

Полученные данные можно использовать как исходные в качестве морфологической основы для изучения особенностей строения слюносекреторного аппарата в постнатальном онтогенезе и влияния на него различных экологических факторов.

Литература

1. Захарченко Т.К., Иншакова Н., Шалайкин В. Анатомия подчелюстной слюнной железы у овец и ее артериальное кровоснабжение // Проблемы повышения продуктивного животноводства: Учен.зап. Кабардино-Балкарского Госуниверситета. - Нальчик, 1972.

2. Здановская Я.Л. Кровоснабжение слюнных желез овцы // Материалы научно-методической конференции анатомов, гистологов и эмбриологов с.-х. вузов. - М., 1963. - Вып. I.

3. Рустамов Х.К. К вопросу о васкуляризации слюнных желез у каракульской овцы // Всесоюз. науч. конф. по возрастной морфологии: Тез.докл. - Самарканд, 1972.

УДК 636.4:612.015:612.1

В.А. КРАСИЦКИЙ, ассистент

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСФЕРРИНА СЫВОРОТКИ КРОВИ СВИНЕЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Изучение физико-химических свойств белков сыворотки крови и характера их изменения на разных стадиях онтогенеза является необходимым элементом определения биохимического статуса организма и контроля метаболизма как в здоровом организме, так и при различной патологии. Характер изменения некоторых свойств белков определяется структурными или конформационными изменениями их макромолекул. Однако пока неясно, на каком уровне белки и белковые комплексы претерпевают наибольшие изменения в онтогенезе [1]. Решение этого вопроса на субмолекулярном уровне позволило бы в дальнейшем объективно оценивать процессы старения белков и, следовательно, их многочисленные функции в организме, что имело бы большое научное и практическое применение.

В частности, молодняк сельскохозяйственных животных, особенно поросята, склонен к заболеванию железодефицитной анемией, связанной с особенностями развития и питания в этот период. Однако патогенез этого заболевания изучен недостаточно. Можно лишь пред-

полагать, что его причинами являются как недостаток железа в кормовых рационах, так и нарушение транспортных функций особого железосвязывающего белка трансферрина. В свою очередь нарушение связывающей активности трансферрина может быть обусловлено изменениями в структуре его макромолекул, что должно сказаться на изменении физико-химических свойств этого белка [2].

Работа выполнена на кафедре неорганической химии, на свино-комплексе "Городокский" и на Витебском мясокомбинате. Проведено сравнительное исследование некоторых физико-химических свойств трансферрина сыворотки крови плодов свиней 90-95-суточной супоросности, поросят в возрасте 1-1,5 дня и взрослых животных в возрасте 8-9 мес.

Трансферрин из сыворотки крови выделяли по методу *Leibman* в нашей модификации. Исследованы образцы трансферрина от 14 плодов свиней, 11 поросят и 13 взрослых животных.

Содержание трансферрина в выделенных образцах и его электрофоретическую подвижность изучали методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГе). Гелевые колонки окрашивали Амидошварцем-10-В и отмывали 7%-ным раствором уксусной кислоты. В качестве белка-маркера использовали сывороточный альбумин. Электрофоретическую подвижность трансферрина определяли как отношение расстояния от стартовой линии до линии, делящей фракцию трансферрина пополам, к расстоянию, пройденному за то же время белком-маркером [3].

Общую и ненасыщенную железосвязывающую способность определяли по методу Вальквиста. Он заключается в разрушении трансферрина соляной кислотой до насыщения его железом и после насыщения с последующим связыванием железа в окрашенный комплекс с 1,1-дипиридилом и фотометрированием растворов при длине волны 510 нм [4].

Изучение термолабильности водных 0,2%-ных растворов белка проводили методом их термостатирования в течение 30 мин в интервале температур 50-100°C с градиентом температуры 2°C. Измерение оптической плотности полученных растворов проводили фотометрически при красном светофильтре.

Для изучения минимальных концентраций типичных белковых осадителей - неорганического - фосфовольфрамата натрия (ФВН) и органического - полиэтиленгликоля - 6000 (ПЭГ - 6000) использовали водные 0,2%-ные растворы белков. Добавлением сухих осадителей

постепенно увеличивали их содержание в растворе и параллельно измеряли оптическую плотность растворов при красном светофильтре.

При изучении спектрового поглощения белков в ультрафиолете использовали их водные 0,2%-ные растворы. Измеряли оптическую плотность в интервале длин волн 275-350 нм через 1 нм и строили кривую поглощения в координатах $D - \lambda$ (нм) [5]. Спектры поглощения водных 0,2%-ных растворов белков в области $4000 \text{ см}^{-1} - 400 \text{ см}^{-1}$ изучали на спектрометре с автоматической записью спектра.

Установлено, что содержание трансферрина в выделенных образцах составляет соответственно для плодов свиной, поросят и взрослых животных $86,3 \pm 0,44$, $88,4 \pm 0,31$ и $85,1 \pm 0,26\%$. Электрофоретическая подвижность трансферрина плодов по отношению к альбумину составляет $0,58 \pm 0,03$, поросят - $0,54 \pm 0,04$ и взрослых животных - $0,51 \pm 0,03\%$. Общая железосвязывающая способность сыворотки крови плодов, поросят и взрослых животных равна соответственно $14,08 \pm 0,12$, $15,22 \pm 0,09$ и $16,38 \pm 0,12$ мкг/мл. Ненасыщенная железосвязывающая способность составляет $2,02 \pm 0,14$, $3,41 \pm 0,08$ и $3,94 \pm 0,11$ мкг/мл. Степень насыщенности белков железом рассчитана как отношение ненасыщенной железосвязывающей способности к общей и равна соответственно $14,3\%$, $22,4\%$ и $24,05\%$.

Установлено также, что трансферрин сыворотки крови плодов, поросят и взрослых животных осаждается в интервале концентраций ФВН соответственно $2,0-3,0\%$, $2,0-5,2\%$ и $2,1-5,1\%$. ПЭГ-6000 осаждает трансферрин в интервалах концентраций $6,0-7,1\%$, $6,2-12,4\%$, $6,0-13,4\%$.

Максимум поглощения трансферрина плодов, поросят и взрослых животных в ультрафиолетовой области лежит соответственно в пределах $270-310$, $275-320$ и $280-330$ нм.

Температурная коагуляция трансферрина плодов происходит в интервале температур $66-71^\circ\text{C}$, трансферрина поросят - $63-65^\circ\text{C}$ и трансферрина взрослых животных - $63-66^\circ\text{C}$.

Основные полосы поглощения трансферрина плодов в инфракрасной области спектра: Амид-А - 3300 см^{-1} , Амид-В - 3100 см^{-1} , Амид-Г - 1650 см^{-1} , Амид-2 - 1550 см^{-1} . Полосы поглощения трансферрина поросят: Амид-А - 3293 см^{-1} , Амид-В - 3095 см^{-1} , Амид-Г - 1644 см^{-1} , Амид-2 - 1543 см^{-1} . Полосы поглощения трансферрина взрослых животных: Амид-А - 3287 см^{-1} , Амид-В - 3090 см^{-1} , Амид-Г - 1644 см^{-1} , Амид-2 - 1544 см^{-1} .

Полученные данные свидетельствуют о том, что трансферрин сыворотки крови плодов свиней, поросят и взрослых животных различается по своим физико-химическим характеристикам, т.е. трансферрин сыворотки крови свиней претерпевает определенные качественные изменения в онтогенезе. Причиной этого может быть изменение таких параметров макромолекул белков, как парциальный удельный объем, молекулярный объем, Стоксовый радиус и радиус инерции. Так, например, различие в электрофоретической подвижности белка в полиакриламидном геле может быть объяснено различием конформации белковых молекул, их размерами и удельной плотностью заряда на их поверхности. Повышенная электрофоретическая подвижность трансферрина сыворотки крови плодов свидетельствует о том, что размеры его белковых глобул меньше, а удельная плотность поверхностного заряда на их поверхности больше по сравнению с таковыми у трансферрина поросят и взрослых животных (при допущении, что первичная и вторичная структуры белков не претерпевают изменений).

Способность трансферрина связывать железо обеспечивается активностью координационных центров его молекул, которая определяется их расположением в пространстве, наличием определенного количества водородных связей между атомами водорода и азота, координирующими железо. Чем сильнее внутримолекулярная водородная связь в глобуле, чем меньше ее размеры, тем сильнее железосвязывающая способность. Различие в значениях общей и ненасыщенной железосвязывающей способности свидетельствует о различии в структуре и конформации белковых макромолекул. Кроме того, существенно различается также степень насыщенности трансферрина железом, что также свидетельствует о различии в третичной и четвертичной структурах белка.

Данные по поглощению белков в ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра свидетельствуют о том, что при переходе от трансферрина плодов к трансферрину взрослых животных происходит bathochromный сдвиг области поглощения (в УФ - спектрах) и полос поглощения (в ИК-спектрах). Поглощение белков в ультрафиолетовой области обусловлено электронным возбуждением ароматических циклов в остатках аминокислот тирозина, триптофана и фенилаланина, их пространственной ориентацией друг относительно друга. Смещение полос поглощения белков в более длинноволновую область свидетельствует о различии молекул белка в их третичной и четвертичной структурах.

Поглощение белков в инфракрасной области обусловлено валентными колебаниями связей в их молекулах. Батохромное смещение основных полос поглощения при переходе от трансферрина плодов к трансферрину взрослых животных свидетельствует также об определенном разупорядочении третичной и четвертичной структур белков.

Значения минимальных концентраций белковых осадителей также зависят от размеров молекул белка и плотности зарядов на них. Чем меньше размеры глобул белка при одном и том же аминокислотном составе и значении pH, тем больше удельная плотность заряда на их поверхности. Соответственно концентрации осадителей будут меньше, чем в случае с глобулами больших размеров. Поскольку осаждение трансферрина сыворотки крови происходит при разных концентрациях ФВН и ПЭГ-6000, можно сделать вывод об изменении размеров (конфигурации) макромолекул трансферрина свиней в онтогенезе.

Различия в температурном режиме коагуляции белков в водных растворах также определяются структурными особенностями их молекул. Известно, что при денатурации белка не происходит глубоких нарушений полипептидной цепочки первичной структуры, но изменяются третичная и вторичная структуры из-за разрыва водородных, ионных, сульфогидрильных и других связей. Чем больше температура, тем сильнее эти связи в белковом комплексе, и наоборот. Различие в температурах коагуляции образцов трансферрина свидетельствует о различии в энергии связей, обеспечивающих сохранение вторичной и третичной структур белка.

В ы в о д

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что трансферрин сыворотки крови плодов свиней второй половины супоросности, поросят в возрасте I-I,5 дня и взрослых животных различается своими физико-химическими характеристиками. В основе этого различия лежат структурные, конформационные изменения молекул белка, касающиеся его третичной и четвертичной структур.

Литература

I. Васильева Г.М. Изменения структуры и функции белков при старении и их возможные механизмы // Успехи современной биологии. - 1981. - № 2.

2. Соркина Д.А. Конформационные изменения белков сыворотки крови в процессе выполнения ими транспортных функций // Вопросы медицинской химии. - 1967. - № 13.

3. В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. Справочник по ветеринарной биохимии. - Мн., 1988.

4. Гоцуляк Л.Е. Содержание железа в крови и насыщенность железом трансферрина сыворотки крови при воздействии рентгеновских лучей // Радиобиология. - 1971. - № 24.

5. Окулов В.И. Применение спектрофотометрии в ультрафиолете для исследования белков // Успехи биологической химии. - 1971. - № 12.

УДК 636:612.1:538.69

А.А. КЛИЦ, кандидат биологических наук, доцент

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ

Магнитные поля в последние десятилетия получили широкое применение для лечебных и диагностических целей. Поэтому изучение механизмов воздействия этих полей на живые организмы и отдельные органы и ткани имеет не только теоретическое, но и практическое значение. В объяснении механизмов действия магнитных полей на живые объекты имеется несколько направлений [1]. Одним из преобладающих направлений является теория воздействия магнитных полей на живые объекты через нервную систему. Однако имеются и другие сведения, подтверждающие возможность непосредственного влияния магнитных полей на отдельные органы и ткани [2]. С целью выяснения непосредственного влияния магнитных полей на изолированные клетки крови в данной работе изучалось влияние переменного магнитного поля (ПемП) прямоугольной формы индукцией 80 мТл, частотами от 10 до 100 Гц, экспозицией 30 мин на электрокинетический потенциал эритроцитов, СОЭ, дисперсию электропроводности эритроцитов и гемоглобина в опытах *in vitro*. Объектом исследования были выбраны эритроциты, ибо они являются доминирующими элементами крови и благодаря им происходит самые разнообразные процессы в организме.

Исследования проводились в опытах *in vitro* на крови от 18 беспородных кроликов, которые содержались в одинаковых условиях.