

БИОХИМИЯ

М. А. Тер-Карапетян, чл.-корресп. АН Армянской ССР и А. М. Оганджанян

Полисахаридная фракция из *Fasciola gigantica*

(Представлено 15 I 1949)

Изучение полисахаридов беспозвоночных животных имеет большое значение не только для понимания их обмена веществ, но также и потому, что вещества эти являются специфическими антигенами в отношении ряда других животных.

Советскими и иностранными исследователями по линии чистых полисахаридов до настоящего времени приготовлены антигенные препараты. Из рода *Ascaris*: Кембел (1936, 1937.), Оливер-Гонзалес (1944), Бабаджанов (1947.); из *Cysticercus fasciolaris*, *Cysticercus crassicolis*, *Trichinella spiralis*, *Echinococcus granulosus* и др.

Насколько нам известно, до сих пор не были получены антигены из паразитов рода *Fasciola*, поэтому нам показалось заслуживающим внимания указание Керр и Петковича (1935) относительно того, что при введении в организм кролика эмульсии из *Fasciola hepatica*, у него к этому паразиту приобретается иммунитет. Мы поставили себе задачей провести работу по выделению антигенных препаратов из паразитов рода *Fasciola*.

Так как до сих пор окончательно не выяснен вопрос, какая фракция является антигеном или гаптеном (Шихабалова и Лейкина, 1948), мы решили приготовить из целого организма паразита, с одной стороны—чистые полисахариды, с другой—фракцию, состоящую из полисахаридов и белков.

Объектом исследования в первую очередь была взрослая *Fasciola gigantica*, полученная на бойне. Она смешивалась со стеклянным порошком и измельчалась в ступке, а затем высушивалась при низкой температуре, до получения белого порошка.

Полисахарид экстрагируется в физиологическом растворе, а затем осаждается из экстракта, освобожденного от значительного количества белковых веществ. Аморфный остаток собирается и сушится под вакуумом (над серной кислотой).

В каждой пробе производятся реакции биуретовая и иодная, и

кислотный гидролиз титрованием редуцирующих веществ по методу Хагедорна—Иенсена.

*Препарат № 1.* Порошок *Fasciola gigantica* эквивалентен 17,8 г свежего паразита. К порошку приливается 300 см<sup>3</sup> раствора поваренной соли. Производится экстракция смешением в течение 8 часов, а затем фильтрация; получается коричневый мутный раствор в количестве 240 см<sup>3</sup>. Осаждение спиртом; получают желто-серые хлопья, которые для полного осаждения оставляются на ночь. Препарат центрифугируется и высушивается под вакуумом. Получается 0,630 г серого порошка, дающий биуретовую реакцию + + + +, с иодом дает сильное красное окрашивание. Общий азот—8,2%.

Кислотным гидролизом дает следующие количества редуцирующих веществ:

Таблица 1

Время гидролиза (в минутах)	0	30	60	120	180
Р. в. в ‰ в сухом веществе	5,00	24,00	25,50	37,50	37,50

*Препарат № 2.* Порошок *Fasciola gigantica* эквивалентен 14,3 г свежего паразита. К порошку примешивается 60 см<sup>3</sup> соляного раствора. Экстракция в течение 30 минут. Экстракт собирается с декантацией. Осадок несколько раз промывается водой, которая приливается к первоначальному экстракту. Общий экстракт имеет коричневатый мутный цвет. Общий объем экстракта—80 см<sup>3</sup> (фракция I). Эта фракция освобождается от одной важной части белковых веществ. Получается прозрачный фильтрат в количестве 70 см<sup>3</sup> (фракция II). От фракции II, путем спиртового осаждения, получают две фракции полисахаридов в виде белых хлопьев Ф II<sub>1</sub> и Ф III. Осадок оставляется на ночь, собирается и сушится. Получается два аморфных порошка: Ф III серого цвета и Ф II<sub>1</sub>—бело-желтого. Последний весит 150 мгр.

Химический анализ всех проб приводится в таблице 2.

Таблица 2

Фракция	Биурет	Общий азот ‰	Р. в. ‰ (1)	Р. в. N
Ф I	+ + + + +	2,16 <sub>2</sub>	3,56 <sub>2</sub>	1,8
Ф II	++	0,394 <sub>2</sub>	2,76 <sub>2</sub>	7,0
Ф III	+	0,136 <sub>2</sub>	1,44 <sub>2</sub>	10,6
Ф II <sub>1</sub>	(+)	1,65 <sub>3</sub>	115,5 <sub>3</sub>	69,0

1. Определение в конце гидролиза.
2. Проценты по объему.
3. Проценты по весу.

Кислотный гидролиз фракции Ф II<sub>1</sub> показывает следующую кинетику:

Таблица 3

Время гидролиза (в минутах)	0	30	60	120	180	240	300	360
Р. в. в ‰. Расчитано на общее количество вещества	24	67,0	80,0	94,0	107,0	112,0	115,0	115,0
Р. в. в ‰. Расчитано на 76‰-ую полисахаридную фракцию	0	43,0	56,0	70,0	83,0	88,0	91,0	91,0

Результаты показывают, что исследуемое вещество, кроме азота в количестве 1,65‰, состоит из углеводов, из которых 24‰ до гидролиза имеют редуцирующие свойства, а остальные 76‰ из чистых полисахаридов, которые после гидролиза дают вещества, вероятно — моносахарид в количестве 19‰ от их веса, при теоретическом выходе в 111‰.

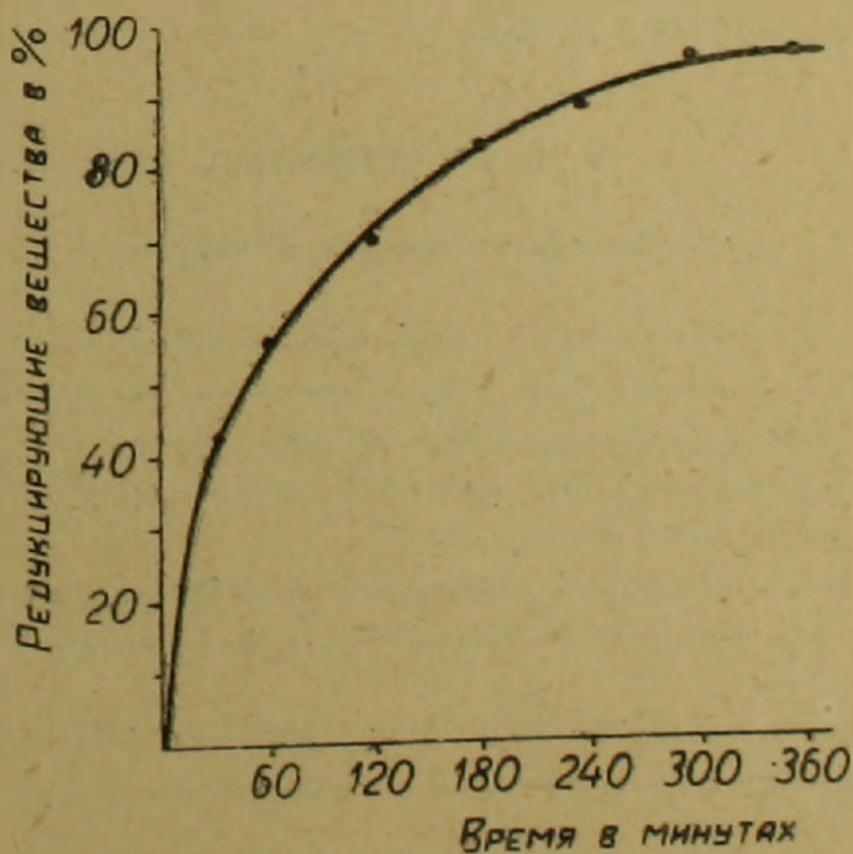
Относительно редуцирующей способности до гидролиза, нам не известно, зависит ли она от свободных редуцирующих соединений, находящихся в натуральном веществе, или является следствием частичного разложения в процессе приготовления вещества?

Дальнейшие исследования и в строго стандартизированных условиях получаемые препараты дадут нам возможность ориентироваться между этими двумя возможностями.

Фракция Ф II<sub>1</sub> имеет ряд свойств полисахаридов; является аморфным бело-желтым веществом, которое с иодом дает реакцию красного окрашивания как гликогенподобные вещества; непосредственно растворяется в холодной и горячей воде, давая белый опалесцирующий раствор.

В дальнейшем на этом веществе будет изучаться свойство отклонения поляризованного луча, а характер сахаров будет изучаться приготовлением соответствующих осазонов.

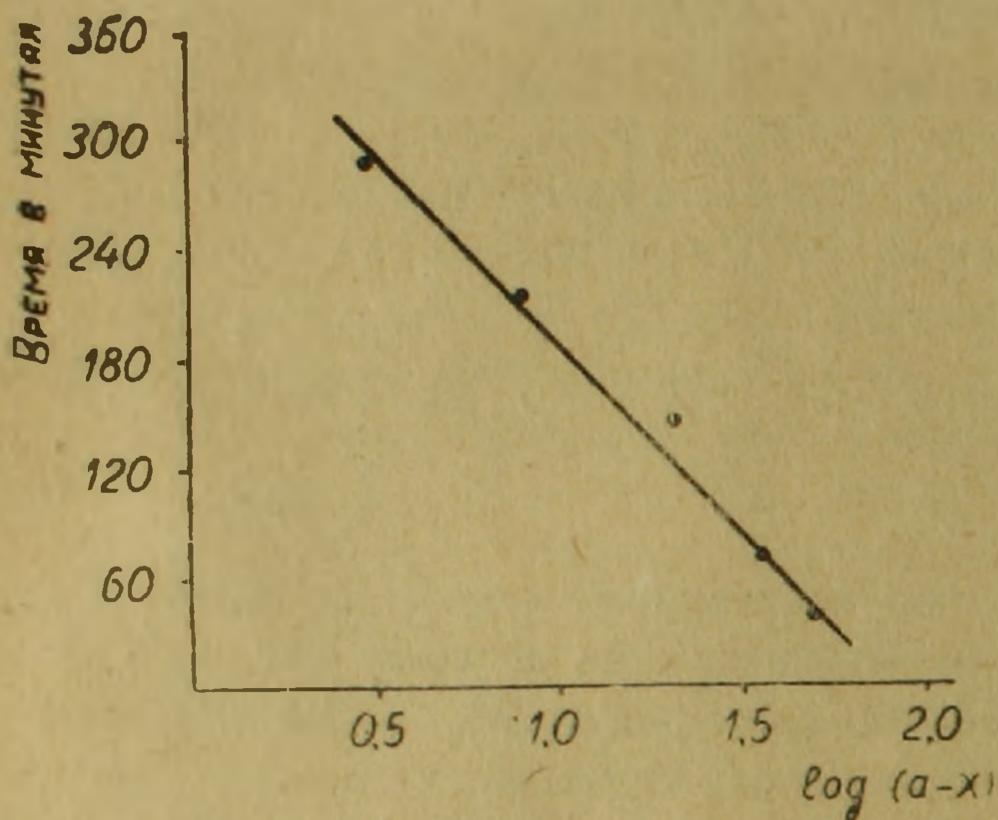
Кинетика гидролиза выделенных полисахаридов показывает, что эта реакция подчиняется закономерности логарифмического уравнения (график 1).



Граф. 1.

Исходя из той гипотезы, что реакция гидролиза чистых по-

лисахаридов, согласно формуле  $K = \frac{2.303}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x}$ , относится к реакции первого ряда, мы пробовали контролировать эту закономерность на своем объекте. Опыт показал, что если на абсциссе поста-



Граф 2.

вить величину (a-x) на ординате—время, то наши экспериментальные точки расположатся по прямой линии, что и доказывает известные данные гидролиза полисахаридов (график 2).

Результаты наших экспериментов дают нам право сделать заключение, что мы впервые изолировали из организма *Fasciola gigantica* разные фракции, одна из которых состоит из комплек-

са белка и полисахаридов, а другая—из углеводов с 76% чистым полисахаридом. Фракции эти являются первыми представителями ряда веществ полисахаридного и глюкопротеидного характера, которые и будут изолированы нами из организма беспозвоночного рода *Fasciola*.

Таким образом, препарат № 1 и фракция ФII<sub>1</sub> представляют объект для дальнейших исследований в части их иммунологических свойств\*.

Институт животноводства  
Академии Наук Армянской ССР  
Ереван. 1948. декабрь.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿՍՐԱՊԻՏՅԱՆ ԵՎ Ա. Մ. ՕՉԱՆՋԱՆՅԱՆ

Պոլիսախարիդային և բազիլա *Fasciola gigantica*-ից

Անողնաշարավորների պոլիսախարիդների ուսումնասիրությունը մեծ նշանակություն ունի ոչ միայն նրանց նյութափոխանակությունը հասկանալու, այլև նրա համար, որ այս նյութերը մի շարք կենդանիների նկատմամբ հանդիսանում են սպեցիֆիկ անտիգեններ: Այսպիսով, այս պրոբլեմն բնդհանուր բիոլոգիայի և գյուղատնտեսությունից մեջ ունի բացառիկ նշանակություն:

Վերջին տարիների ընթացքում հելմինտոզների դեմ վակցինացիայի գծով տարված են հաջող փորձեր, համապատասխան որդերից պատրաստված անտիգեններով (տես գրականություն):

Բայց, որքան մեզ հայտնի է, մինչև այժմ *Fasciola* ցեղի պարագիտներից չեն ստացված բիմիականորեն բնորոշված անտիգեններ:

\* Иммунологические исследования этих препаратов будут производиться проф. Давтяном Э. А.

նկատի ունենալով, որ նման անտիգենները մեծ մասամբ պատկանում են պոլիսախարիդների կամ սպիտակուցների շարքին, մենք մեր առաջ խնդիրը դրեցինք *Fasciola* ցեղի պարազիտներից անջատել նմանօրինակ նյութեր:

Մեր հետազոտությունների օրեկտը առաջին հերթին եղել է հասուն *Fasciola gigantica*-ն: Պոլիսախարիդն էքստրակտվել է ֆիզիոլոգիական լուծույթում և ապա սպիտակուցային նյութերի զգալի քանակ հեռացվելուց հետո նստեցվել է բամբակաթից: Ամորֆ նստվածքը շորացվել է վակուումում: Ամեն մի նմուշի նկատմամբ կատարվել է բիուրիտային, յոդի սեակցիաներ և թթվային հիդրոլիզ սեղուկցող նյութերի որոշմամբ:

**Պրեպարատ № 1.**—Վերցված է *F. gigantica*-ի փոշի, որն էկվիվալենտ է 17,8 գ թարմ պարազիտի: էքստրակցված է ֆիզիոլոգիական լուծույթում, նստեցված է սպիրտով և շորացված: Ստացվել է գորշ փոշի, որը տվել է բիուրետային սեակցիա + + + +, յոդով ուժեղ կարմիր գունավորում, թթվային հիդրոլիզից հետո որոշվել է սեղուկցող նյութերի քանակը (տես աղյուսակ 1):

**Պրեպարատ № 2.**—Վերցված է *F. gigantica*-ի փոշի, որն էկվիվալենտ է 14,3 գ թարմ պարազիտի: էքստրակցված է ֆիզիոլոգիական լուծույթում և բաժանված է ֆրակցիաների: Կատարված է բոլոր ֆրակցիաների քիմիական անալիզը, որի արդյունքը տրված է 2-րդ և 3-րդ աղյուսակներում:

Ֆրակցիան ունի պոլիսախարիդների մի շարք հատկություններ՝ սպիտակ-դեղնավուն ամորֆ նյութ է, զլիկոպենանման նյութերի պես յոդի հետ տալիս է կարմիր գունավորում, լուծվում է տաք և սառը ջրում, տալով սպիտակ ոպալեսցող լուծույթ:

Մեր էքսպերիմենտների արդյունքները թույլ են տալիս եզրակացնելու, որ մենք առաջինը՝ *F. gigantica*-ի օրգանիզմից անջատել ենք տարբեր ֆրակցիաներ, որոնցից մեկը կազմված է սպիտակուցի և պոլիսախարիդների կոմպլեքսից, իսկ մյուսը՝ ամբողջովին անխաչրերից՝ 76% մաքուր պոլիսախարիդով:

**Պրեպարատ № 1** և **Ֆրակցիա Փ II**, հանդիսանալու են հետագա հետազոտությունների օբեկտը՝ նրանց իմունոնոլոգիական հատկությունների գծով:

## Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

1. С. Н. Бабаджанов. Мед. паразитол. и паразит. болезни, в. 4, 33, 1947.
2. Н. П. Шухобалова и Е. С. Лейкина. Тр. гельминтол. лаб. АН СССР, 1, 93, 1948.
3. D. H. Campbell. J. Inf. Dis. 59, 266, 1936; 65, 12, 1939. 4. K. B. Kerr & O. L. Petkovitch. J. Parasit. 21, 319, 1935. 5. J. Oliver-Gonzales. J. Inf. Dis. 72, 202, 1943; 74, 81, 1944; 74, 174, 1944.