

EXPERIENȚE PENTRU OBTINEREA UNOR FOSFOLIPIDE CU INDICE DE PEROXID ÎNALT

B. Tőkés, B. Barabás

Rolul fosfolipidelor în organismele animale și vegetale este de mult cercetat. Una din aceste cercetări se ocupă cu fenomenele de oxidare ale acestor substanțe sub acțiunea diferiților factori, respectiv cu mecanismul și efectul lor biologic. Un produs intermediar important al proceselor de oxidare îl constituie lipoperoxizii, cărora li se atribuie un rol multilateral în organismul viu. Părerile cercetătorilor asupra acestui rol sînt însă contradictorii. După Weitzel (1), Schauenstein (2) și alții, peroxizii organici studiați de ei prezintă un efect citostatic, prelungind durata de viață a animalelor de experiență. Alți autori (3—11) însă, examinînd efectul radiomimetic al diferiților peroxizi organici, subliniază acțiunea lor toxică. Astfel, introducîndu-se în organismul șoarecilor bolnavi inhibitori ai reacțiilor de lanț (reacții inițiate

de peroxizi) s-a semnalat creșterea duratei de viață și, într-un procent ridicat, vindecare totală.

Rolul presupus al peroxizilor în respirația celulară (12—14), precum și faptul că în țesuturile canceroase potențialul de oxido-reducere este în toate cazurile mai redus decât în cele sănătoase (15, 16), pare să justifice părerea primilor autori amintiți. însă și concepția celor din urmă se bazează pe date experimentale incontestabile. Se poate presupune că aceste efecte oglindesc două laturi ale unuia și aceluiași proces.

Pentru a putea studia pe cale experimentală efectul biologic al lipo-peroxizilor, s-a ridicat problema posibilității de creștere artificială a indicelui de peroxid. În lucrarea de față expunem rezultatele obținute de noi în această direcție.

Am considerat că cele mai potrivite pentru inițierea peroxidării sînt diferitele efecte de radiație. Această cale prezintă de altfel interes și din punctul de vedere al elucidării mecanismului efectului biologic al radiațiilor. În literatura de specialitate se arată că în lipide (în urma iradierii, in vivo și in vitro, în prezența oxigenului) conținutul în peroxid crește în urma unor reacții în lanț cu radicalii liberi (17—23). Pe de altă parte există numeroase indicații că în mecanismul unor procese biochimice atît radicalii liberi cît și unele reacții în lanț joacă un rol important. Trebuie amintit că numeroși autori studiază din acest punct de vedere procesele de oxidare biologică (fermentativă) care, fiind procese cu degajare de energie, furnizează în cazul bolii canceroase energia necesară proliferării celulare maligne (3, 7, 24).

Metodă

Pentru ridicarea indicelui de peroxid al fosfolipidelor am făcut experiențe în vederea aplicabilității radiațiilor ultrasonore, ultraviolete și röntgen.

a) *Iradieria cu ultrasunete.* Soluții de lecitină în alcool izopropilic absolut au fost supuse unor iradieri ultrasonore de diferite intensități și durate, cu o frecvență de 900—1000 kHz, prin membrană de celofan, utilizînd drept fază de transmitere apa. Metoda nu s-a dovedit aplicabilă pentru ridicarea indicelui de peroxid, soluția inițială față de cea iradiată a conținut un surplus de peroxid de cca 25—50%, în funcție de condițiile experienței. În domeniul efectului chimic al ultrasunetului, literatura de specialitate cunoaște cazuri asemănătoare (27), constatînd că viteza unor procese de oxidare este mai scăzută sub acțiunea radiațiilor ultrasonore, decât în lipsa acestui efect.

Neobținînd rezultate satisfăcătoare prin acest procedeu, am trecut la studiul efectului radiației ultraviolete și radiației röntgen.

b) *Aplicarea radiației ultraviolete.* Pentru iradiere am folosit un strat subțire de lecitină „Merck“, întins pe o suprafață netedă. Iradierea s-a realizat cu o lampă de cuarț „UV Strahler“ cu o putere de 300 W, fixată la o distanță constantă de suprafață (18 cm). Indicele de peroxid al probelor scoase după anumite durate de iradiere a fost determinat prin titrare potențiomtrică (25). Rezultatele obținute sînt reprezentate în tabelul nr. 1, și fig. nr. 1.

Se observă că în prezența oxigenului atmosferic, paralel cu iradierea, indicele de peroxid la început crește, atinge o valoare maximă ($P=92$), iar apoi descrește.

c) *Aplicarea radiației röntgen.* Am iradiat cu ajutorul unui aparat röntgen (tip VEM TUR, Dresda) lecitina „Merck“ și un amestec de lecitină din ou, preparat printr-o metodă proprie (26). Probele de lecitină au fost supuse iradierii într-o cutie Petri, cu fund perfect plat, avînd dimensiuni optime corespunzătoare construcției aparatului. Iradierea au fost executate în condiții identice. Cantitatea peroxizilor formați, resp. curba obținută prin reprezentarea grafică a datelor, prezintă o asemănare cu cele observate în cazul precedent (tabelul nr. 2 și fig. nr. 2).

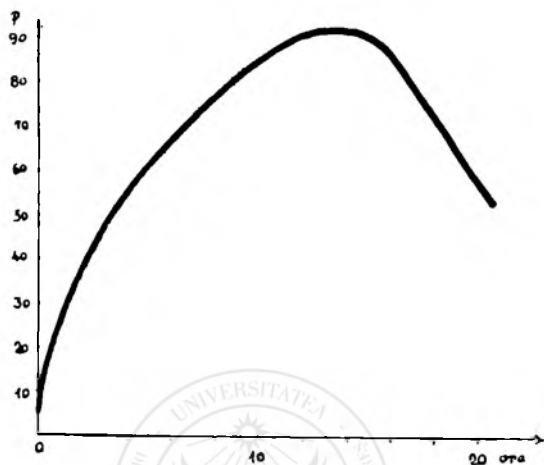


Fig. nr. 1.

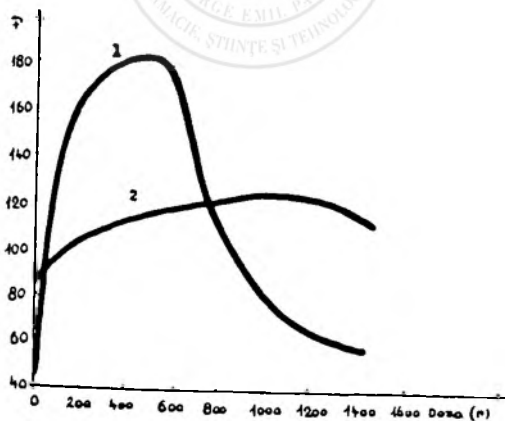


Fig. nr. 2.

Variația indicelui de peroxid trece și în acest caz printr-un maxim. Înălțimea maximului ($P_{\text{Merck}}=183$ și $P_{\text{proprie}}=123$), respectiv locul lui (lecitina „Merck”: cca 500 r și lecitina proprie: cca. 1200 r), sint funcție de compoziția chimică a lecitinelor, resp. a substanțelor insoțitoare.

Tabelul nr. 1.

Nr. crt.	Durata iradierii (ore)	Indicele de peroxid
1	—	7,0
2	0,25	13,3
3	0,50	37,8
4	2	43,6
5	4	55,5
6	8	74,2
7	10	85,3
8	12	92,3
9	20	60,4

Tabelul nr. 2.

Nr. crt.	Doza (r)	Indicele de peroxid	
		Lecitina „Merck”	Lecitina proprie
1	—	51,7	83,2
2	50	145	
3	150	149	103
4	500	183	111
5	800	115	117
6	1200	72	123
7	1500	56	111

Discuții și concluzii

Dintre metodele încercate pentru mărirea conținutului în peroxid al fosfolipidelor, s-au obținut numai prin metoda iradierii ultraviolete resp. röntgen, în prezența oxigenului atmosferic, indici de peroxid relativ înalți, valori între 100 și 200. La fiecare metodă există o valoare optimă a dozei aplicate, la care substanța iradiată atinge un conținut maxim în peroxizi. Acest fenomen este normal. *Semionov* (28), *Emanuel* și colab. (29—31) au arătat că la reacțiile de oxidare în lanț ramificat, numai faza inițială a proceselor de inițiere este influențată decisiv de iradiere. După ce transportorii de lanț în urma ramificării lanțului, se acumulează într-o concentrație destul de mare, viteza formării radicalilor va fi mai mare decât sub influența inițiatorului, mai mult chiar, inițiatorul poate să aibă un efect negativ. Perioada de inducție a oxidării descrește totdeauna pronunțat sub acțiunea radiațiilor.

Cunoscând mecanismul procesului de inițiere, se impune în fiecare caz alegerea dozei optime de radiație, prin care se asigură randamentul maxim

în peroxizi. Mai departe, fosfolipidele folosite în aceste experiențe trebuie astfel alese încît acizii grași, care intră în compoziția lor, să aibă un grad de nesaturație cît mai mare.

Datorită conținutului lor în peroxid relativ înalt, substanțele obținute par potrivite pentru a studia efectul citostatic al peroxizilor organici în organismul viu.

Sosit la redacție: 1 iulie 1965.

Bibliografie

1. WEITZEL, G.: Z. Physiol. Chem. (1961), 1—2, 65; 2. SCHAUENSTEIN N. și colab.: Z. Krebsforsch. (1962), 64, 465; 3. WATERS W.: Himia svecobodnih radikalov (1948), 1; 4. LOVELESS A.: Nature (1951), 167, 338; 5. HORGAN V. I., PHILIPOT J. S. L.: Brit. J. Radiol. (1954), 27, 63; 6. HORGAN V. I. și colab.: Biochem. J. (1957), 67, 551; 7. EMANUEL N. M., LIPCINA I. P.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1958), 121, 1, 141; 8. KUDRJASOV J. B., TAMBIEV A. H.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1961), 139, 4, 991; 9. GASANOV G. I., KUDRJASOV I. B.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1962), 143, 6, 1453; 10. KUDRJASOV I. B., GASANOV G. I.: Dokl. A.D.S.S.S.R. (1962), 144, 2, 432; 11. LIPSIT D. V. și colab.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1962), 145, 1, 212; 12. ARTICHOVSKAJA E. V., RUBIN B. A.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1950), 74, 1, 99; 13. BARABÁS B., BALOGH L.: Studii și Cerc. de Chimie (1957), 8, 443; 14. SCHAUENSTEIN E.: Klin. Wochenschrift (1959), 3, 116; 15. LARIONOV L. F., ZALESKAIA N. P.: Arch. Pat. Anat. i Pat. Fiziol. (1940), 6, 4, 44; 16. JUVENSKAJA N. P.: Arch. Patol. (1947), 9, 2; 17. HANNAN R. S., SNEPHERD H. J.: Erit. J. Radiol. (1954), 27, 36; 18. HANNAN R. S., BOAG J. W.: Nature (1952), 169, 152; 19. GRAEVSKIJ E. I.: Uspehi Sovr. Biol. (1954), 37, 1958; 20. TARUSOV B. N.: Tez. dok. I. Vsesojuzn. konf. radiat. him. (1957), 40; 21. MALC V.: Biofizika (1960), 5, 446; 22. JURAVLIEV K. I.: Tez. dokl. na naucin. konf. posvesci, 40-i godov. Vel. Okt. Soc. Rev. (1957), 33; 23. KOLOMITSEVA I. K.: Biofizika (1960), 5/3, 339; 24. Uspehi v izucsenii raka I. (1956), 25. TÓKÉS B., BARABÁS B.: Revista Medicală (1962), 3, 376; 26. BALOGH L., BARABÁS B., SIMON L.: Értésítő (A MAT Egészségügyi osztálya, a marosvásárhelyi Gyógyszerészeti Kar „Centrofarm“ és Orvostud. Társ. Gyógysz. Szakosztálya (1956), 2, 16; 27. BUHSTAB Z. I.: Him. Tehn. Topl. Masek (1962), 12, 8; 28. SEMIONOV N. N.: A kémiai kinetika és a reakcióképesseg néhány problémája, 445, Akad. Kiadó, Budapest, 1961; 29. EMANUEL N. M.: Jurnal fiz. him. (1956), 10, 847; 30. EMANUEL N. M.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1956), 111, 6, 1286; 31. EMANUEL N. M.: Dokl. A.N.S.S.S.R. (1958), 119, 6, 1183.