

Модифікація флуорометра ЕФ-3 для визначення вмісту адреналіну і норадреналіну в тканинах та в сечі

Д. О. Голов, М. І. Гуревич, Л. Ф. Хомицька

Лабораторія фізіології кровообігу Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Останнім часом для визначення вмісту катехоламінів широко застосовують флуориметричні методи дослідження, як найбільш чутливі і специфічні [4, 5, 6].

Для визначення вмісту адреналіну і норадреналіну в сечі використовують [1, 3] вітчизняний флуорометр ЕФ-3, призначений для дослідження вітамінів з деяким підвищенням його чутливості.

На базі флуорометра ЕФ-3 ми сконструювали і виготовили прилад, який має високу чутливість і стабільність, що дозволяє з успіхом застосовувати його для

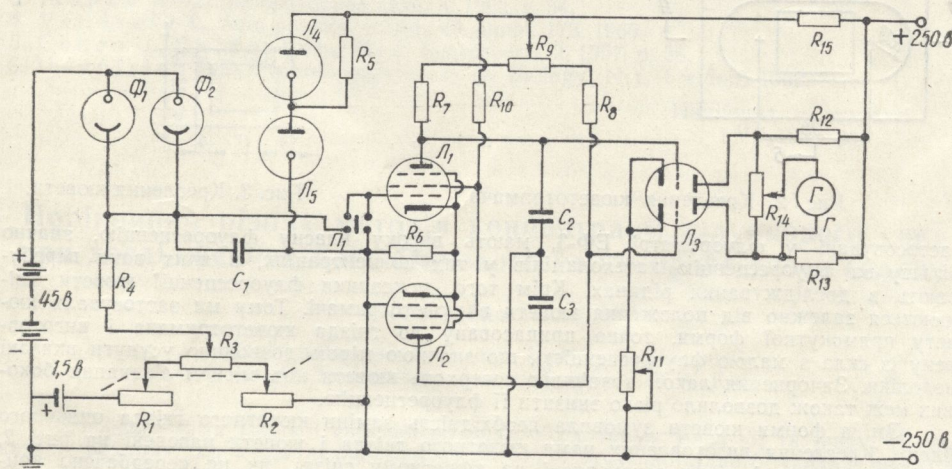


Рис. 1. Принципова схема підсилювача.

Φ_1 і Φ_2 — фотоелементи Ф-2; лампи L_1 і L_2 — 6Ж7; L_3 — 6Н8С; L_4 і L_5 — СГ-3С; R_1 і R_2 — змінні опори по 100 ком; R_3 — змінний опір 4,7 ком; R_4 — 1000 мом; R_5, R_7, R_8 — 470 ком; R_6 — 1,2 ком (підбирають при налазці); R_9 — змінний опір 100 ком; R_{10} — 1 мом; R_{11}, R_{14} — змінний опір 10 ком; R_{12}, R_{13} — 10 ком; R_{15} — 24 ком; C_1 — конденсатор 1000 рф; C_2, C_3 — 0,1 мкф; Γ — мікроамперметр М-24 100 мка.

визначення вмісту катехоламінів у сечі та в тканинах. Для підвищення чутливості приладу були внесені зміни в електронну схему підсилювача. Замість наявного у приладі ми виготовили двокаскадний підсилювач постійного струму, зібраний за балансною схемою (рис. 1), який має високу чутливість і стабільність. Живлення підсилювача здійснюється від наявного в приладі ЕФ-3 випрямляча з ферорезонансним стабілізатором. Підвищення стабілізації здійснюється двома послідовно з'єднаними газовими стабілізаторами СГ-3С.

Підсилювач працює за таким принципом: зміна напруги на опорі R_4 , викликана зміною освітлення фотоелементів, подається на сітку лампи L_1 і після підсилення

попадає на сітку лампи $\mathcal{L}_3$. Лампа $\mathcal{L}_3$ і опори R_{12} і R_{13} — це плечі моста, в діагональ якого вмикається вимірювальний прилад, який шунтують змінним опором R_{14} . За допомогою цього опору можна змінювати чутливість приладу. Змінний опір R_{11} , який вмикають у ланцюг катода лампи $\mathcal{L}_3$, монтують на шасі підсилювача і застосовують при його налагодженні. Конденсатори C_2 і C_3 необхідні для усунення перешкод. Фотоелементи Ф-2 живляться від встановленої в приладі сухої батареї БАС-60, напругою 45 в. Для регулювання темного струму застосовують будь-який сухий елемент напругою 1,5 в.

В зв'язку з підвищенням чутливості приладу виявилось необхідним внести деякі конструктивні зміни в оптичну частину приладу. Кювети (круглі пробірки),

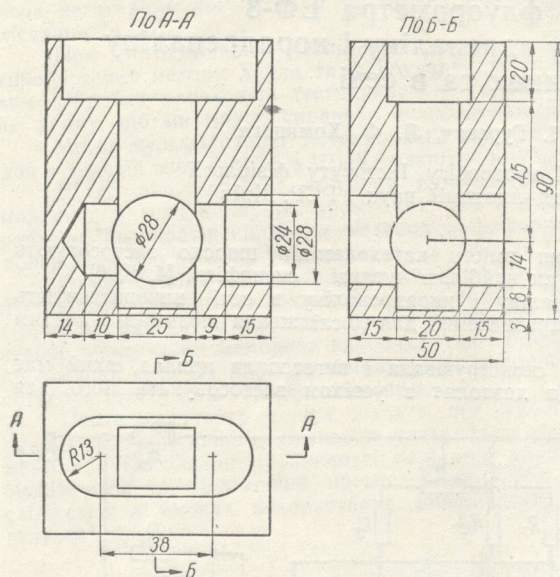


Рис. 2. Креслення кюветотримача.

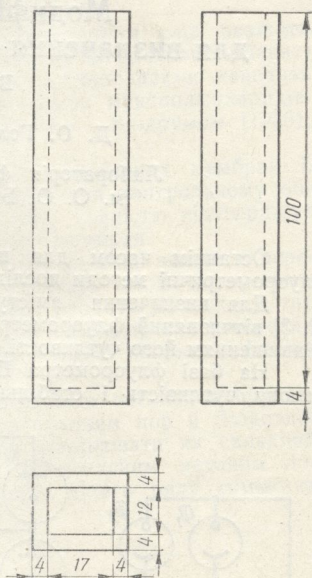


Рис. 3. Креслення кювети.

застосовувані у флуорометрі ЕФ-3, мають високу власну флуоресценцію, значно більшу за флуоресценцію катехоламінів у тих концентраціях, в яких вони перебувають в досліджуваних рідинах. Крім того, показники флуоресценції кювети змінюються залежно від положення кювети в кюветотримачі. Тому ми застосували кювету прямокутної форми, точно припасовану до гнізда кюветотримача і виготовлену із скла з малою флуоресценцією, що значною мірою дозволило усунути вказані недоліки. Зачорнення лаком зовнішніх поверхонь кювети над місцем з'єднання бокових меж також дозволило різко знизити її флуоресценцію.

Зміна форми кювети зумовила необхідність заміни кюветного гнізда оптичного блоку. Креслення виготовлених нами кюветного гнізда і кювети наведені на рис. 2, 3. Фотоелементи і лінзи встановлені на кюветному гнізді, як це передбачено конструкцією приладу ЕФ-3. Вказані зміни в оптичній частині приладу значно підвищують відношення корисного сигналу до перешкоди.

При роботі з приладом його необхідно спочатку прогріти протягом 10—15 хв. Після цього опором R_9 при натиснутій кнопці $\mathcal{P}_1$, яка заземляє сітку лампи $\mathcal{L}_1$, встановлюють стрілку гальванометра в нульове положення. Так здійснюється збалансування посилювача. Наступним етапом наладки приладу є встановлення темного струму, що здійснюється за допомогою спарованих опорів R_1 , R_2 (грубо) і R_3 (плавно) і контролюється нульовим положенням стрілки гальванометра. Положення шунта гальванометра, що змінює чутливість приладу, обирається залежно від концентрації катехоламінів у розчинах і встановлюється за робочою кюветою з бідистильованою водою. Вимірювання проводять при повністю відкритій діафрагмі.

Світлофільтри взяті з комплекту наявного у приладі ЕФ-3 (первинний — ФК-1, два вторинних — В-2). Максимум пропускання первинного світлофільтра перебуває в ділянці 360 мкм і вторинних — 570 мкм; коефіцієнт світлопропускання становить відповідно 65 і 88%.

Зміни, внесені нами до приладу ЕФ-3, дозволяють визначати концентрації адреналіну 0,0001 мкг/мл і норадреналіну — 0,0002 мкг/мл. Похибка вимірювань не перевищує $\pm 3-4\%$.

При визначенні адреналіну дають з бідистильованою

Дворічний і чутливість, наді

1. Есиков А. Д.
2. Осинская В.
3. Шаров А. С.
4. Vendsalu A.
5. Cohen G., G.
6. Udenfriend

Порівняння при дослідженні

Дослідженням казано важливе значення вивчення вмісту адреналіну в соку. Проте існуюча практика зазначає, що визначення цих компонентів є важливим етапом дослідження.

Важливим етапом дослідження є визначення вмісту адреналіну в соку. Проте існуюча практика зазначає, що визначення цих компонентів є важливим етапом дослідження.

Нами [8] була запропонована нова методика визначення вмісту адреналіну в соку. Проте існуюча практика зазначає, що визначення цих компонентів є важливим етапом дослідження.

Відсутність діалізу є головною причиною неретельної денатурації білків, а не при ретельній денатурації білків.

Запропонований електрофорез дозволяє визначити концентрації адреналіну і норадреналіну в соку. Проте існуюча практика зазначає, що визначення цих компонентів є важливим етапом дослідження.

При визначенні катехоламінів за методикою Осинської [2], стандартні розчини адреналіну дають такі показники (при встановленні чутливості приладу за кюветою з бідистильованою водою на 40 поділок шкали гальванометра, див. таблицю).

Інтенсивність флуоресценції розчинів адреналіну і норадреналіну, оброблених за методом Осинської (у поділках шкали гальванометра)

Концентрація катехоламінів у кюветі (мкг/мл)	Різниця показань	
	третьої та другої проб (адреналін)	четвертої та третьої проб (норадреналін)
0,0001	11,0; 11,0; 10,5	5,0; 4,0; 5,0
0,0002	22,0; 20,5; 21,0	7,0; 9,0; 10,0
0,0003	33,0; 31,5; 33,0	12,0; 15,0; 13,0

В таблиці наведені дані різних дослідів.

Дворічний досвід роботи з приладом показав, що він має високу стабільність і чутливість, надійний і зручний в експлуатації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Есиков А. Д., Меньшиков В. В., Лабораторное дело, 4, 1961, с. 22.
2. Осинская В. О., Биохимия, 22, 3, 1957, с. 537.
3. Шаров А. С., Лабораторное дело, 6, 1962, с. 54.
4. Vendsalu A., Acta physiol. scand., 49, suppl. 173, 1960.
5. Cohen G., Goldenberg M., J. Neurochem., 2, 1957, p. 58.
6. Udenfriend S., Fluorescence Assay in Biology, N-Y, London, 1962.

Надійшла до редакції
1.VI 1964 р.

Порівняння різних методів концентрації шлункового соку при дослідженнях його білкового і мукопротеїдного складу

Ф. М. Ейдельман

Відділ клінічної фізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Дослідженнями Гласа і співробітників [1, 2], а також Риса [3] та інших [4] показано важливе значення визначення білкового і мукопротеїдного складу шлункового соку. Проте широкому поширенню таких досліджень і впровадженню їх у клінічну практику заважала відсутність зручної і водночас достатньо точної методики визначення цих компонентів.

Важливим етапом у таких дослідженнях є метод концентрації білків. Запропонований Гласом і співробітниками [1] метод ліофілізації мало доступний для клініки через складність його установки. Застосовувані іншими дослідниками методи концентрації шлункового соку — висушування на склі [5], концентрування в гуміарабіку [6], висушування ацетоном [7], судячи з наведених електрофореграм, не дають можливості розділяти білки шлункового соку так повно, як при ліофілізації.

Нами [8] була видозмінена методика визначення білків шлункового вмісту. Запропонований нами ацетоновий метод концентрації шлункового соку істотно відрізняється від аналогічного методу Туголукова [9].

Відсутність діалізу шлункового соку в методиці, запропонованій Туголуковим, а головне осадження білків ацетоном та їх висушування при кімнатній температурі, а не при ретельному охолодженні соку і, особливо, ацетону, призводить до значної денатурації білка, а тому і до відсутності чіткого відокремлення високомолекулярних сполук шлункового соку на окремі фракції.

Запропонований нами метод концентрації шлункового соку і умов проведення електрофорезу дозволяють виявити на електрофореграмах у осіб з нормальною секре-