

STUDIUL COMPARATIV AL UNOR COMPONENTE GLICOPROTEICE DIN SER. I. CERCETĂRI IN HEPATITA EPIDEMICĂ*

L. Bukaresti, Gabriela Sikó, Ileana N. Csiki, Maria Fágărășan, dr. L. Kasza

După ce în anii 1951—1952 Greenspan și colab. (12, 13) au constatat scăderea concentrației seromucoidului (numit pe atunci mucoproteină serică) în leziunile parenchimotoase primare ale ficatului, arătând că determinarea ei poate fi folosită pentru scopuri diagnostice, au apărut o serie de lucrări referitoare la comportarea glicoproteinelor serice în afecțiunile hepatobiliare.

Majoritatea autorilor au urmărit însă fie numai concentrația seromucoidului, fracțiunea solubilă în acid sulfosalicilic, perchloric, tricloracetic a glicoproteinelor serice (Fonesu 9, Giannini și Camarri 10, Girard și colab. 11, Maggi și colab. 20, Urbaszek 28), fie unii componente glucidici ai glicoproteinelor serice totale, respectiv conținutul în glucide al fracțiunilor proteice separate prin electroforeză (Bang 2, Hirayama și colab. 15, Mejsbaum-Katzenellenbogen și colab. 21, Prokopowicz 23, Wagner 29, Schaffner și colab. 26). Relativ puține lucrări s-au ocupat cu dozarea paralelă a seromucoidului precum și a unor componente ai seromucoidului și al glicoproteinelor totale. În cazul seromucoidului de cele mai multe ori au fost dozate numai hexozele (Bonomo și Colombo 3, Havez și colab. 14, Jakob 16, Wenzler 31). Cu toate că au fost obținute și rezultate contradictorii, concluzia generală ce reiese din aceste lucrări este: concentrația seromucoidului scade, iar concentrația acidului sialic, a hexozelor și hexozaminelor totale legate de proteine crește în hepatita epidemică. În experiențele noastre anterioare (4, 6, 17, 18) am constatat că polarograma filtratului sulfosalicilic al serului (care după concepția în general acceptată este cauzată în primul rând de seromucoid) scade în mod caracteristic în această boală. În urma unui studiu comparativ al concentrației seromucoidului și al activității polarografice a filtratului de ser în afecțiunile hepatobiliare, în cursul căruia am constatat că nu există o corelație strânsă între cele două valori, am presupus că scăderea înălțimii unei catalitice este determinată nu numai de scăderea concentrației seromucoidului dar și de modificări în compoziția și în structura acestuia (5).

În lucrarea de față pentru a obține un tablou mai complet privind modificările diferiților componente glucidici ai seromucoidului, pentru a studia modificările presupuse în compoziția părții glucidice ale acestuia în hepatita epidemică, am determinat paralel concentrația seromucoidului, a hexozelor, a hexozaminelor și a acidului sialic din această substanță. Pentru a obține eventuale corelații între acești componente și activitatea polarografică a filtratului de ser am determinat concomitent polarograma atât prin metoda obișnuită — agent deproteinizant acidul sulfosalicilic —, cât și prin folosirea agentului deproteinizant utilizat și la dozarea seromucoidului și a componentelor săi — acidul perchloric. În scopul studierii raportului dintre concentrația componentelor glucidici ai seromucoidului și cei ai glicoproteinelor totale, am determinat paralel și concentrația acidului sialic, a hexozelor și hexozaminelor totale legate de proteine, iar pentru a evidenția anumite modificări cantitative și

* Lucrare prezentată la cea de a VII-a Sesiune științifică a I.M.F. Tg-Mures 12—13 decembrie 1960.

calitative în proteinele totale serice am determinat polarograma serului total și proteinemia totală. Am efectuat în total 11 analize paralele.

Material și metodă

Determinările au fost executate la 26 de indivizi sănătoși (donatori pentru a doua oară la Centrul de recoltare și conservare de singe din Tîrgu-Mureș) și la 50 de bolnavi suferind de hepatită epidemică. Boala a avut o evoluție ușoară la 5, obișnuită la 27, gravă sau trenantă la 18 bolnavi.

Seromucoidul a fost dozat după *Weimer* și *Moshin* (30), proteinele totale după metoda lui *Kingsley* (19) pe baza reacției biuretului. Hexozele au fost determinate prin metoda cu orcinol a lui *Weimer* și *Moshin* (30), hexozaminele prin metoda cu acetilacetonă și reactivul Ehrlich a lui *Elson* și *Morgan* (8), modificată de *Rimington* (24), iar acidul sialic prin metoda cu difenilamină a lui *Ayala* (1), modificată de *Winzler* (31). Polarograma filtratului sulfosalicilic al serului s-a determinat prin metoda folosită în lucrările noastre anterioare (0,4 ml ser, 0,1 ml KOH 10^{-1} M, 1 ml acid sulfosalicilic 20%; 0,25 ml filtrat la 5 ml soluție de bază: CoCl_2 10^{-3} M, NH_4Cl 10^{-1} M, NH_3 1 M, sensibilitatea galvanometrului 1/150), iar polarograma filtratului percloric prin folosirea filtratului obținut pentru dozarea seromucoidului (30), adăugându-se 1 ml filtrat la 5 ml soluție de bază, sensibilitatea galvanometrului fiind de data aceasta de 1/100. Polarograma serului total a fost determinată prin adăugarea a 0,05 ml ser la 10 ml soluție de bază, iar sensibilitatea galvanometrului a fost de 1/500.

Rezultate și discuții

Rezultatele analizelor și ale prelucrării statistice sînt date în tabelul 1.

Din tabel reiese că, în cazurile noastre de hepatită epidemică concentrația seromucoidului (dozată pe baza conținutului în proteine cu reactivul biuret), precum și concentrația hexozaminelor și a acidului sialic din seromucoid a prezentat o scădere nesemnificativă, pe cînd concentrația hexozelor din seromucoid a manifestat o scădere marcată (21,5%) și statistic semnificativă. De asemenea polarograma filtratului percloric și a celui sulfosalicilic a fost scăzută, diferențele fiind semnificative.

Comparînd aceste rezultate cu cele obținute la componenții glicoproteinelor totale se poate constata că — contrar celor observate la seromucoid — concentrația hexozelor totale legate de proteine a rămas neschimbată. Concentrația acidului sialic și a hexozaminelor a scăzut ușor și nesemnificativ.

Polarograma serului total a prezentat o scădere apreciabilă și semnificativă, ceea ce se poate explica prin schimbările survenite în compoziția și structura proteinelor serice și nu prin schimbarea cantitativă a proteinelor totale, deoarece practic proteinemia a rămas neschimbată.

La bolnavii noștri cu evoluție gravă sau trenantă diferențele au devenit mai accentuate, semnificative în cazul mai multor componenți. În aceste cazuri atît în concentrația seromucoidului și a componenților acestuia, cît și în glicoproteinemia totală au intervenit modificări importante.

Seromucoidul a prezentat o scădere accentuată și semnificativă ca și hexozele și acidul sialic din această fracțiune glicoproteică, pe cînd hexozaminele din seromucoid au înregistrat o scădere nesemnificativă. Polarogramele efectuate, cu toate cele trei metode, au fost marcat și semnificativ scăzute.

Concentrația acidului sialic și cea a hexozaminelor totale legate de proteine a scăzut semnificativ, cea a hexozelor a scăzut de asemenea dar nesemnificativ.

Tabelul nr. 1

	HEXOZE		HEXOZAMINE		AC. SIALIC		PROT. TOT.	SERO-MUCOID (biuret)	POLAROGRAMME		
	T	SM	T	SM	T	SM			SER TOTAL	FILTRAT HClO ₄	FILTRAT Ac. Susa
SANATOȘI (N=26)	112,8 ±4,87	13,9 ±0,83	134,8 ±5,08	13,1 ±0,45	73,3 ±2,19	7,7 ±0,41	715,4 ±134,5	74,4 ±5,65	56,1 ±1,56	19,3 ±0,24	33,9 ±1,30
HEPATITA EPIDEMICA (total) (N=50)	110	10,9 ±0,60 -21,5% <0,01	125,7 ±4,06 -6,7% >0,1	12,5 ±0,40 -4,5% >0,3	69,2 ±1,40 -5,5% >0,1	7 ±0,28 -9,1% >0,1	695,8 ±116,8 -2,7% >0,3	63,3 ±4,67 -14,9% >0,1	46,7 ±0,59 -16,7% <0,001	13 ±0,68 -32,6% <0,001	21 ±1,28 -36,8% <0,001
HEP. EPID. (forma obişnuită) (N=27)	119,6 ±4,60 +6,0% >0,3	12,1 ±0,81 -13% >0,1	133,8	12,4 -5,3%	76,4 +4,2%	7,9	703,2	71,7 -3,6%	47,6 ±0,73 -15% <0,001	14,2 ±1,12 -26% <0,001	24,4 ±1,71 -28% <0,001
HEP. EPID. (forma gravă) (N=18)	97,4 ±5,33 -13,6% >0,05	9,1 ±1,09 -34,5% <0,001	113,6 ±4,87 -15,7% <0,01	12,04 ±0,62 -8,08% >0,1	63,5 ±2,23 -13,2% <0,001	5,9 ±0,45 -23,4% <0,01	691,3	50,3 ±6,71 -32,4% <0,02	45 ±0,90 -19,7% <0,001	11 ±0,72 -43% <0,001	16 ±1,19 -52,8% <0,001

Concentrațiile sînt date în mg%, polarogramele în mm.

T = totale, legate de proteine;

SM = din seromucoidi;

* = schimbări de valori date în % față de valorile obținute la sănătoși;

Ac. Susa = acid sulfosalicilic.

În schimb în cazurile cu evoluție obișnuită, cu excepția polarogramelor — care și de data aceasta au fost semnificativ scăzute — valorile obținute au fost practic neschimbate față de cele normale sau nesemnificativ crescute în cazul acidului sialic și al hexozelor totale legate de proteine.

Concentrația componentelor glicoproteice depinde deci foarte mult de forma evolutivă a bolii și aceasta ar da o explicație de ce valorile obținute de diferiți autori indică diferențe mari.

În hepatita epidemică se poate constata tulburarea metabolismului glicoproteinelor, ce se manifestă însă nu atât prin scăderea consecventă a concentrației componentelor, ci mai ales prin schimbări neuniforme în concentrația lor, atât în cazul seromuroidului, cât și în cazul glicoproteinelor totale.

Schimbările în concentrația componentelor seromuroidului nu urmăresc însă cu exactitudine schimbările concentrației componentelor glicoproteinelor totale.

S-a dovedit și în cursul acestor cercetări că, nu există o corelație strinsă între înălțimea polarogramei și concentrația seromuroidului sau a unuia dintre componentii săi. Corelația cea mai strinsă am găsit-o între concentrația hexozelor din seromuroid și polarograma filtratului percloric, dar și de data aceasta r era egal numai cu 0,58.

În concordanță cu cercetările noastre anterioare, polarogramele filtratului de ser au fost scăzute în mod apreciabil și semnificativ. Scopul direct al prezentei lucrări nu a fost studiul valorii diagnostice a diferitelor determinări, totuși s-a conturat că, din acest punct de vedere determinările polarografice sînt cele mai utilizabile. Cît privește celelalte metode, o comportare relativ constantă am observat doar la concentrația hexozelor din seromuroid.

Rezultatele noastre arată însă că pe baza dozării unui singur component nu pot fi trase concluzii generale asupra variației glicoproteinemiei. Totodată aceste rezultate confirmă presupunerea noastră după care comportarea mai consecventă a polarogramei filtratului de ser în hepatita epidemică nu poate fi explicată numai prin schimbări în concentrația seromuroidului, ci — pe lângă alți factori — și prin schimbări ce intervin în compoziția lui.

Variațiile neuniforme în concentrația componentelor glucidici ne indică apariția acestor schimbări în compoziția seromuroidului (în formele grave ale hepatitei epidemice și în compoziția glicoproteinelor totale). Seromuroidul însă este o fracțiune neomogenă a glicoproteinelor serice. Modificările constatate în compoziția lui pot fi rezultante ale schimbărilor în compoziția unora dintre subfracțiuni sau ale schimbărilor în proporția în care acestea apar în seromuroidul bolnavilor de hepatită epidemică. Robert și colab. (25) au constatat acest din urmă fenomen în numeroase boli, deosebi în cancer.

Cauzele acestor schimbări, în lumina teoriilor actuale asupra originii glicoproteinelor serice, pot fi de asemenea diferite.

Se poate presupune că în ficatul lezat, pe lângă scăderea intensității biosintezei glicoproteinelor are loc și o schimbare calitativă în acest proces. Totodată se poate întîmpla ca prin scăderea concentrației seromuroidului de origine hepatică să crească proporția seromuroidului de origine extrahepatică.

Csögör și colab. (7), folosind metoda electroforezei pe hirtie și colorația PAS, au observat că o parte a glucidelor se leagă de proteine nu prin legături covalente (prezența cărora este un criteriu al definiției glicoproteinelor), ci prin adsorbție. Cu toate că noi am folosit alte metode, se poate pune întrebarea dacă modificările constatate nu se datoresc — în parte — și schimbărilor ce intervin în adsorbția unor glucide, în urma schimbărilor structurale ale proteinelor sintetizate de ficatul lezat. După Mody (22) factorul limitant ce intervine în prima instanță la reglarea glicoproteinemiei ar fi probabil capacitatea fracțiunilor proteice de a fixa componentele lor glucidice mai labile.

Prin ipoteze similare s-ar putea interpreta și modificarea compoziției glicoproteinelor totale în cazurile de hepatită epidemică gravă. Menționăm în această privință părerea lui Spiro (27), după care, schimbarea neuniformă a unor componenți glicidici ai glicoproteinelor totale în leziunile parenchimatose ale ficatului s-ar datora schimbărilor în concentrația gama- respectiv a alfa-globulinelor din ser, fracțiuni care conțin în proporții diferite acești componenți glucidici.

Problemele complexe, ce se ridică în interpretarea rezultatelor, ne trasează direcțiile în care trebuie să continuăm cercetările.

Sosit la redacție: 15 iulie, 1970.

Bibliografie

1. AYALA W., MOORE L. V., HESS E. L.: J. Clin. Invest. (1951), 30, 781;
2. BANG H. O.: Nord. Med. (1957), 58, 1889; 3. BONOMO E., COLOMBO B.: Scritti Medici in onore del Prof. Luigi Villa nel XXV anno di Insegnamento. Milano. Casa Ed. Ambrosiana, 1957, 119; 4. BUKARESTI L., KASZA L., CSIKI I. N., GROSS E. D., SIKÓ G.: Med. Int. (1966), 18, 363; 5. BUKARESTI L., KASZA L., SIKÓ G., CSIKI I. N., GROSS E. D.: Comunicare la Baza de cerc. științ. Acad. R.S.R. Tîrgu Mureș, 26—28 XII 1958; cit. L. Bukaresti, S. Csögör, Cercetări biochimice în afecțiuni hepatobiliare în A. Kreindler, M. Gündisch: Cercetări Medicale Ed. Acad. R.S.R. 1968, 317; 6. BUKARESTI L., KASZA L., ZILLMANN V., GROSS E., KOVÁCS A., CSIKI I., GAGYI E.: Rev. Med. (1956), 2, 16; Zschr. inn. Med. (1957), 12, 1028; 7. CSÖGÖR S., MÓDY J., PÁLFFY B.: Experientia (1968), 24, 434; 8. ELSON L. A., MORGAN W. T. J.: Biochem. J. (1933), 27, 1824; 9. FONESU V.: Min. Med. (1960), 51, 4234; 10. GIOANNINI P., CAMARRI E.: Arch. Stud. Fisiopat. Clin. Ricambio (1958), 22, 1—2; 11. GIRARD M., BEL A., MLE NYSSSEN, AKNIN M.: Rev. Int. Hep. (1962), 12, 667; 12. GREENSPAN E. M., LEHMAN I., GRAFF M. M., SCHOENBACH E. B.: Cancer (1951), 4, 972; 13. GREENSPAN E. M., TEPPER M., TERRY L. L., SCHOENBACH E. B.: J. Lab. Clin. Med. (1952), 39, 44; 14. HAVÉZ R., GUERRIN F., BISERTE G.: Arch. Malad. App. Dig. (1960), 49, 1611; 15. HIRAYAMA CH., YOSHIKAWA T., TADA H.: Lancet (1961), I, 532; 16. JAKAB L.: Orv. Hetil. (1964), 105, 17; 17. KASZA L., BUKARESTI L., HADNAGY CS.: Rev. Med. (1958), 4, 28; 18. KASZA L., BUKARESTI L., HADNAGY CS., CSIKI I.: Acta Hepato-Splen. (1961), 8, 95; 19. KINGSLEY G. R.: J. Biol. Chem. (1940), 133, 731; 20. MAGGI A. L. C., MEEROFF M., IOUINE E., SEGAL I. E.: Rev. Bras. Gastroent. (1959), 11, 1; 21. MEJBAUM-KATZENELLENBOGEN W., KANIAK J., JELE-NEWSKA-KANIAKOWA Z., KUDREWICZ-HUBICKA Z., POPKOW M.: Proc. 4th Meet. Pol. Soc. Epid. Comb. Infect. Dis. Byalstok (1966), cit. W. MEJBAUM-KATZENELLENBOGEN și colab. Pol. Med. J. (1968), 7, 1379; 22. MÓDY E.: Teză de doctorat, I. M. Timișoara, 1966; 23. PROKOPOWICZ D.: Z. inn. Med. (1963), 18, 462; 24. RIMINGTON G.: Biochem. J. (1940), 34, 931; 25. ROBERT B., ROBERT L., JAYLE M. F.: Experientia (1959), 15, 385; 26. SCHAFFNER F., SCHERBEL A. L., LYTTLE R. I.: J. Lab. Clin. Med. (1956), 48, 551; 27. SPIRO R. G.: Amino sugars and macromolecules containing amino sugars in liver. in E. A. Balázs, R. W. Jeanloz: The amino sugars. Vol II/A. Acad. Press. New York, London, 1965, 47; 28. URBASZEK W.: Zschr. inn. Med. (1964), 19, 617; 29. WAGNER A.: Kl. n. Wschr. (1960), 38; 1187; 30. WEIMER H. E., MOSHIN J. R.: Am. Rev. Tuberc. (1952), 68, 594; 31. WINZLER R. J.: Determination of serum glycoproteins in D. Glick: Methods of biochemical Analysis Vol. II, p. 279; Interscience. New York-London, 1955