

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.895.132.6 : 577.152

© 1994

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
ИЗОФЕРМЕНТОВ «ЭТАЛОННЫХ» И ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ
ТРИХИНЕЛЛ**

**К. И. Афанасьев, Ю. И. Васерин, С. А. Нагорный,
Р. А. Пенькова, Д. Г. Цейтлин**

У 4 из 8 исследованных изоферментов выявлены различия в интенсивности окрашивания отдельных зон (G-6-P, ES) и электрофоретической подвижности отдельных локусов (PGD, PGM) между капсульными формами трихинелл и *T. pseudospiralis*. В результате подтверждается правомерность выделения *T. pseudospiralis* Garkavi, 1972 в самостоятельный вид.

Несмотря на многочисленные исследования у нас в стране и за рубежом, до настоящего времени отсутствует единая точка зрения о систематическом ранге нематод рода *Trichinella*. В связи с этим мы поставили перед собой задачу выявить генетические особенности трихинелл по энзиматическому спектру гомогенатов методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ).

Нами изучался в сравнительном аспекте изоферментный спектр четырех «эталонных» варнететов (*T. spiralis spiralis*, *T. s. nativa*, *T. s. nelsoni*, *T. pseudospiralis*) и двух природных изолятов трихинелл *T. spiralis*, выделенных от бурого медведя и домашней свиньи на территории Северного Кавказа.

Отмытых личинок трихинелл гомогенизировали с равным объемом 20%-ной сахарозы в ступке, помещенной в жидкий азот. После оттаивания полученную пробу центрифугировали в течение 20 мин при 4—6° (10 тыс. об./мин). Полученный супернатант использовали для электрофоретических исследований. В каждую лунку вносили 10 мкл исследуемого образца. Электрофорез проводили в вертикальном блоке 7.5%-ного ПААГ, используя трис-ЭДТА-боратную буферную систему, рН 8.3 (Reasock e. a., 1965). Время электрофореза от 1.5 до 2.5 ч при напряжении 200 В при 2—6°. Зоны активности ферментов выявляли общепринятыми методами гистохимического окрашивания (Harris, Hopkinson, 1976). Всего определяли активность 19 ферментов: алкогольдегидрогеназы, глицерофосфатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, фосфоглюконатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, аденилаткиназы, гексокиназы, пируваткиназы, креатинкиназы, супероксиддисмутазы, фосфоглюкомутазы, глюкозофосфатизомеразы, фосфоглюкоконзомеразы, лейцинаминопептидазы, маликэнзима, сорбитолдегидрогеназы, глутаматоксалатрансаминазы, эстеразы.

В результате исследований была выявлена активность 8 ферментов: фосфоглюконатдегидрогеназы (PGD), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G-6-P), аденилаткиназы (AK), супероксиддисмутазы (SOD), фосфоглюкомутазы (PGM), фосфоглюкоконзомеразы (PGI), маликэнзима (ME), эстеразы (ES). Отсутствие окрашенных зон электрофореграмм остальных ферментов связано, по-видимому, с методическими особенностями проведения эксперимента, рН среды, плотностью геля. Например, MDH давал по мере прохождения гомогенатов размазанное окрашивание геля и выявить четкие зоны активности фермента в используемой нами буферной системе не удалось.

Ферменты AK, ME и SOD на электрофореграммах представлены одной полосой, подвижность которых для всех изучаемых трихинелл одинакова (рис. 1), PGI представлена двумя полосами с относительно невысокой электрофоретической подвижностью. G-6-P имеет три зоны, подвижность которых одинакова для всех трихинелл. У *T. pseudospiralis* вторая зона фермента выражена более мощной полосой (рис. 2). Количественные различия отдельных фракций капсульных форм трихинелл отмечены у эстеразы. Из трех полос первые две у экстрактов *T. pseudospiralis* слабо окрашены. PGD имеет две полосы, электрофоретическая подвижность которых у *T. pseudospiralis* выше по сравнению с капсульными трихинел-

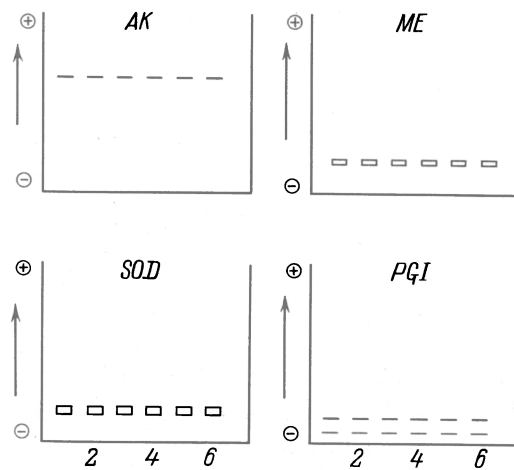


Рис. 1. Электрофореграммы АК, МЕ, SOD, PGI гомогенатов личинок трихинелл.
 1 — *T. spiralis spiralis*; 2 — *T. spiralis* (изолят, выделенный от медведя); 3 — *T. spiralis nativa*; 4 — *T. spiralis nelsoni*; 5 — *T. spiralis* (изолят, выделенный от домашней свиньи); 6 — *T. pseudospiralis*.
 Fig. 1. Electrophoregrams of AK, ME, SOD, PGI homogenates of trichinella larvae.

лами. Лocus фермента PGM имеет одну хорошо выраженную зону, электрофоретическая подвижность которой у *T. pseudospiralis* значительно выше.

Результаты исследований показали, что у 4 из 8 исследованных изоферментов имеются различия: у двух (G-6-P, ES) — в интенсивности окраски отдельных зон ферментов и у двух (PGD, PGM) — в электрофоретической подвижности отдельных локусов между капсульными формами и *T. pseudospiralis*. Ранее рядом авторов (Vaszon e. a., 1976) были выявлены различия в количественном отношении спектров изоферментов глутаматдегидрогеназы *T. spiralis* и *T. pseudospiralis*. Это подтверждает правомерность выделения *T. pseudospiralis* Garkavi, 1972 в самостоятельный вид.

Ферментный профиль всех изучаемых капсулообразующих вариантов и изолятов одинаков, поэтому выявить среди них внутривидовые различия не представляется возможным. Однако Флокхарт с соавторами (Flockhart e. a., 1982), используя метод электрофореза в тонком слое агара, выявил незначительный полиморфизм по 4 ферментам (AK, PGM, MPI, GPI)

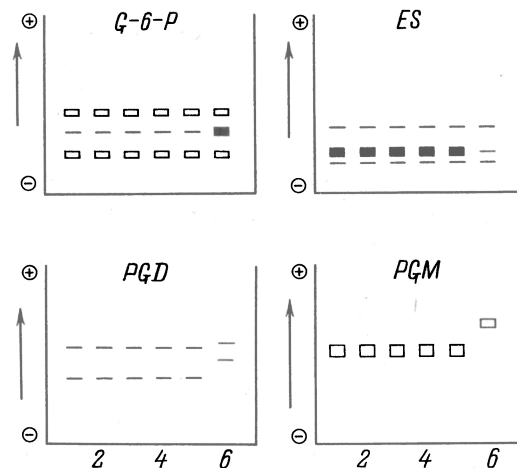


Рис. 2. Электрофореграммы G-6-P, ES, PGD, PGM гомогенатов личинок трихинелл.
 Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. Electrophoregrams of G-6-P, ES, PGD, PGM homogenates of trichinella larvae.

у 5 географически отдаленных изолятов предполагаемых «видов», что, возможно, является следствием различного методического подхода к изучению изоэнзимных профилей и обусловлено генетической неоднородностью структур популяций так называемых «эталонных» вариантов трихинелл.

Представленные данные показывают, что отдельные изоферменты могут служить маркерами для выявления видовых различий трихинелл. В то же время, использованный нами метод определения изоферментной активности не позволяет дифференцировать внутривидовые различия. Выявление внутривидовых различий ряда гельминтов возможно благодаря изучению ферментного состава отдельных особей (Цейтлин, Афанасьев, 1991; Tseitlin, Afanasyev, 1987).

Список литературы

- Цейтлин Д. Г., Афанасьев К. И. Исследование биохимического полиморфизма у паразитических червей // Тр. ГЕЛАН. 1991. Т. 38. С. 183—194.
- Baczon R., Hadas E. J., Szalag K. Proceeding of the Fourth International Conference on Trichinelosis. August 26—28. Poznan, Poland, 1976. P. 28—31.
- Flockhart H. A., Harrison S. E., Dobinson A. R. Enzyme polymorphism in *Trichinella* // Trans. Royal. Soc. Trop. Vtd. Hyg. 1982. Vol. 76. P. 541—545.
- Harris H., Hopkins D. A. Handbook of enzyme of electrophoresis in human genetics. Amsterdam, 1976. 92 p.
- Peacock A. C., Bunting S. C., Queen K. G. Serum protein electrophoresis in acrilamide gel: patterns from normal human subjects // Science. 1965. Vol. 147. P. 1451—1453.
- Tseitlin D. G., Afanasyev K. I. Electrophoretic investigation of isozyme polymorphism of *Trichinella nodulosus* (Cestoda) // Helminthologia. 1987. Vol. 24. P. 269—274.

Институт общей генетики РАН, Москва;
НИИ эпидемиологии, микробиологии, паразитологии
и гигиены,
Ростов-на-Дону;
Всероссийский институт гельминтологии, Москва;
Институт паразитологии РАН,
Москва

Поступила 15.04.1993

COMPARATIVE ELECTROPHORETIC ANALYSIS OF ISOENZYMES IN «STANDARD» AND NATURAL STRAINS OF TRICHINELLA

K. I. Afanasyev, U. I. Vaserin, S. A. Nagorny,
R. A. Penkova, D. G. Tseitlin

Key words: enzyme polymorphism, trichinellae

SUMMARY

In four enzymes among eight ones examined the differences were revealed in the intensity of staining of certain zones (G-6-P, ES) as well as in electrophoretic mobility of some locuses (PGD, RGM) between the capsule forms of trichinellae and *Trichinella pseudospiralis*. As a result, the validity of isolation of *T. pseudospiralis* Garkavi, 1972 is confirmed.