

LEGĂTURA ÎNTRE OXIDAȚIA SPONTANĂ ȘI ACȚIUNEA HEMOLIZANTĂ A LECITINEI

Dr. Balogh L., Barabás B.

Pe baza cercetărilor lui *Kyes* (1902) se știe, că sub influența veninului de cobră, lecitina devine puternic hemolizantă. În 1904 *Willstätter* și *Lüdecke* au arătat, că în prezența veninului de cobră lecitina suferă o hidroliză parțială : dintre cei doi acizi grași în legătură esterică, unul se eliberează. Acest produs cu un efect puternic hemolizant, obținut pentru prima oară în stare cristalină de *Delezenne* și *Fourneau* în 1914 din gălbenușul de ou, inoculat cu venin de cobră a fost denumit lisolectină.

Lisolectina introdusă în aparatul circulator sau în lichidul cerebrospinal produce grave intoxicații. Ea își exercită acțiunea în afara dizolvării eritrocitelor și a leucocitelor și prin lezarea celulelor capilare-endoteliale și ale sistemului nervos. Se poate presupune, că lisolectina își exercită acțiunea prin modificarea proprietăților fizico-chimice ale substanțelor lipidice de pe suprafața celulelor și din țesutul nervos.

Substanța activă producătoare de lisolectină din veninul de șarpe este o lecitinază. Se admite, că acești fermenți au un rol important și în procesele vitale. În 1924 *Belfanti* a preparat din pancreas o fosfatidă cu efect hemolizant, care în ceea ce privește proprietățile și compoziția, s-a dovedit a fi identică cu lisolectina lui *Delezenne* și *Fourneau*. *Belfanti* și colaboratorii săi au constatat, că extractul de pancreas, asemănător veninului de cobră, descompune lecitina gălbenușului de ou pe cale hidrolitică în lisolectină. Apoi din extractul de pancreas *Belfanti* și *Arnaudi* au izolat lecitinaza A, care prin hidroliză descompune lecitina, în acid gras și lisolectină.

Literatura ne ofera mai multe date privind faptul, că lecitina poate deveni hemolizantă și pe cale neenzimatică. Diferiții autori explică această modificare în toate cazurile prin producerea lisolecitinei, adică prin hidroliza parțială a lecitinei. Astfel în 1930 Fiori găsește, că emulsia apoasă a lecitinei din ou, menținută la o temperatură de 70° și izolată de aer, în decurs de două luni se descompune într-o măsură considerabilă în acizi grași liberi și lisolecitină.

Față de acestea, observațiile noastre arată că în multe cazuri lecitina devine hemolizantă nu pe cale hidrolitică, ci datorită oxidării.

În interesul studiului proprietății hemolitice observate la diferite preparate de lecitină, am pornit de la o suspensie de lecitină 0,15% în soluție fiziologică de NaCl. Diluind cu soluție fiziologică de NaCl la volum dublu 5 cm³ din această soluție de bază, am întocmit o serie de diluții cuprinzându-le în 5 tuburi, în care concentrația de lecitină descrește de la 0,15% în primul tub și pînă la 0,009% în al cincilea tub. Soluțiilor din tuburi le-am adăugat o suspensie de eritrocite 3% în cantitate de 0,5 cm³. Drept control a servit aceeași cantitate de soluție fiziologică de NaCl.

Cercetările noastre arată, că preparatele vechi de lecitină prezintă un efect hemolitic mai mult sau mai puțin pronunțat, chiar dacă au fost păstrate în exicator, cu excluderea apei. Într-adevăr în cazul unui preparat de 2 ani apare o hemoliză totală în primul tub deja după 30 minute, devenind totală după 24 ore în patru tuburi, și foarte pronunțată în al cincilea.

Aceste preparate vechi pe lângă efectul lor hemolitic, mai au și o hidroliză pronunțată, se emulsionează ușor cu apa, soluțiile lor sînt transparente, prezentînd un pH scăzut de cca. 4, după cum am arătat într-un comunicat anterior.

Solul de lecitină proaspăt preparat în laboratorul nostru, nu prezintă nici cea mai slabă urmă de efect hemolitic. Devine însă puternic hemolizantă, dacă în prealabil a stat 7—9 zile în contact cu aerul. Concomitent cu această schimbare, solul avînd un pH=6,71 și foarte opalescent la început, devine treptat transparent, iar pH scade la 4,05. Soluția de control, ermetic izolată de aer, pastrată la întuneric și la temperatura camerei, nu devine hemolizantă nici după un an, păstrîndu-și în același timp aproape în întregime opalescența inițială.

Încălzirea și trecerea unui curent de oxigen prin solul de lecitină accelerează apariția acțiunii hemolizante. Tabelul de mai jos prezintă cazul unui sol de 0,15%, de lecitina nealterată suspendată în soluție fiziologică de NaCl, prin care în prealabil s-a trecut în condiții identice un curent de azot, al doilea control fiind menținut în condiții identice, iar al treilea control fiind la temperatură ordinară. În aceste condiții în primele două tuburi ale seriei de diluție, conținînd substanța tratată, după 12 ore apare o hemoliză completa (patru cruci), în al treilea și al patrulea o hemoliză puternică (trei cruci), iar în al cincilea o hemoliză încă destul de importantă (doua cruci). Hemoliza slabă (o cruce), observată în primul tub de control, prin care s-a trecut azot, se datorește probabil urmelor de oxigen conținute de azot. La celelalte doua controale nu apare o acțiune hemolizantă :

	Gradul hemolizei în tuburi				
	I	II	III	IV	V
Oxigen la 60 ^o	++++	++++	+++	+++	++
Azot la 60 ^o	+	0	0	0	0
Izolot de aer la 60 ^o	0	0	0	0	0
Control la 20 ^o	0	0	0	0	0

În aceste experiențe hemolizatele din tuburile cu concentrație mare de lecitină devin treptat cafenii, ba chiar în primul tub apare mai târziu și un precipitat.

pH-ul și opalescența scăzută a solului tratat la cald cu oxigen amintește de cele constatate la lecitina oxidată „in substantia” sau în soluție la rece. Efectul hemolitic apare deci paralel cu aceste proprietăți.

Experiențele noastre dovedesc, că proprietatea hemolizantă a lecitinei nu poate proveni din apariția lisolectinei pe cale de hidroliză parțială, cum se presupune în general, ci este vorba de un produs de oxidare a lecitinei, care provoacă hemoliza. O scurtă acțiune a căldurii în sine nu joacă rol în transformarea lecitinei, în prezența oxigenului însă căldura accelerează considerabil această transformare.

Intrucât acidul clorhidric și acetic nu mai provoacă hemoliză într-o concentrație mai mică decât cea milinormală, se poate conchide, că pH-ul scăzut al solurilor de lecitină oxidată chiar dacă ar proveni din cauza apariției unor acizi organici cu greutate moleculară mică, ceea ce nu pare de loc verosimil, prezența lor la pH = 4 încă nu poate provoca descompunerea eritrocitelor.

Pentru aceasta pledează și faptul, că solul de lecitină oxidată, tamponată în concentrație fiziologică cu un pH de 7 își menține proprietatea hemolizantă, cu deosebirea că hemoliza apare mai târziu ca pe lângă un pH de 4.

În cazul examinat de noi, seria de diluție preparată pe de o parte cu soluție fiziologică de NaCl, pe de altă parte cu soluție în concentrație fiziologică de tampon fosfat cu un pH de 7, cu toate diferențele apariției hemoliziei, după 18 ore ambele serii arată același grad de hemoliză, și anume totală în primele trei tuburi, parțială în ultimele. În primul tub al seriei de diluție tamponată la reacție neutră, nu s-a observat formarea unui precipitat.

Hemolizatul de culoare cafenie, care apare aproape în toate cazurile sub acțiunea lecitinei oxidate în concentrație mai mare (0,15%) pe baza examenului spectroscopic se dovedește a fi methemoglobină. Acest fapt denotă, că lecitina oxidată pe lângă acțiunea ei hemolizantă mai are și o acțiune oxidantă. Într-o altă lucrare am subliniat, că lecitina împreună cu forma ei oxidată reprezintă un sistem de oxidoreducere.

Constatările noastre în legătură cu acțiunea hemolizantă a lecitinei oxidate concordă cu faptul, că sîngele conservat suferă hemoliză mult mai târziu, dacă nu vine în contact cu aerul și dacă conține o substanță puternic reductoare (glucoză), după cum remarcă Hadnagy Cs. și C. T. Nicolau.

Constatările noastre ne îndreptățesc a presupune, că membrana celulară, prin oxidarea lecitinei pe baza necesităților poate deveni mai permeabilă. Se mai poate presupune că membrana celulară pe lângă rolul ei de regulator de permeabilitate, mai joacă rol și în transportul oxigenului.

Primita la redacție : la 22 noiembrie 1955.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ВНЕЗАПНЫМ ОКИСЛЕНИЕМ И ГЕМОЛИЗИРУЮЩИМ ЭФФЕКТОМ ЛЕЦИТИНА

Д-р Л. Балог и Б. Барабаш

Резюме

Известно, что путем частичного гидролиза (энзимного или внезапного) из лецитина образуются лизолецитин, являющийся продуктом разложения и обладающий значительным гемолитическим эффектом.

Проведенные нами исследования установили, что внезапное окисление лецитина под влиянием воздуха или кислорода также ведет к образованию продукта превращения, обладающего сильным гемолитическим эффектом. Характер проведенных опытов исключает влияние гидролиза, причем данное превращение всецело приписывается действию кислорода.

У „окисленного“ лецитина выявлена повышенная гидрофилия в сравнении с исходным продуктом. Под его влиянием (при концентрации свыше 0,1%) гемоглобин превращается в метагемоглобин и следовательно, кроме гемолизирующего действия обладает также и окисляющим эффектом. Повидимому „окисленный“ лецитин образует с обыкновенным лецитином окислительно-восстановительную систему. На этом основании можно предположить, что лецитин из клеточной мембраны играет определенную роль в перемещении кислорода.

CORRELATION ENTRE L'OXYDATION SPONTANÉE ET L'ACTION HÉMOLYSANTE DE LA LÉCITHINE

Dr. L. Balogh et B. Barabás

On sait que par hydrolyse partielle (enzymatique ou spontanée) la lécithine se transforme en lysolécithine, qui constitue un produit de décomposition à effet hémolytique prononcé.

Nos recherches ont démontré que l'oxydation spontanée de la lécithine sous l'action de l'air ou de l'oxygène donne également naissance à un produit de transformation à puissant effet hémolytique. La nature des expériences effectuées exclut le rôle de l'hydrolyse et plaide en faveur du rôle de l'oxygène dans cette transformation.

La lécithine „oxydée“ présente une hydrophilie accrue par rapport au produit initial. Sous son action (dans une concentration dépassant 0,1%), l'hémoglobine se transforme en métahémoglobine, ayant par conséquent, à part son effet hémolysant un effet oxydant.

Il paraît que la lécithine „oxydée“ forme un système d'oxydation-réduction avec la lécithine ordinaire. Tenant compte de ces faits on suppose, que la lécithine de la membrane cellulaire joue aussi un rôle dans le transport de l'oxygène.