

Յ. Տ. ԻՏԱԿՅԱՆ

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКАЯ КАРТИНА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АМЕБИАЗЕ КРОЛИКОВ

Разработанный в последние годы электрофоретический метод разделения белков позволяет изучать состояние белков сыворотки крови у человека и различных животных как в норме, так и при патологических процессах.

Наряду с применением классического метода электрофореза (Тизелиус) изучение белков сыворотки крови при помощи электрофореза на бумаге приобретает все большее значение. В доступной нам литературе как отечественной, так и в зарубежной есть не мало указаний о применении электрофореза на бумаге при различных исследованиях. Однако вопрос о применении этого метода с целью изучения инфекций паразитарной этиологии в советской литературе не освещен, тогда как в иностранной литературе имеется достаточно работ по изучению соотношения между белковыми фракциями у человека и различных животных под влиянием паразита на организм хозяина.

Изучение производилось в основном с кровепаразитами. Данных же по этому вопросу при кишечном паразитизме мы не встречали.

Целью настоящего исследования является попытка применить метод электрофореза для выяснения характера биохимических сдвигов в зараженном организме и возможной специфичности этих сдвигов.

Поставив перед собой задачу определить соотношение белковых фракций сыворотки крови кроликов в результате заражения их патогенной дизентерийной амёбой — *Entamoeba histolytica*, мы решили выяснить электрофоретическую картину белковых фракций сыворотки крови кроликов до заражения (в норме) и после интрацекального их заражения *E. histolytica*, при явлениях острого амёбиаза.

Методика работы. Исследования производились на молодых кроликах разной масти, обоего пола, весом не более 1000 г. Под опытом находилось 10 кроликов, содержались они на обычной диете. Кролики были разделены на две группы, в каждой группе по 5. Первая группа, контрольная, служила для определения белкового состава крови в норме. Кролики второй группы были подвергнуты интрацекальному заражению 2-х суточной культурой *E. histolytica* путем лапаротомии. У контрольных кроликов кровь бралась из краевой вены уха в количестве 2—3 см³. Отделялась сыворотка и подвергалась электрофоретическому исследованию. У зараженных кроликов кровь бралась после вскрытия из сердца; кролики вскрывались в разгаре инфекции, иногда

перед самой гибелью в агонии в состоянии, через 15—20 дней после заражения. У 4-х из зараженных 5-ти кроликов еще при жизни были обнаружены признаки заболевания; в жидких испражнениях были обнаружены тканевые формы амебы. При вскрытии обращалось внимание на характер и степень поражения кишечника и состояние других органов. Электрофоретическое исследование проводилось в аппарате, сконструированном по схеме, предложенной А. Г. Гурвичем [1] для электрофореза на фильтровальной бумаге. Применялся веронал-мединаловый буферный раствор с $\text{pH} = 8,6$ и ионной силой $= 0,1$.

Мы пользовались хроматографической бумагой № 1, выпускаемой Ленинградской фабрикой. Электрофоретическое разделение осуществлялось при постоянном токе напряжением в 220 в и силе тока 0,5 мА на 1 см. ширины бумаги в течение 16—19 часов. Бумажная полоска длиной в 38 см. и шириной в 3,5 см. предварительно пропитывалась буферным раствором, затем прямо в центре, или иногда отступя от центра на 1,5—2 см. ближе к катоду; тонкой поперечной полоской при помощи шлифованного покровного стекла размером 18×18 мм. наносилась цельная сыворотка в количестве 0,01 мл. Бумажные полоски после опыта высушивались в сушильном шкафу при температуре 105° в течение 15 минут. В качестве красителя применялся бромфенолблау (0,05% раствор бромфенолблау в 1% растворе сулемы + 2 мл. ледяной уксусной кислоты). Бумажные полосы помещались в раствор красителя на 5 мин., затем излишек краски удалялся многократным промыванием 2% раствором уксусной кислоты. После промывки фореграммы высушивались при комнатной температуре.

Опыты ставились на 2-х параллельных бумажных полосках не менее 2-х, а иногда и 3-х раз для каждого случая. Буферный раствор менялся через каждые 2 раза (чем свежее был буферный раствор, тем результаты получались лучше).

Общий белок определялся рефрактометрически. Для количественного определения соотношения белковых фракций сыворотки крови мы пользовались методом вымывания краски и последующим колориметрическим определением ее количества.

Электрофореграмма разделялась на поперечные полоски шириной в 0,5 см; каждая полоска помещалась в пробирку, в которую приливалось 5 мл. 0,01 N раствора NaOH и оставлялось на 0,5 часа при комнатной температуре. За это время пробирки 2—3 раза встряхивались для лучшего экстрагирования краски. Затем элюат подвергался колориметрированию. Иногда мы просто разрезали фореграмму на 4 части по границе раздела фракций и подвергали колориметрированию каждую фракцию в отдельности.

Для фотометрирования полученных растворов мы пользовались главным образом фотоэлектроколориметром ФЭК-М, фильтр зеленый. Для каждого случая мы определяли соотношения отдельных фракций как в относительных процентах, так и в грамм-процентах. Также выводили альбумино-глобулиновый коэффициент. Полученные данные под-

вергались статистической обработке (табл. 1 и 2). В данной работе при вычислениях мы не пользовались коэффициентом 1,6, предложенным некоторыми авторами для глобулинов.

Результаты опытов показали, что при электрофоретическом исследовании сыворотки крови нормальных кроликов отчетливо выявляются 4 фракции: альбумин и 3 глобулиновые фракции α , β и γ — глобулины.

Статистически обработанные данные исследований белковых фракций сыворотки крови 5 контрольных кроликов представлены в таблице 1 и на рис. 1 и 2.



Рис. 1. Электрофореграмма сыворотки крови нормального кролика.

Таблица I

Белковый состав сыворотки крови нормальных кроликов.

Статистический показатель	Альбумин	Глобулины			Альбумино-глобулин. коэффициент	Белок в грам-процентах	Альбумин	Глобулины		
		α	β	γ				α	β	γ
	в относительных %						в грам-процентах			
M	60,1	12,3	14,1	13,02	1,5	6,7	4,12	0,8	0,9	0,84
$\sigma \pm$	3,3	2,8	2,8	1,8	0,16	1,2	0,23	0,16	0,11	0,11
m \mp	1,04	1,2	1,2	0,78	0,07	0,4	0,09	0,11	0,04	0,04

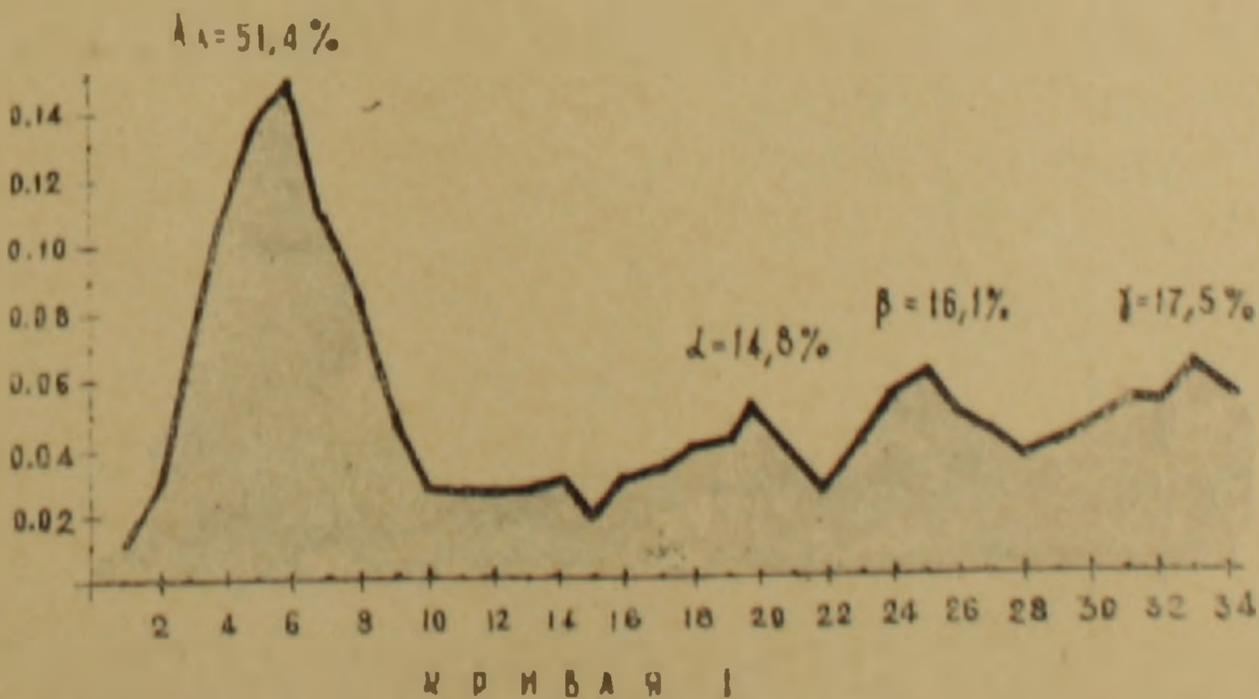


Рис. 2. Электрофоретическая кривая сыворотки крови нормального кролика.

Результаты наших измерений сыворотки крови нормальных кроликов совпадают с данными ряда авторов (В. И. Ойвин [3], М. С. Суровикина [2], [4]).

У зараженных кроликов при вскрытии мы наблюдали типичные для амёбиаза поражения толстого кишечника. Изменения локализовались главным образом в области слепой кишки. Снаружи слепая кишка на всем протяжении была покрыта беловато-желтыми разращениями. Слизистая оболочка слепой кишки была сильно воспалена и резко гиперемирована. Местами на слизистой наблюдались эрозии и мелкие язвы. В жидко-кровянистом содержимом кишки всегда обнаруживались тканевые формы амёб в очень большом количестве. Со стороны других органов никаких изменений не было обнаружено, за исключением характерного для кокцидиоза поражения печени.

Электрофоретическая картина белков сыворотки крови кроликов, зараженных *E. histolytica*, представлена в табл. 2 и на рис. 3, 4, 5, 6.

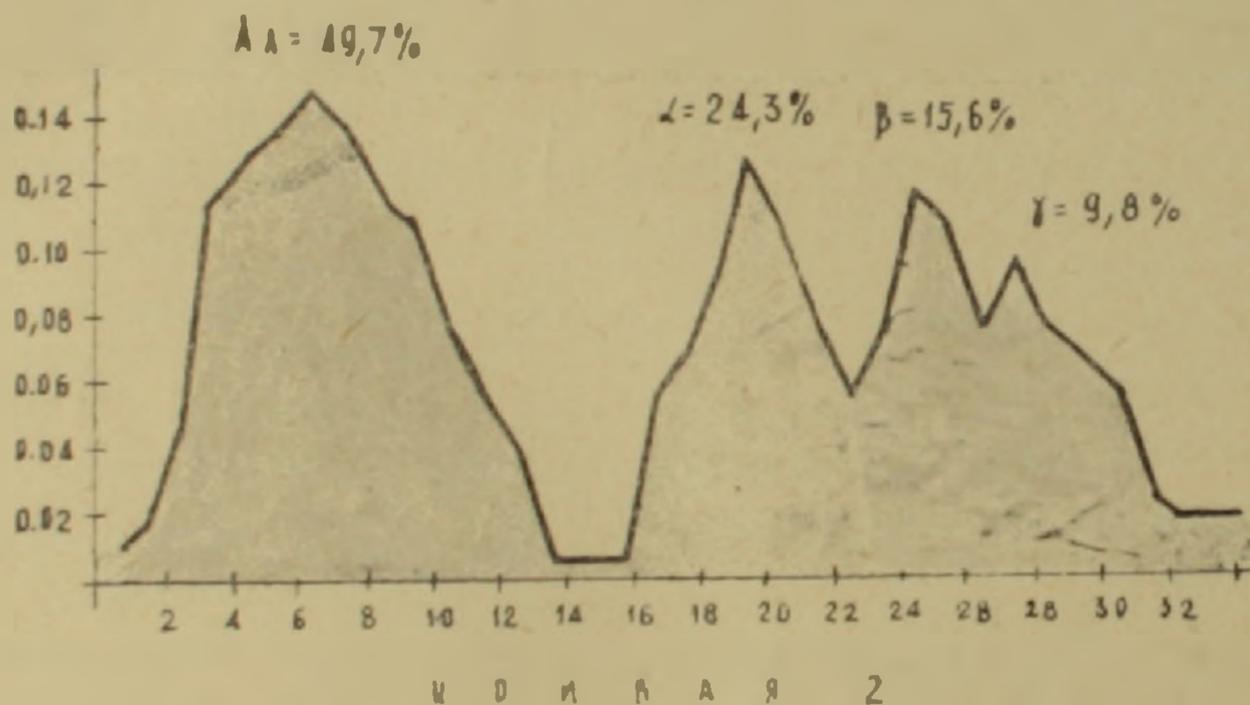


Рис. 3. Электрофоретическая кривая сыворотки крови кролика, заражен. *E. histolytica*.

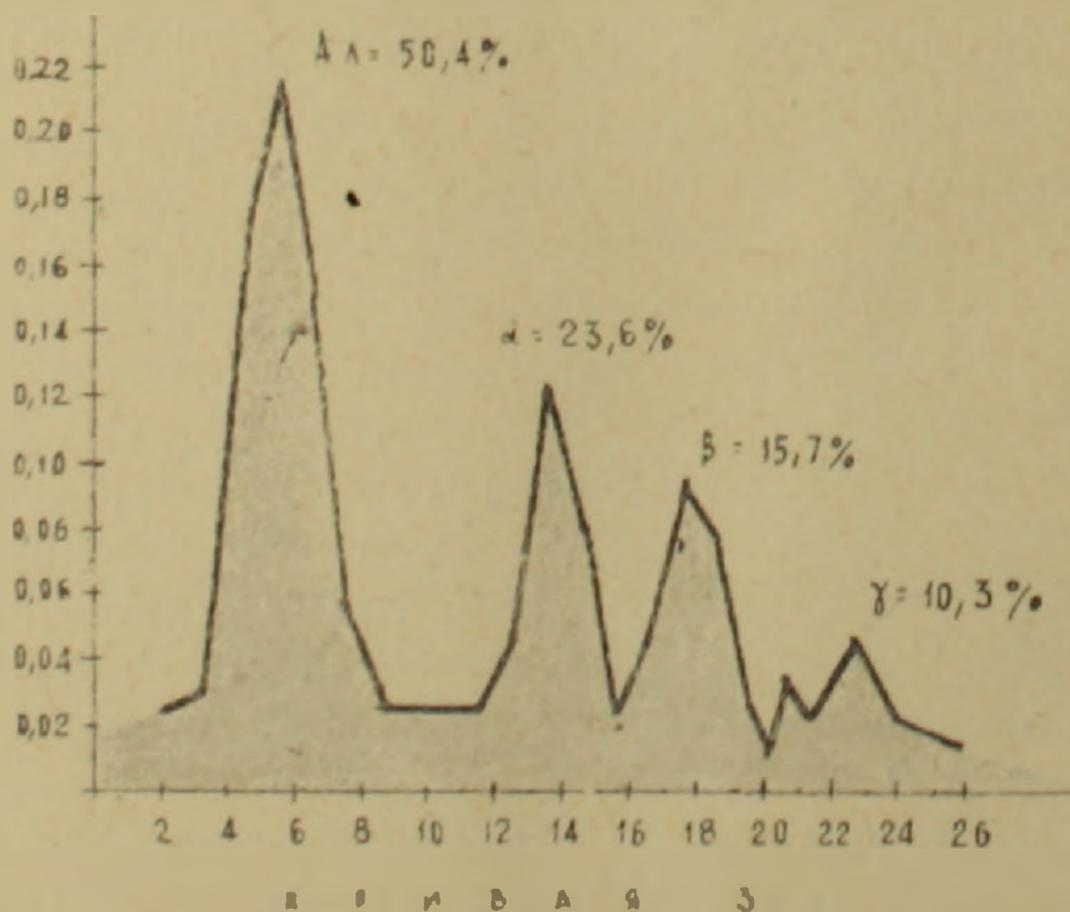


Рис. 4. Электрофоретическая кривая сыворотки крови кролика, заражен. *E. histolytica*.

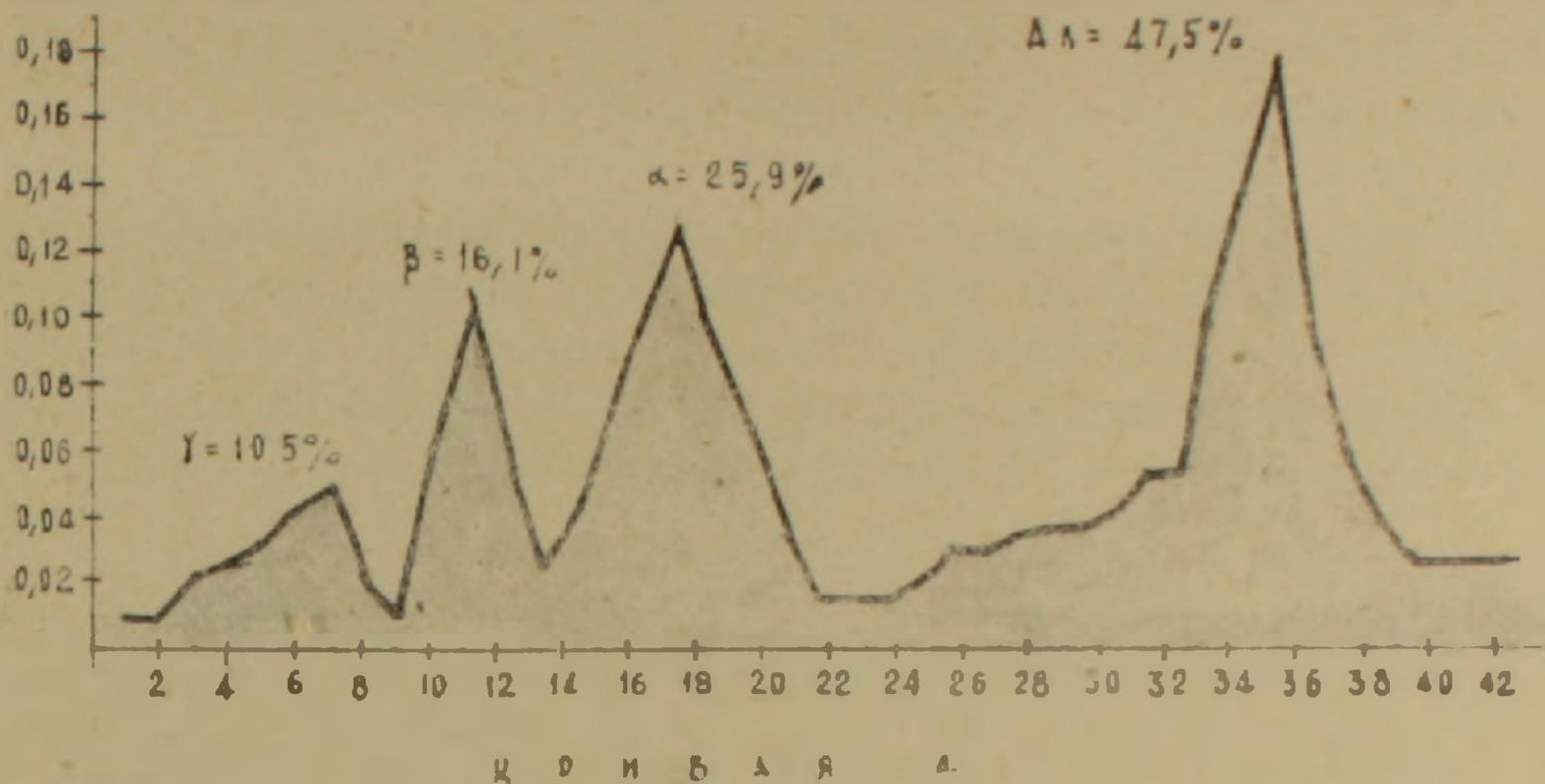


Рис. 5. Электрофоретическая кривая сыворотки крови кролика, заражен. *E. histolytica*.



Рис. 6 Электрофореграмма сыворотки крови кролика, зараженного *E. histolytica*.

Таблица 2
Белковый состав сыворотки кроликов, зараженных *E. histolytica*

Статистический показатель	Альбумин	Глобулины			Альбумино-глобулиновый коэффициент	Белок в грамм-процентах	Альбумин	Глобулины		
		α	β	γ				α	β	γ
	в относительных %				в грамм-процентах					
M	48.7	22.5	16.8	11.01	0.95	7.2	3.5	1.6	1.20	0.76
σ	3.01	3.9	2.1	1.3	0.12	1.3	0.25	0.26	0.16	0.39
m	1.3	1.7	0.9	0.6	0.01	0.6	0.11	0.11	0.05	0.4

При сравнении данных, полученных при электрофоретическом исследовании белков сыворотки крови нормальных кроликов и у кроликов с амёбным поражением толстого кишечника, видно, что процентное содержание альбумина у последних значительно снижено, а глобулинов повышено. Альбумино-глобулиновый коэффициент значительно снижен. Увеличение содержания глобулинов идет за счет повышения α — фракции, β и γ — фракции почти не изменены по сравне-

նիւս հոմադոսութիւնն նպատակն է փորձարկել էլեկտրաֆորեզի մեթոդը արլան շիճուկի սպիտալին ֆրակցիաների հարարերութիւնը որոշելու համար՝ նորմալ ճաղարներէ մոտ և ճաղարներին *E. histolytica* ինտրայեկալ վարակելուց հետո (սուր ամեոբիազի երևույթների ժամանակ):

Ստացուած ճաղարներէ արլան շիճուկի սպիտալին ֆրակցիաների հարարերութիւնը որոշելու համար (էլեկտրաֆորեզի մեթոդով՝ ֆիլտրի թղթի վրա) մեր կատարած հետազոտութիւնները ցուցն են ալի, որ էքսպերիմենտալ ամեոբիազի ժամանակ տեղի է ունենում ալբումին-գլոբուլինային զորձակցի զգալի իջեցում՝ ի հաշիւ α -գլոբուլինային ֆրակցիալի մեծացման:

Кафедра биологии

Ереванского медицинского института

Поступило 5 II 1957

Ջ. Ս. ԻՍԱԿՅԱՆ

ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ՍՊԻՏՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱՖՈՐԵՏԻԿ ՊԱՏԿԵՐԸ ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ՄՈՏ՝ ԷՔՍՊԵՐԻՄԵՆՏԱԼ ԱՄԵՈԲԻԱԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ներկա հետազոտութիւնն նպատակն է փորձարկել էլեկտրաֆորեզի մեթոդը արլան շիճուկի սպիտալին ֆրակցիաների հարարերութիւնը որոշելու համար՝ նորմալ ճաղարներէ մոտ և ճաղարներին *E. histolytica* ինտրայեկալ վարակելուց հետո (սուր ամեոբիազի երևույթների ժամանակ):

E. histolytica վարակված ճաղարներէ արլան շիճուկի սպիտալին ֆրակցիաների հարարերութիւնը որոշելու համար (էլեկտրաֆորեզի մեթոդով՝ ֆիլտրի թղթի վրա) մեր կատարած հետազոտութիւնները ցուցն են ալի, որ էքսպերիմենտալ ամեոբիազի ժամանակ տեղի է ունենում ալբումին-գլոբուլինային զորձակցի զգալի իջեցում՝ ի հաշիւ α -գլոբուլինային ֆրակցիալի մեծացման:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гуревич А. Е. Лабораторное дело, 3, 1955.
2. Суровикина М. С. Бюлл. эксп. биол. и мед., 5, т. 37, 1954.
3. Ойфун В. И. Биохимия, в 3 т. 18, 1953.
4. Kunkel H. G., Tiselius A. J., Gen. Physiol. V. 35, 1951.