

METODĂ DE PREPARARE A BIOSTIMULATORULUI ȘI A INHIBITORULUI DIN TIMUS *

K. Bedő

Am urmărit elaborarea unei metode cu ajutorul căreia să obținem substanțe bioactive în cantități mari, cât mai apropiate de forma lor naturală și totodată să înlăturăm pe cât posibil utilizarea chimicalelor care le-ar denatura.

Cercetările începute încă în anul 1959 s-au axat îndeosebi pe problema studierii extractelor de timus bovin. Din timusul de vițel am reușit să extragem în primul rînd biostimulatorul și în afară de această fracțiune principală și altele cu activități mai reduse, cît și o fracțiune cu acțiune inhibitoare. Rezultatele, în parte, au fost publicate în lucrări anterioare (1, 2).

Prezentăm metoda elaborată de noi: începem prelucrarea timusului imediat după ce l-am obținut, fără a-l supune nici unui procedeu de conservare. După o prealabilă curățire mecanică îl omogenizăm și-i adăugăm apă bidistilată, apoi îl introducem în vasele agitatorului electric. După agitare, îl diluăm pînă la 50% cu alcool etilic, amestecîndu-l continuu. Il lăsăm să stea cîteva ore, filtrăm pentru a îndepărta elementele macroscopice, după care decantăm. Un litru din lichidul limpede obținut îl concentrăm sub vacuum, la temperatura camerei, pînă la obținerea unui volum de 50 ml. Concentratul obținut după o prealabilă centrifugare îl trecem prin schimbătoare de ioni Sephadex A-50*, ținînd în permanență seamă de viteza de filtrare și de pH. Frațiunea inhibitoare o separăm cu etanol.

Experimentînd cu cantități mici, am utilizat cîte 0,5 grame de Sephadex pregătît în prealabil, obținînd 8-10 fracțiuni din 10 ml de extract. Dintre acestea alegem fracțiunile cele mai active cu ajutorul biotestului — adică a determinării timpului de înmulțire a bacililor *Escherichia coli* (2). Frațiunile separate le controlăm și cu ajutorul cromatografiei ascendente, pe hîrtia Whatman nr. 2, precum și prin electroforeză (M. Kerekes).**

Fracțiunile izolate — adică cele biostimulatoare de ordin macro-molecular legate de proteine, și cea inhibitoare micromoleculară lipsită de proteine — le fiolăm și le păstrăm la plus 4°C.

Analizele de control pe animale (iepuri timp de trei luni, șoareci, șobolani * cîte o lună), cît și cele microbiologice — de sterilitate — confirmă posibilitatea de utilizare a acestor fracțiuni.

În anii precedenți obținerea diferitelor fracțiuni era o problemă extrem de dificilă. Acum, utilizînd schimbătorul de ioni Sephadex, putem separa mai multe fracțiuni bioactive din diferite organe (de ex. splină). Cu această metodă putem prepara astfel de substanțe bioactive și în cantități mari, relativ ușor, cu un randament mare.

Utilizarea fracțiunilor

1. — Cu ajutorul biostimulatorului am preparat mediul pe bandă de hîrtie numită „Bacto-diag”, cu care se poate determina prezența bacililor *coli*, în mod rapid, în timp de 3-6 ore din materii lichide (2).

2. Am utilizat fracțiunile în culturi de țesuturi, în scopul accelerării sau împiedicării dezvoltării lor. Acțiunea extractelor a fost controlată pe țesuturi de tu-

* Lucrarea a fost prezentată la ședința U.S.S.M. la 27. II. 1965.

* = fabrica de medicamente „Pharmacia” Uppsala.

** = electroforeza a fost efectuată de către Kerekes M. cercet. princ. biochim.

mori maligne Detroit-6, de către colectivul conf. I. László (1), care au arătat inhibarea acestor țesuturi maligne. Continuăm aceste experiențe.

3. Sînt în curs de verificare acțiunile lor asupra dezvoltării tumorilor la animale (pe tumori Crocker 23/B, și ascită la șoareci — Ehrlich^{***}) care arată în prezent pe de o parte accelerarea dezvoltării tumorilor, pe de altă parte împiedicarea dezvoltării lor.

Experiențele noastre în privința utilizării fracțiunilor separate le continuăm în domeniul bacteriologiei, imunologiei, al culturilor pe țesuturi și în experiențe pe animale.

Sosit la redacție: 29 martie, 1965.

Bibliografie

1. BEDÓ K., HORVÁTH M.: Revista Medicală (1963), 9, 3, 301; 2. BEDÓ K.: Revista Medicală (1964), 10, 2, 169; 3. A. SZENT-GYÖRGYI, A. HEGYELI, I. A. Mc. LAUGHLIN: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. (1962), 48, 1439; 4. A. SZENT-GYÖRGYI, A. HEGYELI, I. A. Mc. LAUGHLIN: Science (1963), 140, 1391; 5. C. P. Li, B. PRESCOTT, L. I. CHI and E. C. MARTINO: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. (1963), 114, 2, 504;