М. Д. ГЗГЗЯН, А. А. КУГЛЕЕВ

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА ПРИ ТРАВМАХ ГЛАЗ

За последние годы большое внимание уделяется изменениям белковых фракций различных жидкостей и тканей организма как весьма чувствительному показателю разнообразных сдвигов в нем.

Изучая трансплантацию консервированного стекловидного тела при обширных прободных ранениях глаз с потерей содержимого, мы попутно исследовали процентное содержание и соотношение белковых фракций в нем под влиянием консервации на холоде, а также при таких осложнениях, как эндофтальмит и гемофтальм. Наши исследования носили экспериментально-клинический характер.

Определение процентного содержания белковых фракций стекловидного тела проводилось путем электрофоретического разделения белков на бумаге. Это один из наиболее точных современных методов, употребляемых для изучения белковых фракций. Для этих целей мы пользовались аппаратом для вертикального электрофореза, сконструированным в Ленинградском институте экспериментальной медицины АМН СССР.

Электрофоретическое разделение белков стекловидного тела на фракции проводилось в веронал-мединаловом буферном растворе. рН раствора равнялся 8,6; ионная сила—0,1. Разделение происходило при напряжении тока 150 вольт и силе тока 0,3 миллиампера (применялась хроматографическая бумага, которую нарезали полосами 3,0×36,0 см).

По окончании длившегося 18 ч. электрофоретического разделения белков в камере полосы бумаги, высушенные при температуре 100°C, окрашивались в течение 6 ч. бромфеноловым синим. Окрашенные полосы промывались трижды по 15 мин. 10%-ным раствором уксусной кислоты, затем фиксировались 1%-ным раствором ацетата натрия в 10%-ной уксусной кислоте (8 мин.) и далее высушивались при комнатной температуре. Полученные таким образом электрофореграммы денситометрировались. Денситограммы сверялись с электрофореграммами с целью определения границ белковых фракций, после чего высчитывалось процентное содержание белковых фракций и их соотношение.

Исследуемое стекловидное тело мы наносили на полосу хроматографической бумаги непосредственно в камере для электрофореза. Ввиду низкого процентного содержания белков в нормальном стекловидном теле, для получения отчетливой картины нам приходилось наносить его на полосу бумаги в 10 раз большем количестве по сравнению с другими

исследуемыми жидкостями. Так, например, для изучения белковых фракций сыворотки крови достаточно 0,01 мл, а для исследования стекловидного тела требуется 0,1 мл. Это обстоятельство вызвало некоторые затруднения: наносимое на бумагу в таком количестве стекловидное тело растекалось по поверхности бумажной полосы; электрофореграммы смазывались, чтение их становилось невозможным. Поэтому нам пришлось видоизменить общепринятую методику. Мы стали наносить стекловидное тело на полосу бумаги тремя разными дозами по 0,333 мл [1]. Каждая последующая порция наносилась после подсыхания предыдущей. Это позволило избежать растекания стекловидного тела и получить достаточно четкие электрофореграммы.

Для электрофоретических исследований при травматическом гемофтальме и эндофтальмите, сопровождающихся повышением содержания белка в стекловидном теле [1 и др.], мы могли уже пользоваться обычным количеством вещества (0,01 мл стекловидного тела) и наносить его на бумагу одновременно.

Для сравнительной оценки изменений белковых фракций стекловидного тела после консервации и трансплантации его мы исследовали в качестве контроля процентное содержание и соотношение этих фракций в стекловидном теле неповрежденного глаза.

Вильструп и Корнеруп [4], исследовав нормальное стекловидное тело человека с помощью электрофореза на бумаге, обнаружили, что альбумин-глобулиновый коэффициент его равняется 43—46 (54—57).

Форсиус [3] при травматических увеитах обнаружил значительное повышение содержания альбуминов в стекловидном теле, а при кровоизлияниях—резкое повышение глобулинов.

Нами было проведено 76 экспериментов. На 14 глазах здоровых кроликов мы изучили процентное содержание и соотношение белковых фракций в норме. Изменение этих показателей под влиянием консервации стекловидного тела на холоде (после недельного и месячного содержания в холодильнике при температуре $+2^{\circ}$ — $+4^{\circ}\text{C}$) было изучено на 12 глазах (по 6 для каждого срока). На 10 глазах было изучено содержание и соотношение белковых фракций в стекловидном теле через месяц после трансплантации его от донора в поврежденный глаз реципиента.

Результаты всех этих экспериментальных исследований представлены в табл. 1.

Как видно из этой таблицы, среднее процентное содержание и соотношение белковых фракций в стекловидном теле подопытных животных существенно не изменялись ни под влиянием консервации на холоде, ни после трансплантации.

Полученные нами результаты подверглись статистической обработке. Последняя подтвердила недостоверность различий в разных группах опытов, практическую однородность цифр.

Изучение биохимических сдвигов в стекловидном теле кроликов при экспериментальном травматическом эндофтальмите было проведено на

Таблица 1

Процентное содержание и соотношение белковых фракций стекловидного тела кроликов в норме, в процессе консервации и после трансплантации ($M \pm m$)

Стекловидное тело	Белковые фракции		Альбумин-глобулиновый индекс
	альбумины	глобулины	
Нормальное	28,30 $\pm$ 0,52	71,70 $\pm$ 0,52	0,40 $\pm$ 0,02
Консервированное на холоде в течение 1 недели	29,25 $\pm$ 0,51	70,75 $\pm$ 0,61	0,41 $\pm$ 0,03
Консервированное на холоде в течение 1 месяца	30,23 $\pm$ 0,60	69,77 $\pm$ 0,60	0,43 $\pm$ 0,03
Через месяц после трансплантации	28,27 $\pm$ 0,51	71,73 $\pm$ 0,51	0,39 $\pm$ 0,02

В таблице приведены средние арифметические данные (M) в группе опытов и средние отклонения (m) от них. Такие же показатели приводятся и во всех других таблицах статьи.

30 глазах. Содержание и соотношение белковых фракций исследовалось на 4, 7, 10, 20 и 30 сутки после инфицирования глаза (по 6 опытов соответственно каждому из этих сроков). На других 10 глазах аналогичное исследование было проведено при травматическом гемофтальме.

Результаты этих исследований приведены в таблице 2. Для сравнения в таблицу включены данные, относящиеся к нормальному стекловидному телу.

Как видно из табл. 2, уже в первые дни развития травматического эндофтальмита в процентном содержании белковых фракций происходят значительные сдвиги: резко снижается количество альбуминов и соответственно возрастает процентное содержание глобулиновой фракции. Наибольшее падение процентного содержания альбуминов мы наблюдали на 7-ые сутки после инфицирования, когда их содержание в стекловидном теле уменьшилось в 3 и более раза по сравнению с нормой. Соответственно возрастало содержание глобулинов. К 10-у дню после инфицирования глаза содержание альбуминов начинает постепенно повышаться, а глобулинов—соответственно уменьшаться. По мере затухания воспалительного процесса (к 20-у дню после инфицирования) соотношение белковых фракций в стекловидном теле почти нормализуется, затем (к 30-у дню) содержание альбуминов становится даже несколько более высоким, чем в норме.

При травматическом гемофтальме наблюдается стойкое понижение процентного содержания альбуминовой фракции и соответственное повышение глобулиновой.

Статистическая обработка этих данных подтвердила достоверность различий между нормальным и патологически измененным стекловидным телом.

Электрофоретические исследования стекловидного тела человека были проведены нами на 10 глазах трупов, при жизни не страдавших

Таблица 2

Процентное содержание и соотношение белковых фракций стекловидного тела в норме при травматическом эндофтальмите и гемофтальме у кроликов ($M \pm m$)

Стекловидное тело	Белковые фракции		Альбумин-глобулиновый индекс
	альбумины	глобулины	
Нормальное	28,30 $\pm$ 0,52	71,70 $\pm$ 0,52	0,40 $\pm$ 0,02
При травматическом гемофтальме	19,30 $\pm$ 0,61	80,70 $\pm$ 0,61	0,22 $\pm$ 0,03
При травматическом эндофтальмите			
на 4-ые сутки	17,38 $\pm$ 1,09	82,62 $\pm$ 1,09	0,21 $\pm$ 0,04
на 7-ые сутки	9,22 $\pm$ 2,38	90,78 $\pm$ 2,38	0,10 $\pm$ 0,09
на 10-ые сутки	18,33 $\pm$ 0,89	81,67 $\pm$ 0,89	0,22 $\pm$ 0,08
на 20-ые сутки	21,06 $\pm$ 0,75	78,94 $\pm$ 0,75	0,27 $\pm$ 0,01
на 30-ые сутки	37,37 $\pm$ 2,46	62,63 $\pm$ 2,46	0,60 $\pm$ 0,06

какими-либо глазными заболеваниями. Глаза были энуклеированы не позднее 24 ч. после смерти больных.

Исследовалось также стекловидное тело (консервация на холоде в течение недели—8 глаз, в течение месяца—8 глаз).

Процентное содержание и соотношение белковых фракций стекло-

Таблица 3

Процентное содержание и соотношение белковых фракций стекловидного тела в глазу человека в норме, при консервации на холоде, при травматическом эндофтальмите и при гемофтальме ($M \pm m$)

Стекловидное тело	Белковые фракции		Альбумин-глобулиновый индекс
	альбумины	глобулины	
Нормальное	42,59 $\pm$ 2,04	57,41 $\pm$ 2,04	0,77 $\pm$ 0,07
Консервированное на холоде:			
в течение недели	42,35 $\pm$ 2,4	57,65 $\pm$ 2,4	0,75 $\pm$ 0,07
в течение месяца	41,9 $\pm$ 2,5	58,1 $\pm$ 2,5	0,74 $\pm$ 0,08
При травматическом эндофтальмите:			
на 4-ые сутки	15,38 $\pm$ 2,8	84,62 $\pm$ 2,8	0,18 $\pm$ 0,09
на 7-ые сутки	11,05 $\pm$ 2,9	88,95 $\pm$ 2,9	0,12 $\pm$ 0,09
При травматическом гемофтальме	17,56 $\pm$ 0,46	82,44 $\pm$ 0,46	0,21 $\pm$ 0,09

видного тела при травматическом гемофтальме было изучено на 9 человеческих глазах (после их энуклеации), а при травматическом эндофтальмите—на 16 (стекловидное тело при этом извлекалось с помощью пункции перед введением антибиотиков). Стекловидное тело исследовалось при эндофтальмите в разгар развития процесса (на 4- и 7-ые сутки).

Результаты всех этих исследований (51) стекловидного тела человека приведены в табл. 3.

Приведенные в табл. 3 данные относятся к клиническим наблюдениям и являются сходными с таковыми, полученными нами в эксперименте.

Биохимические сдвиги, происходящие в стекловидном теле человека в процессе консервации на холоде, незначительные (независимо от сроков хранения при низкой температуре).

Статистическая обработка этих цифровых данных также подтвердила недостоверность различий результатов этих групп исследований.

Изменения же процентного содержания и соотношения белковых фракций в стекловидном теле при травматическом гемофтальме и, особенно, при травматическом эндофтальмите оказались весьма убедительными. Мы могли констатировать значительное понижение содержания альбуминов и соответствующее повышение содержания глобулинов в разгаре заболевания. Это соответствует и нашим экспериментальным данным.

Статистическая проверка подтвердила достоверность различий между результатами исследований нормального стекловидного тела и результатами, полученными нами при его патологических изменениях.

Наши экспериментальные и клинические исследования позволили прийти к заключению, что консервация стекловидного тела на холоде является надежным методом заготовки и хранения последнего. Практически мы имеем возможность всегда создать достаточный запас стекловидного тела для клинических нужд.

Полученные в эксперименте и в клинических условиях данные о значительных изменениях в содержании и соотношении белковых фракций стекловидного тела при травматическом эндофтальмите и гемофтальме дают представление о биохимических сдвигах, происходящих при этих патологических процессах в глазу.

Можно полагать, что значительное обогащение белками бедного ими в норме стекловидного тела происходит при гемофтальме за счет богатой глобулинами крови, а при травматическом эндофтальмите—за счет богатого белками эксудата.

Кефедра офтальмологии
Ленинградского института
совершенствования врачей

Поступило 8/IX 1967 г.

Մ. Դ. ԳԶԳԶՅԱՆ, Ա. Ա. ԿՈՒԳԼԵՎ

ԱՊԱԿԵՆՄԱՆ ՄԱՐՄՆԻ ԷԼԵԿՏՐՈՖՈՐԵՏԻԿ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԱԶՔԻ
ՏՐԱՎՄԱՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Էքսպերիմենտում և կլինիկական պայմաններում ուսումնասիրված է սառը պայմաններում նոսրեցված ապակենման մարմնի տրանսպլանտացիան աչքի ընդլայնված թափանցող տրավմաների դեպքում, երբ տեղի ունի աչքի պարունակության կորուստ, ինչպես նաև տրավմայի այնպիսի բարդացումներ

դեպքում, ինչպիսիք են էնդոֆտալմիտը և հեմոֆտալմը: Ուսումնասիրվել են ապակենման մարմնի սպիտակուցային ֆրակցիաները այդ պրոցեսների ժամանակ:

Ուսումնասիրությունները կատարվել են էլեկտրոֆորեզի միջոցով: Կատարվել է ապակենման մարմնի անցկացում թղթի վրա (Մ. Դ. Գզգզյան, 1965 թ.):

Հեղինակների կողմից ստացված արդյունքները մեզ բերում են այն եզրակացություն, որ դոնորի ապակենման մարմնի կոնսերվացիան սառը պայմաններում ոչ մի ձևով չի անդադառնում ապակենման մարմնի սպիտակուցի տոկոսային պարունակության և սպիտակուցային ֆրակցիաների փոխհարաբերության վրա: Այդպիսի ապակենման մարմինը նույնիսկ երկար ժամանակ սառը պայմաններում պահելու դեպքում էլ կարելի է հաջողությամբ տեղադրել վնասված աչքում:

Տրավմատիկ էնդոֆտալմիտի և հեմոֆտալմի դեպքում տեղի են ունենում սպիտակուցի քանակի և նրա ֆրակցիաների փոխհարաբերության փոփոխություններ: Այդ փոփոխությունները հեմոֆտալմի դեպքում տեղի են ունենում գլոբուլիններով հարուստ արյան, իսկ էնդոֆտալմիտի դեպքում՝ սպիտակուցներով հարուստ էքսուդատի հաշվին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гэззян М. Д. Автореферат. Л., 1965.
2. Рачевский Ф. А. Вестник офтальмологии, 1940, т. XVI, 1, стр. 27.
3. Forsius H. Acta Ophthalm., 1958, 36, 3, 569.
4. Villstrup G. a. Kornerup V. Acta Ophthalm., 1955, 33, 1, 17.