

# INFLUENȚA UNOR EXOTOXINE STREPTOCOCICE ASUPRA STRUCTURII MIOCARDULUI DE ȘOBOLAN. STUDIU ELECTRONOMICROSCOPIC.

Michaela Timar\*, N. Timar\*\*, Maria Caloianu Iordăchel\*\*\*,  
B. Cușarencu\*, M. Ifrim\*, M. Dorofteiu\*

## REZUMAT

Administrarea intravenoasă la șobolani a exotoxinelor streptococice, toxina Dick și streptolizina O produc după 30 de minute, și mai ales 60 de minute de la injectare modificări patologice ale miocardului, evidențiate electronomicroscopic. Cele mai afectate sunt capilarele și mitocondriile. Diafragma suferă și el modificări similare, dar mult mai puțin intense.

**Cuvinte cheie:** Șobolani, Toxină Dick, Streptolizina O, Miocard, Diafragm, Electronomicroscopie.

## ABSTRACT

**The effect of some streptococcal exotoxins on rat myocardium structure.**

### Electronomicroscopic examination

The intravenous administration in albino rats of streptococcal exotoxins Dick and streptolysin O induced after an interval of 30 minutes and particularly after 60 minutes pathological changes of myocardium. The electronomicroscopic examinations revealed capillary and mitochondrial damage. The muscular fibers are less affected. The diaphragm exhibits similar changes, but much less expressed.

**Key words:** Rats, Dick toxin, Streptolysin O, Myocardium, Diaphragm, Electronomicroscopic examination.

## INTRODUCERE

Angina streptococică, netratată sau incorect tratată poate determina apariția unor leziuni miocardice. Modalitatea prin care infecția streptococică tonsilară produce leziuni miocardice, nu este pe deplin elucidată. Marea majoritate a autorilor admit că microbii modifică structura unor proteine, conferindu-le un caracter antigenic. Organismul reacționează prin elaborarea de anticorpi. În urma reacției antigen-anticorp rezultă leziunile amintite. Prin urmare, leziunile cardiace (și foarte probabil cele articulare) sunt expresia unei boli autoimune (Schenk și colab. 1990, Timar, 1997).

Nu este însă exclusă nici altă posibilitate și anume ca exotoxinele streptococice, pătrunse în cantități foarte mici în circulație să lezeze direct miocardul, față de care se pare că au o afinitate marcată (Durack și Beeson, 1972).

În lucrarea de față ne-am propus să urmărim pe un material experimental influența a două exotoxine streptococice, toxina Dick și streptolizina O asupra structurii electronomicroscopice a miocardului. Pentru comparație, s-a inclus în investigație și diafragma.

## MATERIAL ȘI METODE

Experiențele au fost efectuate pe un număr de 36 șobolani albi, de ambe sexe, de rasă Wistar-Bratislava, cu greutatea cuprinsă între 130 - 150 g. Animalele au fost hrănite cu un regim alimentar standard echilibrat având acces liber la apă. Temperatura încăperii și umiditatea au fost menținute constante.

În vena cozii s-au injectat, la un număr egal de șobolani:

1. Toxina Dick eritrogenă în cantitate de 10 "skintest dosis" (STD) (skintest dosis = 0,1 ml toxină diluată în ser fiziologic cloruro sodic = 15 STD) prin urmare volumul soluției injectate a fost de 1 ml. El a fost administrat lent (în 2 - 3 minute).
2. Streptolizina O în cantitate de 50 unități. Volumul soluției injectate a fost tot de 1 ml.

Ambele toxine au fost obținute de la Institutul Cantacuzino din București. Drept martori au fost utilizați șobolani cărora li s-a administrat același volum de ser fiziologic.

Animalele au fost sacrificate prin fractura axului cerebral urmată de secționarea carotidelor. Intervalele de la administrarea exotoxinelor și respectiv a serului fiziologic au fost de 30 și 60 de minute. Din miocard și din diafragm s-au recoltat pe gheață probe care au fost fixate în glutaraldehidă, postfixate în  $\text{OSO}_4$ , deshidratate în metanol și introduse în Epon. După secționare la ultramicrotom, secțiunile au fost colorate cu acetat de uranil și hidroxid de plumb. Ele au fost examinate la microscopul electronic JEM (Petrea și Litvac, 1962, Policard și colab. 1957, Porter și colab., 1967).

## REZULTATE

### Șobolanii martori

*Miocardul.* Capilarele sangvine sunt intacte, lumenul lor este ocupat de un precipitat amorf și de eritrocite.

\*Dr. Michaela Timar, Prof. Dr. Barbu Cușarencu, Prof. Dr. Mircea Ifrim, Dr. M. Dorofteiu - Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea din Oradea

\*\* N. Timar - Policlinica Județeană Bihor, Oradea

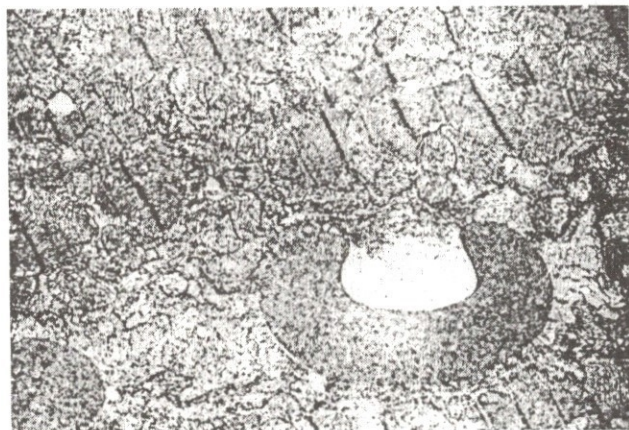
\*\*\* Maria Caloianu Iordăchel - Institutul de Biologie, Academia de Științe Medicale, București

Mitocondriile sunt aranjate în pachete, așezate ordonat printre fibrele musculare. Ele sunt ovalare sau rotunde, cu numeroase criste dispuse în paralel. Fibrele musculare au structură păstrată, cu benzile Z bine vizibile. Se văd clar și miofibrilele (Fig. 1 și 2) (Hatt, 1969, 1970).

*Diafragma* prezintă structură normală a unui mușchi striat.



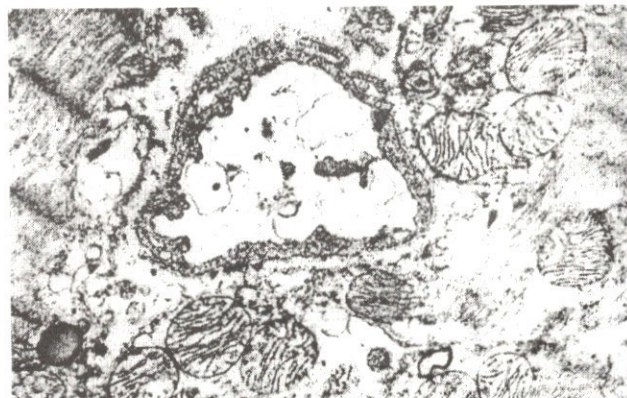
**Fig. 1 - Miocard de șobolan, martor.** Se poate vedea structura capilarului, a fibrei musculare cu benzi Z nucleu, mitocondrii sub formă de pachete printre fibre, cu prezența veziculelor în peretele capilar, și particule electronopace (dextran) (mărit de 7812 ori)



**Fig. 2 - Miocard de șobolan martor.** Structura capilarului în detaliu cu prezența hematiei, structura fibrei musculare cu banda Z bine vizibilă, mitocondrii sub formă de pachete, cu structura normală, prezența veziculelor și a particulelor electronopace (mărit de 13500 ori).

**Șobolanii injectați cu toxină Dick. Interval de 30 minute.**

*Miocardul.* Endoteliul capilar este extrem de aplatizat. În lumenul vascular se găsesc vacuole, cu profile membranare care uneori fuzionează. În țesutul conjunctiv apar semne de hipertrofie. Limita membranelor a fibrei musculare este îngroșată și prezintă vacuole. În unele cazuri mitocondriile sunt hipertrofiate și deformate, cu cristele distruse (Fig. 3 și 4).



**Fig. 3 - Miocard șobolan injectat cu toxină Dick la o jumătate de oră.** Secțiune transversală de capilar, endoteliu în mare parte extrem de aplatizat, iar în lumen se găsesc o serie de vacuole, cu profile membranoase, care uneori fuzionează, semnalăm existența unor granule electronopace, destul de rare și că în țesutul conjunctiv apar unele semne de hipertrofie, iar limita membranală a fibrei este mărită și cu vacuole (mărit de 22500 ori).

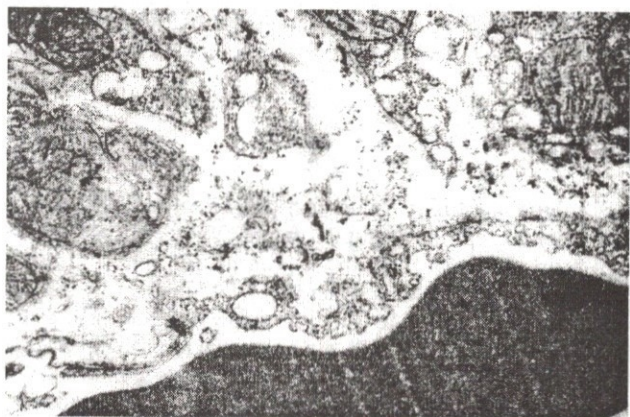


**Fig. 4 - Miocard șobolan injectat cu toxină Dick la o jumătate de oră.** Ansamblu de țesut muscular unde în unele cazuri mitocondriile din miocard sunt hipertrofiate și deformate, iar unele din ele cu structura de criste distruse (mărit de 22500 ori).

*Diafragma* are aspectul descris mai detaliat la 60 de minute (v. mai jos). Totuși, modificările nu sunt atât de exprimate.

**Șobolanii injectați cu toxină Dick. Interval de 60 minute**

*Miocardul.* Aspectul general este similar cu cel observat la 30 de minute. Mitocondriile suferă procese mai avansate de distrucție. Peretele capilar prezintă numeroase vezicule, unele din ele fiind deschise spre lumen, altele spre interior. Rar apar vacuole. S-a semnalat și apariția unui proces inflamator redus ca intensitate (Fig. 5 și 6).

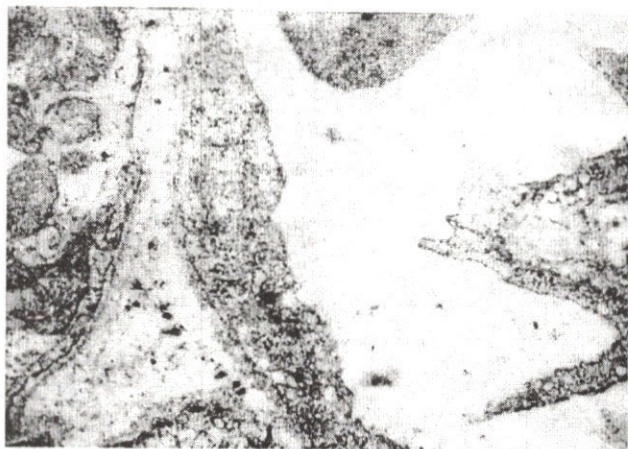


**Fig. 5** - Miocard de șobolan injectat cu toxină Dick după o oră. Ansamblu pe perete capilar în care se poate remarca prezența de numeroase vezicule unele dintre ele sunt deschise în afara lumenului, iar altele cu deschidere înspre interiorul lumenului, rare vacuole. În afara endoteliului se presupune prezența granulelor de glicogen (mărit de 45.000 ori).



**Fig. 6** - Miocard de șobolan injectat cu toxină Dick după o oră. Detaliu capilar cu prezența de granule dense mai mari față de cele de glicogen. Veziculele sunt multe, prezente în perete și se presupune înmagazinarea produsului în endoteliu capilar, cât și în vacuole, ceea ce explică un proces mai lent. Se semnalează și prezența unui exudat ușor (inflamator) (mărit de 35.000 ori).

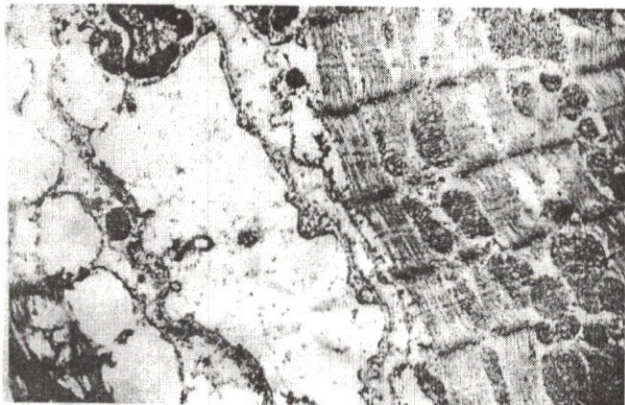
**Diafragmul.** Se remarcă la nivelul endoteliului capilar prezența unor vezicule grupate și a unor prelungiri spre lumen. Endoteliul are grosimi variabile, uneori este subțiat, în alte cazuri îngroșat (Fig. 7).



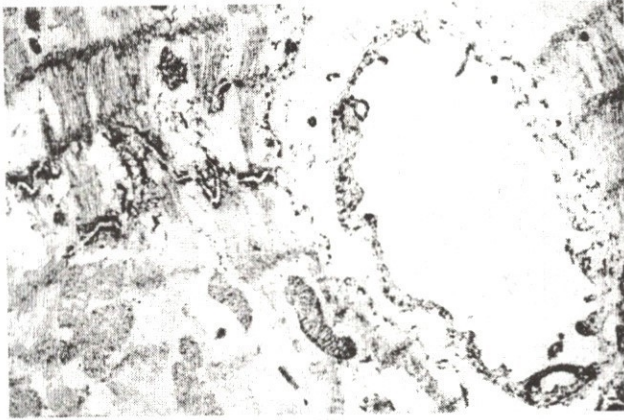
**Fig. 7** - Diafragm șobolan injectat cu toxină Dick după o oră. Detaliu de endoteliu capilar cu prezența veziculelor grupate în unele zone, prezența unor prelungiri de diverse mărimi care conțin câteva vezicule, iar la marginea exterioară prezența unor granule (mărit de 58500 ori).

#### Șobolanii injectați cu streptolizina O. Interval de 30 minute

**Miocardul.** Endoteliul capilar este mult subțiat, cu rare vezicule ce se deschid, fie spre lumen, fie spre interior. Nucleii celulelor endoteliale sunt inomogen colorați. S-au semnalat și modificări ale fibrelor musculare, constând în existența unor spații libere interfibrilare. Unele fibre musculare sunt distruse (atenuarea sau dispariția bandei Z). Mitocondriile sunt alungite, cristele conglomerate sunt ușor hiperchrome (Fig. 8 și 9).



**Fig. 8** - Miocard șobolan injectat cu streptolizina O după o jumătate de oră. Secțiune transversală prin capilar și fibră musculară, endoteliu capilar foarte mult subțiat, cu rare vezicule ce se deschid atât spre interiorul lumenului, cât și spre exterior, prezența nucleului celulei, fibrele musculare prezintă spații între ele, prezența a numeroase mitocondrii de formă rotundă și ovalară de diverse mărimi, prezintă și ele spații între ele și fibrele musculare (mărit de 19500 ori).



**Fig. 9.** - Miocard șobolan injectat cu streptolizina O după o jumătate de oră. Secțiune transversală prin capilar, care prezintă numeroase vacuole, rare vezicule, endoteliu crenelat cu prelungiri de diverse forme (microvili), țesutul muscular mult distrus, cu apariția de spații mari între fibrele musculare, în unele locuri se observă dispariția și atenuarea bandei Z mitocondrii de formă alungită, cu spații libere în jur, iar structura lor prezintă criste hiperchrome ușor conglomerate (mărit de 22500 ori).

Diafragma prezintă calitativ modificările descrise după 60 de minute (v. mai jos), dar ele sunt mai discrete.

#### Șobolanii injectați cu streptolizina O. Interval de 60 minute.

**Miocardul.** La nivelul endoteliului capilar se observă numeroase vezicule și câteva vacuole. Aspectul endoteliului este crenelat. Structura fină a fibrei miocardice este distrusă. Spațiul dintre fibre este lărgit (Fig. 10).



**Fig. 10.** Miocard șobolan injectat cu streptolizina O după o oră. Secțiune transversală prin capilar și fibră musculară cu prezența la nivelul endoteliului a numeroase vezicule și câteva vacuole, endoteliu crenelat, cu prezența unei vacuole ce se deschide la interior, cu prezența unor granule electronopace, la nivelul peretelui exterior, fibre musculare, grupuri de mitocondrii, unele așezate în șiruri de formă neregulată, cu structura fină a fibrei distrusă și lărgirea spațiului (mărit de 12000 ori).

**Diafragma.** Spațiile interfibrilare sunt mărite, endoteliul capilar este foarte mult subțiat. Există semne ale unui proces inflamator.

#### Discuții

Trebuie subliniat de la început că modelul nostru experimental reproduce numai parțial situația observată în patologia umană. Într-adevăr, admițând că toxinele streptococice prezente în amigdalele inflamate pătrund în sânge, acest proces este lent, progresiv (Burnie și colab. 1996), iar cantitatea de exotoxine este foarte probabil mică. Neavând posibilitatea de a reproduce aceste condiții, am procedat la injectarea intravenoasă a toxinelor, în cantități relativ mici. Sacrificarea animalelor s-a făcut la scurt timp, sperând că prin aceasta să putem mima efectul unor cantități mici de exotoxine.

Din cercetările noastre, rezultă că exotoxina Dick și streptolizina O produc modificări patologice ale miocardului și, în mai mică măsură, a diafragmului.

Două formațiuni histologice s-au dovedit a fi mai sensibile: capilarele și mitocondriile. Peretele capilar prezintă numeroase vezicule, uneori vacuolizate. Prezența lor indică, foarte probabil, procesul de creștere a permeabilității vasculare care are loc sub influența exotoxinelor streptococice. Acest proces a fost descris de noi cu ocazia unor experiențe efectuate pe cobai. Veziculele asigură probabil transportul exotoxinelor înspre interiorul celulelor musculare și în sens invers (fenomene de exocitoză și endocitoză) (Deleenback și colab. 1964).

Modificările mitocondriilor și, în special, distrugerea cristelor pledează pentru o hipoxie celulară. De notat, că modificări similare s-au observat și în alte situații experimentale (ischemie miocardică, infecție cu virusul Cocksackie) (Holescher și colab. 1961, Roy și colab. 1970). Prin urmare, modificările observate de noi pot fi considerate ca fiind puțin specifice. La aceasta se mai adaugă constatarea ca și diafragma este lezată într-o manieră similară, dar mult mai puțin intensă.

Fibrele miocardice sunt afectate mai ales de streptolizina O. De remarcat că lezarea lor este destul de discretă, distrucții ale fibrelor fiind observate numai pe puține secțiuni. În concluzie, se poate spune, că administrarea intravenoasă a exotoxinelor streptococice Dick și streptolizina O produc modificări patologice ale miocardului de șobolan, constând în leziuni capilare ale mitocondriilor și mai puțin intense ale fibrelor musculare (Ginsbury, 1972). Diafragma este și el modificat, dar într-o măsură mult mai redusă.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Burnie J.P., Brooks W., Donohoe M., Hodgetts S., al-Ghamdi A., Matthews R.C.: Defining Antibody Targets in Streptococcus Oral Infection, *Infect. Immun.* 64, 1600 - 1608, 1996
2. Deleenback R.J., Chang C., Peric B., Usami S., Gregersen M.I.: Effect of Endotoxin on Capillary Permeability to Macromolecules, *Am. J. Physiol.* 207, 518 - 525, 1964
3. Durack D.T., Beeson: Experimental Bactecidal Endocarditis II. Survival of Bacteria in Endocardial Vegetation, *Br. L. Exp. Pathol.* 53 - 50, 1972
4. Ginsbury I.: Mechanisms of Cell and Tissue Injury

Induced by Group A Streptococci Relation to Streptococcal Sequellae, *J. Infect. Dis.* 126, 294 - 320, 419 - 456, 1972

5. **Hat P.Y.**: Ultrastructure myocardique. *La Press Med.* 45, 2114, 1969

6. **Hatt P.Y., Gosgosgeat Y.**: Ultrastructure myocardique, *La Press Med.* 78, 15, 687 - 693, 1970

7. **Holescher B., Just O.H., Merker H.J.**: Studies by electronmicroscope of Various Forms of Induced cardiac Arrest in Dog and Rabbit. *Surgery* 49, 492 - 499, 1961

8. **Petrea I., Litvac B.**: Elemente de microscopie electronică. *Ed. Tehnică*, 9 - 77, 1962

9. **Policard A., Collet A., Pressgermain S.**: Étude au

microscope électronique des capillaires. *Acad. Anatomica Basel*, 30, 624 - 638, 1957

10. **Porter J., Nguyen H., Ahn H.**: Ultrastructure des capillaires sanguines. *Press Med.* 75, 1469 - 1472, 1967

11. **Roy P.E., Morin P.J., Gallis L., Cote G.**: Effects of Hypoxia and Acidosis on the Dog Heart, *J. Cardiovasc. Surg.* 11, 6, 460, 1970

12. **Schenk K.E., Stolpmann H.J., Gross U.**: Zur Frage der Autoimmunmyocarditis., *Ex. Med.* 255, 133, 1990

13. **Timar N.**: Modificări de permeabilitate a capilarelor sangvine în cursul anginelor streptococice și a stărilor postangiinoase. *Teza de doctorat*, Oradea.

## CONGRESUL AL II-LEA AL PNEUMOLOGILOR FRANCOFONI

În ultimele zile ale lunii ianuarie 1999, pneumologii francofoni și-au dat din nou întâlnire în capitala Franței.

Congresul (al II-lea), întins pe durata a aproape patru zile, a încercat să coordoneze mai multe acțiuni în paralel. Descongestionat de întâlnirile "de protocol" el s-a desfășurat pe mai multe direcții; au existat, astfel, marile teme de actualități, abordate cu dezinvoltură, grupate, în principal, în jurul temei principale - oncologia pneumologică. Ședințele au avut subiecte interesante precum: \* biologia cancerului bronșic, modalități terapeutice ale viitorului; \* tehnici diagnostice în cancerul bronșic (noile tehnici scintigrafice, locul și limitele citologiei în aceste forme de cancer); \* oncologia pediatrică; \* confruntările anatomo-patologice, clasificarea TNM; \* îngrijirea cancerului bronșic non-microcelular și a formei de cancer microcelular; \* radiologia intervențională, tratamentul chirurgical al cancerului bronșic, chirurgia mezoteliomului; \* profilaxia cancerului bronșic (lupta contra fumatului) și oncologia în cotidian (îngrijirile paliative, moartea în cadrul instituției spitalicești, stresul "actorilor" din sănătate în fața cancerului și a cancerosilor). Al doilea mare subiect abordat a fost modul de îngrijire al infecțiilor respiratorii comunitare (o pasiune mai veche a specialiștilor francezi). Nu au fost neglijate nici tematici ca: organizațiile de sănătate și rolul lor, astmul bronșic și BPOC (capcane și limite nosologice, nebulizarea în aceste afecțiuni, astmul dificil, tusea cronică, corticoterapia în patologia pulmonară), mucoviscidoza, azbestoza (supravegherea persoanelor expuse), asistența la domiciliu a copiilor și adulților etc. A treia oportunitate pe care a oferit-o acest congres a constat în încercarea de a menține linia confruntărilor specialiștilor în elucidarea unor cazuri care, expuse în debutul manifestării, au fost discutate pe larg în cadrul unor ședințe interactive.

Congresul de la Paris a fost o ocazie (oferită anual) de întâlnire a reprezentanților diferitelor societăți francofone - pentru a perfecta, pe viitor, noile acțiuni comune - dar și a unor grupe de experți (dintre care - aș menționa, ca fiind cele mai active, pe cele de oncologie și de asistență la domiciliu a bolnavilor cronici respiratori) pentru a analiza protocoalele unor cercetări comune.

Și din punctul de vedere al pneumologilor români, aceste dezbateri s-au dovedit interesante deoarece au reconfirmat faptul că între cele două societăți (SRPF și SPFL) există legături strânse, materializate în proiecte atractive ca de exemplu: trimiterea de stagieri români în spitale din Franța pentru perfecționare în variate domenii de vârf, debutul unui proiect de asistență la domiciliu împreună cu CARDIF, organizarea unor colocvii pentru tinerii rezidenți din România etc.

Nu în ultimul rând aș remarca ședințele de poster care, încadrate între marile reuniuni, pentru a nu văduvi participanții de o serie de manifestări interesante ce aveau loc în aceeași zi, au permis un schimb de experiență între diferitele școli francofone.

Încheierea congresului s-a făcut prin abordarea unor teme legate de poluarea atmosferică, "condimentată" cu concursuri și expoziții pe măsură. Au existat și alte acțiuni care au ieșit din rutina unui congres obișnuit ca de pildă: un concurs de fotografii pe teme legate de astm, lansarea oficială a utilizării Internetului în cadrul SPLF și inițierea, în acest domeniu, pentru a facilita accesul pneumologilor din toată lumea la informație.

*Dr. Florin MIHĂLȚAN*  
*Institutul de pneumofiziologie "M. Nasta", București*