

ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ ПРИ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗНОМ ЭНТЕРИТЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Абсолютным большинством отечественных и зарубежных исследователей признано, что аллергическая диагностика болезни Ионе является наиболее рациональной.

Однако следует иметь в виду, что аллергический метод диагностики имеет ряд недостатков. Одним из существенных недостатков его является отсутствие строгой специфичности. С одной стороны, животные, свободные от паратуберкулеза, дают иногда положительную реакцию, с другой — заведомо больные не всегда реагируют положительно. Это обстоятельство нередко служило поводом к постановке ошибочного диагноза и к проведению карантинных мероприятий там, где эта болезнь отсутствовала.

Мы не будем входить в обсуждение причин, обуславливающих эти ошибки, а также причин, сказавшихся на отсутствии более надежного метода диагностики, мы отметим лишь, что введение нового дополнительного метода диагностики болезни Ионе было бы несомненно полезным.

В поисках такого метода мы решили изучить явление стабилизации молекулярных структур крови, открытого Е. А. Сельковым и Балыгиным в 1937 г. Нам казалось, что изменения, происходящие в организме под влиянием возбудителя болезни, должны в той или иной мере отразиться и на электрофизических свойствах крови.

Кроме того, изучение электрофизических свойств сывороток крови животных, пораженных паратуберкулезным энтеритом, представляло интерес и в том отношении, что оно могло осветить некоторые не совсем ясные вопросы патогенеза при этом заболевании.

Как известно, коллоиды сыворотки крови в плазме клеток состоят из белков и липоидов. Между физико-химическими свойствами и строением белков существует зависимость, к выяснению которой в последние годы и направлено внимание многих исследователей.

Наши представления о молекулярных структурах различных биологических жидкостей организма вполне согласовываются

с представлениями о поведении белковых и липоидных мицелл в электрохимическом и электрофизическом отношениях. Теория Кюстера, Бреди́га и Адамса, рассматривающая белки как амфотерные ионы, в последние годы была подтверждена многими исследованиями. Важным моментом, подтверждающим правильность этой теории, послужили многочисленные исследования высокодиэлектрических постоянных водных растворов, продуктов дезинтеграции аминокислот и пептидов.

Белки, представляя собой высокомолекулярные вещества, состоят из молекул, в которые входит большое количество атомов. Протеидные молекулы представляют собой сильно полярные химические соединения с ясно выраженным асимметрическим расположением электрических зарядов, сообщающих молекуле большой дипольный момент. Исследования молекулярного строения белков сыворотки крови дали возможность установить ряд новых, до этого еще неизвестных положений, раскрывающих сущность строения белков. Установлено, что молекулы альбуминов сыворотки крови не имеют сферической формы, а представляются вытянутыми образованиями с разноименными зарядами на своих концах.

Центры тяжести противоположных зарядов в белковой молекуле постоянно не совпадают и в подавляющем большинстве являются перманентными электрическими диплетами, или диполями. Степень несовпадения положительных и отрицательных зарядов, указывающая на полярность молекулы, определяет величину противодействия, которое молекула может оказывать внешнему электрическому полю. Известно, что взаимодействие соседних белковых молекул, на основе сил притяжения Ван дер Ваальса, очень мало влияет на ориентировку дипольной молекулы в электрическом поле. Говоря иначе, дипольные молекулы будут поворачиваться в переменном электрическом поле без особых затруднений со стороны смежных молекул, так как с усложнением строения белковой молекулы возрастает потенциал отталкивания. Вполне развитая мицелла, находясь в клетке какой-либо ткани, присоединяет к своим энергетическим и пластическим районам специфические для данной ткани химические группировки.

На основании исследований Дебая совершенно необязательно, чтобы все районы мицеллы имели специфические для данной ткани районы. Для этого достаточно одной такой специфической группировки на 50 млн. молекул животного белка. Это присуще только биологическим явлениям. Несомненно, в крови находятся мицеллы, имеющие различную стадию формообразования. Неудивительно поэтому, что исследователи, производившие определение молекулярного веса белков в сыворотках, находили неоднократные количества альбуминов и глобулинов. В крови, надо полагать, имеются все стадии «переходов», от мертвых белковых группировок до вполне сформировавшихся белковых мицелл.

В результате можно допустить, что белковая мицелла имеет четыре фазы своего развития: внутрижелудочная фаза — преобразования в глобулины; внутрисосудистая «кровеная» фаза — мицелла подвергается наращиванию специфических для данного вида белковых цепей; внутритканевая и внутриклеточная фаза — мицелла окончательно наращивает специфические тканевые и клеточные группировки в боковых цепях; фаза распада — специфические группировки прежней, уже распавшейся мицеллы присоединяются к боковым цепям новой, а материал от распавшейся мицеллы в виде белковых метаболитов поступает в русло крови.

Как показали исследования Гурвича, одним из свойств кровяной и клеточной мицеллы является ее способность приходить под влиянием различных факторов в состояние электрохимического возбуждения с излучением в окружающую среду электромагнитных волн. При этом излучение в большой степени возникает в оптимуме молекулярных преобразований.

По Селькову, если этиологический фактор воздействует на мицеллу, то результат этого воздействия будет зависеть от интенсивности действия фактора и его продолжительности. При достаточно энергичном и продолжительном воздействии фактора происходят как бы «рефлекторные» электровалентные преобразования, результатом которых будет стабилизация всей мицеллы за счет «гипертрофии» стериновых и уменьшения энергетических районов. Для каждого патологического процесса стабилизация, как показывают результаты исследований, произведенных Сельковым, будет иметь некоторую постоянную величину с коэффициентом рассеивания, связанным с данным заболеванием. Наименьшее рассеивание цифр будет для туберкулеза, а наибольшее — для нормальных сывороток.

Чтобы установить величину стабилизации, необходимо сыворотку инактивировать теплом, сотрясением или рентгеновыми лучами.

При термоинактивации сыворотки белки, как высокомолекулярные полипептиды, подвергаются денатурации. Как показали исследования Фюрта, в инактивированных сыворотках уменьшаются дипольные моменты белковых веществ. Происходит это по следующим причинам.

1. Момент пептидной группы присоединяется к противоположно направленному моменту конечных групп. Соображение это, как отмечает Сельков, едва ли соответствует действительности в силу сравнительно небольшой величины этого действия.

2. В силу искривления цепи — $C - C -$ или $-C =$ свободные заряды внутри молекул сближаются, причем сближение это возможно при свободном вращении этих связей и облегчается электрическими силами притяжения. Вероятность такого процесса большая, чем первого, так как белки, обладающие большим дипольным моментом, весьма склонны к цепной или парной ассоциации.

3. Увеличение теплового движения при повышении температуры приводит к независимости молекул или отдельных конечных групп молекул, или, иначе говоря, происходит тепловая диссоциация. Известно, что под влиянием нагревания пептидная связь подвергается гидролизу. Белковые молекулы разрушаются в направлении главных валентностей, присоединяют молекулы воды и утрачивают постоянство своей молекулярной конфигурации. Это соображение, повидимому, стоит более близко к действительности, однако не исключена возможность, что процесс может проходить в некоторых случаях и иначе.

Если не доводить белковые коллоиды до грубой денатурации, то можно было бы допустить, что уже в стадии скрытой денатурации, вследствие гидратации, коллоиды удерживаются в состоянии стабильности. Если же допустить, что субстанция специфичности, возникающая при иммунреакциях, связана с эуглобулинами, то при термоинактивации сыворотки последние должны денатурироваться; специфичность гидрофобных коллоидных соединений, образуемых из эуглобулинов, после прогревания сыворотки должна исчезнуть. В действительности же прогревание сывороток при температуре 56°C не уничтожает их специфичности. Отсюда можно допустить, что стабильность коллоидных систем в сыворотках крови обуславливается, в свою очередь, рядом других факторов, и что эта стабильность диполей белков должна определяться и существованием в сыворотке защитных коллоидов.

Таким образом, представление о стабильности диполей белков сыворотки крови основывается на следующем. Гидрофильные стерины пластических районов глобулинов увеличиваются и тем самым препятствуют последним подвергаться гидролизу при инактивации. Образование осадков, т. е. грубо дисперсной фазы в сыворотках крови, при температуре выше 56°C можно объяснить тем, что стерины не могут выше некоторого предела тормозить начавшуюся, а в дальнейшем бурно протекающую тепловую диссоциацию, а протендные комплексы, ассоциируя, дают грубые осадки.

Все вышеизложенное и легло в основу предложенного Сельковым и Бальгиным метода определения так называемой комплексной диэлектрической постоянной.

Источником незатухающих электромагнитных колебаний УВЧ служил генератор, собранный по схеме ЭЗАУ.

Еще Сельковым (1937) было установлено, что при исследовании сыворотки людей в указанном приборе для некоторых патологических процессов можно получить характерную частоту собственных колебаний, присущую только данному патологическому процессу, и притом только у сывороток инактивированных. Говоря иначе, диэлектрическая постоянная этих веществ от одного патологического процесса к другому закономерно менялась. Чтобы получить равенство частот колебаний генератора

и собственных во втором контуре, частота первых колебаний подгонялась под вторые изменением емкости в генераторном контуре, пластины конденсатора которого могли передвигаться микрометрическим винтом. В качестве индуктора, указывающего на совпадение частот, служит термомиллиамперметр (ТМА), включенный в отдельный контур, тоже индуктивно связанный со вторым контуром. Максимальный ток в последнем отличался наибольшим отклонением стрелки.

Исследование велось следующим путем.

В эбонитовый сосуд наливалась активная сыворотка и на круге конденсатора с микрометрическим винтом, в генераторном контуре отмечались деления, при которых получалось наибольшее отклонение стрелки. Сыворотка после этого прогревалась при температуре 56°C в течение получаса, охлаждалась при комнатной температуре 20°C и в том же сосуде снова измерялась. В измерительной установке ничего не менялось. Измерение производилось на волне 4—4,5 м.

Результаты исследуемого вещества авторы этого метода характеризуют цифровой разностью между инактивированными и активными сыворотками.

Так, например, разность у практически здорового крупного рогатого скота была от 18 до 24. Чтобы убедиться, что это действительно так, мы обследовали сыворотки от 224 голов крупного рогатого скота различного пола и возраста, находившихся в различных хозяйствах, где бруцеллез и паратуберкулезный энтерит никогда не регистрировались. Что же касается туберкулеза, то он в этих хозяйствах если и обнаруживался, то составлял редкое исключение. По обнаружении такие животные немедленно изолировались, а в хозяйствах проводились необходимые закрепительные мероприятия. Проверочное исследование крупного рогатого скота дало отрицательные аллергические реакции на абортин, птичий и бычий туберкулин. Разность показаний диэлектрической постоянной у этих животных была, как правило, не ниже 18 и не выше 24. Исключение составляли животные, имевшие травматические повреждения. Так, одна нетель в возрасте $3\frac{1}{2}$ лет, будучи свободной от туберкулеза, бруцеллеза и болезни Ионе, имела перелом левой передней конечности; диэлектрическая постоянная этого животного была после неоднократных проверок равной 14,5.

Исследования этой группы животных иллюстрируются табл. 1.

Установив таким образом, что для сывороток крови практически здорового крупного рогатого скота диэлектрическая постоянная, как правило, не наблюдается ниже 18 и не превышает 24, мы затем перешли к обследованию сывороток крови животных, страдающих паратуберкулезным энтеритом.

В результате произведенных исследований оказалось, что диэлектрическая постоянная сыворотки крови паратуберкулезных

Таблица 1

Группы скота	Количество исследованных животных	Диэлектрическая постоянная
Взрослый крупный рогатый скот от 4 до 15 лет	102	18,10—20,56
Молодняк крупного рогатого скота от 2 до 4 лет	64	21,00—22,40
Молодняк от 3 месяцев до 2 лет . .	58	22,80—24,00
Итого . . .	224	18,10—24,00

животных находится в пределах от $-0,09$ до $-7,66$. Эти показания ни в какой мере нельзя смешать с показаниями сывороток здоровых животных.

Таких животных мы исследовали 456. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Таблица 2

Инвентарный номер	Кличка	Результаты аллергии	Диэлектрическая постоянная	Примечание
281	Бирка	+	$-0,92$	Молодняк в возрасте одного года
69	Герань	+	$-4,05$	
156	Рита	+	$-7,66$	
316	Краля	+	$-0,24$	
453	Галька	+	$-0,52$	
116	—	+	$-3,83$	
255	—	+	$-2,84$	
250	—	+	—	
251	—	—	—	
13664	—	—	$-0,009$	
919	—	+	$-1,49$	
—	Касатка	+	—	Бычок в возрасте 1 1/2 лет
—	Жама	+	$-5,13$	
—	Резеда	+	$-0,56$	
—	Зазисба	+	$-2,00$	
641	Елка	—	—	
—	Суббота	+	—	
—	Льдинка	+	$-0,70$	
—	Дуська	—	$-3,84$	
—	Чернец	+	$-3,18$	
—	Марта	+	$-1,20$	
13920	—	+	$-1,86$	Телки в возрасте 2 лет
13921	—	+	$-3,72$	
13919	—	+	$-2,26$	
13903	—	+	$-3,00$	
19918	—	+	$-2,50$	Наличие клинических признаков болезней
—	Тайга	+	$-3,75$	
—	Марусенька	—	$-0,22$	
—	428 животных	Все давали положительные аллергические реакции	$-0,2—7,66$	

Мы не приводим в табл. 2 подробных результатов определения диэлектрической постоянной у всех 456 голов крупного рогатого скота, реагировавших положительно или сомнительно на двойное внутрикожное введение птичьего туберкулина, так как результаты этих исследований приблизительно являются одинаковыми. Мы только отметим, что некоторое количество животных по данным аллергических исследований, в дальнейшем подтвержденных и патологоанатомическим вскрытием, оказались паратуберкулезными. Тем не менее, характерной диэлектрической постоянной у них обнаружено не было. Диэлектрическая постоянная у них была или близкой к «норме» или давала показания, указывающие на наличие в организме другого патологического процесса. Процент таких показаний составил 5,1.

Кроме того, необходимо отметить, что исследованию мы подвергали не только сыворотку крови животных, дававших положительные или сомнительные реакции на птичий туберкулин, но и сыворотки крови животных, дававших отрицательные аллергические реакции. Все эти животные находились в этих же хозяйствах и естественно подвергались опасности инфицирования бациллами Ионе. У некоторых из них была обнаружена характерная для паратуберкулеза диэлектрическая постоянная. Процент таких животных составил 4,9.

В следующую группу подлежащих обследованию входили животные, страдающие туберкулезом. Оказалось, что диэлектрическая постоянная сывороток крови у туберкулезных животных находилась в пределах от 1,20 до 3,19. Наиболее характерная диэлектрическая постоянная для туберкулеза была от 2 до 2,8, т. е. значительно выше, чем при паратуберкулезном энтерите.

Сывороток крови животных, страдающих туберкулезом, нами исследовано 56. Животные были взяты из заведомо неблагополучного по этому заболеванию хозяйства. В результате нам пришлось убедиться, что и здесь наблюдались случаи несовпадения показаний аллергии и диэлектрической постоянной. Процент этих несовпадений из 56 обследованных составил 0,8. В то же время необходимо отметить, что некоторая часть крупного рогатого скота, дававшая отрицательные аллергические реакции на туберкулин и находившаяся в этом же хозяйстве, обнаруживала характерную для туберкулеза диэлектрическую постоянную. Однако процент этих несовпадений в данном опыте был не велик — 0,85.

Данные этих исследований приведены в табл. 3.

Дальнейшие наши исследования были направлены к выяснению диэлектрической постоянной в сыворотках крови крупного рогатого скота, страдающего бруцеллезом. Бруцеллезных животных мы обследовали 82 головы. Они происходили из 3 хозяйств, заведомо неблагополучных по этой болезни. Все они по абортину давали положительные реакции, а большинство из них и положительную РА. Диэлектрическая постоянная у них коле-

Таблица 3

Кличка животного	Показания аллергии	Диэлектрическая постоянная	Примечание
Черничка	+	2,08	Показания диэлектрической постоянной были не характерны для туберкулеза
Бутерброд	+	2,92	
Венера	+	1,20	
Аверьянка	+	2,51	
Ойра	—	—	
Измена	+	—	
Ирма	+	3,19	
Красуля	+	1,55	
Лава	+	2,70	
Абрикоска	+	2,36	
Лиза	+	2,20	
Плесточка	+	1,62	
44 коровы	Все с положительной аллергией	1,8—2,5	

балась в пределах 7,6—15,81, т. е. показания ее оказались такими, что их нельзя было смешать с показаниями ни при болезни Ионе, ни при туберкулезе. К сказанному необходимо добавить, что и в этом случае имели место несовпадения аллергических показаний с показателями диэлектрической постоянной и наоборот.

Результаты этих исследований представлены в табл. 4.

Позднее мы установили, что при высушивании сывороток в условиях обычной комнатной температуры (15—20° С) они около 3 месяцев полностью сохраняют свою стабильность и специфичность. Это дало возможность в дальнейшем перейти на сухие сыворотки, которые готовились непосредственно в хозяйствах. Высушивание сывороток производилось следующим образом. 0,5 см³ хорошо отстоявшейся сыворотки наносилось на небольшой кусок бумаги размером 5 × 8 см. На этом же куске бумаги делались необходимые записи. Затем сыворотка высушивалась при комнатной температуре и в таком виде доставлялась в лабораторию.

В результате произведенных исследований мы убедились, что диэлектрическая постоянная для «практически здоровых» животных и животных, страдающих паратуберкулезным энтеритом, туберкулезом или бруцеллезом, дает характерные для каждого заболевания показания, резко между собой отличающиеся.

Мы убедились в том, что процент совпадений показаний диэлектрической постоянной стоит близко к 100 по отношению к аллергическим показаниям, а в отдельных случаях даже и превышает данные аллергических показаний. Мы также убедились и в том, что характерная диэлектрическая постоянная крови на-

Таблица 4

Инвентарный номер	Кличка	Показания аллергии	Диэлектрическая постоянная	Примечание
456	Тройка	+++	14,43	Взрослые коровы
446	Мальва	++	7,78	
449	Клюква	+++	11,20	
444	Муза	+	—	
158	Стрекоза	++	14,66	
321	Мирная	+	10,25	
162	Снегурочка	+	9,83	Нетели 2 лет
168	—	+++	13,79	
254	—	+++	14,44	
205	—	++	10,75	
257	—	+	10,38	
775	—	+++	10,92	
693	—	+	9,66	
772	—	+	9,71	
2222	—	+++	10,25	
137	—	+++	8,88	
158	Стрекоза	+	14,66	Взрослая корова Бык
77	Налим	++	13,00	
—	Белка	+++	11,70	Взрослые коровы
—	Рима	+	9,36	
—	Ида	—	22,00	
4	—	++	21,60	
80	—	++	7,80	
73	—	+	8,32	
—	Феня	+	13,76	
15	Кама	+++	19,82	Все реаги- ровали по- ложительно
—	56 коров	Все реаги- ровали по- ложительно	8,2—15,5	

блюдается задолго до того, как в организме наступает состояние аллергии.

Интересно между прочим отметить, что показания диэлектрической постоянной при паратуберкулезном энтерите являются такими же, как и показания ее у людей, страдающих проказой. На этом основании мы до известной степени имеем право допустить, что возбудитель болезни Ионе по характеру изменений, обуславливающих в крови диэлектрическую постоянную, стоит ближе к возбудителю проказы человека, чем к возбудителю туберкулеза крупного рогатого скота.

Значительный интерес определения диэлектрической постоянной заключается еще в том, что если животное одновременно страдает двойной и даже тройной инфекцией (туберкулез, болезнь Ионе и бруцеллез), то по одной и той же сыворотке можно получить характерные показатели.

Подводя итоги произведенным исследованиям, мы констатируем следующее.

Данные диэлектрической постоянной в крови животных, страдающих паратуберкулезным энтеритом, свидетельствуют о том, что изменения в молекулярных структурах, специфических для данного заболевания, происходят задолго до того, как в организме наступит состояние аллергии. Это обстоятельство, в свою очередь, указывает на то, что заболевание протекает в организме не изолированно и не ограничивается вовлечением в болезненный процесс только одного кишечника, а что в процесс вовлекается и кровеносная система. И, наконец, диэлектрическая постоянная вполне может служить дополнительным методом выявления болезни Ионе и особенно ее бессимптомных форм. Это обстоятельство, с практической точки зрения, имеет исключительно важное значение, так как такие животные представляют, несомненно, большую опасность в смысле распространения инфекции, чем животные с уже проявившимися симптомами болезни.

ВЫВОДЫ

1. Определение диэлектрической постоянной представляет несомненный интерес, свидетельствующий об изменении коллоидных структур белковых мицелл сывороток.

2. Определение диэлектрической постоянной вполне может быть рекомендовано для определения болезни Ионе, особенно бессимптомных форм ее.
