

С. А. Кузнецов, Л. И. Сандуляк, Е. А. Халайм, В. А. Маслянко

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОЛИЧЕСТВА ИММУНОРЕАКТИВНОГО ИНСУЛИНА В ГЕМОЛИЗАТЕ И ЭКСТРАКТАХ ИЗ ЭРИТРОЦИТОВ

Из эритроцитов человека выделен инсулин по биологическим, иммунохимическим и электрофизиологическим свойствам идентичный стандарт-инсулину [1]. Установленное Сандуляком [4] наличие значительных количеств гормона связываемого и депонируемого эритроцитами, подтверждено другими исследователями [3].

Вместе с тем через 30 мин после пероральной нагрузки глюкозой количество иммуноактивного инсулина (ИРИ), определяемого в лигате эритроцитов, уменьшается на 2873 пмоль/л, а в плазме крови увеличивается только на 272 пмоль/л [5]. Несопоставимые количественные изменения ИРИ после нагрузки глюкозой можно объяснить, допустив, что основная масса гормона выделяется из эритроцитов в комплексе, недоступном для радиоиммунологического определения и только часть — в виде ИРИ. Поэтому мы проводили сравнительное изучение количества ИРИ в гемолизате и экстрактах эритроцитов до и после гель-фильтрации экстрактов на сефадексе.

Методика

В опытах использовали свежую гепаринизированную кровь десяти клинически здоровых лиц в возрасте 20—30 лет. Эритроциты отделяли от плазмы и трижды отмывали изотоническим раствором хлористого натрия на центрифуге ЦЛС-3 при 2000 об/мин. Часть эритроцитов лизировали замораживанием при $t = -20^{\circ}\text{C}$, а из части эстрогировали инсулин инкубацией клеток в течение 10 мин в изотоническом растворе хлористого натрия (1 : 1), содержащем 11 ммоль/л глюкозы или в течение 90 мин в изотоническом растворе NaCl, содержащем 0,54 моль/л этанола [2]. О степени полноты экстракции судили по цитохимической реакции на инсулин в эритроцитах [4].

Гель-фильтрацию экстрактов инсулина проводили на колонке с сефадексом G-50 ($25 \times 1,5$), колонку калибровали декстраном голубым, цитохромом С. Собирали фракции, элюирующиеся в объеме $2,33 - 2,65 V_e / V_0$, элюирование проводили раствором слабой ионной силы (дистиллированной водой pH = 5,0—6,0) со скоростью 0,5 мл/мин. Объем наносимой пробы составлял 0,5 мл, собираемой после гель-фильтрации — 3,5 мл. ИРИ определяли с помощью наборов для радиоиммунологического анализа (РИА) производства ВНР; расчет количества ИРИ проводили, учитывая разведение пробы после фракционирования экстрактов на колонке.

Результаты и их обсуждение

По данным цитохимического определения количество инсулинсодержащих клеток до экстракции составляло $(72 \pm 9)\%$. После экстракции инсулина глюкозой $(25 \pm 8)\%$, а после экстракции этанолом $(10 \pm 4)\%$ клеток давали слабую реакцию на инсулин.

Как видно из таблицы, количество ИРИ в гемолизате значительно превышает таковое в экстрактах из эритроцитов. После гель-фильтрации количество ИРИ в экстрактах из эритроцитов увеличивается.

Полученные результаты позволяют утверждать, что в ответ на воздействие глюкозой или этанолом в опытах *in vitro* основная масса инсулина из эритроцитов высвобождается в недоступном для радиоиммунологического определения комплексе. Этот комплекс, очевидно, распадается в условиях элюирования через сефадекс раствором низкой ионной силы. Можно предположить, что и в условиях *in vivo* после нагрузки глюкозой инсулин из эритроцитов высвобождается в основном в комплексе, недоступном для определения методом РИА.

Биологически чаться в том, что ющую роль по от лекс, вероятно, м торов или по мере

Радиони

Среда с

Гемолиза

това

Экстракт

Экстракт

Таким образом верждать, что ради ИРИ в эритроците дается, в основном,

1. Кузнецов С. А., Сакаго в эритроцитах человека. — Опубл. в Б. И.
2. А. с. № 1131507 (С. А. Кузнецов, Е. А. Халайм). — Опубл. в Б. И.
3. Никитин В. Н., Макаров А. А. и др. Методы изучения кровви и поджелудочного железы. — М.: Медицина, 1974.
4. Сандуляк Л. И. Эритроциты. — М.: Медицина, 1974, 213, № 4.
5. Сандуляк Л. И. Эритроциты. — М.: Медицина, 1974, 213, № 4.

Черновиц. ун-т

УДК 612.017.1—547.962.2—616

ИЗМЕНЕНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГЕМОЛИЗЕ

Известно, что генетическим компонентом (гистонов) в регуляции гиперчувствительности, как и на уровне механизма регуляции статочной специфичности в регуляции совместной гиперчувствительности белками [1], вуют как об изменении структуры тела, так и о качественных изменениях кислот лимфоцитов. Ответа и иммунологическая активность гиперчувствительности вопрос, как и гетеросенсибилизации