

УДК 543.63:591.11

## Исследование некоторых биохимических показателей сыворотки крови животных Гомельского региона

Е.Л.Смолик

Белки являются одним из наиболее важных и неотъемлемых компонентов живого организма. Большое значение для процессов жизнедеятельности имеют белки сыворотки крови. Играя важную роль в поддержании гомеостаза, они легко реагируют на любые изменения в организме качественными и количественными сдвигами [1].

Сывороточные белки являются наиболее удобным материалом для биохимических исследований, так как, имея отношения к подавляющему большинству физиологических процессов, они несут обширную информацию о состоянии организма и легко доступны для получения в нативном состоянии. Изучение белкового спектра сыворотки крови позволяет судить о функциональном состоянии органов и тканей, служит для целей диагностики, помогает контролировать степень и характер воздействия того или иного фактора на организм. Анализируя изменения, происходящие в белках сыворотки крови, можно в определенной степени судить о физиологических и патологических состояниях в организме [2, 3].

Белковый состав сыворотки крови представлен большим числом компонентов, отличающихся по своим физическим, химическим и биологическим свойствам. С учетом этих свойств белковая система сыворотки крови может быть разделена на ряд белковых фракций, число и гомогенность которых зависят от используемого метода. Наиболее распространенным методом исследования белков сыворотки крови является электрофорез. С его помощью изучают белковый состав биологических жидкостей как в норме, так и при различных патологических состояниях. Часто используется зональный электрофорез на поддерживающей среде, в качестве которой применяют носители: фильтровальную бумагу, асбестовое волокно, силикагель, стеклянный порошок, целлюлозу, агаровый, крахмальный или полиакриламидный гели [4].

Полиакриламидный гель, представляющий собой синтетический продукт сополимеризации, обладает рядом особых качеств: химической стабильностью и инертностью, прозрачностью, лабильностью структуры (что дает возможность получать гели с желаемой величиной пор), отсутствием электроосмоса и адсорбции, устойчивостью к изменениям pH и температуры, нерастворимостью в большинстве растворителей; кроме того, его можно получать с хорошей воспроизводимостью из аналитически чистых исходных веществ.

Применяя дифференциальный диск-электрофорез с использованием в качестве носителя полиакриламидного геля, в сыворотке крови можно выделить от 15 до 20 отдельных белковых фракций.

Высокая разрешающая способность диск-электрофореза базируется на двух физических явлениях: 1) эффект “подвижной границы” (эффект Кольрауша) - сущность которого состоит в концентрировании смесей в четко ограниченной зоне перед их разделением на отдельные компоненты; 2) эффект “молекулярного сита” - отдельные молекулы при электрофорезе разделяются не только по их общему электрическому заряду, а также по величине и форме молекул [5].

Биохимические показатели сыворотки крови зависят от возраста, сезона года, уровня кормления, условий содержания животных и других факторов [6]. Содержание животных в хозяйствах Гомельского региона характеризуется особенностями применения питьевой воды различного качества, использованием природных кормов и искусственных добавок к рационам кормления и другими.

Целью настоящих исследований стало изучение влияния индивидуальных условий содержания на белковый состав сыворотки крови животных в хозяйствах Гомельской области.

В ходе работы были проанализированы сыворотки крови крупного рогатого скота чернопестрой породы, полученные от лактирующих коров (возраст 3-5 лет) совхозов “Ведрич” - Речицкого района, “Березки” - Гомельского района, “Носовичи” - Добрушского района.

В качестве метода исследования нами использован блочный вариант диск-электрофореза в полиакриламидном геле, позволяющий анализировать одновременно большое количество проб.

Методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле в сыворотке крови крупного рогатого скота выделено от 14 до 18 отдельных белковых фракций, обладающих определенной электрофоретической подвижностью. Вследствие большого числа фракций расшифровка полиакриламидной электрофореграммы представляет значительные трудности. Для упрощения этого процесса белки объединяли в группы по их биологической роли в организме: альбумины, альфа-глобулины, трансферрины, гаптоглобины, гамма-глобулины, белки S- фракции.

Непосредственно у входа в разделяющий гель находится белковая фракция, идентифицированная нами, как S-фракция, или стартовая зона, имеющая сложный состав. В ней присутствуют гамма-А-глобулины и гамма-М-глобулины, которые имеют большую молекулярную массу и крупные размеры, что не позволяет им войти в разделяющий гель.

Далее располагаются гамма-А-глобулины в виде 2-3 белковых зон или в виде одной массивной фракции, электрофоретическая подвижность которой изменяется в широких пределах. Гамма-А-глобулины широко представлены в секреторных жидкостях, считается, что они несут ответственность за защиту легочного и желудочно-кишечного тракта от инфекций, а также участвуют в аллергических реакциях организма. Гамма-Г-глобулины имеют большую электрофоретическую подвижность и располагаются ближе к аноду в виде одной крупной диффузной зоны. На их долю приходится основная масса антител, образующихся в организме, кроме того это единственный иммуноглобулин способный проходить через плаценту.

За гамма-глобулинами расположена группа белков - гаптоглобинов. В этой зоне расположены 2-4 тонкие слабые полосы, иногда гаптоглобины представлены 1-2 диффузными фракциями. Физиологическая роль гаптоглобина связана с его способностью образовывать комплексное соединение с гемоглобином, который образуется при естественном разрушении эритроцитов, способствуя быстрому ферментативному расщеплению последнего до желчных пигментов, а железо геминовых группировок вновь используется для синтеза гемоглобина.

В середине гелевого столбика находится зона трансферринов, состоящая из 3-5 четких крупных белковых фракций, количество которых обусловлено генетическим полиморфизмом белка. Трансферрин, образуя комплексные соединения с железом, переводит его в депонированную форму и доставляет его в костный мозг и ткани ретикулоэндотелиальной системы.

В альфа-глобулиновой фракции можно выделить до восьми индивидуальных белков с различной электрофоретической подвижностью. Возле трансферринов, в виде четкой полосы расположен медьсодержащий белок - церулоплазмин. Биологическая роль до конца не выяснена. Обладая оксидазной активностью, он способен окислять ряд субстратов: аскорбиновую кислоту, адреналин и другие, возможно, что основная роль церулоплазмينا заключается в выведении избыточных количеств меди из организма, или в транспортировке меди из печени в клетки и клеточные органеллы для синтеза цитохромоксидаз и других медьсодержащих ферментов[7]. Остальные альфа-глобулины представлены тонкими линиями или широкими полосами с нечеткими границами.

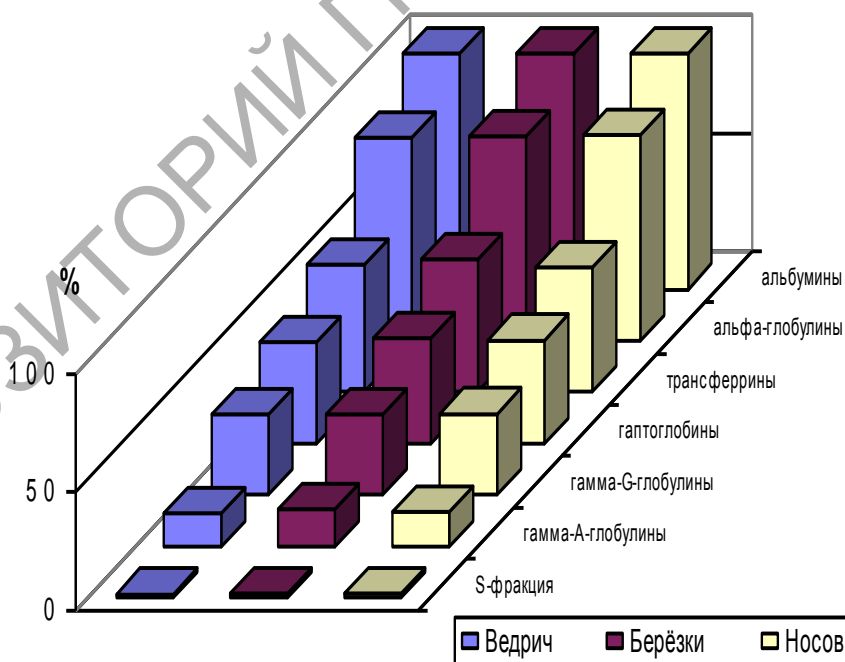
Замыкает электрофореграмму мощная альбуминовая фракция, имеющая наибольшую электрофоретическую подвижность и наибольшее содержание в сыворотке крови. Высокое содержание этого белка в сыворотке крови обусловлено его исключительной физиологической значимостью в организме. Имея небольшую молекулярную массу и высокий отрицательный

заряд, альбумины способны к связыванию воды и поддержанию постоянного объема крови. Они служат пластическим материалом для клеток, тканей и органов. Участвуют в транспорте ряда веществ, в том числе витаминов С, К, Р; обладают антитоксической функцией, так как способны к связыванию многих ядовитых веществ. Отсутствие преальбуминовой зоны в белковом спектре крупного рогатого скота исследуемых хозяйств может быть связано с низким содержанием белка в этой фракции.

Все вышеуказанные фракции обнаружены у животных всех хозяйств в каждом опыте. В процессе работы нами было проведено измерение относительной электрофоретической подвижности отдельных белковых фракций. Этот показатель является одной из важнейших качественных характеристик белков сыворотки крови и используется для их идентификации. Абсолютная электрофоретическая подвижность в сильной степени зависит от условий опыта, которые трудно поддаются стандартизации, при измерении относительной подвижности (по отношению к альбумину) условия стандартизируются автоматически.

Исследования показали, что электрофоретическая подвижность альфа-глобулинов составила у животных Речицкого района –  $86,0 \pm 1,8\%$ , Гомельского района –  $86,6 \pm 1,7\%$ , Добрушского района –  $87 \pm 1,6\%$ ; трансферринов  $53,9 \pm 1,7$ ,  $56,1 \pm 2,1$ ,  $53,1 \pm 1,1\%$ ; гаптоглобинов  $43,1 \pm 0,7$ ,  $44,4 \pm 1,2$ ,  $43,8 \pm 0,9\%$ ; гамма-G-глобулинов  $34,1 \pm 0,6$ ,  $34,1 \pm 1,0$ ,  $34,4 \pm 0,4\%$ , соответственно. Несколько больше отличается подвижность гамма-A-глобулинов у крупного рогатого скота различных хозяйств: совхоз “Ведрич” –  $13,9 \pm 0,6\%$ , “Березки” –  $15,8 \pm 0,8\%$ , “Носовичи” –  $14,4 \pm 0,4\%$ ; белков S-фракции  $1,4 \pm 0,1$ ,  $1,7 \pm 0,1$ ,  $1,6 \pm 0,1\%$ , соответственно. Таким образом, электрофоретическая подвижность отдельных белковых фракций у животных различных хозяйств меняется незначительно (рис. 1), что свидетельствует о стабильности структуры белковых молекул. Отличия в относительной подвижности могут быть связаны с индивидуальными особенностями животных.

Рис. 1. Электрофоретическая подвижность белков сыворотки крови крупного рогатого скота



Рефрактометрически определяли содержание общего белка в сыворотке крови животных [8]. Степень рефракции раствора обусловлена величиной, физическим состоянием растворенных

в нем частиц и температурой внешней среды. В сыворотке крови величина рефракции зависит в первую очередь от количества и качества белков, солям и другим составным частям принадлежит меньшая роль. У крупного рогатого скота совхоза “Березки” общее содержание белка в сыворотке крови составляет  $7,58 \pm 0,28$  г%; у коров совхоза “Ведрич”  $7,26 \pm 0,56$  г%, совхоза “Носовичи”  $7,17 \pm 0,55$  г%.

Для количественной оценки полученных электрофореграмм использовали метод фотоколориметрирования. Гелевые пластинки разрезали по границам фракций и помещали в пробирки. Предварительно растирали и элюировали краситель 1n раствором гидроксида натрия в течение 40 минут, затем колориметрировали при красном светофильтре (длина волны 720 нм). Сумму оптических плотностей белков принимали за 100%. Процентное содержание белка в отдельной фракции определяли исходя из суммарной плотности.

В таблице приведены величины, характеризующие относительное содержание белка в отдельных фракциях у животных хозяйств Гомельской области. Наибольший процент сывороточных белков приходится на альбумины 43,1-47,5%; на втором месте идут гамма-глобулины - 23,9-26,6%; количество трансферринов и альфа-глобулинов различается незначительно и составляет 6,4-7,0% и 8,4-10,4% соответственно; далее идут гамма-А-глобулины содержание которых широко варьирует и составляет 6,2-9,4%; на S-фракцию приходится 2,8-6,3% сывороточных белков; еще ниже в сыворотке крови содержание гаптоглобинов 1,5-2,0%. Относительное содержание белка в отдельных фракциях находится в пределах физиологической нормы и согласуется с литературными данными [7].

Таблица

Относительное содержание отдельных белковых фракций в сыворотке крови крупного рогатого скота (n=11, p=0,95)

Фракции	Относительное содержание отдельных белковых фракций, %		
	“Ведрич”	“Березки”	“Носовичи”
Альбумины	$47,5 \pm 0,3$	$45,6 \pm 0,2$	$43,1 \pm 0,3$
Альфа-глобулины	$8,4 \pm 0,1$	$8,7 \pm 0,1$	$10,4 \pm 0,2$
Трансферрины	$7,0 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$	$6,4 \pm 0,2$
Гаптоглобины	$1,5 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,1$
Гамма-Г-глобулины	$26,6 \pm 0,1$	$26,4 \pm 0,2$	$23,9 \pm 0,2$
Гамма-А-глобулины	$6,2 \pm 0,1$	$8,1 \pm 0,1$	$9,4 \pm 0,2$
S-фракция	$2,8 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,2$

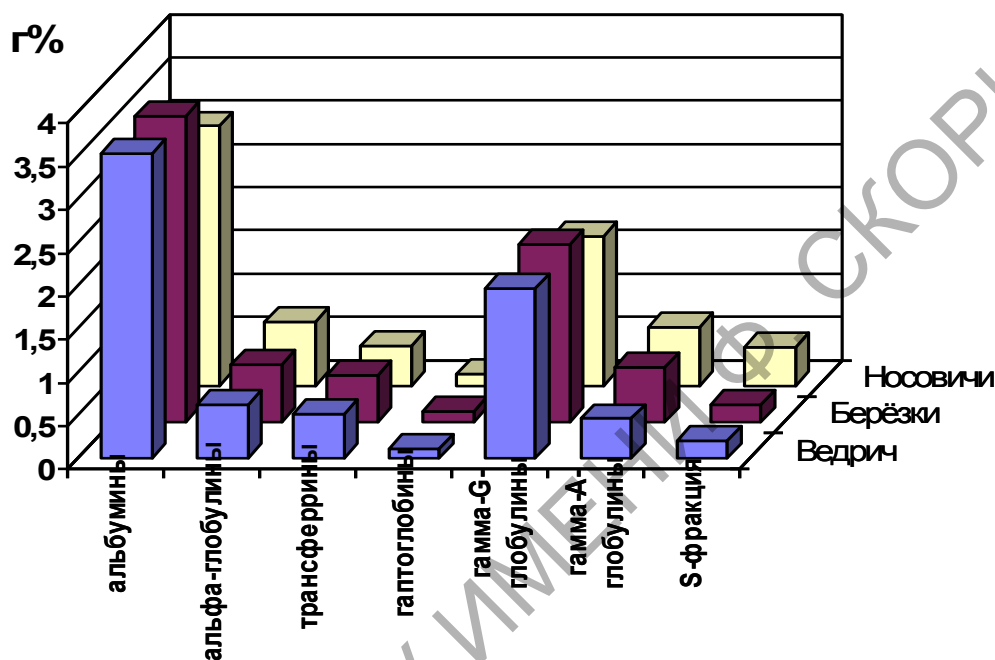
Имеются некоторые отличия в абсолютном содержании отдельных белковых фракций у животных различных хозяйств (рис. 2). Так, у животных совхоза “Носовичи” несколько снижен уровень альбуминов  $3,00 \pm 0,23$  г%, тогда как у коров совхозов “Ведрич” и “Березки”  $3,52 \pm 0,27$  и  $3,53 \pm 0,18$  г%, соответственно. Количество альфа-глобулинов достигает максимального значения  $0,74 \pm 0,06$  г% у крупного рогатого скота Добрушского района, а в Речицком и Гомельском составляет  $0,62 \pm 0,05$  и  $0,67 \pm 0,04$  г%.

Количество бетта-глобулинов (трансферринов) ниже у животных совхоза “Носовичи”  $0,46 \pm 0,03$  г%, в то время как, у крупного рогатого скота совхозов “Ведрич” и “Березки”  $0,52 \pm 0,04$  и  $0,54 \pm 0,03$  г%. Содержание гаптоглобинов изменяется незначительно:  $0,11 \pm 0,01$  г% в Речицком районе до  $0,14 \pm 0,01$  г% в Добрушском.

Уровень гамма-Г-глобулинов несколько выше в Гомельском районе  $2,05 \pm 0,11$  г%, у животных Речицкого района -  $1,96 \pm 0,15$  г%, Добрушского -  $1,72 \pm 0,14$  г%. Количество гамма-А-глобулинов выше у коров совхозов “Носовичи” и “Березки” -  $0,63 \pm 0,03$  г%,  $0,68 \pm 0,05$  г%, тогда

как в совхозе “Ведрич” -  $0,46 \pm 0,04$  г%. Повышено содержание грубодисперсных белков S-фракции в Добрушском районе -  $0,45 \pm 0,04$  г%, по сравнению с Гомельским и Речицким районами  $0,20 \pm 0,02$  г%.

Рис. 2. Абсолютное содержание белковых фракций сыворотки крови крупного рогатого скота



Электрофоретическое исследование выявило в сыворотке крови крупного рогатого скота основные белковые зоны: альбумины, альфа-глобулины, трансферрины, гаптоглобины, гамма-G-глобулины, гамма-A-глобулины, белки S-фракции. Качественный анализ полученных электрофореграмм не выявил резких различий в белковых спектрах у животных различных хозяйств. Электрофоретическая подвижность отдельных белковых фракций изменялась незначительно, что обусловлено индивидуальными особенностями животных, а именно уникальной структурой белковых молекул, их зарядом, формой. Количественные изменения в составе сывороточных белков могут быть связаны с различиями в условиях содержания, качестве кормов, питьевой воды и т.д.

#### Abstract

E.L.Smolik. Biochemical characteristics of animal blood samples in Gomel region // Proc. Gomel State Univ., 1(4). Biology, 2001.

Electrophoretic mobility of certain protein fractions changes insignificantly. It testifies to the fact that the structure of protein molecules remains invariable. Quantitative changes in the composition of serum proteins may be ascribed to the conditions of animal's maintenance and their feeding.

#### Литература

1. Красов В.М. Электрофоретические исследования белков крови животных. - Алма-Ата: Наука, 1969. - С.87-206.

2. *Ильязов Р.Г., Малиев В.М., Михалусев В.И.* Комплексная оценка физиологического состояния, воспроизводительных качеств и продуктивных показателей крупного рогатого скота, содержащегося на территории с различной плотностью радиоактивного загрязнения территории после аварии на Чернобыльской АЭС // Итоги научных исследований в области радиоэкологии окружающей среды за десятилетний период после аварии на Чернобыльской АЭС. – Гомель, 1996. – С.70-83

3. *Алешко С.Ф.* Влияние радиоактивного загрязнения на формирование белкового состава сыворотки крови животных // Проблемы экологии и природопользования в Гомельском регионе. – Мн., 1996. – С.99-109

4. *Остерман Л.А.* Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. – М.: мир, 1983. – 143с.

5. *Гааль Э.* Электрофорез в разделении биологических макромолекул. - М.: Мир, 1982. - 445с.

6. *Смолик Е.Л.* Изучение влияния регулярных физических нагрузок на биохимический состав сыворотки крови лошадей // Проблемы экологии и экологического образования в постчернобыльский период. – Мозырь: Белый ветер, 2000. – С.216 -219

7. *Холод В.М.* Белки сыворотки крови в экспериментальной ветеринарии. - Мн.: Ураджай, 1983. - 76с.

8. *Антонов Б.И.* Лабораторные исследования в ветеринарии, - М.: Агропромиздат, 1991. – 287с.

Гомельский государственный  
университет им. Ф.Скорины

Поступило 18.09.2000