

*IV. Fizjologia i patologia gruczołu  
mlekowego*

# OBRAZ BIAŁEK SUROWICY KRÓW MLECZNYCH W BADANIACH ELEKTROFORETYCZNYCH I IMMUNOELEKTROFORETYCZNYCH

КАРТИНА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ МОЛОЧНЫХ КОРОВ  
В ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ  
ELECTROPHORETIC AND IMMUNOELECTROPHORETIC PROTEIN SERUM PICTURES  
FROM HEALTHY DAIRY COWS

*M. Drożdżyńska*

Zakład Higieny Zwierząt Instytutu Weterynarii, Bydgoszcz  
Kierownik: prof. dr Jerzy Wiśniowski

W miarę rozpowszechniania się elektroforezy bibułowej (E. b.), jako metody badawczej w dziedzinie patologii, coraz dotkliwiej odczuwano brak możliwości porównywania wyników w różnych laboratoriach (Ebel, Lüneburg, Hartung, Chopard, Stöckl, Czernicki i Assmann). Każdy z tych autorów przed przystąpieniem do badań z zakresu patologii ustalał otrzymywane w swoich warunkach doświadczalnych wartości średnie dla poszczególnych frakcji białkowych surowicy krów zdrowych. W bardzo różnorodny sposób określano przez nich pojęcie zdrowia bydła. Często badano zbyt małą liczbę krów, a także różne były metody wykonywania E. b., np. różny był bufor, czas przepływu prądu, barwienie itp. Te wszystkie czynniki sprawiają, że porównywanie wyników między poszczególnymi laboratoriami jest prawie niemożliwe. Jeszcze większe trudności w ustaleniu normalnego obrazu białek napotyka się w badaniach immunoelektroforetycznych (IE), gdyż oprócz różnorodności samej techniki wykonania trzeba także wziąć pod uwagę jakość surowicy zawierającej przeciwciała. Również metody identyfikacji otrzymywanych łuków precypitacyjnych wymagałyby ujednoczenia. Niewielu autorów wypowiada się na ten temat. Hanson czy Jensen sami opracowali własne układy odniesienia w IE, kładąc główny nacisk na identyfikację otrzymywanych łuków precypitacyjnych ale nie na sporządzanie surowicy anty surowica bydła (ASB).

Celem podjęcia niniejszej pracy było ustalenie normalnych wartości dla poszczególnych frakcji białkowych i białka całkowitego dla krów zdrowych, które to wartości służyłyby jako układ odniesienia w dalszych pracach Zakładu (w zakresie patologii).

*Materiał i metody*

Zbadano w okresie wiosennym (kwiecień) krew 140 krów mlecznych rasy n.c.b., pochodzących z 2 elitarnych obór. Krowy wykazywały dobrą mleczność i kondycję, były wolne od gruźlicy, brucelozy i pasożytów przewodu pokarmowego, a w okresie jednorocznej obserwacji cechowały się dobrym zdrowiem, objawiającym się prawidłową funkcją organizmu i produkcyjnością. Stanowiło to kryterium oceny stanu zdrowia. Ale tylko 68 krów odpowiadało tym wymogom, pozostałe 72 sztuki odpadły w badaniach wstępnych. U wybranych 68 krów zbadano surowicę krwi przy pomocy E. b., IE i oznaczano ilość białka całkowitego. E. b. wykonano wg metodyki opisanej przez M a g a s a (9). Białko całkowite w surowicy oznaczono na podstawie reakcji biuretowej wg metody W o l f s o n a (13). Elektroforezę w żelu agarowym przeprowadzono wg mikromodyfikacji Scheideggera (10). Po ukończeniu elektroforezy wycinano podłużny basenik i napełniano go surowicą ASB. Po ukończonej podwójnej dyfuzji w żelu preparaty utrwalano, a następnie barwiono czernią amidową 10 B. Surowicę ASB otrzymywano, szczepiąc 10 królików wg własnego schematu (12) pełną surowicą bydlęcą. Surowicę bydlęcą służącą do szczepień — otrzymaną od 6 zdrowych krów — zmieszano w równych proporcjach. Kontrolę surowic króliczych przed ich skrwawieniem przeprowadzano za pomocą precypitacji próbówkowej i IE, wybrane najlepsze surowice mieszano w równych proporcjach.

*Wyniki i omówienie wyników*

Aby wykazać zależność między białkiem całkowitym a poszczególnymi frakcjami białkowymi, a także zależność frakcji między sobą, wyniki obliczono statystycznie za pomocą metody korelacji i zestawiono je w tabeli 1. Białko całkowite posiada zależność dodatnią istotną ze wszystkimi frakcjami białkowymi surowicy, co jest potwierdzeniem tej ogólnie znanej zależności. Spostrzega się także korelację ujemną, istotną, między albuminami a gamma globulinami; korelacja ta jest stwierdzana przez wielu autorów. Istnieje także korelacja dodatnia, istotna, między alfa globulinami a gamma globulinami.

Tabela 1. Wzajemna korelacja białka całkowitego i poszczególnych frakcji białkowych między sobą

	Białko całkowite	Albuminy	Frakcje białkowe		
			alfa glob.	beta glob.	gamma glob.
Białko całkowite	1	0,569	0,577	0,457	0,443
Albuminy			-0,0214	0,0243	-0,494
Alfa globuliny			1	0,143	0,327
Beta globuliny				1	-0,163
Gamma globuliny					1

Dla poszczególnych frakcji (albumin, globulin alfa, beta, gamma) wyliczono statystycznie 95% przedział ufności i otrzymano następujące wyniki:

dla frakcji albumin	37,54	μ	41,68
„ „ globulin alfa	10,68	μ	12,66
„ „ „ beta	11,40	μ	13,84
„ „ „ gamma	32,77	μ	39,29

Obliczono także u wszystkich krów białko całkowite, którego średnia arytmetyczna wyniosła 7,05 g/%, a skrajne wartości od 6,0 do 8,8 g/%. W badaniach IE bardzo ważną rolę odgrywa wartość używanej surowicy ASB, a także metody jakimi wartość ta jest ustalana. W tym celu króliki, u których wykazano precypitacją pierścieniową obecność precypityn, poddawano szczegółowym badaniom, ustalając nie tylko ogólną ilość łuków precypitacyjnych IE, ale także określając przy pomocy czystych frakcji białek ile surowica danego królika tworzyła łuków precypitacyjnych z frakcjami globulinowymi. Tylko te surowice, które zapewniały maksymalne — w naszych warunkach pracy — ilości łuków precypitacyjnych, były brane pod uwagę przy sporządzeniu mieszanej, niejako wzorcowej, surowicy ASB. W naszych warunkach doświadczalnych otrzymane łuki precypitacyjne identyfikowano przy pomocy czystych frakcji białek (albumin, globulin alfa, beta, gamma). Ilość łuków precypitacyjnych w IE nie była identyczna dla wszystkich badanych krów. Wyróżniano 4 obszary białek, a to: albuminy, alfa, beta i gamma globuliny. W obszarach tych otrzymywano dla albumin 1, dla alfa globulin 3—7, dla beta globulin 5—8, dla gamma 1—2 łuków; znaczy to, że z surowicami niektórych krów uzyskiwano od 13—17 łuków precypitacyjnych.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Assman D. (1961): Deutsche Gesundheitsvesen, 16 (26) 1200—1203.
2. Chopard P. (1954): Schweiz. Arch. Tierhk. 96, 252.
3. Czernicki B. (1957): Zbl. Vet. Med. 6, 588.
4. Ebel K. H. (1953): Diss., Hannover.
5. Hanson L. A. (1959): Exper. 15 (12), 471.
6. Hartung J. (1954): Diss., Hannover.
7. Jensen J. K. (1963): Acta Vet. Scand. 4, 64—84.
8. Lüneburg H. (1953): Diss., München.
9. Magas S. (1956): Post. Bioch. 2 (1), 157—189.
10. Scheidegger J. J. (1955): Int. Arch. Allergy 7, 103.
11. Söckl W. (1956): Wiener tierarztl. Mschr. 43, 105—157.
12. Wiśniowski J., Romaniukowa K., Drożdżyńska M. (1964): Med. Wet. 20 (6), 327—332.
13. Wolfson M., Cohn C., Calvary E., Ichiba F. (1948): Amer. J. Clin. Path. 18, 723.

## РЕЗЮМЕ

Исследованы в период весны 140 молочных коров на 2 скотных дворах. Из этого количества автор выделил 68 коров, у которых не было бруцеллёза, туберкулёза и паразитов в пищеводе. У этих коров исследовалась сыворотка крови при помощи бумажного электрофореза (э.б.) шчитано весь протеин и сделан иммуноэлектрофорез в агарном желе. Получены итоги в э.б., собранные статистическим методом корреляций (таб. 1). Обнаружена существенная положительная зависимость между общим протеином и отдельными фракциями этих протеин. Обнаружена также существенная отрицательная зависимость между фракцией альбумина и гамма-глобулина. Наблюдается также существенная отрицательная зависимость между фракцией альфа-глобулина и гамма-глобулина. Средняя арифметическая для всего протеина равна 7,05%. В иммуноэлектрофоретических исследованиях получены непостоянные количества преципитационных дуг от 13 до 17. Эти дуги идентифицированы при помощи опрятных фракций.

## SUMMARY

Investigations were carried out on 68 dairy cows of tuberculosis, brucellosis and parasite free. Serum samples were analyzed by paper electrophoresis and immunoelectrophoresis. The serum total protein was determined by burette method. The results were subjected to statistical analysis (tab. 1). Significant positive correlations were found between total protein and several fractions as well as between alfa-globulin and gamma-globulin. Significant negative correlation were found between albumin and gamma-globulin. The mean total protein content was 7.05 g%. 13 to 17 precipitation lines were found by immunoelectrophoresis and identified with purified fractions.