ed. Dacia. Cluj-Napoca, 1976, 348;
10. Fritz H., Trautschold J., Werle E.: Methoden der enzymatischen Analyse vol. II. red. Bergmeyer H. V. Akad. Verlag. Berlin, 1970, 1021;
11. Bagdy D.: A vérárvadás orvosi biokémiája, Ed. II. Medicina, Budapest, 1980, 108;
12. Lebreton de Vonne T., Mouray H.: Int. J. Biochem. (1980), 12, 479.

L. Bukaresti, A. László, St. V. Hobai, Maria Olariu, M. Chiorean

#### STUDY ON THE EFFECT OF HEPARINIZATION UPON THE SERUM ANTITRYPSIN CAPACITY IN HYPERGLYCOPROTEINAEMIA

The investigations were carried out, on the one hand, in experimental hyperglycoproteinaemia (provoked in guinea-pigs by an inflammatory process), and on

the other hand on a clinical material in various diseases with hyperglycoproteinaemia and excessive hyperglycoproteinaemia, respectively.

We have determined glycoproteinaemia estimated according to the polarogram of the serum filtrate deproteinized with  $\text{HClO}_4$ , sialic acid from these glycoproteins, heparinaemia, antitrypsin capacity of serum, and in patients heparin tolerance, too.

During the experimental resoorches we found that due to heparinization the antitrypsin capacity (ATC) of the serum significantly increased. This phenomenon did not occur if heparinization was made in provoked hyperglycoproteinaemia (HGP).

Comparing the findings in a group of non-heparinized patients having HGP with those of two other groups of heparinized patients with HGP and excessive HGP, respectively, it was found that there were no significant modifications between ATC values.

The results confirm the findings of previous investigations concerning the antiheparinic effect of acidosoluble serum glycoproteins.

---