

CERCETĂRI COMPARATIVE ÎNTRE LIPOPROTEIDELE CREIERULUI BOVIN ȘI ALE CREIERULUI PĂSĂRILOR DE CURTE

A. Eperjessy, A. Kiss, J. Csegedi, L. Nemes, J. Veréph

În comunicările noastre anterioare (1, 2, 3, 4) ne-am ocupat de rolul pe care îl au în oxidația biologică lipoproteidele diferitelor organe (ale serului, splinei, ficatului, creierului bovin), precum și de compoziția lor chimică. În urma experiențelor efectuate am stabilit că lipoproteidele diferitelor organe se deosebesc fundamental unele de altele atât în ce privește compoziția lor chimică, cât și acțiunea pe care o exercită asupra țesutului respirator (5). Am constatat de asemenea că compoziția calitativă a aminoacizilor ce se găsesc în hidrolizatul albuminic al diferitelor lipoproteide degresate e variată. Dintre aminoacizii

cunoscuți am putut identifica 8—12, și dintre aceștia 3—5 aminoacizi variază în funcție de lipoproteide.

Cercetările noastre de pînă acum confirmă parțial supoziția după care componența calitativă a albuminei legată de partea lipidică, influențează acțiunea pe care o exercită aceasta în oxidația biologică.

În lucrarea de față întreprindem un studiu comparativ asupra deosebirilor manifestate de lipoproteidele cerebrale ale mamiferelor și păsărilor în ce privește compoziția chimică și acțiunea lor în oxidația biologică.

Material utilizat și rezultatele obținute

În experiențele noastre am utilizat creier de păsări obținut de la catedra de biologie și de la abator. Lipoproteidele le-am extras prin metoda relatată în lucrările noastre anterioare (4). Lipoproteidele obținute au fost examinate din punct de vedere chimic după cum urmează:

- Determinarea cantitativă a fosforului am efectuat-o după metoda Fiske—Subarow, prin fotocolorimetric și din valoarea fosforului obținut am determinat fosfatidele exprimate în lecitină.
- Cantitatea lipidică totală am determinat-o prin metoda oxidării cu acid cronic.
- Colesterolul l-am determinat prin metoda digitoninică cu fotocolorimetru.
- Conținutul în azot al lipoproteidelor s-a pus în evidență prin metoda Parnas—Wagner.

Rezultatele le prezentăm în tabelul Nr. 1.

Tabelul Nr. 1.

| Nr | Fosfor | Lectină | Colesterol | Conținut lipidic total | Azot |
|----------------|---------------|---------------|-------------|------------------------|-------------|
| 1. | 0,571 | — | 6,73 | 47,70 | 8,45 |
| 2. | 0,440 | — | 6,94 | 49,00 | 8,15 |
| 3. | 0,580 | — | 7,60 | 49,00 | 9,16 |
| 4. | 0,500 | — | 7,10 | 47,70 | 8,26 |
| 5. | 0,584 | — | 6,20 | — | 7,80 |
| 6. | 0,650 | — | 6,20 | — | 7,09 |
| 7. | 0,540 | — | 6,20 | — | 9,89 |
| 8. | 0,600 | — | 6,20 | — | 8,58 |
| 9. | 0,510 | — | — | — | — |
| Valoare medie* | 0,552 ± 0,006 | 13,41 ± 0,006 | 6,71 ± 0,50 | 48,35 ± 0,65 | 8,42 ± 0,79 |

* Datele sînt exprimate în g%.

Lipoproteidele cerebrale ale păsărilor au următoarele proprietăți: sînt de culoare brună-gălbui, consistența lor e grăsoasă, sînt greu pulverisabile, în apă, după un timp se umflă. Lipoproteidele cerebrale bovine în soluție tampon la pH=7 se dizolvă ușor, în schimb cele de păsări se dizolvă foarte greu în soluții tampon pH = 8. Soluția e opalescentă la temperatura ambiantă, la 60—70° C în baie Marie se limpezește, iar prin răcire devine din nou opalescentă. Prin încălzire proprietățile nu se schimbă. În prezența acizilor precipită, iar în baze se dizolvă. Lipoproteidele cerebrale de pasăre sînt sensibile la soluții concentrate de săruri așa de ex.: în prezența soluției concentrate de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ precipită.

Am determinat și zona de flocație a lipoproteidelor. La o serie de 10 ml m/15 soluție tampon de fosfat, am adăugat cîte 1 ml lipoproteide în soluție 1%. După amestecarea soluțiilor pH-ul l-am determinat potențiometric. La pH = 8,30 soluția este limpede, la pH = 7,65 apare opalescență și la pH = 6,61 flocoalează. Zona de flocație este destul de extinsă. Am observat diferențe și între zonele de flocație.

La lipoproteidele cerebrale bovine zona de flocculație începe la pH = 5,97 și la pH = 4,59 flocculează. *Fein-Schmidt* (8) atrage atenția că, dacă soluția de lecitină i se adaugă o proteină, zona de flocculație a lecitinei se extinde.

Studiul componenței proteice a lipoproteidelor cerebrale de pasăre.

Lipoproteidele pulverizate fin le-am degresat cu un amestec de alcool-eter în proporție de 1:2; din partea proteică uscată și degresată am hidrolizat 0,02 g timp de 24h în 10 ml de acid clorhidric 20%. Hidrolizatul proteic l-am examinat cromatografic prin metoda uni- și bidimensională. Prin metoda ascendentă unidimensională cromatografică Werner Mathias, valorile Rf ale aminoacizilor s-au dovedit prea apropiate, fapt care ne-a determinat să utilizăm drept control și metoda cromatografică bidimensională. Experiențele le-am efectuat pe hîrtie de filtru Watmann Nr. 1. Concomitent cu hidroliza acidă am executat și hidroliza bazică pentru identificarea triptofanului, care în soluție acidă se descompune. Această însă nu a putut fi pusă în evidență nici chiar în hidrolizatul alcalic (v. fig. 1 și 2).

Cromatogramele lipoproteidelor cerebrale bovine le prezentăm în fig. 3 și 4.

Pentru o mai clară prezentare a aminoacizilor lipoproteidelor cerebrale ale păsărilor și bovinelor, obținute prin hidroliza proteinelor cu ajutorul metodei cromatografice, am întocmit tabelul Nr. II.

Tabelul Nr. II.

| Nr. | Lipoproteida cerebrală de pasăre | Lipoproteida cerebrală de bovine |
|-----|----------------------------------|----------------------------------|
| 1. | Histidină | — |
| 2. | Arginină | — |
| 3. | Serină | Serină |
| 4. | Treonină | Treonină |
| 5. | Acid glutamic | Acid glutamic |
| 6. | Tirozină | Tirozină |
| 7. | Metionină | Metionină |
| 8. | Valină | — |
| 9. | n-Valină | — |
| 10. | Leucine | Leucine |
| 11. | — | Glicocol |
| 12. | — | Fenilalanină |
| 13. | — | Lizină |
| | | Ornithină |

Din acest tabel reiese că albuminele fiecărei lipoproteide conțin 10 aminoacizi. În lipoproteidele cerebrale ale păsărilor, spre deosebire de cele ale bovinelor, am întilnit histidină, arginină și n-valină, în schimb în cele ale bovinelor am întilnit lizină, ornitină, fenilalanină și glicocol.

Materialul de experiență l-am ales după ce am urmărit modificările ce se ivesc în timpul verii și în timp de iarnă. Am presupus că în lipoproteidele păsărilor în timpul verii, mai precis în timpul favorabil ouatului, ar putea surveni modificări, dar presupunerea noastră nu s-a adevărit.

În tabelul Nr. III prezentăm diferențele evidente ce au rezultat în urma analizei chimice a celor două lipoproteide.

Datele cuprinse în tabelul Nr. III arată clar că între lipoproteidele bovine și ale păsărilor există deosebiri de componență chimică. Lipoproteidele păsărilor se caracterizează printr-un conținut lipidic mai bogat, 48,35 g% față de lipoproteidele cerebrale ale bovinelor al căror conținut lipidic e de 42,56 g%. Con-

ținutul în fosfor și, ca urmare a acestui fapt, și conținutul în lecitină al lipoproteidelor păsărilor e cu 95% mai mic decât al creierului de bovine. La fel și conținutul în colesterol la păsări e mult mai scăzut decât la bovine.

Aceste diferențe în ce privește aminoacizii și componența lor chimică se manifestă și în valoarea coeficientului respiratoric, fapt pe care îl ilustrăm în tabelul Nr. IV. și V.

Tabelul Nr. III.

| Nr. | Lipoproteidă de bovine | Lipoproteidă de pasăre |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| 1. Conținutul lipidic total | 42,56 | 48,35 |
| 2. Colesterol | 9,29 | 6,71 |
| 3. Fosfor | 1,017 | 0,552 |
| 4. Lecitină | 25,49 | 13,41 |
| 5. Azot | 9,30 | 8,49 |

Tabelul Nr. IV.

| Nr. | O ₂ | CO ₂ | RQ | Val. med. |
|---|----------------|-----------------|------|-----------|
| 1. Control | 131 | 69 | 0,53 | 1,04 |
| | 108 | 134 | 1,07 | |
| | 116 | 126 | 1,08 | |
| | 139 | 137 | 0,98 | |
| 2. Lipoproteida cerebrală de pasăre cu un conținut lipidic de 48,35% Substanță uscată 1,00 mg Conținut lipidic: 0,48 mg | 112 | 111 | 1,02 | 0,97 |
| | 109 | 104 | 0,95 | |
| | 119 | 112 | 0,94 | |
| | | | | |
| 3. Lipoproteidă cerebrală de pasăre cu un conținut lipidic de 48,35% Substanță uscată 2,21 mg Conținut lipidic: 1,06 mg | 162 | 95 | 0,59 | 0,55 |
| | 172 | 86 | 0,50 | |
| | 144 | 65 | 0,45 | |
| | 149 | 91 | 0,61 | |
| | 154 | 96 | 0,62 | |
| 4. Lipoproteidă cerebrală de pasăre cu un conținut lipidic de 48,35% Substanță uscată 2,69 mg Conținut lipidic: 1,30 mg | 126 | 57 | 0,45 | 0,54 |
| | 112 | 63 | 0,56 | |
| | 111 | 73 | 0,66 | |
| | 157 | 86 | 0,52 | |
| | 113 | 74 | 0,65 | |
| | 131 | 69 | 0,53 | |

Din aceste tabele reiese — în comparație cu experiențele de control — că, deși conținutul lipidic al lipoproteidelor de pasăre este mai bogat, totuși valoarea RQ a țesutului hepatic de șobolan este mai puțin micșorată decât la lipoproteidele cerebrale bovine. Lucrările noastre anterioare au demonstrat că acizii grași și lipidele micșorează coeficientul respiratoric. Faptul că în experiențele prezente am obținut valori diferite, îl atribuim pe de o parte lipidelor, iar pe de altă parte componenței proteice.

Din cercetările noastre anterioare (1, 2, 3, 4) rezultă că în experiențele Warburg, valoarea coeficientului respiratoric al țesuturilor hepatice supraviețuitoare scade în prezența NH₄Cl în comparație cu experiențele de control, și intensifică producerea corpurilor cetonice.

Aceste manifestări le explicăm prin faptul că lipidele sint oxidate într-o măsură mai mare în prezența sărurilor de amoniu. În cercetările pe care le-am făcut în continuare am examinat efectele lipoproteidelor de pasăre în prezența NH_4Cl pe țesutul hepatic supraviețuitor al șobolanilor. Rezultatele experiențelor noastre sint cuprinse în tabelul Nr. VI.

Tabelul Nr. V.

| Nr. | Experiențe | O_2 | CO_2 | RQ | Val. med. |
|---|---------------------------|--------------|---------------|------|-----------|
| 1. Control | | 138 | 134 | 1,02 | 0,90 |
| | | 116 | 115 | 0,99 | |
| | | 139 | 137 | 0,98 | |
| 2. Lipoproteidă cerebrală de bovine cu un conținut lipidic de 42,5% | | 92 | 84 | 0,95 | 0,91 |
| | | 126 | 128 | 1,00 | |
| | Substanță uscată 1,22 mg | 110 | 95 | 0,86 | |
| | Conținut lipidic: 0,51 mg | 126 | 103 | 0,82 | |
| 3. Lipoproteidă cerebrală de bovine cu un conținut lipidic 42,5% | | 112 | 68 | 0,60 | 0,56 |
| | | 148 | 71 | 0,54 | |
| | Substanță uscată 2,5 mg | 136 | 81 | 0,59 | |
| | Conținut lipidic: 1,02 mg | 117 | 60 | 0,51 | |
| 4. Lipoproteidă cerebrală de bovine cu un conținut lipidic de 42,5% | | 112 | 45 | 0,40 | 0,36 |
| | | 79 | 26 | 0,33 | |
| | Substanță uscată 3,10 mg | 72 | 27 | 0,37 | |
| | Conținut lipidic: 1,30 mg | | | | |

Tabelul Nr. VI

| Nr. Experiențe | O_2 | CO_2 | RQ | Val. med. | |
|--|--|---------------|------|-----------|------|
| 1. Control | 97 | 100 | 1,03 | 0,96 | |
| | 135 | 129 | 0,95 | | |
| | 128 | 116 | 0,90 | | |
| 2. NH_4Cl 10 mg | 131 | 69 | 0,51 | 0,51 | |
| | 104 | 56 | 0,56 | | |
| | 121 | 60 | 0,50 | | |
| 3. Lipoproteidă cerebrală de pasăre cu un conținut lipidic de 48,35% | 139 | 98 | 0,70 | 0,72 | |
| | 126 | 92 | 0,73 | | |
| | Substanță uscată 2,21 mg | 106 | 83 | | 0,76 |
| | Conținut lipidic: 1,06 mg NH_4Cl 5 mg | 101 | 80 | | 0,77 |

În cursul experiențelor continuate, am adăugat țesutului hepatic supraviețuitor lipoproteide cerebrale bovine concomitent cu NH_4Cl . Rezultatele le prezentăm în tabelul Nr. VII.

Din tabelul VI. și VII. reiese că lipoproteidele cerebrale în prezența NH_4Cl ard la fel ca și glucidele. Acest fapt se observă în special la lipoproteidele bovine în timp ce în prezența lipoproteidelor păsărilor valoarea coeficientului respiratoric crește într-o măsură mai mică.

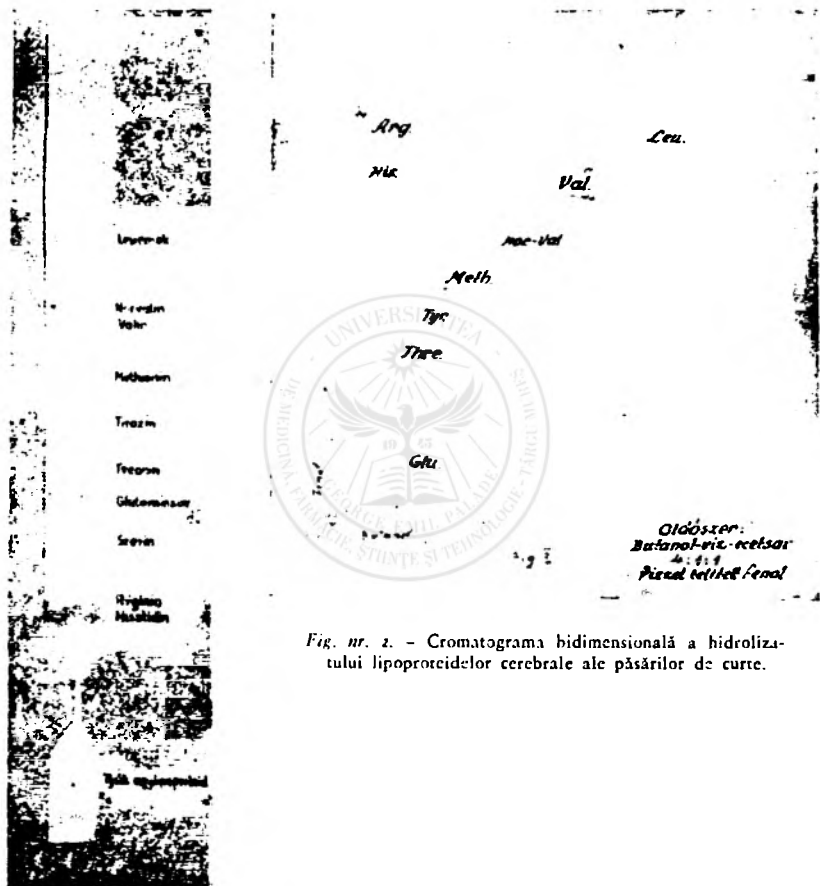


Fig. nr. 1. - Cromatograma unidimensională a hidrolizatului lipoproteidelor cerebrale ale păsărilor de curte.

Fig. nr. 2. - Cromatograma bidimensională a hidrolizatului lipoproteidelor cerebrale ale păsărilor de curte.

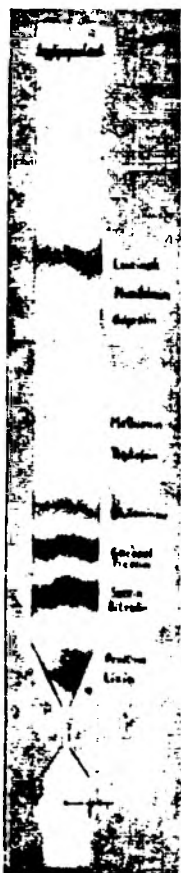
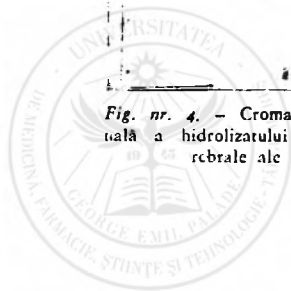


Fig. nr. 3. - Cromatograma unidimensională a hidrolizatului lipoproteidelor cerebrale ale bovinelor.



Fig. nr. 4. - Cromatograma bidimensională a hidrolizatului lipoproteidelor cerebrale ale bovinelor.



| Nr. Experiențe | O ₂ | CO ₂ | RQ | Val. med. |
|--|----------------|-----------------|------|-----------|
| 1. Control | 114 | 120 | 1,05 | 0,96 |
| | 128 | 117 | 0,99 | |
| | 126 | 109 | 0,85 | |
| 2. NS ₄ Cl 10 mg | 142 | 71 | 0,50 | 0,46 |
| | 131 | 66 | 0,50 | |
| | 153 | 62 | 0,40 | |
| | 100 | 44 | 0,44 | |
| 3. Lipoproteidă cerebrală de bovină cu un conținut lipidic 42,5% Substanță uscată: 2,5 mg Conținut lipidic: 1,07 mg NH ₄ Cl 5 mg | 89 | 91 | 1,02 | 0,99 |
| | 100 | 98 | 0,98 | |
| | 88 | 87 | 0,99 | |
| | 77 | 74 | 0,96 | |
| | | | | |

Diferențele constatate trebuie căutate alit în componența proteică a aminoacizilor, cit și în diferența calitativă a lipoizilor, după cum am stabilit în experiențele noastre anterioare.

Din rezultatele cercetărilor noastre tragem concluzia că țesuturile hepatice supraviețuitoare de șobolani utilizează pentru acoperirea necesităților lor energetice, componența proteică a lipoproteidelor care le servesc ca substrat, arderile lor nefiind însă așa de complete ca cele ale lipoproteidelor bovine (7, 8, 9).

Sosit la redacție: 13 octombrie 1960.

Bibliografie

1. E. ANNAU, A. EPERJESSY, E. MIHALYI, ZS. ZATHURECZKY: E. M. E. Orv. Ert. 59 költ.: 2. A. EPERJESSY, A. KISS, J. CSEGEDI: Izolarea și studiul lipoproteidelor cerebrale, Revista Medicală, I, 3, 1955; 3. A. EPERJESSY, A. KISS, J. CSEGEDI, L. NEMES: Rolul lipoproteidelor cerebrale în ovidata biologică. Revista Med. II, 2, 1956; 4. A. EPERJESSY, A. KISS, J. CSEGEDI: Contribuțiuni privind biochimia lipoproteidelor. Studii și Cercetări de Chim. Acad. R.P.R. Tom. IV, 3—4/1956; 5. A. EPERJESSY, A. KISS, J. CSEGEDI: Studiul componenței proteice a lipoproteinelor, Revista Medicală, IV, 3—4, 1958; 6. L. A. PLATNIKOVA: Unele date privind biochimia creierului „Citoarhitectonica scoarței creierului” uman, VIII, 169—187, 1952. 1948.; 7. N. STEINBACH: Medicina Internă Nr. 10, 1958. Fapte noi în etiopatologia aterosclerozei; 8. FEINSCHMIDT F.: B. Z. 38, 244/1912.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИПОПРОТЕИДОВ МОЗГА РОГАТОГО СКОТА И ДОМАШНИХ ПТИЦ

Эпереси А., Кяш А., Череди П., Немеш Л., Верен П.

Авторы выделили липопротейды мозга рогатого скота и домашних птиц по ранее описанной методике. В настоящей работе производили сравнительные исследования для установления различий в биологическом восстановлении и в химической структуре выделенных липопротейдов. Было установлено, что липопротейды мозга этих животных различны как по содержанию жира, так по количеству белковых компонентов и аминокислотного состава. Эти структурные различия проявляются в действии липопротейдов на биологическое восстановление. Эти различия происходят в первую очередь от жиров как это было показано в опытах с NH₄Cl но в то же время, как это было показано в предыдущих исследованиях как величина, а также качественный и количественный их состав имеют определенное действие. Исследования мы намерены продолжать при сравнении отдельно липоидных и белковых фракций.

RECHERCHES COMPARATIVES CONCERNANT LES LIPOPROTÉIDES CÉRÉBRALES DES BOVINÉS ET CELLES DE VOLAILLES

A. Eperjessy, A. Kiss, J. Csegedi, L. Nemes, J. Verépb

Les auteurs ont utilisé des lipoprotéides cérébrales de bovinés et de volailles qu'ils ont préparé par une méthode antérieurement décrite. On a étudié au cours de ces expériences comparatives les différences entre les lipoprotéides obtenues en ce qui concerne l'effet qu'elles exercent sur l'oxydation biologique et leur composition chimique.

On a établi que la composition des lipoprotéides des bovinés diffère de celle des volailles par la quantité de graisse, par la quantité du component protéique et par la structure de l'acide.

Ces différences structurales se manifestent aussi dans l'effet que les lipoprotéides étudiées ont exercé sur l'oxydation biologique. L'effet différent est causé en premier lieu par les variétés de graisses – ce qui résulte des expériences effectuées avec NH_4Cl – mais il est influencé en même temps par la grandeur et la structure qualitative et quantitative des molécules protéiques, fait que les auteurs ont prouvé dans leurs communications antérieures. Les auteurs continuent leurs expériences comparatives concernant l'étude séparément effectuée des lipides et des protéines.