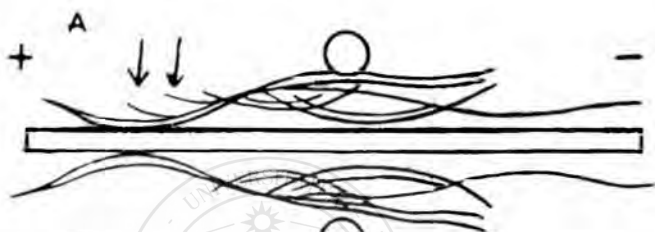


Academia R.S.R. Baza de cercetări științifice din Tg.-Mureș
(director: prof. M. Gündisch, doctor-docent). Disciplina de fiziologie a I M F
Tg.-Mureș (cond.: conf. Șt. Szabó doctor în medicină)

STUDIUL IMUNOCHEMIC AL PROTEINELOR DENATURATE CU ACID SILICIC

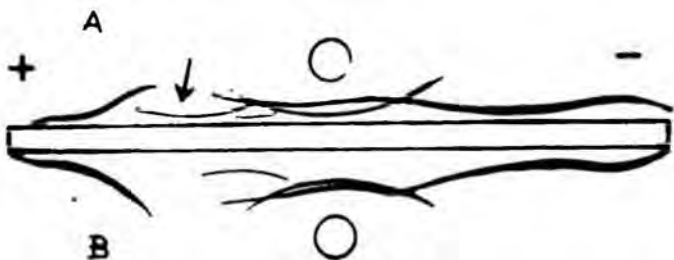
Șt. Szabó, E. Mody, Eva Lapohos, Ecaterina Lukács

Natura antigenelor responsabile pentru declanșarea proceselor de auto-
imunizare în silicoză constituie o problemă de mare importanță a teoriei imu-
nologice a maladiei (8). Studiind această problemă, în lucrări anterioare (5, 6)
am arătat că proteinele serice și tisulare tratate cu acid silicic coloidal cîștigă
o specificitate antigenică diferită de cea a proteinelor native. Presupunem



B

Fig. nr. 1



B

Fig. nr. 2



Fig. nr. 3.

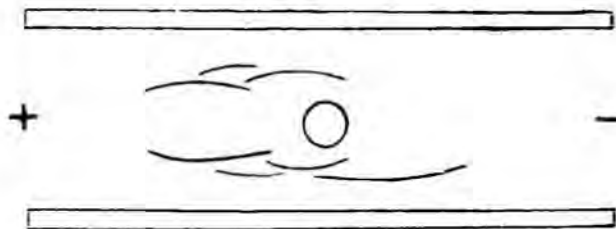


Fig. nr. 4



Fig. nr. 5

Fig. nr. 1. : Imunoelectroforegramă. Antigene : A. ser uman normal, B. ser uman denaturat cu acid silicic coloidal 0,1%. Antiser față de ser uman normal (șanțul median). Săgețile indică liniile de precipitare corespunzătoare alfa₁-mucoproteinelor, care lipsesc din serul denaturat.

Fig. nr. 2. : Imunoelectroforegramă : Antigene : Preparate de gamaglobuline umane (A) și aceleași preparate tratate cu acid silicic coloidal (B) Antiser antiom. Săgeata indică o linie de precipitare corespunzătoare alfa₁-mucoproteinelor.

Fig. nr. 3: Imunoelectroforegramă. Antigen: ser uman tratat cu acid silicic coloidal 0,1% (A) și ser uman termodenaturat și tratat cu acid silicic (B). Antiser antiom. Se remarcă lipsa mai multor linii de precipitare în zone alfa- și beta-globulinelor.

Fig. nr. 4: Imunoelectroforegramă. Antigen: ser uman nativ. Antiseruri: ser antiom epuizat cu ser termodenaturat (șanțul de sus) și ser antiom epuizat cu ser termodenaturat și tratat cu acid silicic (șanțul de jos).

Fig. nr. 5. Imunoelectroforegramă. Antigene: A. ser uman denaturat cu acid silicic. B. ser uman nativ. Antiser de iepure imunizat cu ser uman tratat cu acid silicic. (șanțul median). Se remarcă prezența unor linii de precipitare date de antigenul denaturat în zona beta globulinelor (săgeata)

că această antigenicitate poate participa în procesele imunobiologice cu rol în patomecanismul silicozei. Pentru precizarea fracțiunii proteice care poartă antigenitatea nouă, în lucrarea de față am întreprins o serie de cercetări imunoelectroforetice.

Material și metodă

Antiseruri: Am imunizat iepuri cu ser sanguin uman nativ și cu ser uman denaturat cu acid silicic coloidal, după procedeele aplicate în alte cercetări (5). Am mai utilizat ser de cal antiom (Institutul Cantacuzino).

Antigene: Ser uman nativ; ser uman denaturat cu acid silicic coloidal 0,1% și 0,5%; ser uman supus unei denaturări termice prin încălzire la 60°C timp de 30 minute; ser uman tratat cu același volum de acid silicic coloidal 0,1% și ținut timp de 30 minute la 60°C; gama-globulină umană 5% (Institutul Human Budapesta).

Imunoelectroforeza (Grabar, 2). S-a utilizat agar Difco 1% în tampon veronal Na, pH 8,6, putere ionică 0,05, conținând 0,01% mertiolat; gradient de potențial 12 V/cm, durata 4 ore, la temperatura camerei.

Absorbția antiserurilor. O cantitate de 1 ml antiser nediluat, amestecat cu 1 ml ser antigenic diluat 1/2 s-a incubat timp de 1 oră la 38°C, apoi 12 ore la 4°C. Centrifugare 1 oră cu 6000 ture/minut.

Rezultate

La testarea serului de iepure antiom față de ser uman și ser uman denaturat cu acid silicic am constatat, că în zona alfa a serului denaturat lipsesc liniile de precipitare corespunzătoare alfa₁-mucoproteinelor, iar alfa₂-globulinele dau o precipitare mai slabă (fig. 1). Preparatul de gama-globuline utilizat de noi a conținut și alte fracțiuni. La imunoelectroforeza acestuia am observat diferențe asemănătoare cu cele constatate cu ocazia experiențelor precedente: la preparatul denaturat cu acid silicic au lipsit liniile date de alfa₁-mucoproteine (fig. 2).

În experiența următoare am testat serul de cal antiom cu următoarele antigene: a) ser uman normal, b) ser uman termodenaturat, c) ser uman tratat cu acid silicic, d) ser uman supus acțiunii concomitente a temperaturii înalte și a acidului silicic. Am constatat că proteinele serice termodenaturate prezintă o slăbire pronunțată sau chiar lipsa unor linii de precipitare din zona alfa-globulinelor. Acțiunea căldurii și a silicei duce la slăbirea și mai pronunțată a unor linii din aceste zone, arătându-se diferențe remarcabile față de acțiunea simplă a termodenaturării. În opoziție cu acest fenomen, beta₂-macroglobulinele se evidențiază mai accentuat în cazul denaturării prin ambii agenți (fig. 3).

Examinând reacțiile serului antiom epuizat cu ser uman termodenaturat (fig. 4, șanțul de sus) și același antiser epuizat cu serul antigenic supus acțiunii concomitente a termodenaturării și a silicei (fig. 4, șanțul de jos), am constatat că serul uman ca antigen prezintă reacții de precipitare cu ambele antiseruri epuizate; cu antiserul care a fost absorbit cu antigenul termodenaturat, s-au obținut 3 arcuri de precipitare, în timp ce antiserul epuizat cu serul uman denaturat cu căldură și cu acid silicic, a dat 4 linii de precipitare, dintre care 3 au fost identice cu cele precedente, a patra fracțiune corespunzând unei beta-globuline.

Antiserul obținut la iepuri prin imunizare cu ser uman denaturat de silice a fost testat cu antigenul corespunzător și cu ser uman nativ. Antigenul tratat cu silice (fig. 5. A) a dat în plus niște arcuri de precipitare bine delimitate, situate în zona beta-globulinelor. Aceste arcuri lipsesc pe electroforegrama serului nativ (Fig. 5. B)

Discuții

Căutînd să abordăm multilateral problema antigenității proteinelor denaturate cu acid silicic, în lucrările anterioare am recurs la utilizarea unei serii de procedee serologice, ajungînd la concluzia că acidul silicic conferă proteinelor o antigenitate nouă. Aplicarea metodei imuno-electroforetice a permis caracterizarea mai exactă a antigenității.

Antiserurile față de proteinele native dau o reacție mai slabă cu antigenele denaturate de acid silicic, decît cu serurile native. În cea mai mare măsură sînt interesate alfa₁-mucoproteinele, ele fiind cel mai profund alterate, fapt care corespunde rezultatelor obținute cu electroforeză pe hîrtie (7). Termodenaturarea produce modificări importante în structura proteinelor serice (3). Pentru a scoate în evidență efectul silicei, asigurînd posibilitatea unei diferențieri mai fine, am asociat efectul căldurii și al silicei, procedînd la absorbția antiserurilor cu antigenele supuse acestei duble denaturări. Am constatat că din proteinele serice termodenaturate dispar unele caractere antigenice, iar în proteinele expuse acțiunii concomitente a temperaturii înalte și a acidului silicic, fenomenul se accentuează, din acestea lipsind antigene care sînt prezente în serul normal, dar și în cel termodenaturat și care corespund unei fracțiuni migrînd la electroforeză cu viteza beta-globulinelor.

Arcul de precipitare suplimentar din zona beta-globulinelor obținut prin testarea serului anti-proteine denaturate cu antigenele corespunzătoare, reprezintă fracțiunea proteinică purtătoare a antigenității specifice caracteristică pentru denaturarea cu acidul silicic.

Pe baza datelor expuse constatăm că sub influența silicei antigenitatea normală a unor fracțiuni proteinice, mai ales a alfa- și beta-globulinelor scade. În schimb apar caractere antigenice noi, legate de fracțiuni, care în cîmpul electroforetic migrează cu viteza beta-globulinelor.

Rezultatele experiențelor noastre pledează în favoarea ipotezei imunitare „specifice” a patogeniei silicozei (1), potrivit căreia autoantigenele sînt reprezentate de proteinele proprii ale organismului modificate de prezența silicei.

Concluzii

Cu analiza imuno-electroforetică a proteinelor serice denaturate de acid silicic se constată că acestea dispun de o proprietate antigenică specială. Această antigenitate nouă este legată de o fracțiune proteinică care migrează la electroforeză cu viteza beta-globulinelor.

Sosit la redacție: 2 martie 1967.

Bibliografie

1. CLAEYS C., QUINOT E.: Immunpathologie in Klinik und Forschung. Thieme, Stuttgart 1961, 64; 2. GRABAR P.: Methods of biochemical analysis vol 7, 7. Interscience Publishers, Inc. New York (1959); 3. MOÏTET D.: St. Cerc. Biochim. (1965), 8, 59; 4. SZABÓ ȘT., LAPOHOS E., KAPUSI A., REICHEL C.: Z. Immun. Forsch. (1966), 130, 252; 5. SZABÓ ȘT., LUKÁCS E., LAPOHOS E., MUNTŢYÁN G.: Revista Medicală (1967), 13, 1; 6. SZABÓ ȘT., MÖDY E., LUKÁCS E., LAPOHOS E.: I. Congres. Europ. Soc. Pathol. Varsovia 1965; 7. SZABÓ ȘT., MÖDY E., NEMES ȘT., LAPOHOS E.: Med. Lavoro (1964), 55, 321; 8. VIGLIANI E. C., PERNIS B.: Arch. Gewerbepath. (1962), 19, 507.