

CERCETĂRI ASUPRA ENCEFALOPATIILOR EXPERIMENTALE. XXII.

Unele aspecte ale activității aldolazice cerebrale în encefalomielita alergică experimentală *

M. Kerekes, I. Kelemen, Pompilia Furda, T. Feszt, M. Gündisch

Directia în care se îndreaptă lucrările clasice din domeniul biochimismului encefalomielitelor demielinizante este studiul metabolismului lipidic. Timp de aproape patru decenii, inițiați de *O. Marburg* (21), cercetătorii s-au străduit să aducă noi dovezi în favoarea hiperactivității enzimelor lipolitice în procesele de mielinoliză.

N-au trecut nici zece ani de cind *Monrad-Krohn* (25) a atras atenția asupra importanței cercetărilor asupra „profilului proteic al bolilor demielinizante”, subliniind lipsa aproape totală a unor asemenea cercetări. În țara noastră, *Benetato* și colab. (2—6), într-o serie de lucrări au reușit să demonstreze că în cursul encefalomielitei alergice experimentale (EAE) apare un dezechilibru profund și precoce în procesul de biosinteză a proteinelor, la nivelul sistemului nervos central, cu scăderea azotului proteic și creșterea celui neproteic. Colectivul nostru a constatat de asemenea importante modificări ale metabolismului proteic și lipoproteic în creierul iepurilor cu EAE, observând diferențe în compoziția aminoacidică a proteinelor cerebrale față de martori (9—12).

Ținând seama de predominanța catabolismului proteic, următorul pas logic a fost studierea activității proteazelor, enzime legate de sinteza, respectiv hidroliza substanțelor proteice. *Kovács* și colab. (17) și *Kerekes* și colab. (16) au reușit să pună în evidență creșterea activității cateptice în omogenate de creier, provenite de la iepuri cu EAE. Aceste rezultate au fost confirmate de cercetările histo-chimice efectuate de colectivul lui *Benetato* (7) care au demonstrat că în EAE se observă creșterea considerabilă a activității proteazelor cerebrale, în special a celor active la un pH acid. O mare parte a acestor modificări precedă pe cele morfologice. Ele pot fi deci pe drept calificate „leziuni biochimice”, termen introdus în 1931 de *Gavrilescu* și *Peters* (14) pentru descrierea unor modificări ale țesuturilor, care precedă leziunile vizibile cu microscopul. Această activare a proteazelor, favorizată de anumite condiții patologice ale bolii, constituie un factor important în declanșarea dezechilibrului metabolismului proteolipidic care provoacă demielinizarea.

Reînnoirea proteinelor este condiționată de integritatea metabolismului energetic; energia necesară incorporării aminoacizilor în catena polipeptidică este furnizată de ATP rezultat în cursul oxidării celulare. O serie de investigații efectuate în această direcție de *Manta* și colab. (19, 20) au scos la iveală alterarea proceselor de respirație în țesutul cerebral al cobailor cu EAE, autorii constatând scăderea consumului de oxigen, a incorporării P^{32} și a concentrației ADN. Recent, *Saragea* și colab. (27) au cercetat modificările metabolismului energetic în sistemul nervos al animalelor cu EAE. Urmărind pe mitocondrii izolate din creier metabolismul oxidativ al componentelor ciclului Krebs, au constatat scăderea acestuia. Este deci evident că procesul patogenetic provoacă dereglarea sistemelor enzimactice și energetice celulare.

* Lucrare prezentată la sesiunea anuală de comunicări a Institutului de neurologie a Academiei R. S. România, 18—22 ian. 1966.

Astfel începe să se contureze azi o a treia linie de orientare în investigația proceselor demielinizante, și anume studiul metabolismului energetic, respectiv al celui glucidic. În această ordine de idei nu poate fi neglijată nici glicoliza, energia eliberată în cursul acesteia contribuind la nevoile energetice funcționale ale țesutului nervos. Pentru a adânci studiul tulburărilor metabolice, ne-am propus să studiem pe modelul de EAE activitatea unei enzime „cheie” a metabolismului glucidic, aldolaza, care catalizează reacția de scindare a fructozo—1—6—difosfatului în fragmente triozfosforice.

În cursul anilor am efectuat un studiu multilateral al influențabilității EAE. Bazându-ne pe datele din literatura de specialitate, am investigat și acțiunea unor antihistaminice. Am considerat că nu este lipsită de interes urmărirea activității aldolazei în creierul animalelor cu EAE, sub influența tratamentului cu asemenea substanțe.

Material și metodă

Cercetările s-au făcut pe 75 de cobai de ambele sexe, având aproximativ aceeași vîrstă și greutate (greutatea medie 400 g). 30 de cobai au servit ca martori, la 30 de animale provocindu-se EAE după tehnica lui Kabat și colab. (15). La 15 dintre animalele tratate cu amestec encefalitogen s-a instituit un tratament cu fenergan și largactil, administrate alternativ din două în două zile, în doze de cîte 5 mg/kg/corp, în injecții intramusculare. Acest tratament, început concomitent cu administrarea emulsiei encefalitogene, a durat pînă la sacrificarea animalelor. Alte 15 animale, servind ca martori pentru această grupă, au primit numai fenergan și largactil, în doze identice.

La 20 zile de la începutul tratamentului encefalitogen s-a instalat simptomatologia specifică manifestată prin adinamie, pareze și paralizia trenului posterior, respectiv tetraplegii. Producerea encefalomielitei s-a verificat prin examenul histopatologic al creierului. La 22, 36 și 53 zile de la prima inoculare s-au sacrificat din fiecare grupă cîte 5 animale. Imediat după decapitare s-a prelevat creierul care s-a omogenizat în aparat Potter, cu apă distilată, în diluție de 1:5. Determinarea activității aldolazice s-a făcut după metoda lui Bruns și Puls (22), diluind omogenatul de încă 60 ori (diluția finală 1:300). Activitatea s-a exprimat în unități uzuale.

Rezultate și discuții

Rezultatele determinărilor sint redată în tabelul de mai jos:

Activitatea aldolazică din țesutul cerebral al cobailor supuși unui tratament encefalitogen, respectiv cu largactil și fenergan
(Probabilitatea de transgresiune s-a calculat față de grupul martor)

Tratament	Activitatea aldolazică la		
	22	36	53
	zile după începerea tratamentului		
Martori	72,4±2,48		
Emulsie encefalitogenă	73,5±3,62 P > 0,05	70,4±2,95 P > 0,05	68,6±3,03 0,02 < P < 0,05
Largactil și fenergan	71,4±2,70 P > 0,05	69,8±2,74 P > 0,05	67,1±2,87 0,02 < P < 0,05
Emulsie encefalitogenă, largactil și fenergan	74,9±3,81 P > 0,05	60,1±2,63 P < 0,02	61,7±2,61 P < 0,02

Valoarea medie a activității aldolazice din creierul animalelor martori a fost de 72,4 unități. La animalele tratate cu amestec encefalogen, respectiv cu fenergan și largactil. se observă o ușoară tendință de scădere a activității, însă numai la 53 de zile după începerea tratamentului. În cazul animalelor cu EAE, aceste observații pot fi asemănate cu cele ale lui MacCaman și Robins (18), care au observat scăderea considerabilă a activității aldolazei în degenerarea Walleriană. Este însă greu de spus dacă în cazul EAE scăderea activității aldolazei constatată de noi reprezintă o dereglare biochimică primară, sau este urmarea bulversării metabolismului proteic.

Mult mai frapante sînt rezultatele obținute la grupa animalelor cu EAE, tratate cu fenergan și largactil. La această grupă, activitatea aldolazei a scăzut în mod semnificativ atît la 36, cît și la 53 de zile după începerea tratamentului.

Pornind de la originea presupus alergică a EAE, multe experiențe au avut ca obiectiv principal suprimarea stării hiperergice. Astfel s-au efectuat o serie de cercetări privind efectele diferitelor substanțe antihistaminice asupra evoluției EAE, fără ca acestea să exercite vreo acțiune protectoare, avînd uneori chiar un efect agravant (1, 8, 13). Scăderea activității aldolazei găsită de noi sub influența fenerganului și largactilului concordă deci cu aceste constatări.

După datele lui Palladin și Poliakova (26) activitatea aldolazei este crescută în sectoarele mai complexe din punct de vedere funcțional al sistemului nervos central, față de alte segmente ale acestuia. Miskolczy și colab. (23) au atras atenția asupra faptului că leziunile constatate în cursul EAE (inflamații, necroze) se localizează nu numai în substanța albă, dar și în cea cenușie. Dereglările funcționale provocate de aceste leziuni se reflectă și în activitatea bioelectrică a creierului (24). Rezultatele noastre dovedesc că ele se repercutează și asupra activității aldolazei din țesutul nervos. Considerînd scăderea activității aldolazei ca un semn patobiochimic al EAE, aceasta a devenit mai accentuată prin efectul sinergic al medicamentelor studiate.

Sosit la redacție: 27 martie 1966.

Bibliografie

1. ALVORD Jr. E. C., CORELL J. W., LADD A. T., KELLNER A.: J. Immunol., (1948), 60, 345; 2. BENETATO GR., SECĂREANU ȘT., NEUMANN E., VASILESCU V., SCHMIDT G.: Stud. cerc. med. Cluj (1959), 1, 17; 3. BENETATO Gr., GABRIELESCU E., PARTENI L., BOROȘ I., BORDEIANU A.: Stud. cerc. fiziol. (1960), 1, 9; 4. BENETATO GR., GABRIELESCU E., BORDEIANU A.: Stud. cerc. fiziol. (1961), 1, 9; 5. BENETATO GR., PARTENI L., GABRIELESCU E., BOROȘ I., SUCMANSCHI A.: Stud. cerc. fiziol. (1961), 2, 207; 6. BENETATO GR., GABRIELESCU E., PARTENI L., BORDEIANU A., BOROȘ I.: Fiziologia (1961), 2, 73; 7. BENETATO GR., GABRIELESCU E., BOROȘ I.: Stud. cerc. fiziol. (1964), 1, 87; 8. CONSTANTINESCU N., HORNEȚ T., BÎRZU N., ZAVATE O., PANEA I., RUSAN S.: Stud. cerc. med. (Iași) (1958), 9, 135; 9. EPERJESSY A., KISS A., ADĂM S., GYERGYAY F., FESZT T.: Rev. sci. méd. (1963), 8, 25; 10. EPERJESSY A., FESZT T., BLAZSEK V., KISS A.: Rev. Medicală (1963), 9, 417; 11. FESZT T., SZABÓ ȘT., MÓDY E., SZÉKELY I.: Revista Medicală (1964), 10, 34; 12. FESZT T., KISS A., EPERJESSY A., KOVÁCS V.: Stud. cerc. neurol. (1964), 9, 309; 13. FINGER H.: Zschr. ges. exp. Med. (1961), 135; 276; 14. GAVRILESCU N., PETERS R. A.: Biochem. J. (1931), 7, 2150; 15. KABAT E., WOLFF A., BEZER A.: J. Exp. Med. (1947), 85, 117; 16. KERÉKES M., FESZT T., KOVÁCS A.: Experimentia (1965), 21, 42; 17. KOVÁCS A., KERÉKES M., FESZT T., GYERGYAY F.: Com. Acad. R.P.R. (1963), 13, 465; 18. MacCAMAN R. E., ROBINS E.: J. Neurochem (1959), 1, 32; 19. MANTA I., LAZĂR TR. C., CĂTANĂ R., PÎRVU M., DUMA D., POPOVICIU L., ȘERBAN M.: Stud. cerc. neurol. (1964), 5—6, 527; 20. MANTA I., DUMA D., LAZĂR TR. C., POPOVICIU L., CĂTANĂ R., PÎRVU M., ȘERBAN M.: Fiziologia (1965),

3, 237; 21. MARBURG O.: Jr. Psychiat. Neurol. (1906), 27, 213; 22. Metodele laboratorului clinic, Ed. Medicală București (1964), 210; 23. MISKOLCZY D., GYERGYAY F., WAITSUK P., FESZT T., LÁSZLÓ I.: Stud. cerc. st. med. (Iași) (1960), 11, 257; 24. MISKOLCZY D., KELEMEN I., FESZT T., SZABÓ ȘT., GYERGYAY F.: Rev. roum. neurol., Vol. omagial O. Sager 1966 (sub tipar); 25. MONRAD-KROHN G. H.: Raport VI. Congr. Internat. Neurol., Bruxelles, (1957), Ref.: Excerpta Med. Neurol. (1957), 7; 26. PALLADIN A. V., POLIAKOVA N.: Ukrain. biochim. jurn. (1949), 21, 341; 27. SARAGEA M., CLOPOTARU M., ROTARU N., NEGRU T., SICĂ M., VLĂDUȚIU A.: Fiziologia (1965), 3, 243.