

в діаграмі  $R_{14}$ , пір  $R_{11}$ , і застосуванням перебатарей /дъ-який внести обірки/,

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

- Есиков А. Д., Меньшиков В. В., Лабораторное дело, 4, 1961, с. 22.
- Осинская В. О., Биохимия, 22, 3, 1957, с. 537.
- Шаров А. С., Лабораторное дело, 6, 1962, с. 54.
- Vendsalu A., Acta physiol. scand., 49, suppl. 173, 1960.
- Cohen G., Goldenberg M., J. Neurochem., 2, 1957, p. 58.
- 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 люофілізації мало доступний для клініки через складність його установки. Застосувані іншими дослідниками методи концентрації шлункового соку — висушування на склі [5], концентрування в гуміарабіку [6], висушування ацетоном [7], судачі з наведених електрофорограм, не дають можливості розділяти білки шлункового соку так повно, як при люофілізації.

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 методі, 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 електрофорограмах у осіб з нормальнюю секре-

цією вісім окремих фракцій. Фракція  $P$  — відповідає пепсину,  $M_1$  — розчинному мукопротеїду,  $M_2$ ,  $M_3$  і  $M_4$  — розчинним мукопротеозам, фракції  $x$ ,  $y$  і  $z$  — крупні молекули поліпептидів. Порівнюючи електрофорограми, пофарбовані амідовим чорним і реактивом Шифа, ми бачимо, що фракції  $M_4$ ,  $M_3$  і  $M_2$  і частково  $M_1$  — це глюкопротеїди. Користуючись цим методом дослідження шлункового соку у людей, можна виявити певні особливості у складі білків і мукопротеїдів при різних фізіологічних і патологічних станах секреторного апарату шлунка [10].

Для дальнього вдосконалення цього методу і можливості порівняння одержаних результатів з даними дослідників, які концентрували шлунковий сік методом ліофілізації, ми провели порівняльні дослідження, в яких порції соку паралельно обробляли двома методами — ліофілізацією і ацетоном.

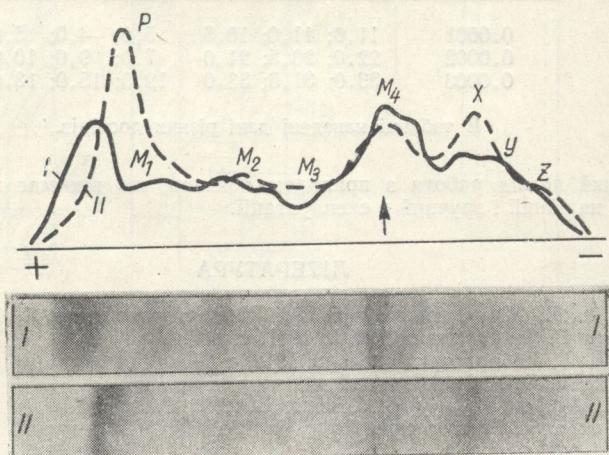


Рис. 1. Білковий склад шлункового соку при застосуванні різних методів його концентрації.

I — (сувільна лінія) — при обробці ацетоном; II (пунктирна лінія) — при обробці ліофілізацією.

Одержаній шлунковий сік негайно після вилучення охолоджували на льоду, потім центрифугували при 6,5—7 тис. обертів на хвилину. Центрифугат діалізували на холоді протягом 18 год проти десяти об'ємів води при постійному перемішуванні механічною мішалкою. Потім частину діалізату обробляли ліофілізацією, а другу частину упаковували в тих самих целофанових гільзах обдуванням повітря, а після цього висушували триразовим змішуванням з ацетоном з наступним центрифугуванням. Причому всі етапи обробки здійснювали при найретельнішому охолодженні до 0—1°C соку, ацетону і посуду.

Ліофілізацію шлункового соку здійснювали в скляних ліофілізаторах. Сік висушували у вакуумі при  $10^{-1}$  мм рт. ст. при охолодженні сумішшю ацетону з сухою вуглекислотою.

Одержані двома методами сухі порошки розчиняли у веронал-мединаловому буфері при  $\text{pH} = 8.6$ .

Електрофорез відбувався у веронал-мединаловому буфері при  $\text{pH} = 8.6$ , напруга 200 в протягом 6 год. Для дослідження білків електрофорограми пофарбовували амідовим чорним, а глюкопротеїдів — реактивом Шифа. Оцінку електрофорограм проводили на денситометрі з фотозаписом. Кількість в окремих компонентах визначали в процентах до загального вмісту.

#### Склад білків шлункового соку при оброб

Статистичні показники	$P$		$M_1$		$M_2$		$M_3$		Метричні показники			
			A	L	A	L	A	L				
	$M \pm m$	$\sigma$										
	8,6 ± 1,6	± 4,94	14,7 ± 2,3	± 6,95	7,4 ± 0,7	± 2,15	5,3 ± 0,4	± 1,40	12,2 ± 1,6	9,9 ± 1,1	11,3 ± 0,9	10,8 ± 1,1
	t	2,30	2,30	2,44	2,44	2,44	1,21	1,23	0,32	0,32	2,23	

циї ацетоновим методом (A) та

$M_4$	
обробки	
A	L
27,4 ± 2,2 ± 6,81 2,92	19,4 ± 1,6 ± 5,13 1,92
13, ± 1	

9 — Фізіологічний журнал № 5.

Паралельно до соку, кислотність я можна проілюструвати білків і відповідні (I) і ліофілізацією гальним вмістом білків можна відрізкатодних ( $x$ ,  $y$  і  $z$ ) кількісно велика в фракція розчинного при обробці ацетоном вміст фракцій  $M_4$  у ацетоном.

Так, різні методи обробки шлункового соку в якісну характеристику рігаються лише деякості, в основному ціїй  $P$ ,  $M_1$  і  $M_4$ .

Між електрофорезом протеїдів шлункового різними методами, та виявить значних відмін. На електрофорограмах ацетоновим методом ліофілізацією (II), можна виявляти кількісно окремими фракціями.

В таблиці вміщено кількісного складу шлункового соку, обробленого методом (A) і ліофілізацією.

В усіх дослідженнях шлункового соку при концентрації можна виявляти кількість фракцій (вісім) у різних межах, але в більшості методів. Значні індивідуальні відмінності відмінні за кількістю у відповідних обробках різними методами виходять за межі коливання.

Показники пепсину  $\pm 2,3$ , нижче при ацетоновому методі статистично достовірна. При більшою ( $M \pm m = 7,4 \pm 1,6$ ), ця також статистично для якої при ацетоновому методі  $= 19,4 \pm 1,6$ , що також підтверджується.

Виходячи з наведених даних, можна зробити висновок, що вказують дані про розглянутість, внаслідок чого ацетоновим методом (A) та

розчинному мул-  
-крупні моле-  
-звим чорним і  
-це глюкопро-  
-людій, можна  
- фізіологічних  
-ння одержаних  
- методом ліофі-  
-зально оброб-

Паралельно двома методами ми досліджували 10 різних порцій шлункового соку, кислотність якого була нормальню або підвищеною. Одержані результати можна проілюструвати такими прикладами. На рис. 1 наведені електрофорограми білків і відповідні денситометричні криві шлункового соку, обробленого ацетоном (І) і ліофілізацією (ІІ). Як видно, обидві електрофорограми мало відрізняються за гальним вмістом білка, величиною розгону і кількістю окремих фракцій. На обох кривих можна відрізнити вісім фракцій — п'ять анодних ( $P, M_1, M_2, M_3$  і  $M_4$ ) і три катодніх ( $x, y$  і  $z$ ). Привертають увагу такі відмінності: 1) фракція пепсину ( $P$ ) кількісно велика в частині соку, обробленій методом ліофілізації; 2) дещо більша фракція розчинного мукопротеїду ( $M_1$ ) при обробці ацетоном; 3) підвищено вміст фракції  $M_4$  у соку, висушеному ацетоном.

Так, різні методи концентрації шлункового соку не впливають на якісну характеристику кривих. Спостерігається лише деякі кількісні відмінності, в основному це стосується фракцій  $P, M_1$  і  $M_4$ .

Між електрофорограмами глюкопротеїдів шлункового соку, висушеного різними методами, також не можна виявити значних відмінностей (рис. 2). На електрофорограмах соку, оброблених ацетоном методом (І) і ліофілізацією (ІІ), можна бачити три глюкопротеїдні фракції. Відмінності стосуються лише кількісних відношень між окремими фракціями.

В таблиці вміщено зведені дані кількісного складу окремих порцій шлункового соку, оброблених ацетоновим методом (А) і ліофілізацією (Л).

В усіх досліджуваних порціях шлункового соку при різних методах концентрації можна виявити одинакову кількість фракцій (вісім). Вміст білка в окремих фракціях коливається в досить широких межах, але в більшості випадків різко не відрізняється при застосуванні різних методів. Значні індивідуальні коливання можна частково пояснити тим, що ми додавали різний за кислотністю сік. Одержані дані обробляли статистично. Порівняння у відповідних порціях величин фракцій  $M_2, M_3, x, y$  і  $z$ , одержаних при обробці різними методами концентрації соку, показує, що їх різниця в основному не виходить за межі коливань похибки методу і статистично не достовірна.

Показники пепсину при ліофілізації приблизно на 70% вищі ( $M \pm m = 14,7 \pm 2,3$ ), ніж при ацетоновому методі обробки ( $M \pm m = 8,6 \pm 1,6$ ). Ця різниця статистично достовірна. При застосуванні ацетонового методу фракція  $M_1$  виявляється більшою ( $M \pm m = 7,4 \pm 0,7$ ), ніж при ліофілізації ( $M \pm m = 5,3 \pm 0,4$ ). Ця різниця також статистично достовірна. Деякі відмінності спостерігаються і у фракції  $M_4$ , для якої при ацетоновому методі  $M \pm m = 27,4 \pm 2,2$ , а при ліофілізації  $M \pm m = 19,4 \pm 1,6$ , що також підтверджується статистично.

Виходячи з наведених даних, можна відзначити, що при застосованому нами ацетоновому методі концентрації білка шлункового соку, незважаючи на всі запобіжні заходи, у більшості випадків все ж відбувається часткова денатурація білка, що вказують дані про те, що на місці нанесення частини білків залишається і не розганяється, внаслідок чого штучно збільшується фракція  $M_4$ . Очевидно, більш за

#### акцетоновим методом (А) та ліофілізацією (Л)

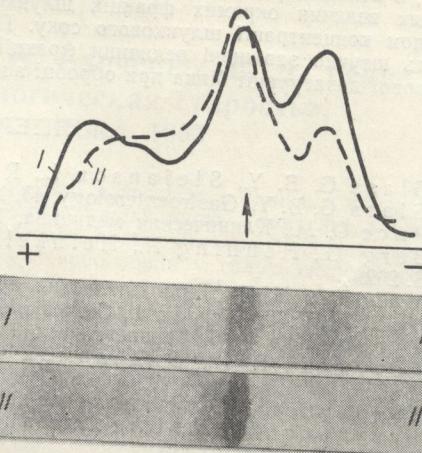


Рис. 2. Глюкопротеїдний склад шлункового соку при застосуванні різних методів його концентрації. Умовні позначення див. рис. 1.

кували на льоду, фугат діалізували іму перемішуванні ізациєю, а другу повітря, а після центрифугування охолодженні узаторах. Сік ви-  
шо ацетону з су-  
мединаловому бу-  
рН — 8,6, напрузі  
пофарбовували  
електрофореграм  
іонентах визнача-

ного соку при обробці

Фрак

$M_3$

Метод

A	Л
11,3 ± 0,9	10,8 ± 1,4
± 2,68	± 4,21
0,32	2,32

ції

$M_4$ обробки	$M_4$		$X$		$Y$		$Z$	
	A	Л	A	Л	A	Л	A	Л
27,4 ± 2,2	19,4 ± 1,6	13,4 ± 0,6	15,3 ± 0,9	11,7 ± 1,9	12,3 ± 1,5	7,9 ± 1,5	9,5 ± 1,1	
± 6,81	± 5,13	± 1,99	± 2,92	± 5,95	± 4,67	± 4,68	± 3,37	
2,92	1,92	1,58	1,58	1,50	0,50	1,63	1,63	

9 — Фізіологічний журнал № 5.

все зазнає денатурації пепсин, як чутливіший ферментний білок, що зумовлює його менший вміст при ацетоновому методі обробки порівняно з ліофілізацією. Проте слід взяти до уваги, що ця відмінність постійно повторюється.

Результати проведених досліджень дозволяють прйти до висновку про те, що при дослідженні білкового і мукопротеїдного складу шлункового соку поряд з ліофілізацією може бути застосований також і ацетоновий метод концентрації шлункового соку. При ацетоновому методі обробки, як і при ліофілізації, на електрофорограмах можна виявити вісім фракцій. Слід, проте, взяти до уваги, що ацетоновий метод концентрації шлункового соку може бути застосований з деякими обмеженнями, в основному, при проведенні порівняльних досліджень. Для визначення ж абсолютних величин окремих фракцій шлункового соку слід користуватися ліофільним методом концентрації шлункового соку. При застосуванні ацетонового методу одержують штучно завищенні величин фракції  $M_4$  і нижчі показники пепсину внаслідок часткової денатурації білка при обробці ацетоном.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Glass G. B., Stefanson L., Rich M., Gastroenterologia, 86, 1956, p. 384.
2. Glass G. B., Gastroenterology, 43, 1962, p. 310.
3. Рысс С. М., Клиническая медицина, 10, 1961, с. 27.
4. Berg G., Henning N., Heinkel K., Lentzen W., Klin. Wchr., 38, 1960, S. 262.
5. Масевич Ц. Г., Терапевтический архив, 12, 1956, 10.
6. Vaseley K. T., Boyd J., Ceskoslovenska gastroenterologie a vyziva, 14, 1960, 398.
7. Туголуков В. Б., Терапевтический архив, 4, 1962, 87.
8. Ревуцкий Е. Л., Ейдельман Ф. М., Семенчук Д. Д., Врачебное дело, 2, 1963, 42.
9. Туголуков В. Б., Лабораторное дело, 5, 1963, 3.
10. Ревуцкий Е. Л., Ейдельман Ф. М., Семенчук Д. Д., Фізіол. журн. АН УРСР, IX, 6, с. 775.

Надійшла до редакції  
26.XII 1963 р.

Ю. А.

«Д

Вивчення осінніх задач, що хід у світ монографії Ю. О. Синного і клініко-фізичного

Монографія ку і покажчика л

В I розділі про боротьбу за жаючи на те, що робка проблеми .

В II розділі в історичному аспаріння. Справедливі старості і Урадянський період відзначено, що с. І. П. Павлова пр

головного мозку, захисні реакції орологічний засіб бо

В III розділ чини, які сприяють домісткої праці п

1951—1952 рр. Об

були понад 100 р

Ці дослідження і

вали до цього. Од

з зоологічної старості логічні особливості організму, забезп

і в старості.

Цікаво було

Ю. О. Спасокуков

Всесоюзного переп

свідчить про те, щ

IV розділ «З

шення як фактор експериментальних

Заслуговують

рості шляхом трив

в результаті чого р

ше одержати моде

До недоліків

писах до рисунків

115 (рис. 37), 116 (

пофарбування преп

В V розділі «І

наведені літературн

і результати дослід

регенераторного про