

Disciplina de fiziopatologie (cond.: prof. dr. A. Cojocaru, doctor in medicină) a
I.M.F. din Tîrgu-Mureş

CERCETĂRI PRIVIND TRANSPORTUL PEPTIDELOR PE MACROMOLECULELE PROTEINELOR SERICE

Nota 1. Efectul variațiilor pH-ului serie asupra concentrației peptidelor
in ultrafiltrat

A. Şchiopu, C. Buksa, A. Cojocaru *

Prođuşi de policondensare ai aminoacizilor, proteinele şi peptidele sînt compuşi cu proprietăţi amfotere conferite de către grupările libere reactive situate la capetele lanţurilor moleculare sau adiacente acestora,

¹⁾ Asistenţă tehnică: Păcurar Laura, Oancea Floarea

reactivitatea acestor grupări fiind condiționată de pH-ul, temperatura și forța ionică a mediului de dispersie.

Prin intermediul grupărilor reactive se realizează legături disulfurice, saline, esterice, de hidrogen, prin forțe van der Waals, un rol deosebit revenind în interacțiunea proteină-peptid, legăturii ionice (1, 8).

Stabilirea de legături între proteinele serice și peptide, dependente de pH reprezintă un mecanism fiziologic de modularea a activității biologice a unor compuși peptidici (2).

Plecind de la aceste considerații ne-am propus într-o primă fază a cercetărilor noastre să verificăm în ce măsură alcalinizarea serului aduce după sine eliberarea unor eventuale peptide adsorbite de proteine la pH-ul 7,35, determinind în consecință creșterea lor în ultrafiltrat.

Material și metodă

Am analizat concentrația peptidelor la un lot de 11 subiecți dintre care 6 donatori de sînge și 5 bolnavi cu reumatism articular acut. Serurile analizate au fost în prealabil diluate 1/100 (v/v) în tampon de fosfați izoton la pH 6,8 și 8,0 apoi filtrate prin filtre de colodiu (Merck) 4% preparate în laboratoarele disciplinei de fiziopatologie și ale Centrului de Cercetări Medicale Tirgu-Mureș. În cazul utilizării filtrelor de colodiu dat fiind dispersia mare a dimensiunilor porilor în jurul diametrului mediu, au fost necesare refiltrări, prin acest procedeu excludîndu-se prezența în ultrafiltrat a moleculelor care depășeau ca dimensiuni media porilor membranei, fapt atestat de constanța extincțiilor ultrafiltratului. Ultrafiltratele au fost analizate prin electroforeză pe gel de agar, imunoelectroforeză și spectrofotometrie în U.V. la 206 nm (6).

Rezultate și discuții

Valorile extincțiilor și respectiv ale concentrațiilor peptidelor găsite în serurile donatorilor normali sînt prezentate în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Concentrația peptidelor serice din ultrafiltrate la donatorii de sînge

| Nr. probei | pH 6,8 | | pH 8,0 | |
|------------|------------|---------------------|------------|---------------------|
| | E (206 nm) | Concentrația (g/l) | E (206 nm) | Concentrația (g/l) |
| 1. | 0,330 | $165 \cdot 10^{-3}$ | 0,570 | $285 \cdot 10^{-3}$ |
| 2. | 0,320 | $160 \cdot 10^{-3}$ | 0,610 | $305 \cdot 10^{-3}$ |
| 3. | 0,330 | $165 \cdot 10^{-3}$ | 0,580 | $290 \cdot 10^{-3}$ |
| 4. | 0,280 | $140 \cdot 10^{-3}$ | 0,480 | $240 \cdot 10^{-3}$ |
| 5. | 0,310 | $155 \cdot 10^{-3}$ | 0,500 | $250 \cdot 10^{-3}$ |
| 6. | 0,340 | $172 \cdot 10^{-3}$ | 0,580 | $290 \cdot 10^{-3}$ |

Din tabel reiese că în serurile analizate concentrația peptidelor variază la pH-ul 6,8 de la $140 \cdot 10^{-3}$ la $172 \cdot 10^{-3}$ g/l fiind mai mare la pH-ul 8,0 la care concentrația oscilează între $240 \cdot 10^{-3}$ — $305 \cdot 10^{-3}$ g/l. Ace-

lași fenomen al creșterii concentrației peptidelor în ultrafiltrat se observă și la subiecții cu reumatism articular acut. La pH-ul 6,8 concentrația peptidelor variază de la $70 \cdot 10^3$ la $160 \cdot 10^3$ g/l și crește la pH-ul 8,0 de la $110 \cdot 10^3$ la $260 \cdot 10^3$ g/l (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2

Concentrația peptidelor serice din ultrafiltrate la bolnavii cu reumatism articular acut

| Nr. probei | pH 6,8 | | pH 8,0 | |
|------------|------------|---------------------|------------|---------------------|
| | E (206 nm) | Concentrația (g/l) | E (206 nm) | Concentrația (g/l) |
| 1. | 0,220 | $110 \cdot 10^{-3}$ | 0,520 | $260 \cdot 10^{-3}$ |
| 2. | 0,140 | $70 \cdot 10^{-3}$ | 0,220 | $110 \cdot 10^{-3}$ |
| 3. | 0,320 | $160 \cdot 10^{-3}$ | 0,440 | $220 \cdot 10^{-3}$ |
| 4. | 0,280 | $149 \cdot 10^{-3}$ | 0,360 | $180 \cdot 10^{-3}$ |
| 5. | 0,280 | $149 \cdot 10^{-3}$ | 0,420 | $210 \cdot 10^{-3}$ |

Pentru ilustrare în figura nr. 1 sînt reprezentate curbele de absorbție la unul dintre serurile analizate.

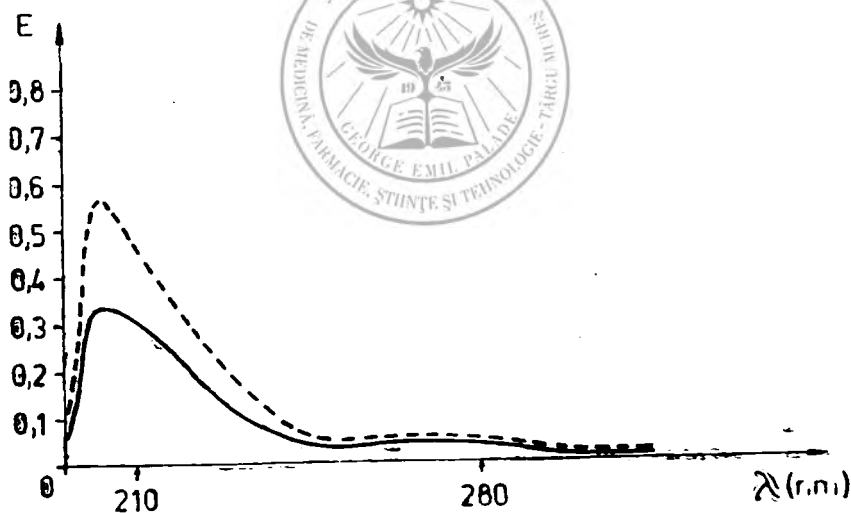


Figura nr. 1. Curba de absorbție a ultrafiltratului probei nr. 6 — — la pH 8,0 — la pH 6,8

Se remarcă creșterea extincției la 206 nm la proba tratată cu tampon fosfați pH 8,0 față de proba prelucrată cu același tampon dar la pH-ul 6,8. De asemenea se constată că la 280 nm nu există diferențe de extincții între cele două probe.

Dintre proteinele serice separate prin electroforeză în gel de agar s-ar putea ca un rol important în adsorbția peptidelor să-l aibă albumina serică cunoscut fiind proprietățile sale de transportor (1, 3, 5, 7, 9).

Dat fiind diversitatea de structură și acțiune a compușilor peptidici, inactivarea lor prin adsorbție pe macromoleculele proteice apare ca un fenomen interesant cu implicații largi în reglarea biologică.

Concluzii

1. La toate serurile analizate, indiferent de proveniență, am observat o creștere a peptidelor în ultrafiltrat în urma alcalinizării probelor prin tamponare la pH 8.0.

2. Refiltrarea ultrafiltratelor a permis excluderea din ultrafiltrat a moleculelor cu un diametru mai mare decât diametrul mediu al porilor membranei filtrante.

3. Rezultatele obținute s-ar putea datora faptului că alcalinizarea probelor de ser facilitează desorbția peptidelor de pe acceptorii macromoleculari proteici ceea ce explică creșterea concentrației peptidelor în ultrafiltrat.

Bibliografie

1. Acki K.: *J. Amer. Chem. Soc.* (1957), 79, 3385;
2. Bedeleanu D., Manta I.: *Biochimie medicală și farmaceutică*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1985;
3. Brodersen R.: *J. Clin. Invest.* (1974) 54, 1353;
4. Klotz I.M.: *Ann. New York Acad. Sci.* (1973), 226, 18;
5. Klotz I.M., Walker F.M., Pivan R.B.: *J. Amer. Chem. Soc.* (1946), 68, 1486;
6. Manta I., Cucuianu M.: *Metodei biochimice în laboratorul clinic*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1976;
7. Peters T.: *J. Clin. Chem.* (1977), 23, 5;
8. Popescu A., Cristea E., Zamfirescu M., Gheorghiu M.: *Biochimie medicală*, Ed. Med., București, 1980;
9. Vijai K.K., Foster J.F.: *Biochemistry* (1967), 6, 1152.

A. Șchiopu, C. Buksa, A. Cojocar

RESEARCHES REGARDING PEPTID TRANSPORT ON MACROMOLECULES OF SERUM PROTEINS

Note 1: Effect of serum pH variations on peptid concentration in ultrafiltrate

The effect of human serum alkalization on the desorption of peptids from the protein macromolecules was studied. In all the sera, irrespective of their origin, we observed an increase of peptids in ultrafiltrate after the alkalization of the sample by buffering at pH 8.0. The refiltration of the ultrafiltrates made it possible to exclude from them the molecules with a larger diameter than the mean diameter of the pores of the filtering membrane. The results might be attributed to the fact that the alkalization of the samples of serum facilitates the desorption of peptids from the acceptors of protein macromolecules, which accounts for the increase of peptid concentration in the ultrafiltrate.