

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXI, 31

SECTIO D

1966

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej. Wydział Farmaceutyczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr med. Jadwiga Szczygielska
Katedra i II Klinika Położnictwa i Chorób Kobięcych. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Józef Tynecki

Zofia TYNECKA, Czesław TOMPOLSKI

**Poziom wolnych aminokwasów we krwi świnek morskich
w doświadczalnej gruźlicy**

The Level of Free Amino Acids in the Blood of Guinea Pigs
with Experimental Tuberculosis

Hiperestrogenizm powoduje liczne zaburzenia w organizmie kobiety i prowadzi do osłabienia sił obronnych, podnosząc dyspozycję do zachorowalności.

Badania doświadczalne, jak również obserwacje kliniczne wykazują, że nadczynność hormonu pęcherzykowego w organizmie może powodować zaostrzenie się istniejącego procesu gruźliczego (1, 2, 5). Czynność hormonu pęcherzykowego w ustroju jest ściśle związana z obecnością i działaniem kwasu foliowego.

Celem pracy było określenie poziomu wolnych aminokwasów w surowicy krwi trzech grup świnek morskich: a) zdrowych, b) zakażonych gruźlicą i c) zakażonych gruźlicą i traktowanych hormonem pęcherzykowym i kwasem foliowym.

BADANIA WŁASNE

Do badań użyto świnki morskie tb ujemne, samiczki, wagi około 400 g. Zwierzęta podzielono na trzy grupy: 6 zdrowych, 14 zakażonych gruźlicą i 14 zakażonych gruźlicą z podawaniem hormonu pęcherzykowego (h. p.) i kwasu foliowego (k. f.). Świnki zakażano ludzkim szczepem gruźlicy H₃₇R_v (14-dniowa hodowla z podłoża Sautona) podskórnie do lewej pachwiny po 0,5 mg wilgotnej masy prątków w 0,5 ml soli fizjologicznej. Hormon pęcherzykowy podawano podskórnie codziennie po 2500 jm „ovocyclin”. Po upływie 6 tygodni od chwili zakażenia pobrano krew z serca zwierząt a następnie w narkozie dokonano sekcji. Zmiany chorobowe w narządach: wątrobie, śledzionie, płucach i węzłach chłonnych badano makroskopowo, mikroskopowo i bakteriologicznie.

Wolne aminokwasy w surowicy krwi oznaczano jakościowo i ilościowo metodą chromatografii bibułowej, zstępującej, jednokierunkowej, wielospływowej (3, 4, 6). Ogólna zasada polegała na chromatograficznym rozdzieleniu mieszaniny wolnych ami-

nokwasów surowicy krwi, zidentyfikowaniu poszczególnych aminokwasów oraz na kolejnym ich oznaczeniu ilościowym metodą kolorymetryczną przy użyciu fotometru Pulfricha z przystawką Elfo i kompletem mikrokiuwet. Stosując układ n-butanol, kwas octowy, woda destylowana, rozdzielono i zidentyfikowano 12 aminokwasów. Przy tym rozpuszczalniku rozdział aminokwasów był wyraźny: stałość kolejności ich była niezmienna, co wykorzystano przy identyfikacji.

Tab. 1. Zasięg wartości i przeciętny poziom poszczególnych wolnych aminokwasów oznaczonych w mg % w surowicy krwi świnek morskich zdrowych (K), zakażonych gruźlicą (G) oraz zakażonych gruźlicą z podawaniem hormonu pęcherzykowego i kwasu liściowego (E)

Extreme values and mean levels of free amino acids in the blood serum of guinea pigs, in mg % of guinea pigs: K — healthy, G — infected with tuberculosis, and E — infected with tuberculosis and treated with folliculin and folic acid

Amino- kwasy	K			G			E		
	zasięg			zasięg			zasięg		
	min	max	średnio	min	max	średnio	min	max	średnio
1	0,82	2,05	1,400	0,81	2,05	1,390	0,68	1,43	1,012
2	2,34	4,62	3,225	1,95	3,76	3,015	1,36	3,29	2,392
3	1,00	2,54	1,920	1,57	3,70	2,327	0,94	2,67	1,636
4	2,08	5,14	4,093	3,03	5,76	4,547	1,72	3,46	2,549
5	2,40	5,40	4,250	2,81	6,08	4,648	2,70	4,48	3,373
6	2,15	4,90	3,695	1,27	5,67	3,528	2,38	5,24	3,614
7	1,40	3,80	2,568	0,67	3,93	1,875	1,31	3,81	2,279
8	0,53	0,96	0,762	0,51	0,71	0,592	0,40	0,84	0,577
9	0,42	1,78	0,822	0,42	0,99	0,552	0,27	0,58	0,426
10	2,15	3,10	2,682	1,15	3,99	2,767	1,44	3,61	2,479
11	0,56	1,40	0,885	0,60	0,77	0,692	0,29	0,95	0,637
12	0,78	1,90	1,200	0,60	1,66	1,045	0,47	1,33	0,903
Razem	21,51	30,06	27,502	19,08	33,26	26,977	15,55	25,88	21,877

1 — cystyna, 2 — lizyna, 3 — histydyna, 4 — arginina, 5 — glicyna, 6 — treonina + kwas glutaminowy, 7 — alanina, 8 — tryptofan, 9 — metionina, 10 — walina, 11 — fenyloalanina, 12 — leucyna + izoleucyna

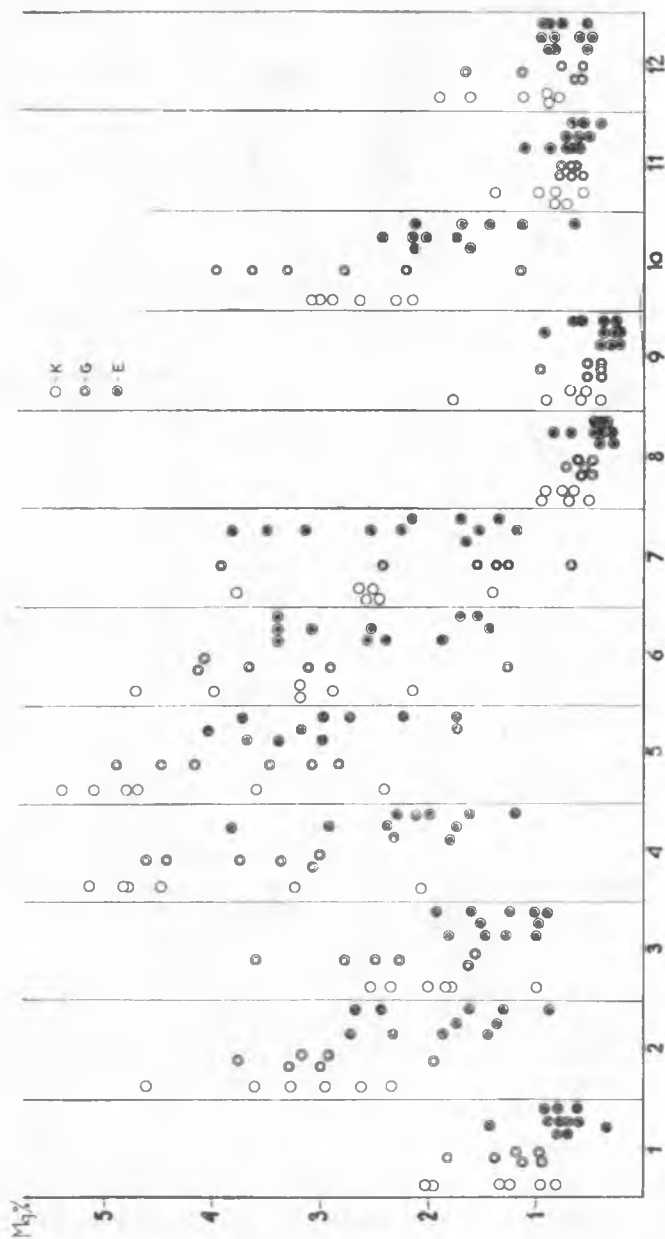
1 — cystine, 2 — lysine, 3 — histidine, 4 — arginine, 5 — glycine, 6 — threonine + glutamic acid, 7 — alanine, 8 — tryptophan, 9 — methionine, 10 — valine, 11 — phenylalanine, 12 — leucine and isoleucine.

Uzyskane wyniki badań zestawiono w szeregi pomiarów i przeprowadzono analizę statystyczną. Tab. 1 obrazuje zasięg wartości i przeciętny poziom sumy oraz poszczególnych wolnych aminokwasów w odpowiednich grupach świnek. Chromatogramy dają orientację jakościową i ilościową badanych aminokwasów. Ryc. 1 mówi o wartościach ilościowych poszczególnych aminokwasów.



Ryc. 1. Chromatogram wolnych aminokwasów w surowicy krwi świnki morskiej; K — zdrowej, G — zakażonej gruźlicą, E — zakażonej gruźlicą z podaniem hp i kf
 Chromatogram of free amino acids in the blood serum of guinea pigs: K — healthy, G — infected with tuberculosis, E — infected with tuberculosis and treated with folliculin and folic acid

Przedstawione dane wskazują na postępujący spadek wolnych aminokwasów w surowicy krwi u świnek zakażonych gruźlicą, a różnica wartości grupy doświadczalnej w stosunku do świnek zdrowych jest statystycznie znamienne. Spadek ten zaznaczył się wyraźnie dla tryptofanu, kwasu glutaminowego, lizyny i cystyny. Stężenie sumy wolnych amino-



Ryc. 2. Wartości ilościowe wolnych aminokwasów w surowicy krwi świnek morskich; K — zdrowych, G — zakażonych gruźlicą, E — zakażonych gruźlicą z podawaniem hp i kf, 1 — cystyna, 2 — lizyna, 3 — histydyna, 4 — arginina, 5 — glicyna, 6 — treonina + kwas glutaminowy, 7 — alanina, 8 — tryptofan, 9 — metionina, 10 — walina, 11 — fenylalanina, 12 — leucyna + izoleucyna

Quantitative values of free amino acids in the blood serum of guinea pigs: K — healthy, G — infected with tuberculosis, E — infected with tuberculosis and treated with foliculin and folic acid, 1 — cystine, 2 — lysine, 3 — histidine, 4 — arginine, 5 — glycine, 6 — threonine + glutamic acid, 7 — alanine, 8 — tryptophan, 9 — methionine, 10 — valine, 11 — phenylalanine, 12 — leucine + isoleucine

kwasów świnek zdrowych wynosiło średnio 27,52 mg%, w grupie zakażonych 26,97 mg% a u zakażonych i traktowanych p. h. i k. f. 21,87 mg%. Spostrzegane obniżenie sumy wolnych aminokwasów w grupie G w porównaniu z grupą K, wynoszące 0,52 mg nie jest statystycznie znamienne, natomiast spadek poziomu aminokwasów w grupie E, wynoszący średnio 5,62 mg% jest wysoce statystycznie znamienny. Istotnie niższe wartości sumy badanych aminokwasów stwierdzono w grupie zwierząt E w stosunku do G ($P = 0,04$).

Przeciętny poziom poszczególnych aminokwasów w grupie G ulega zmianie także dla histydyny, treoniny, alaniny, metioniny, waliny, leucyny z izoleucyną. Poziom lizyny, argininy, fenyloalaniny w grupie E ulega statystycznie istotnemu obniżeniu w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono również niższy poziom glicyny.

Jak wykazano uprzednio (5) hormon pęcherzykowy podany zwierzętom w nadmiarze powodował zaostrzenie się procesu gruźliczego. W grupie świnek zakażonych gruźlicą i traktowanych h. p. i k. f. proces chorobowy postępował szybciej. Również zmiany w narządach były bardziej rozległe aniżeli u świnek gruźliczych, którym nie podawano hormonu. Obecnie wykazano, że i odnośnie sumy wolnych aminokwasów w surowicy krwi obu grup świnek (G i E) istnieją statystycznie znamienne różnice. Dotyczą one również wartości poszczególnych aminokwasów.

Obniżenie się poziomu wolnych aminokwasów w surowicy krwi świnek gruźliczych traktowanych hormonem pęcherzykowym jest niewątpliwie wyrazem zwicznienia przemiany pośredniej białek i obrazuje znaczniejszy stopień wyniszczenia organizmu w stosunku do świnek gruźliczych nie otrzymujących hormonu. Spadek wartości wolnych aminokwasów występujący równolegle z nasileniem się zmian chorobowych może świadczyć o istotnym znaczeniu czynnika estrogennego w przebiegu procesu gruźliczego.

PIŚMIENICTWO

1. Buraczowska O., Manowska W.: Gruźlica 7, 583, 1956.
2. Charvat J.: Hormony sterydowe, PZWL, Warszawa 1953.
3. Cieślak E., Dorożyński J., Sliwińska H.: *Pediatrics Polska* 93, 1288, 1964.
4. Gordon S., Nardi G. L.: *J. Clin. Lab. Med.*
5. Tynecka Z., Tynecki J.: *Pol. Tyg. Lek.* 15, 902, 1960.
6. Zajcewa G. N., Tiuleniewa N. P.: *Laboratornoje dieło* 3, 24, 1958.

Зависимость между течением экспериментального туберкулёза и содержанием аминокислот в крови морских свинок

Резюме

Авторы проследили поведение уровня свободных аминокислот в сыворотке крови трёх групп морских свинок: а) здоровых, б) зараженных туберкулёзом, в) зараженных туберкулёзом и получающих альвеолярный гормон и фолиевую кислоту. Морские свинки третьей группы быстрее подвергались заболеванию с признаками пространственных творожистых туберкулёзных изменений в органах.

Увеличение активности процесса влияло на свойства исследуемых аминокислот. Установлена некоторая корреляция между снижением содержания аминокислот и интенсивностью туберкулёзного процесса у свинок, получающих гормон, что свидетельствует о значительной роли эстрогенного фактора в течении туберкулёзного процесса.

Табл. 1. Объем содержания и средний уровень отдельных свободных аминокислот, определенных в мг%, в сыворотке крови морских свинок здоровых (К), зараженных туберкулёзом (Г), а также зараженных туберкулёзом и получающих альвеолярный гормон и фолиевую кислоту (Е): 1 — цистин, 2 — лизин, 3 — гистидин, 4 — аргинин, 5 — глицин, 6 — треонин + глютаминовая кислота, 7 — аланин, 8 — триптофан, 9 — метионин, 10 — валин, 11 — фенилаланин, 12 — лейцин + изолейцин.

Рис. 1. Хроматограмма свободных аминокислот в сыворотке крови морской свинки: К — здоровой, Г — зараженной туберкулёзом, Е — зараженной туберкулёзом и получающей альвеолярный гормон и фолиевую кислоту.

Рис. 2. Количественное содержание свободных аминокислот в сыворотке крови морских свинок.

The Level of Free Amino Acids in the Blood of Guinea Pigs with Experimental Tuberculosis

Summary

Free amino acid levels were determined in the serum of three groups of guinea pigs: a) those being in good health, b) infected with tuberculosis, c) infected with tuberculosis and treated with folliculin. The condition of the guinea pigs deteriorated most rapidly, as a result of caseation in all the organs of the body.

The intensity of the morbid process is evident in the values of the examined amino acids. In the authors' opinion there is a correlation between the reduction in the amino acid level and the acuteness of the morbid process in the guinea pigs treated with the hormone. This correlation shows the importance of the follicular factor in tuberculosis.