

Academia R.P.R. Baza de cercetări științifice din Tîrgu-Mureș
(director: acad. D. Miskolczy), Catedra de fiziologie a I.M.F. din Tg.-Mureș
(cond.: conf. Șt. Szabó)

CERCETĂRI ASUPRA ENCEFALOPATIILOR EXPERIMENTALE XV. STUDIUL ELECTROFORETIC AL PROTEINELOR CEREBRALE SOLUBILE LA IEPURI TRATAȚI CU EMULSIE DE CREIER HETEROLOG

T. Feszt, Șt. Szabó, E. Módy, I. Székely

Proteinele țesutului cerebral iau parte nu numai în constituirea structurilor celulare, ci prin metabolismul lor activ au un rol deosebit și în activitatea funcțională a sistemului nervos central. Prin urmare activitatea funcțională a creierului este însoțită și de schimbările metabolismului său proteinic. În anii din urmă, numeroase cercetări au pus în evidență că metabolismul proteinelor din țesutul cerebral suferă anumite tulburări în diferitele afecțiuni nervoase. În encefalomielita alergică experimentală (EAE) Benetato și colab. (1, 3) au descris primii modificările proteinelor cerebrale, care constau în creșterea azotului neproteic și scăderea cantității azotului proteic, mai cu seamă a celui din proteinele solubile ale creierului. Aceste constatări au fost confirmate de către Eperjessy și colab. (4), prin cercetări efectuate pe iepuri. Korács și colab. (7), au demonstrat că în cursul EAE scăderea conținutului în proteome din S.N.C. este însoțită de o proteoliză tisulară crescută. În cursul EAE proteinele țesutului cerebral suferă însă nu numai modificări cantitative, ci și modificări în structura lor coloido-chimică (2).

În cadrul experiențelor noastre, privitoare la patomecanismul EAE, cercetînd în mod mai amănunțit alterările proteinelor cerebrale, am studiat proteinele solubile ale creierului prin metoda electroforezei pe hîrtie, la iepurii tratați cu emulsie de creier heterolog și cu adjuvant Freund.

Materiale și metode

Experiențele au fost efectuate pe iepuri adulți, avînd greutatea corporală cuprinsă între 2—2,5 kg. Un lot de 10 animale au servit drept martori. 13 animale au fost supuse unui tratament encefalitogen după cum urmează: fiecare animal a primit un ml vaccin antipertussis (20 miliarde de germeni pe ml), iar după 3 zile li s-a injectat săptămînal, în plantă, cîte 0,5 ml suspensie de triturat de creier de bou și de adjuvant Freund (8). La 30 de zile după începerea tratamentului, animalele au fost sacrificate prin sîngerare. O porțiune din creier a fost prelucrată histologic, prezentînd semnele caracteristice fazelor incipiente a EAE (8).

Proteinele solubile cîin creier au fost examinate prin metoda electroforezei pe hîrtie. Procedeele noastre constă din trei faze succesive: omogenizare, extracție și concentrare prin ultrafiltrare. Creierii au fost bine spălați cu ser fiziologic, uscați cu hîrtie de filtru, cîntăriți și apoi omogenizați într-o soluție tampon (medinal-veronal cu pH = 8,6 de un volum de 10 ori mai mare). Produsul se centrifughează la o viteză de 6.000 ture pe minut, iar lichidul supernatant ob-

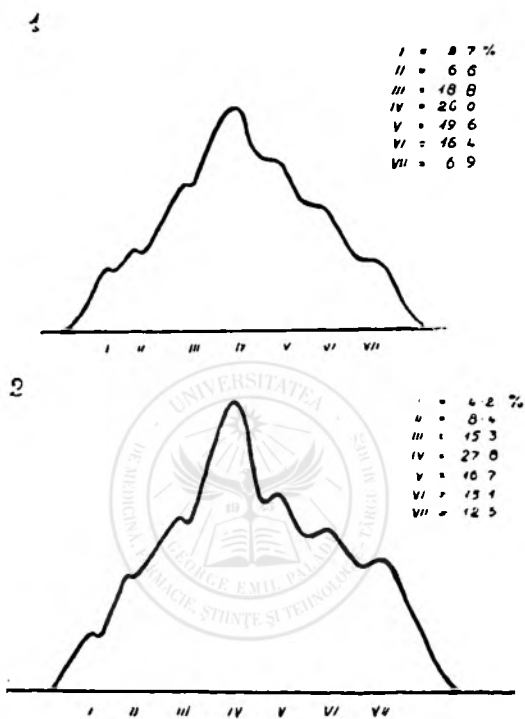


Fig. nr. 1.: Electroforetogrammele proteinelor solubile din creier 1 = animal de control, 2 = EAE

ținut conținând proteine în cantitate mică, se concentrează cu ajutorul ultrafiltrului cu sac de colodiu, pînă la concentrația de 6—8 g% proteine. Am aplicat metoda electroforezei pe hîrtie, întrebunțind hîrtie Wathman 1, cantitatea de lichid aplicată pe benzi fiind de 0,01 ml (tampon medinal/acetat de sodiu pH: 9; intensitatea = 1 mA/bandă; tensiunea 130 V; timpul 5 ore). Colorație după metoda Crassmann și Hannig cu Amidoswarz 10 B. Evaluarea prin fotometrie directă.

Tabelul nr. 1.

Valorile medii ale fracțiunilor proteice solubile din creier

Loc	Nr. animal	I.	II.	III.
Martor	10	5,2±0,62	7,26±1,67	15,8±0,97
EAE	13	1,4±0,43	8,0±1,03	13,6±0,85

Loc	Nr. animal	IV.	V.	VI.	VII.
Martor	10	27,1±1,71	20,6±2,11	17,25±1,73	6,55±0,65
EAE	13	28,0±0,98	19,5±0,81	14,10±1,54	11,50±0,76

Rezultatele obținute și discuția lor

Proteinele obținute din extractul cerebral prin electroforeză s-au separat în 7 fracțiuni bine delimitate, care au fost numerotate dela I—VII, pornind de la fracțiunile cu mobilitate mai mare. Cantitățile relative ale fracțiunilor de proteine solubile din creierul animalelor sînt prezentate în tabelul nr. 1. Comparînd rezultatele obținute la animalele martori cu cele obținute la animalele cu EAE se poate observa o scădere a cantității fracțiunii lor care posedă mobilitatea cea mai mare (fracțiunea nr. I.), corespunzătoare probabil albuminelor, precum și cantitatea fracțiunii a III-a; din contra, cantitatea fracțiunii cu o mobilitate mai lentă (fracțiunea VII), corespunzătoare probabil gama-globulinelor, a sporit considerabil.

În cursul EAE, în cadrul alterărilor proteinelor cerebrale observate în experiența de față, se înregistrează modificări și în proporția fracțiunilor proteice izolate prin electroforeză. Incadrarea acestor modificări în patomecanismul bolii este dificilă, deoarece se cunosc puține date cu privire la studiul electroforetic al proteinelor cerebrale, în diferite stări patologice. În tumorile cerebrale benigne, cantitatea fracțiunilor albuminice cu o mobilitate mai rapidă crește, iar în tumorile maligne fracțiunile albuminice scad și crește cantitatea globulinelor (9, 11). După datele lui Hofmann și Schinko (5) proporția albuminelor este mai ridicată în substanța albă decît în scoarță, iar Poliakova (10) constată la nervii cu teacă mielinică un conținut mai bogat în albumine. În lumina acestor date se poate presupune că scăderea fracțiunii albuminice a proteinelor cerebrale în EAE ar fi în legătură cu procesele tisulare destructive, sau cu descompunerea substanței mielinice. Pe de altă parte, mărirea fracțiunii lente, probabil a gama-globulinelor, s-ar putea pune în legătură cu reacțiile inflamatorii ale țesutului nervos. În acest sens pledează observațiile lui Karcher și colab. (6), potrivit cărora la bolnavii de leucoencefalită sclerozantă subacută, cantitatea gama-globulinei crește în țesutul cerebral.

Dovedirea acestor ipoteze este sarcina unor cercetări ulterioare.

Sosit la redacție: 13 decembrie 1963.

Bibliografie

1. BENETATO GR., GABRIELESCU E., PARTENI L., BORDEIANU A., BOROȘ I.: Fiziologia norm. și patol. (1961), 7, 73;
2. BENETATO Gr., PARTENI L., GABRIELESCU E., BOROȘ I., SUCHMANSCHI M.: Studii și cercet. de fiziologie (1961), 6, 207;
3. BENETATO GR., SECĂREANU ȘT., NEUMANN E., VASILESCU V., SCHMIDT G.: Studii și cercet. Medicină (Cluj). (1959), 10, 17;
4. EPERJESSY A., FESZT T., BLAZSEK V., KISS A.: Revista Medicală (1963), 9, 4;
5. HOFMANN G., SCHINKO H.: Klinische Wochenschrift (1956), 34, 86.
6. KARCHER D., VAN SANDE M., LOWENTHAL A.: Neurochemistry (1959), 4, 135;
7. KOVÁCS A., KERÉKES M., FESZT T., GYERGYAI F.: Comunicările Academiei R.P.R. (1963), 13, 463;
8. MISKOLCZY D., GYERGYAY F., WAITSUK P., FESZT T., LÁSZLÓ J.: Studii și cercet. științ. Medicină (Iași), (1960), 11, 257;
9. MIULBERG A. A., SÍTINSCHI I., A., CEAICA T. V.: Voprosi mediținscoi himii (1962), 8, 58;
10. POLIAKOVA N. M.: Dokl. Acad. Nauk. S.S.S.R. (1956), 109, 1174;
11. TRUFANOV A. V.: Voprosi mediținscoi himii (1959), 5, 403.