

RILIEVI SUL COMPORTAMENTO DEL SISTEMA KALLIKREINOGENO - KALLIKREINA DURANTE ATTIVITA' FISICA PROGRAMMATA *

L. VECCHIET, E. CRISTIANO, M. CACCHIO

Università degli Studi di Chieti, Cattedra di Medicina dello Sport
Direttore inc.: Prof. L. Vecchiet

Università degli Studi di Firenze, Cattedra di Patologia Medica IV
Direttore: R. Galletti

INTRODUZIONE

In precedenti indagini è stato dimostrato che il plasma, dopo prove da sforzo, acquista la capacità di provocare dolore se iniettato per via intradermica (1).

In ricerche successive, volte ad approfondire alcuni aspetti biochimici del fenomeno, è stato rilevato che l'attività tissulo-algogena si associa ad un incremento delle chinine plasmatiche (2, 3).

Sulla base delle conoscenze dei rapporti esistenti fra la liberazione delle chinine e attività esterasica è sembrato quindi opportuno studiare il comportamento del sistema Kallikreinogeno-Kallikreina nel plasma durante un'attività fisica di intensità progressiva protratta fino alla insorgenza del dolore nei muscoli in attività.

MATERIALE E METODO

Sono stati presi in esame 13 soggetti, di sesso maschile, di età compresa tra i 18 e i 26 anni, clinicamente sani, non allenati.

Ciascun soggetto è stato sottoposto ad una prova da sforzo su cicloergometro di Fleisch, di tipo rettangolare ad iniziare da una potenza di 50 watt. Tale potenza veniva aumentata di 25 watt ogni 3 minuti.

* Ricerca eseguita presso il Centro Studi per la Medicina dello Sport applicata al Calcio (Il Responsabile: prof. L. Vecchiet) del Settore Tecnico della F.I.G.C., S. Maria in Coverciano - Firenze.

La prova era protratta fino alla insorgenza del dolore nei muscoli scheletrici impegnati.

Per la determinazione del Kallikreinogeno plasmatico, si procedeva, per ciascun soggetto, al prelievo di campioni di sangue venoso immediatamente prima, e dopo sforzo muscolare da una vena dell'avambraccio, mediante un ago-cannula collegato con una siringa di polietilene; l'uso di materiale siliconato o in polietilene è necessario al fine di evitare l'attivazione da contatto (4).

Il sangue venoso veniva trasferito in provette di polietilene contenenti un volume di sodio citrato al 3.8% per 9 volumi di sangue e immediatamente centrifugato a 3.500 giri/m' per 20' a 4 °C. Dopo la centrifugazione, il plasma veniva diviso in due frazioni rispettivamente di 0.25 ml e 0.5 ml.

Al primo campione venivano aggiunti 2 ml di tris-imidazolbuffer 0.15 M a pH 7.9 e posto ad incubare a bagnomaria a 37 °C per 2 minuti.

Il secondo campione veniva mescolato con 0.5 ml di sospensione di caolino, (che attiva il fattore di Hageman), lasciato per 10' a 0 °C e successivamente centrifugato per 5' a 2500 giri/m' a 4 °C; ciò allo scopo di avere a disposizione, per la successiva lettura spettrofotometrica, un surnatante più limpido. Del plasma attivato venivano prelevati 0.25 ml e trattati con lo stesso procedimento usato per la prima frazione.

A tutti i campioni, non attivati e attivati con caolino, veniva infine aggiunto e agitato energicamente il substrato sintetico, Chromozym (CPK) (N-Benzoil-L-Propil-L-Phenilalanil-L-Arginin-p-Nitroanilide : HCl), la cui idrolisi da parte dell'enzima esterasico sviluppa una reazione colorimetrica, basata sulla liberazione di una sostanza gialla, la p-nitroanilina, dal substrato incolore (5).

I valori relativi sia al Kallikreinogeno, sia all'attività esterasica spontanea sono stati letti con spettrofotometro Coleman 55 a 405 nm ed espressi come mU/ml di plasma.

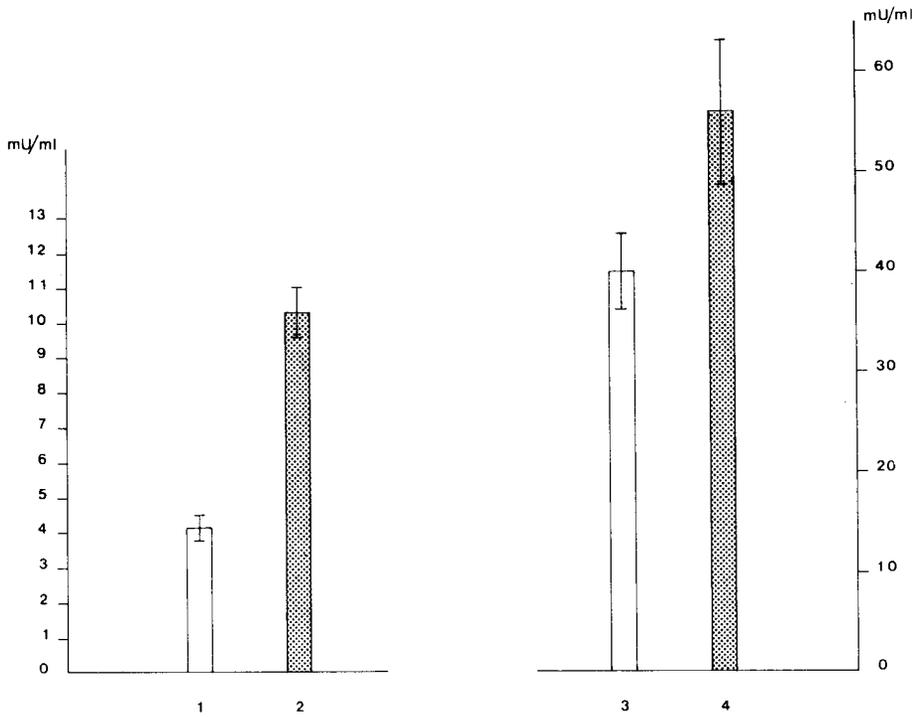
La Kallikreina libera nel plasma veniva determinata registrando l'incremento in O.D. al tempo 0; il Kallikreinogeno veniva invece determinato registrando la differenza tra il valore della Kallikreina dopo 10' di attivazione con caolino e quello al tempo 0 (Kallikreina libera plasmatica).

I valori ottenuti sono stati elaborati con metodo statistico.

ESPOSIZIONE DEI RISULTATI

I risultati relativi al dosaggio della Kallikreina libera e di quella attivabile immediatamente prima e dopo lavoro muscolare per ciascun soggetto esaminato sono esposti in tabella (Tav. 1).

Nella stessa tabella sono riportati anche i risultati dell'analisi statistica.



Tav. 1 - 1) kallikreina libera prima dell'esecuzione dello sforzo; 2) kallikreina libera dopo l'esecuzione dello sforzo; 3) kallikreinogeno prima dell'esecuzione dello sforzo; 4) kallikreinogeno dopo la esecuzione dello sforzo.

Casi	Attività esterasica spontanea della Kallikreina		Esterasi attivata con caolino per 10' a 0° C	
	A riposo	Dopo sforzo	A riposo	Dopo sforzo
1	8.25	14.6	44	70.4
2	4	6.5	54.4	72.8
3	7.25	10.4	42	65.6
4	2.5	7.2	34	50
5	1.25	13.4	43	68
6	7	12.2	46	68.4
7	4.75	11	27	31.5
8	1.5	4.8	38	51
9	6.75	8.2	30	34
10	3.8	6.2	32	34.8
11	2	4	49	64
12	1.25	13.6	42	62
13	4.75	22	39.50	44
M = 4.23 ± 0.67		10.31 ± 1.31	40.06 ± 2.16	55.11 ± 4.16
D.S. = ± 2.37		± 4.76	± 7.49	± 14.43
T =		3.97		3.20
P =		> 0.01		> 0.01

SINTESI DEI RISULTATI E CONCLUSIONI

Le ricerche compiute hanno dimostrato, dopo l'esecuzione di un lavoro di intensità crescente fino alla insorgenza di dolore nei muscoli sottoposti ad attività:

- 1 - un netto incremento della Kallikreina libera;
- 2 - un incremento minore, sia pure statisticamente significativo, della pre-Kallikreina.

L'aumento della esterasi libera appare in armonia con le osservazioni sull'attivazione del sistema chininogeno-chinine durante l'attività fisica ed apporta un ulteriore contributo alla interpretazione patogenetica del dolore insorgente nei muscoli impegnati in sforzi di particolare intensità e durata.

RIASSUNTO

Gli Autori determinano l'attività esterasica del plasma di soggetti giovani, clinicamente sani, non allenati, prima e dopo l'esecuzione di uno sforzo di intensità progressiva, protratto fino ad insorgenza di dolore nei muscoli in attività.

Rilevano dopo lo sforzo un incremento, statisticamente significativo, sia della kallikreina libera che della pre-kallikreina.

BIBLIOGRAFIA

- 1) VECCHIET L., MATASSI L., FINI F., MARRA N., BRANZI G.C., BUZZELLI G.: L'influenza del lavoro muscolare sull'attività tissulo-algogena del plasma. *Med. Sport.* 22, 169, 1969.
- 2) VECCHIET L., MATASSI L., BUZZELLI G., FINI F., BRANZI G.C.: Rilievi sull'attività tissulo-algogena del plasma dopo lavoro muscolare. Nota I: Determinazione dell'attività plasmachinica. *Sett. Med.* 56, 823, 1968.
- 3) VECCHIET L., DOLCE V., GALLETTI R.: Algogenic activity of human plasma following muscular work. *Adv. Med. Biol.* 70, 177, 1975.
- 4) KEELE C.A., ARMSTRONG D.: *Substances producing pain and itch.* Ed. Arnold, London, 1964.
- 5) VECCHIET L., CACCHIO M., CRISTIANO E., DEL BOCCIO G.: Kallikreinogen-Kallikrein enzymatic system in human plasma. Spontaneous and after activation pool determination in healthy boys, through the use of a new kit. (in corso di stampa).