

# STUDIUL COMPARATIV AL REACȚIEI LUI MALLÉN ȘI AL METODEI POLAROGRAFICE ÎN HEPATITA EPIDEMICĂ\*

László Bukaresti, Medard Kerekes, László Kasza

În lucrările noastre anterioare am relatat marea valoare a metodei polarografice atât în diagnosticul hepatitei epidemice cât și în diferențierea icterelor hepatocelulare și mecanice (2, 4).

Lucrarea de față are drept scop controlul acestei metode prin compararea ei cu o reacție de precipitare. Trasarea unui asemenea paralelism este cu atât mai justificată, cu cât ambele probe se bazează pe punerea în evidență a modificărilor intervenite în compoziția, respectiv structura proteinelor serice.

Am ales reacția lui Mallén deoarece pe de o parte se execută ușor, iar pe de altă parte se cunosc precis legăturile ei cu fracțiunile proteice (5, 6).

Înălțimea undei catalitice în serurile examinate am determinat-o prin metoda lui Brdicka (1) cu mici modificări: am adăugat 0,1 ml. hidroxid de potasiu 0,1 N la 0,4 ml ser proaspăt, amestecul l-am lăsat timp de 45 minute la temperatura camerei, iar după aceasta am precipitat proteinele, adăugând 1 ml dintr-o soluție de acid sulfosalicilic 20%. După 10 minute s-a executat filtrarea. Am adăugat 0,25 ml filtrat la 5 ml sol. de bază ( $\text{CoCl}_2$  0,001 M,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,1 N,  $\text{NH}_3$  N) introdusă în vasul de electro-liză a polarografului, urmînd ca să se înregistreze polarograma în atmosfera de hidrogen și cu sensibilitatea galvanometrului de 1/150. La evaluare am luat în considerare distanța exprimată în milimetri dintre unda de cobalt și a doua undă catalitică.

Potrivit experiențelor noastre anterioare — în condiții identice — această distanță a fost în icterele hepatocelulare de cele mai multe ori sub 30 mm. Înălțimea polarogramei la persoanele sănătoase variază între 31—45 mm, iar în icterele mecanice am găsit valori normale sau mai ridicate. Am obținut valori mai ridicate și în alte îmbolnăviri, în primul rînd în cancer și în diferite procese inflamatorii.

Paralel am executat și reacția lui Mallén, pe lamă adăugînd o picătură de reactiv Mallén (soluție Lugol de concentrație dublă) la o picătură de ser. Amestecînd lichidele prin mișcarea lamei, am citit rezultatul după 5 minute, notînd cu cruce gradul de precipitare sau tulburare.

Baza experiențelor noastre o constituie cele 92 de determinări paralele, efectuate cu serul a 59 bolnavi de hepatită epidemică, sau suspecti de această boală. La unii bolnavi am făcut mai multe determinări la intervale de 1—2 săptămîni. Diagnosticul definitiv a arătat că dintre cei 59 de bolnavi, 49 au suferit de hepatită epidemică, iar 10 de alte afecțiuni hepatice. În afară de aceasta am executat drept control determinări paralele cu serul a 108 bolnavi suferînd de alte afecțiuni.

Tabelul Nr. 1 cuprinde înălțimea undelor catalitice, rezultatul reacției lui Mallén, precum și raportul existent între ele la bolnavii suferînd în mod cert de hepatită epidemică. Tabelul conține numai datele acelor bolnavi la care sînt excluse alte afecțiuni ce ar fi putut influența înălțimea undei catalitice.

\* ) Studiu redactat pe baza comunicării prezentate la ședința din 23 mai 1956 a Societății Științelor Medicale, filiala Tg. Mureș.

Tabelul Nr. 1.

Mallén						
+++						
++						
+						
O					Înălțimea undelor.	
	10	20	30	40	50	mm

Din tabel reiese că înălțimea undelor în hepatita epidemică se află aproape exclusiv între 10 și 30 mm, pe când reacția lui Mallén arată aproximativ în mod egal cele 4 valori posibile.

La bolnavii de hepatită epidemică înălțimea undelor a fost sub 31 mm în 92,45% a cazurilor, iar reacția lui Mallén a fost pozitivă numai în 73,58%.

Din datele tabelului rezultă de asemenea că între rezultatul Mallén și înălțimea unei polarografice nu există, o corelație strinsă. O undă mică atât de caracteristică pentru hepatită epidemică poate fi însoțită de o reacție Mallén atât pozitivă, cât și negativă.

La asemenea concluzii duc și experiențele noastre efectuate pe un material de control îmbrățișând cele mai felurite maladii; în cazul undelor mai înalte decât cele normale, reacția lui Mallén poate fi pozitivă sau negativă.

Reacția lui Mallén poate fi negativă și atunci când leziunea parenchimului hepatic este incontestabilă și ca urmare nu reflectă în mod fidel starea bolnavului, precum reiese din datele tab. Nr. 2.

Tabelul Nr. 2.

Numele	Diagnostic	Mallén	Polarograma mm
F. J. 27 a. b.	Hepatitis epid.	—	17
F. P. 43 a. f.	" "	—	21
H. V. 37 a. f.	" "	—	14
P. J. 56 a. b.	" "	— +	13
H D. 30 a. b.	" "	—	18
A. V. 23 a. f.	" "	— +	14

Cu toate că la bolnavii care figurează în tabel, determinările au fost făcute în punctul culminant al maladiei, reacția lui Mallén a fost totuși negativă, în timp ce comportarea unei polarografice a reflectat în mod precis starea actuală.

Polarograma ne dă un aspect mai fidel decît reacția lui Mallén și în perioada de convalescență. Chiar dacă reacția lui Mallén a fost pozitivă în faza activă a maladiei ea poate deveni totuși negativă, încă înaintea vindecării definitive. Valoarea subnormală a undei catalitice ne impune însă să fim precauți și ne atrage atenția asupra faptului că parenchimul hepatic nu s-a regenerat complet.

Exemplificăm cele afirmate prin cazul următor: bolnava B. V. suferă de hepatită epidemică gravă cu formă trenantă;

La 15 dec. Mallén ++, unda catalitică 18 mm.

La 19 ian. Mallén —, unda catalitică 23 mm.

La 26 ian. Mallén —, unda catalitică 22 mm.

La ultimele două analize reacția lui Mallén este negativă iar polarograma indică — în concordanță cu aspectul clinic — leziunea hepatică existentă.

În ceea ce privește valoarea metodei polarografice în diagnosticul diferențial, cercetările noastre aduc o nouă dovadă în favoarea acesteia față de probele de precipitare și floculare. Reacția lui Mallén întocmai ca și celelalte probe de precipitare, nu este specifică pentru hepatită epidemică, respectiv pentru afecțiuni hepatocelulare, ea putînd fi negativă în această boală și pozitivă în icterul mecanic, precum și într-o serie de alte afecțiuni. În schimb unda polarografică nu scade sub nivelul normal decît în icterele parenchimotoase, fiind deci hotărîtoare în cazurile dubioase. Prezentăm două din cazurile noastre (Tab. Nr. 3).

Tabelul Nr. 3.

Data	Numele	Diagnostic	Mallén	Polarograma mm
3. XI.	T. I. f.	Echinococcus hepatis	+ + +	58
10. XI.	„	„	+ + +	59
17. XI.	„	„	+ + +	59
8. XII.	I. S. bărbat	Choledocolithiasis	+ +	46
15. XII.	„	„	+ +	50

Trebuie să acceptăm în principiu afirmația lui Fischer (3) după care afecțiunile hepatice nu se pot diferenția cu ajutorul reacțiilor biochimice, deoarece obstrucția căilor biliare caracteristică pentru icterul mecanic poate să apară — în mod intrahepatic — și în icterul hepatocelular, deci și în hepatită, iar pe de altă parte în ambele grupe întîlnim leziunea secundară sau primară a parenchimului hepatic.

În acest sens, la fel ca și celelalte reacții biochimice și așa cum reiese din rezultatele noastre, nici reacția lui Mallén nu este potrivită pentru diferențierea celor două grupe principale ale afecțiunilor hepatice. Lucrările noastre anterioare dovedesc dimpotrivă că polarografia reprezintă o excepție, întrucît înălțimea undei scade numai în afecțiunile hepatice cu leziuni parenchimotoase primare, fiind normală sau ridicată în celelalte cazuri.

Faptul că reacția lui Mallén se poate întrebuița numai într-un domeniu restrîns, se explică ușor, cunoscute fiind relațiile care există între această reacție și fracțiunile proteice din ser. Creșterea fracțiunii gamaglobulinelor provoacă o reacție Mallén pozitivă. Aceasta se referă într-o măsură mai mică și la fracțiunea alfa globulinică. Betaglobulinele au dimpotrivă o acțiune compensatorie, deci diminuează pozitivitatea reacției. Intrucît în cursul hepatitei epidemice aceste fracțiuni se înmulțesc, dar raportul dintre cantitatea lor fiind diferit în unele stadii ale maladiei, este evident că putem obține o reacție Mallén negativă și în cazul unor afecțiuni hepatice serioase. În cazul unei polarografice nu întîlnim asemenea fluctuații: ea se menține în tot decursul bolii sub nivelul normal și pe lângă aceasta, se modifică paralel cu starea parenchimului hepatic.

Paralel cu experiențele noastre am determinat la 10 bolnavi fracțiunile proteice din ser prin metoda electroforetică.

Determinările au fost făcute cu ajutorul aparatului de electroforeză sistem Tiselius de la Catedra de chimie generală și biochimie, construit de Kovács Endre (7). Serurile au fost supuse dializei în săculețe de colodiu, timp de 48 de ore, față de un

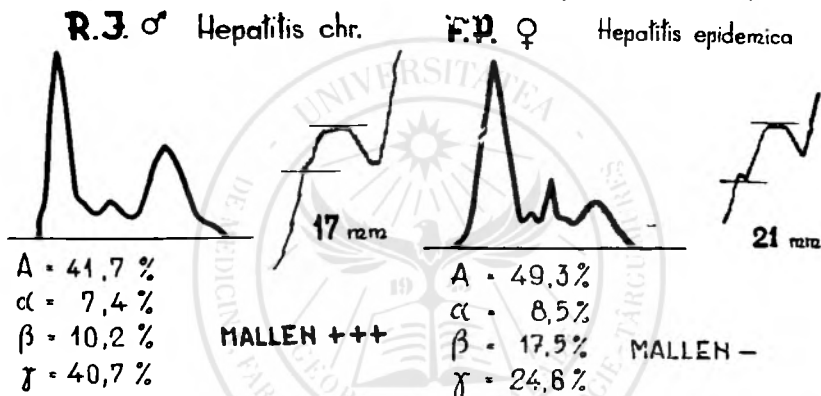


Fig. Nr. 1.

Fig. Nr. 2.

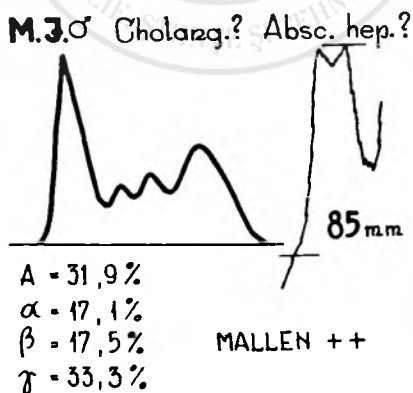


Fig. Nr. 3.

tampon Michaelis cu  $\text{pH}=8,6$  forța ionică  $\mu=0,07$ , schimbînd tamponul de 4—5 ori. După dializă am diluat serurile cu tampon pînă la o concentrație protidică de 1%, și am efectuat apoi electroforeza, tensiunea fiind de 200 V, intensitatea curentului de 6 mA, iar durata electroforezei de 60 de minute. Înregistrînd diagramele pe film Fluorapid, le-am evaluat planimetric.

Redăm 3 cazuri caracteristice pentru ilustrarea celor de mai sus (Fig. 1, 2, 3).

Cazul 1. Se constată o înmulțire a gamaglobulinelor în prezența unui nivel normal de alfa și betaglobuline. Ca urmare, reacția lui Mallén este intens pozitivă. Polarograma indică o leziune hepatică gravă. În schimb în cazul 2, creșterea gamaglobulinelor este mai moderată, fiind crescute și betaglobulinele. Diagrama electroforetică nu diferă mult de cea normală, aprecierea este nesigură. Reacția lui Mallén e negativă. Polarograma însă, în concordanță cu tabloul clinic, indică o leziune hepatică mediocră. Cazul 3 este pe baza diagramei electroforetice o disproteinemie gravă. Concentrația gamaglobulinelor este foarte ridicată, iar valorile alfa și betaglobulinelor depășesc și ele cu mult nivelul normal. Pe baza diagramei s-ar putea suspecta o hepatită epidemică, la fel ca și pe baza reacției Mallén, care din cauza efectului compensatoric al betaglobulinelor arată două cruci, în ciuda faptului că fracțiunea gama e foarte ridicată. Unda polarografică înaltă exclude însă cu toată certitudinea hepatita epidemică.

În literatură se găsesc unele date în legătură cu relația existentă între activitatea polarografică a serului și cantitatea fracțiunilor proteice din ser. După Winzler, Weimer și Mehl (12) precum și după Müller (10) activitatea polarografică este legată în cea mai mare parte de fracțiunea alfa globulinică, în mai mică măsură de cea betaglobulinică (10). În schimb Kovács și colab. (8) nu au găsit relații mai strînse între înălțimea undei catalitice și diferitele fracțiuni. Observațiile noastre par să indice și ele că înălțimea undei polarografice a filtratului de ser deproteinizat în hepatită epidemică este cu totul independentă de cantitatea relativă a fracțiunilor proteice.

Actualmente nu cunoaștem încă în mod amănunțit mecanismul formării undei catalitice.

După cercetările lui Brdicka (1) în formarea undei catalitice rolul principal îl joacă aminoacizii care conțin sulf, prin funcțiile lor sulfhidrilice sau disulfidice.

Înălțimea undei catalitice este însă influențată și de alți factori. După Sladek și Lipschütz (11) înălțimea undei a doua este diminuată de arginină, histidină, triptofan și fenilalanină. Zbarschii și Elpiner (13) au comunicat că sub influența lizinei, argininei și valinei, înălțimea ambelor unde catalitice scade. Studiind compoziția și activitatea polarografică a diferitelor proteine, Ledvina (9) ajunge la concluzia că activitatea polarografică este rezultatul unei combinații foarte complicate a grupărilor funcționale și că grupările sulfhidrilice sau disulfidice din molecula proteinei influențează înălțimea undei, constituind elementele componente ale combinațiilor structurale amintite.

Pe baza celor expuse sîntem de părere că unda catalitică caracteristic scăzută în afecțiunile hepatice cu leziuni parenchimotoase primare, este în legătură cu unele modificări structurale specifice ale proteinelor, îndeosebi cu cele ale mucoproteinelor, solubile în acidul sulfosalicilic.

Sosit la redacție: 14 august 1958.

#### Bibliografie

1. BRDICKA R.: Research I. 1. 25. 1957; 2. BUKARESTI L., KASZA L., ZILL V., D. GROSS E., KOVACS A., CSIKI I., GAGYI E.: Prima sesiune științifică a I.M.F. Tg.-Mureș I. 66. 1955. — Revista Medicală II. 2. 16. 1956; 3. FISCHER A.: Orvosi Hetilap 94. 11. 282. 1953; 4. KASZA L., BUKARESTI L., HADNAGY CS.: Lucrările Conferinței de hepatită epidemică. I. 90. 1957. — Revista Medicală IV. 1. 28. 1958; 5. KERÉKES M., KOVACS E.: Comunicare prezentată la sesiunea din 21. III. 1956 a S.S.M., filiala Tg.-Mureș; 6. KERTESZ T., PALOCZY J., KERTESZ T-NÉ: Orvosi Hetilap 93. 30. 874. 1952; 7. KOVACS A.: Studii și cercetări științifice V. 1—2.

414. 1954; 8. KOVACS A., BUKARESTI L., MODY J., KEREKES M., ZILLMAN V., GAGYI E.: Comunicare prezentată la şedinţa din 17. III. 1954 a S.S.M., filiala Tg.-Mureş; 9. LEDVINA M.: Biochimia 21. 6. 08. 1956; 10. MÖLLER O. H. cit. LAMM GY.: Orvos; Hetilap 94. 52. 1443. 1953; 11. SLADEK S., LIPSCHÜTZ M.: cit.: Elpiner J. E. Uspehi sovr. biologii 2. 1947; 12. WINZLER R. J., WEIMER H. E., MEHL J. W.: cit. Lamm Gy. (10); 13. ZBARSCHI B. I., ELPINER I. E.: Arhiv patologii 3. 1949.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ПОМОЩИ РЕАКЦИИ МАЛЛЕНА И ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ПРИ ЭПИДЕМИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Л. Букарешти, М. Керекеш, Л. Каса

Продолжая свои предыдущие исследования, авторы определили по способу Брдика высоту каталитической волны сыворотки крови (безбелковой фракции) у 49 больных, страдавших эпидемическим гепатитом и у 10 больных, страдавших другими заболеваниями печени.

Параллельно производили реакцию Маллена. Для контроля служили 108 сывороток больных с разными заболеваниями.

Полярографический метод при диагностике эпидемического гепатита дает точные результаты, чем реакция Маллена.

Между степенью положительности реакции Маллена и высотой полярографической волны нет тесной связи. Полярограмма дает точнее картину и в периоде улучшения.

И эти наши исследования доказывают, что, с точки зрения, дифференциальной диагностики полярографический метод ценнее, чем пробы коллоидлабильности.

## ANALYSES COMPARATIVES EFFECTUÉES PAR LA RÉACTION MALLÉN ET LA MÉTHODE POLAROGRAPHIQUE DANS L'HÉPATITE ÉPIDÉMIQUE

L. Bukaresti, M. Kerekes, L. Kasza

En continuant leurs expériences antérieures, les auteurs ont déterminé du filtrat sérique déprotéinisé prélevé à 49 malades souffrant d'hépatite épidémique et à 10 malades souffrant d'autres affections hépatiques, la hauteur de vague cathalitique, par la méthode Brdicka. Parallèlement ils ont effectué aussi la réaction Mallén. En guise de controle on a utilisé le sérum de 108 personnes souffrant de diverses maladies.

Dans le diagnostic de l'hépatite épidémique, la méthode polarographique offre un point d'appui plus sûr que la réaction Mallén.

On ne peut établir une corrélation serrée entre le degré de positivité de la réaction Mallén d'une part, et la hauteur de vague polarographique d'autre part.

La méthode polarographique donne une image plus exacte que la réaction Mallén, même dans la phase améliorée de la maladie.

Les recherches effectuées par les auteurs prouvent que dans le diagnostic différentiel, la méthode polarographique est plus indiquée que les épreuves de floculation et coagulation.