

---

Z Katedry i Zakładu Chemii Ogólnej Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie  
Kierownik: doc. dr Irena Krzeczowska

Irena KRZECZKOWSKA i Janusz KLIMEK

**Badania nad zastosowaniem do celów klinicznych nowego sposobu  
optycznej rejestracji frakcji białkowych surowicy**

**Исследования над возможностью применения для клинических целей  
нового способа оптической регистрации белковых фракций сыворотки**

**Investigations on the Clinical Application of a New Method of Optical  
Registration of Protein Fractions in Blood Serum**

Wprowadzenie elektroforezy bibułowej przez Th. Wielanda i E. Fischera (6) oraz innych badaczy (5) pozwoliło na stosowanie jej w laboratoriach i klinikach. Równocześnie starano się uprościć metody pomiaru ilościowej zawartości poszczególnych frakcji białkowych surowicy. Pracochłonną i kłopotliwą metodę ekstrakowania, a następnie oznaczania kolorymetrycznego, starano się zastąpić metodą bezpośredniego rejestrowania na papierze światłoczułym. Konstruowano nowe aparaty (3, 4) oraz przystosowywano do ilościowego oznaczenia frakcji białkowych przyrządy służące do innych celów (2).

Założeniem niniejszej pracy było

1) wykazanie, że mikropolarograf wg Heyrovsky'ego połączony z „przystawką” wg Klimka (1) nadaje się do klinicznego użytku,

2) porównanie wyników metody optycznej rejestracji na papierze światłoczułym z wynikami uzyskanymi metodą kolorymetrycznego oznaczania po uprzednim wyekstrahowaniu barwnych plam elektroforogramu.

METODY I MATERIAŁY

Elektroforezę przeprowadzano w aparacie własnej konstrukcji, używając bibuły Whatman N 4. Stosowano bufor weronalowy o pH 8,6. Elektroforeza trwała 18 godzin przy napięciu 120 V i natężeniu 2 mA. w temperaturze pokojowej ok. 18°C. Elektroforogramy barwiono barwnikiem bromofenolowym (Biuro Zbytu Produktów Nieorganicznych w Gliwicach). Do optycznej rejestracji użyto mikropolarografu Heyrovsky'ego (typ M 1026 N. P. Praha — Vršovice) łącząc go z przystawką wg Klimka Janusza (1). Powierzchnię pól odpowiadających poszczególnym frakcjom mierzono planimetrem. Surowice patologiczne otrzymano z I Kliniki Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Lublinie, za co wyrażamy serdeczne podziękowanie Kierownikowi I Kliniki p. prof. dr Mieczysławowi Kędrze.

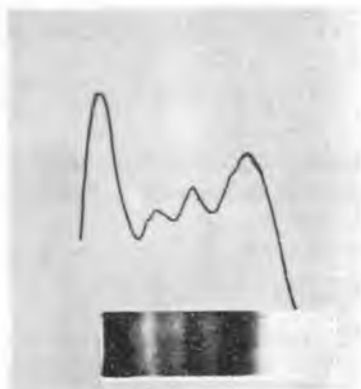
## BADANIA WŁASNE

Badano przydatność dla celów klinicznych przyrządu służącego do optycznej rejestracji względnego składu procentowego poszczególnych frakcji białkowych surowicy krwi. Aparat został skonstruowany przez dołączenie do mikropolarografu Heyrovsky'ego „przystawki” wg Klimka J. (1).



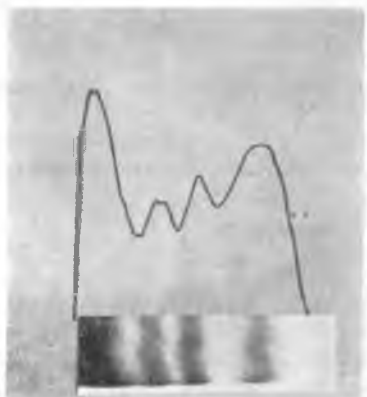
Ryc. 1. Proteinogram i odpowiadająca mu krzywa surowicy patologicznej *Lymphadenosis chronica* (B. J. 20 II 1958)

Proteinogram and corresponding curve of pathological serum. *Lymphadenosis chronica*, B. J., 20. II 1958



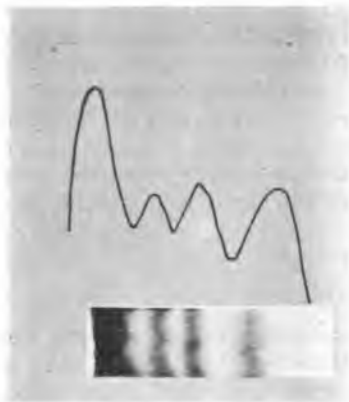
Ryc. 2. Proteinogram i odpowiadająca mu krzywa surowicy patologicznej *Lymphadenosis chronica* (B. J. 19 III 1958).

Proteinogram and corresponding curve of pathological serum. *Lymphadenosis chronica*, B. J., 19 III 1958



Ryc. 3. Proteinogram i odpowiadająca mu krzywa surowicy patologicznej *Lymphadenosis chronica* (B. J. 21 III 1958).

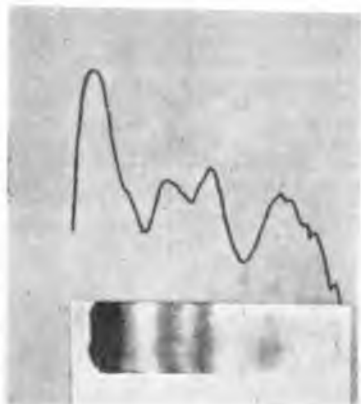
Proteinogram and corresponding curve of pathological serum. *Lymphadenosis chronica*, B. J., 21 III 1958



Ryc. 4. Proteinogram i odpowiadająca mu krzywa surowicy patologicznej *Lymphadenosis chronica* (W. M. 19. III 1958).

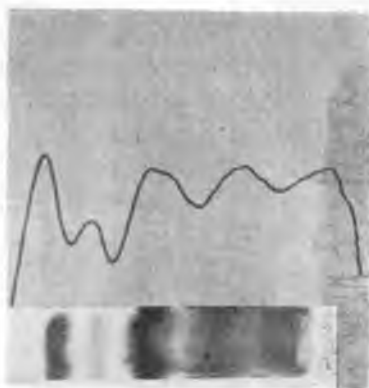
Proteinogram and corresponding curve of pathological serum. *Lymphadenosis chronica*, W. M., 19 III 1958

Elektroforogramy i odpowiadające im krzywe uzyskane dla dwóch przypadków *lymphadenosis chronica* są przedstawione na ryc. 1, 2, 3 oraz ryc. 4 i 5. Elektroforogram i krzywa na ryc. 6 przedstawiają przypadek *Tumor hypochondrii dextri*.



Ryc. 5. Proteinogram i odpowiadająca mu krzywa surowicy patologicznej *Lymphadenosis chronica* (W. M. 21 III 1958).

Proteinogram and corresponding curve of pathological serum. *Lymphadenosis chronica*, W. M., 21 III 1958



Ryc. 6. Proteinogram i odpowiadająca mu krzywa surowicy patologicznej *Tumor hypochondrii dextri* (T. J. 4 VI 1958).

Proteinogram and corresponding curve of pathological serum. *Tumor hypochondrii dextri*, T. J., 4 VI 1958

Otrzymane elektroforogramy służyły do oznaczenia względnej procentowej zawartości poszczególnych frakcji surowicy krwi dwoma metodami:

- a) metodą bezpośredniej optycznej rejestracji (oznaczoną w tabeli I, liczbą 1), przy użyciu aparatu nowej konstrukcji,
- b) metodą (oznaczoną w tabeli I, liczbą 2), polegającą na ekstrahowaniu zabarwionych na bibule frakcji białkowych, a następnie na ich kolorymetrycznym oznaczeniu. Wyniki zebrano w tab. 1.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Metoda bezpośredniej rejestracji jest znacznie szybsza i wygodniejsza, a także dokładniejsza. W metodzie oznaczania kolorymetrycznego, przy wycinaniu zabarwionych plam do ekstrahowania, łatwo popełnić błędy zwłaszcza przy elektroforogramach o gorszym rozdziale poszczególnych frakcji. Wyniki uzyskane metodą bezpośredniej rejestracji przy użyciu nowego aparatu wykazują u chorej B. J. (w ciągu miesiąca) stopniowy spadek albumin i globulin  $\beta$  oraz wzrost globulin  $\gamma$ , podczas gdy metoda kolorymetrycznego oznaczania nie pozwala na wyciągnięcie takich wniosków.

Tab. 1. Zestawienie wyników (uzyskanych dwoma metodami) oznaczenia względnej procentowej zawartości poszczególnych frakcji białkowych w patologicznej surowicy krwi.  
The results (obtained by two methods) which show the determination of a relative content, in percentage, of separate protein fractions in pathological blood serum

L. p.	N.N.	Przypadek patologiczny	Data	Albuminy metoda		Globuliny $\alpha_1$ metoda		Globuliny $\alpha_2$ metoda		Globuliny $\beta$ metoda		Globuliny $\gamma$ metoda		Uwagi	
				1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
1		<i>Lymphadenosis chronica</i>	20 II 1958	49,30	53,35	*)	7,80	4,40	—	5,35	13,00	7,83	29,90	29,07	
2	B. J.		19 III 1953	48,70	53,40	*)	7,50	5,43	—	7,11	12,50	9,94	31,30	24,74	
3			21 III 1958	47,60	53,45	*)	8,30	4,86	—	7,30	10,80	7,57	33,30	26,82	
4		<i>Lymphadenosis chronica</i>	19 III 1958	54,80	59,20	*)	9,40	7,78	—	10,58	14,80	11,22	21,00	11,22	
5	W.M.		21 III 1958	56,00	58,36	*)	11,4	6,56	—	11,98	13,60	9,74	12,60	13,36	
6	T.J.	<i>Tumor hipochondrii dextrae</i>	4 IV 1958	19,00	12,27		7,90	7,74	26,70	27,68	25,10	27,68	21,30	24,63	chory zmarł 11 IV 53 r.

Objaśnienia: 1 — metoda optycznej rejestracji; 1 — method of optical registration;

2 — metoda kolorymetryczna (po uprzednim wyekstrahowaniu); 2 — colorimetric method (on previous extraction);

\*) — przy *Lymphadenosis chronica* uzyskano na krzywej tylko cztery frakcje (jedną frakcję globulin  $\alpha$ );

\*) — in *Lymphadenosis chronica* only four fractions were obtained on the curve (one  $\alpha$  globulin fraction)

Aczkolwiek badania dotyczyły przydatności metody i nie upoważniają do wyprowadzania wniosków diagnostycznych, trudno jednak nie zwrócić uwagi na wyjątkowo mały procent albumin w surowicy T. J. i nie zaznaczyć, że chory zmarł po 7 dniach.

Biorąc pod uwagę dużą różnicę w wynikach podawanych przez różnych autorów, dla względnej procentowej zawartości poszczególnych frakcji, nawet w przypadku surowicy prawidłowej, można sądzić, że różnice występujące między naszymi wynikami, uzyskanymi dwoma różnymi metodami, są bardzo małe. Średnia różnica między metodą „1” i „2” dla albumin, globulin  $\beta$  i globulin  $\gamma$  nie przekracza  $\pm 4,68\%$ .

Opierając się na dotychczasowych wynikach (dalsze badania innych surowic patologicznych w toku), można sądzić, że dołączenie „przystawki” (wg Klimka) do mikropolarografu, pozwoli na zastosowanie go do oznaczania względnych procentowych zawartości poszczególnych frakcji surowicy w badaniach klinicznych. Za zastosowaniem tej metody przemawia, prócz jej dokładności, również oszczędność czasu i odczynników chemicznych. Nie jest również bez znaczenia fakt, że w czasie pomiaru, elektroforogram nie ulega zniszczeniu i może być użyty do dalszych badań lub pozostaje jako dokument.

#### WNIOSKI

1. Mikropolarograf Heyrovsky'ego połączony z „przystawką” wg Klimka nadaje się do celów klinicznych.
2. Metoda bezpośredniej optycznej rejestracji frakcji białkowych na papierze światłoczułym przy użyciu wyżej podanej aparatury jest dokładniejsza, szybsza i oszczędniejsza od metody oznaczania kolorymetrycznego.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Klimek J. i Krzeczowska I.: Prosty sposób przystosowania mikropolarografu Heyrovsky'ego do optycznej rejestracji elektroforogramów. *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska Sec. D.* 15, str. 117—122. 1960.
2. Krwaczyński J i Rycaj M.: Szybki sposób przystosowania fotometru płomieniowego Zeissa i polarografu Heyrovsky'ego do optycznej rejestracji proteinogramów bibułowych. *Pol. Tyg. Lek.* 9, 3—9, 1954.
3. Ostrowski W. i Mikucki H.: Fotoabsorbjometr samorejestrujący do elektroforezy bibułowej białek surowicy. *Pol. Tyg. Lek.* 7, 657—659, 1952.
4. Ostrowski W. i Skarżyński B.: Uproszczona metoda elektroforezy w zastosowaniu do celów klinicznych. *Pol. Tyg. Lek.* 7, 120—124. 1952.
5. Tiselius A.: Die Elektrophoretischen Bestimmungen von Proteinen. *Kolloid-Z.* 85, 129—137. 1938.
6. Wieland Th. i Fischer E.: Über Elektrophorese auf Filterpapier. *Naturwiss.* 35, 29—30, 1948.

## РЕЗЮМЕ

Авторами определялось относительное процентное количество белковых фракций в патологических сыворотках: а) методом оптической регистрации при применении микрополярографа Гейровского (Heyrovsky) с присоединенной „приделкой” замысла и конструкции Климка Януша, б) методом колориметрического определения после предварительного акстрагирования цветных пятен электрофорограммы.

Точность, легкость и скорость проведения определений говорит в пользу метода непосредственной регистрации.

Разница в результатах, получаемых этими двумя методами не превышает  $\pm 4,68\%$ .

Применение „приделки” Климка позволяет использовать микрополярограф Гейровского для оптической регистрации белковых фракций сыворотки крови в клинических исследованиях.

## SUMMARY

The authors determined the relative percentage content of the separate protein fractions in blood serum of pathological cases using the following methods:

- a. optical registration by means of the micropolarograph according to Heyrovsky combined with an additional apparatus devised and constructed by Janusz Klimek;
- b. method of colorimetric determination after extraction of the coloured spots of the electrophorogram.

The accuracy, ease and speed of performance speak well for the method of direct registration. The difference between the results obtained by the two methods does not exceed  $\pm 4.68$  per cent.

The application of the additional apparatus according to Klimek makes it possible to use the micropolarograph according to Heyrovsky for optical registration of protein fractions in blood serum in clinical practice.