

<https://doi.org/10.3176/biol.1978.3.10>

Virve SUI

УДК 547.96:616.15-074.545-053.84

KESEKALISTE INIMESTE VERESEERUMI VALKUDE MÄÄRAMINE DISKELEKTROFOREESIGA POLÜAKRÜULAMIIDGEELIS

Diskelektroforeesi polüakrüülamiidgeelis kasutatakse paljude loom- ja taimorganismide laengut omavate ühendite (valkude, glüko- ja lipoproteiidide, ensüümide jt.) lahutamiseks vastavalt laengu suurusele, molekuli kaalule ja kujule. Inimese vereseerumi valkude uurimisel on seda meetodit rakendatud suhteliselt vähe, mistõttu pole veel olemas kindlaid normväärtusi. Kirjanduses leidub tervete inimeste vereseerumi valkude diskelektroforeogrammide kvantitatiivse hinnangu andmeid napilt ja needki on üsna erinevad (Хансон jt., 1970; Пяй jt., 1974; Добротина jt., 1974; Пирогова, 1975). Andmete lahkuminekut põhjustavad tõenäoliselt meetodika erinevused, mis nii tundliku meetodi puhul mõjustavad uurimistulemusi. Võrreldavate tulemuste saamiseks peavad nii geelide valmistamise (ruumi t° , lahuste pH ja värskus, polümerisatsiooni, elektroforeesi ja värvimise kestus) kui ka uurimise tingimused olema standardsed. Vereseerumi valkude kvantitatiivset võrdlemist takistab ka see, et autorid jaotavad diskelektroforeogramme erinevalt (8 kuni 29 osaks). Liiga peene jaotamise korral võib kvantitatiivsel määramisel tekkida vigu, sest osa fraktsioone kattub, mõned fraktsioonid on väga väikesed või on nende esinemissagedus individuaalselt erinev (geneetilised valgud).

Vereseerumi valkude normväärtuste iseloomustamiseks valiti käesoleva uurimuse tarvis 60 keskealist Tallinna elanikku (keskmine vanus $37,4 \pm 1$ aastat). Vaatlusalustest doonoritest oli enamik verd andnud ainult kord või paar elus, ülejäänud aga mitte sagedamini kui kord aastas. Seega pole põhjust arvata, et tulemusi võis mõjustada korduv vereandmine. Uuritavate tervislikku seisundit kontrolliti enne vereandmist samuti nagu kaadridoonoreil, kes annavad verd kuni viis korda aastas. Neil määrati neli olulisemat vereseerumi glükoproteiidi, mis kajastavad algavaid nõrku, aga ka pikemat aega loiult kulgevaid põletikke ja muid patofüsioloogilisi nihkeid vahel juba siis, kui tunnetatavaid vaevusi veel ei esine. Peale selle kontrolliti, kas glükoproteiidide sisaldus, nagu ka mitmete teiste seerumi koostisosade hulk, suureneb inimese vananedes. Olgu märgitud, et siinkohal vaadeldud glükoproteiidide üldkasutatavad normatiivid on kirjanduses antud ilma nende aluseks olevate inimeste iga märkimata.

Vereseerumi valkude diskelektroforees polüakrüülamiidgeelis tehti B. Davise (1964) meetodil. Diskelektroforeogrammid densitomeeriti spetsiaalses densitomeetris (Kallikorm jt., 1973), densitogrammide jaotati 8 osaks ja kaaluti. C-reaktiivse valguga puudumist kontrolliti selle anti-

seerumiga kaasasoleva instruksiooni järgi. Glükoproteiididest määrati heksoose (Михайлова, 1972), haptoglobiini (Прохуровская, Мовшович, 1972), tseruloplasmiini (Ravin, 1961) ja siaalhappeid koos mõningate süsivesikutega summaarselt difenüülamiinreaktsiooniga (Ларский, 1957).

Keskealiste vereseerumi valkude ja glükoproteiidide keskmine sisaldus

	Sisaldus vereseerumis	
	absoluutühikutes	protsentides
Prealbumiinid	0,059±0,002 g%	0,74±0,03
Albumiinid	4,024±0,063 g%	49,68±0,60
Postalbumiinid	0,477±0,016 g%	6,00±0,21
Transferrin	0,518±0,016 g%	6,47±0,20
Posttransferrinid	0,353±0,012 g%	4,44±0,15
Haptoglobiinid-immuunglobuliinid	1,904±0,064 g%	24,71±0,61
α_2 -makroglobuliin	0,290±0,019 g%	3,68±0,24
β -lipoproteiin	0,335±0,012 g%	4,23±0,15
Seerumi üldvalk	8,008±0,059 g%	—
Heksoosid	113,6 ±1,7 mg%	—
Haptoglobiin	115,6 ±2,0 mg%	—
Tseruloplasmiin	0,233±0,003 o. t. ü.*	—
Difenüülamiinreaktsioon	0,177±0,002 o. t. ü.	—

* optilise tiheduse ühik

Tabelis on toodud identifitseeritud valkude tsoonide ja glükoproteiidide keskmised väärtused. Osa uurijate andmeil moodustab tervetel inimestel prealbumiinide ja albumiinide tsoon 32,6 (Пирогова, 1975) kuni 61,9% (Добротина jt., 1974) vereseerumi valgu üldhulgast. Käesoleva uurimuse ja Tartu Riikliku Ülikooli teadlaste (Пяй jt., 1974) andmed mainitud tsoonide suuruse kohta on nende äärmiste väärtuste vahepealsed ja teineteisele lähedased. Postalbumiinide (6—8%), transferrini (4,9—10%) ja makroglobuliinide (α_2 -makroglobuliin + β -lipoproteiin, 7,2—9%) tsooni sisaldus käesoleva uurimuse, N. Dobrotina jt. (Добротина jt., 1974) ning L. Päi jt. (Пяй jt., 1974) andmeil ei erine palju üksteisest. T. Pirogova (Пирогова, 1975) on registreerinud postalbumiine 17,4 ja transferrini 14,5%. Ülejäänud valguspektri osad on autorid jaganud nii erinevalt, et neid ei ole võimalik võrrelda ei omavahel ega ka käesoleva uurimuse andmetega. Mõnede tsoonide (postalbumiinide, haptoglobiinide-immuunglobuliinide) suurus võib teatud määral mõjustada geneetiliste valkude polümorfism, seepärast olgu lisatud käesoleva tööga seoses uuritud seerumitüübid: Gc 1-1 40-1, Gc 2-1 18-1, Gc 2-2 2-1, Hp 1-1 6-1, Hp 2-1 31-1 ja Hp 2-2 23-1 inimesel.

Kasutatud meetodite autorite järgi on vereseerumis normaalselt heksoose 105—115 mg%, haptoglobiini 50—90 mg% (74,0±4 mg%) ja tseruloplasmiini 0,160—0,260 o. t. ü. Difenüülamiinreaktsiooni keskmiseks väärtuseks antakse 0,182 (Лейрес, 1961) ja 0,178 o. t. ü. (Вейнпалу jt., 1964). Kui võrrelda neid andmeid ja tabelis esitatuid, näeme, et haptoglobiini on viimases rohkem, heksooside ja tseruloplasmiini keskmised väärtused on mainitud normatiivide ülemise piiri lähedal ja difenüülamiinreaktsiooni näitaja langeb kokku. I. Geronimus (Геронимус, 1968) leidis põhimõtteliselt sama meetodi abil doonoreil 91—141 mg% (keskmine 121 mg%) haptoglobiini, mis on siintoodud uurimistulemusele lähedane.

Et kontrollida, kas ülaltoodud näitajad sõltuvad inimese vanusest, jaotati uuritavad kahte arvult võrdsesse rühma, kusjuures esimesel rühmal oli keskmine vanus 32,2±0,6 ja teisel rühmal 44,3±0,7 aastat. Selgus,

et mõne valgu tsoon oli ühes rühmas pisut väiksem või suurem kui teises, kuid statistiliselt olulist erinevust nende vahel ei olnud. Kõiki glükoproteiide oli vanemas rühmas küll rohkem kui nooremas, kuid ebaolulisel määral.

Eeltoodut kokku võttes võib ütelda, et käesolevas töös saadud vereseerumi valkude normväärtusi võib kasutada nii tervete inimeste erinevate vanuserühmade võrdlemisel kui ka haigete uurimisel. Keskeas, 32.—44. eluaastani, s. o. 12-aastases vanusevahemikus ($P < 0,05$), vereseerumi valkude ja glükoproteiidide sisalduses erinevusi ei täheldatud.

KIRJANDUS

- Davis, B. J. Disc electrophoresis. Method and Application to Human Serum Proteins. — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1964, v. 121, lk. 404—427.
- Kallikorm, A., Jaagosild, A., Raamat, R. 1973. Densitomeeter polüakrüülamiidgeelelektroforegramme analüüsimiseks. — Nõuk. Eesti Tervishoid, 1973, nr. 16 (3), lk. 265—266.
- Ravin, H. A. An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin. — The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1961, v. 58, N 1, lk. 161—168.
- Вейнпалу Э. Ю., Вейнпалу Л. Э., Тринк Р. Ф. Значение комплексного определения ревматоидного фактора белковых фракций сыворотки крови, дифениламинной и эозинопенической реакции у больных хроническим полиартритом в практике грязе-бальнеотерапии. — Вопросы курортологии и ревматологии I. Вильнюс, 1964, lk. 136—144.
- Добротина Н. А., Ежова Г. П., Горбацевич Г. С. К вопросу об идентификации и количественном разделении белков сыворотки в полиакриламидном геле. — Лабор. дело, 1974, № 10, lk. 590—594.
- Геронимус И. И. Количественное определение гаптоглобина сыворотки крови риваноловым методом. — Лабор. дело, 1968, № 4, lk. 206—208.
- Ларский Э. Г. Микрометодика дифениламинной реакции с кровью больного. — Лабор. дело, 1957, № 4, lk. 13—15.
- Лейтес В. Т. (ред.) Некоторые методики определения активности ревматического процесса. — В кн.: Ревматизм и другие коллагеновые болезни. Москва, 1961, lk. 140—162.
- Михайлова С. П. Гликопротеиды в сыворотке крови. — В кн.: Унифицированные методы клинических лабораторных исследований. М., 1972, вып. IV, lk. 29—51.
- Пирогова Т. Ф. Теория и практика применения метода диск-электрофореза в полиакриламидном геле в клинико-биохимических исследованиях. Автореф. дис. докт. мед. н. Рига, 1975.
- Пяй Л. Т., Эстер К. М., Калликорм А. П., Цильмер К. Я., Калликорм В. Э., Тяхепыльд А. К., Атчикова И. П. О некоторых показателях функции щитовидной железы у больных коллагенозами. — Вопросы эндокринологии. Мат. VII конференции эндокриологов. Тарту, 1974, lk. 53—56.
- Прохуровская З. Я., Мовшович Б. Л. Методика и диагностическое значение определения гаптоглобина. — Лабор. дело, 1972, т. 6, lk. 333—335.
- Хансон Х., Калликорм А., Эстер К., Калликорм В. Данные электрофореза белков сыворотки крови в полиакриламидном геле здоровых лиц и больных ишемической болезнью сердца. — Исследования по кровообращению. Тарту, 1970, lk. 240—245.

Virve SUI

THE DETERMINATION OF HUMAN SERUM PROTEINS OF THE MIDDLE-AGED BY DISC ELECTROPHORESIS IN POLYACRYLAMIDE GEL

Summary

The concentration of the serum proteins was determined by PAGE in 60 healthy adults (37.4 ± 1.0 year). The values (mg/100 ml) are as follows: prealbumin 59 ± 2 , albumin 4024 ± 63 , postalbumin 477 ± 16 , transferrin 518 ± 16 , post-transferrin 353 ± 12 , haptoglobins-immunoglobulins 1904 ± 64 , α_2 -macroglobulin 290 ± 19 , β -lipoprotein 335 ± 12 , total protein of serum 8008 ± 59 .

Estonian SSR Ministry of Health,
Institute of Experimental and
Clinical Medicine

Received
Dec. 2, 1977

Virve SUI

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ЛЮДЕЙ СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА С ПОМОЩЬЮ ДИСК-ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА В ПОЛИАКРИЛАМИДНОМ ГЕЛЕ

Резюме

У 60 здоровых людей (проверены клинически и с помощью лабораторных тестов) определено содержание сывороточных белков. Арифметические средние изученных зон белков (в грамм-процентах) оказались следующими: преальбумины — $0,059 \pm 0,002$, альбумин — $4,024 \pm 0,063$, постальбумины — $0,447 \pm 0,016$, трансферрин — $0,518 \pm 0,016$, посттрансферрины — $0,353 \pm 0,012$, гаптоглобины-иммуноглобулины — $1,904 \pm 0,064$, α_2 -макроглобулин — $0,290 \pm 0,019$, β -липопротеин — $0,335 \pm 0,012$. Количество общего белка было равным $8,008 \pm 0,059$.

Институт экспериментальной и клинической медицины
при Министерстве здравоохранения ЭССР

Поступила в редакцию
2/XII 1977