

STUDIUL COMPONENTEI PROTEICE A LIPOPROTEINELOR*) (Comunicare preliminară)

Eperjessy Anna, Kiss Arpád, Csegedi Jolán

Componenta lipoproteinelor, precum și acțiunea lor asupra respirației tisulare a ficatului de șobolan le-am clarificat în lucrări anterioare. În urma experiențelor noastre am stabilit că lipoproteinele ce servesc ca substrat sînt folosite de celula hepatică pentru acoperirea necesităților energetice.

Lipoproteinele unor organe se doosebesc prin componență, fapt care se reflectă și în modificarea valorii coeficientului respiratoric. Unele modificări care apar, le explicăm prin diferența conținutului de lipide, colesterol, lecitină etc., ce survin ca urmare a analizelor chimice, iar pe de altă parte, prin aceea că lipidele la suprafața proteinelor, probabil că formează un strat monomolecular devenind astfel accesibile și apte pentru oxidarea celulară.

Pentru demonstrarea acestei ipoteze am preparat lipoproteine sintetice din albumine de mărimi moleculare variate (lecitin-proteine) după metoda Prizylecky, din ovalbumine, peptonă Witte și lecitină pură. Valoarea coeficientului respiratoric obținut din oxidația acestora am comparat-o cu valoarea oxidației unei emulsii de lecitină pură.

Am constatat că lipoproteinele sintetice în comparație cu cele naturale se oxidează de asemenea ușor, și s-au dovedit de o reală valoare mai ales cele pregătite din peptonă Witte și lecitină, care prezintă o intensitate oxidativă mai mare ca lipoproteina din ficat de bovine. Lipoproteinele pregătite din peptonă Witte în cantitate de 0,52 mg cu un conținut de lecitină de 0,127 mg au coborît valoarea coeficientului respiratoric la $RQ = 0,68$. Valori scăzute analoage am mai obținut numai cu 1,49 mg ovalbumină, al cărei conținut de lecitină corespunde la 0,52 mg.

* Lucrare prezentată în cadrul sesiunii științifice din 31 decembrie 1957 a Bazei de cercetări Tg.-Mureș a Academiei R.P.R.

Din acestea se constată indubitabil că nu numai lipidele ci și componentele proteice au un rol important în oxidația biologică a lipidelor.

Pe baza rezultatelor de mai sus am procedat la examinarea lipoproteinelor provenite din sânge, creier, splină și ficat de bovine.

I. Conținutul în acid aminic al lipoproteidelor sanguine

1. Lisină
2. Ornitină
3. Acid asparagic
4. Serină
5. Treonină
6. Acid glutamic
7. Triptofan
8. Tirozină
9. Metionină
10. Valină
11. Fenilalanină
12. Leucine

II. Conținutul în acid aminic al lipoproteidelor creierului

1. Lisină
2. Ornitină
3. Citrulină
4. Serină
5. Treonină
6. Glicocol
7. Acid glutamic
8. Tirozina
9. Metionină
10. Fenilalanină
11. Leucine

III. Conținutul în acid aminic al lipoproteidelor splinei

1. Lisină
2. Acid asparagic
3. Serină
4. Treonină
5. Acid glutamic
6. Tirozină
7. Metionină
8. Valină
9. Leucină

IV. Conținutul în acid aminic al lipoproteidelor ficatului

1. Histidină
2. Serină
3. Treonină
4. Acid glutamic
5. Tirozină
6. Metionină
7. Valină
8. Leucină

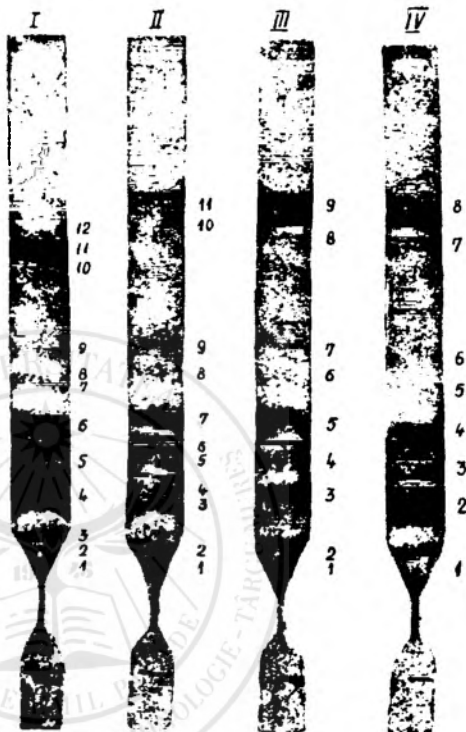


Fig. 1.

Metode și rezultate.

Pentru examinarea componenței proteice ne-am folosit de metoda cromatografică. În experiențele noastre am utilizat lipoproteinele diferitelor organe, folosindu-ne de metoda comunicată în lucrările noastre anterioare, acordând o deosebită atenție faptului că condițiile de preparare să fie întrutotul identice celor anterioare.

Lipoproteinele în formă de pulbere fină le-am degresat timp de 24 ore într-un amestec de alcool-eter în proporție a 1 : 2. O cantitate de 0,02 g de proteine degresate, uscate, le-am hidrolizat cu 10 ml de acid clorhidric 20% timp de 24 ore în fiole închise la 100—104° C. Hidrolizantul obținut l-am filtrat la sec și amestecându-l cu puțină apă l-am evaporat din nou. Hidrolizantul uscat l-am dizolvat în 10 ml apă și cu ajutorul unei micropipete am picurat pe hîrtia cromatografică o cantitate de 0,01 ml, executînd cromatografie uni- și bidimensională pe hîrtie Whatmann nr. 1.

Metoda unidimensională Werner—Mathias am modificat-o folosind o fișie de 2 cm lățime în loc de 4,5 cm, care în partea de jos se îngustează la 2 mm pe o porțiune de 25 mm pentru ca apoi să se transforme într-o fișie lată de 1,5 cm. Avantajul folosirii unei astfel de hîrtii constă în aceea că diferenții aminoacizi apar în vergeturi bine demarcate.

Amestecul solvent n-alcool butilic-acid acetic glacial-apă se află în proporție de 4 : 1 : 1 și amestecîndu-le bine soluțiile în ordinea și cantitatea arătată, înainte de întrebuițare le lăsăm cîteva ore în repaus.

Timpul de cromatografiere este 19—21 ore. Temperatura 19—21° C. pH = 1.

După terminarea cromatografierii scoatem hîrtia din aparatul ermetic închis, o uscăm și pe urmă o stropim uniform cu o soluție de alcool butilic cu 0,1% ninhidrină. Iar apoi o păstrăm timp de 5—10 minute în etuvă la temperatură de 100—104° C.

La cromatografia unidimensională valoarea R_f a unor aminoacizi fiind prea apropiată a fost necesară pentru control efectuarea cromatografiei bidimensionale. În acest scop la cromatografia bidimensională am utilizat hîrtia Whatmann Nr. 1. cu dimensiunile 19 × 19 cm. În prima dimensiune am utilizat ca solvent n-alcool-butilic-acid acetic glacial-apă în proporția 4 : 1 : 1.

Tabelul nr. 1.

<i>Lipoproteidele</i>			
serului sanguin	creierului	splinei	ficatului
1. Acid asparagic	Acid glutamic	Acid asparagic	Histidină
2. Acid glutamic	Serină	Acid glutamic	Acid glutamic
3. Serină	Glicocol	Serină	Serină
4. Treonină	Treonină	Treonină	Treonină
5. Tirozină	Tirozină	Tirozină	Tirozină
6. Triptofan*	Metionină	Metionină	Metionină
7. Metionină	Lizină	Valină	Valina
8. Lisină	Ornitină	Lizină	Leucine
9. Ornitină	Fenilalanină	Leucine	
10. Valină	Leucine		
11. Fenilalanină			
12. Leucine			

Triptofanul l-am identificat din hidrolizatul alcalin.

În dimensiunea a doua soluția a fost fenol saturat cu apă, în atmosferă amoniacală. Durata cromatografiei la prima dimensiune este 7—8 ore, durata celei de a doua dimensiuni este 12—13 ore, temperatura 19—20° C, pH = 1.

A. EPERJESSY ȘI COLAB.: STUDIUL COMPONENTEI PROTEICE A LIPOPROTEINELOR

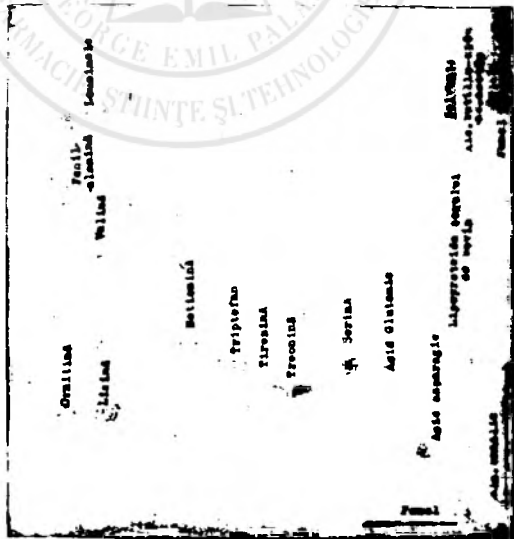


Fig. nr. 2.

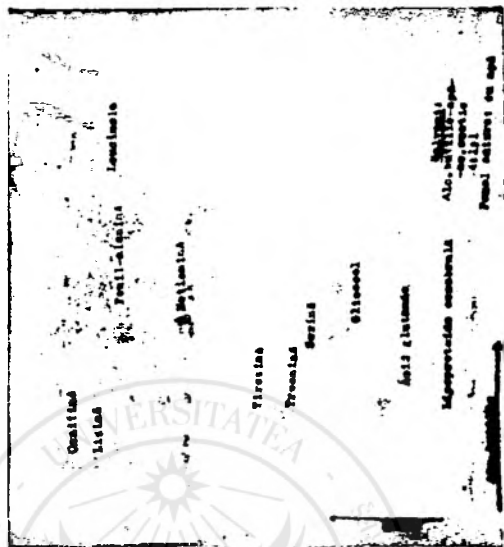


Fig. nr. 3.

A. EPERJESSY ȘI COLAB.: STUDIUL COMPONENTEI PROTEICE A LIPOPROTEINEI

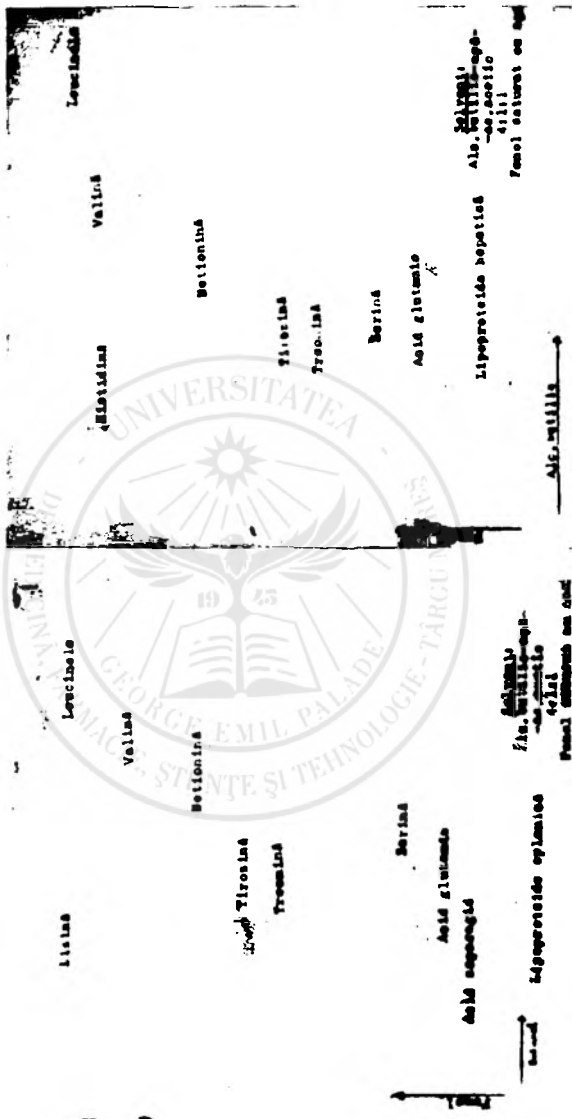


Fig. nr. 4.

Fig. nr. 5.

2. Rezistența aceleiași tulpini după un pasaj pe animale de experiență (cobai) tratate cu 20 mg/kilocorp streptomycină pe zi:

	Față de sol. de 100 γ /ml Str.	Față de sol. de 200 γ /ml Str.	Față de sol. de 300 γ /ml Str.
1.	0	0	1 mm
2.	0	0	1 mm
3.	0	1 mm	2 mm
4.	0	0	0
5.	0	0	1 mm
6.	0	1 mm	1 mm
7.	0	0	1 mm
8.	0	0	2 mm
9.	0	0	0
10.	0	1 mm	1 mm

prezintă în a 3-a zi un punctat cardiac steril, însă cele inoculate cu tulpini streptomycinorezistente au sucombat, iar tulpinile izolate din punctia cardiacă (deci generațiile următoare ale tulpinii inoculate) au prezentat o rezistență de 2—3 ori mărită față de cea inițială (rezistența inițială fiind stabilită mai înainte cantitativ), după cum reiese din tabelul nr. 2.

Concluzii

S-a examinat antibiograma a 50 de tulpini de stafilococi patogeni, izolate de la personalul spitalului din Odorhei. Între frecvența aplicării antibioticelor utilizate la diferitele secții și rezistența față de antibiotice a tulpinilor izolate se constată un paralelism bine determinat.

Pentru formarea rezistenței față de streptomycină a tulpinii de staph. aureus haem. e suficient un singur pasaj.

Sosit la redacție: la 31 martie 1958.

Bibliografie

1. BALS M.: Comunicare personală; 2. BARBER: Apariția bacteriilor rezistente la medicamente. J.M.E.I. 1955, 9, 105—118.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И СТАТИСТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ В СВЯЗИ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ БАКТЕРИЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К АНТИБИОТИКАМ

К. Кинда, А. Якловский

Исследуя антибиогамму 50-ти больничных патогенных стафилококковых штаммов, авторы выявили наличие параллелизма между их сопротивляемостью к антибиотикам и частотой применения различных видов антибиотикотерапии в разных отделениях. Вследствие одного пассажа сопротивление стафилококковых штаммов к антибиотикам увеличивается в 2—3 раза по сравнению с исходной величиной

DONNÉES EXPERIMENTALES ET STATISTIQUES CONCERNANT LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTI-BIOTIQUES

Kinda K., Jaklowszky A.

En étudiant l'antibiogramme de 50 souches de staphylocoques pathogènes d'hôpitaux, les auteurs ont trouvé un parallélisme entre la résistance de ceux-ci aux antibiotiques et la fréquence d'applications des sortes d'antibiotiques utilisés par les différentes sections. A l'occasion d'un passage, la résistance aux antibiotiques des souches de staphylocoques augmente de 2 à 3 fois la valeur initiale.