

BLOOD CELLS AND BINDING

blood cells and plasma proteins in absorption by the blood cells and ontogenetic differences in absorption are determined. The biotin-binding in ases and becomes slower in old rats

SR, Odessa

ации // Лаб. дело. — 1966. — № 3.

А., Западнюк Б. В. Лабораторные опыты в эксперименте. — Киев: Виц.

Е. А. Изучение гемолиза эритроцитов биохимии, биохимии и патологии

лейкоцитов и тромбоцитов из кро- — 526.

рно-статистического исследования. —

в печени коферментных витаминов, амины. — Вып. IX. — Киев: Наук.

организме при связывании ³⁵S-липоа- ф. дис. ... канд. биол. наук. — Одесса,

ility of *Lactobacillus arabinosus* to 14.

of biotin in *Escherichia coli* K-12 //

the biotin transport system in Sac- 557—564.

Материал поступил в редакцию 16.05.89

Методики

УДК 612.02(088.8)

И. А. Франков, Т. Н. Соколова

Новая методика получения желудочного сока у мелких животных

Получение в физиологических условиях пищеварительного сока из желудка мелких животных (крысы, мыши, хомяка и т. д.) сопряжено с определенными трудностями, обусловленными небольшими размерами и животных, и их желудков. Поэтому до сих пор пользуются такими методами, неотъемлемым элементом которых является хирургическое вмешательство, предшествующее этапу сбора желудочного сока у животных. Это относится и к тем методам, которые рассчитаны на сбор пищеварительного сока в полости желудка (способ Шея) [4], и к тем, которые рассчитаны на сбор сока с помощью фистулы вне желудка [1, 3]. Наркотические вещества, при этом вводимые животным, хирургическое вмешательство и его многочисленные последствия неизбежно искажают работу нейрогуморальных механизмов, регулирующих функции пищеварительных желез, вследствие чего изменяется характер секреции сока и его состав.

Предлагаемый в настоящем сообщении метод свободен от этих недостатков.

Описание метода

Сущность метода состоит в том, что не прибегая к оперативному вмешательству, животному с помощью тонкой эластической трубочки через пищевод в полость желудка вводят сефадекс или сходный с ним по своим свойствам материал: мелкопористый, сыпучий, не оказывающий местного повреждающего воздействия на ткани и общего токсического влияния на организм, не изменяющий свойств биологических жидкостей, не вступающий в химическую реакцию с каким-либо компонентом пищеварительного сока, не разрушающийся в полости желудка, способный быстро набухать. Сефадекс, введенный в полость желудка, жадно впитывает постепенно выделяющийся сок и удерживает его в полости желудка в течение значительного времени: до тех пор, пока сефадекс не превратится в гель. Только после этого он начинает эвакуироваться в кишечник. Это свойство сефадекса позволяет в физиологических условиях собирать в полости желудка значительное количество сока, который через определенные интервалы времени извлекают из желудка вместе с сефадексом.

Для воспроизведения метода необходимы следующие инструменты и материалы: шприц, эластическая трубка, диаметр которой позволяет легко ее вводить в желудок через пищевод животного, сефадекс.

Технология получения пищеварительного сока из желудка мелких животных проста и состоит в следующем. Один из концов эластической трубочки срезают под углом 45°, что облегчает проведение ее через пищевод. Заполняют трубочку сефадексом, оставляя со стороны срезанного конца приблизительно 1 см трубочки свободным, так как в противном случае во время введения трубочки через пищевод гранулы сефадекса, находящиеся у самого конца трубочки, набухают, а образу-

ющийся при этом гель создает пробку, которая затрудняет последующее проталкивание сефадекса из трубочки в полость желудка. Срезанным концом трубочку вводят через пищевод в полость желудка. Свободный конец трубочки стыкуют со шприцом, с помощью которого осторожно проталкивают сефадекс в полость желудка. Вынимают трубочку из желудка. Животных помещают в клетки, где они находятся в обычных условиях. Через определенные промежутки времени после введения сефадекса его гель извлекают из полости желудка вместе с поглощенным соком и определяют количество извлеченного сока и его свойства.

Если масса сухого сефадекса, из которого образовался извлеченный гель, известна, то определяют массу полученного сока по разности между массой извлеченного геля и массой введенного сухого сефадекса. Если масса сухого сефадекса, из которого образовался извлеченный гель, неизвестна, то определяют объем полученного сока, используя установленные для каждого типа сефадекса соотношения между его массой, объемом воды, которую он поглощает при полном набухании, и тем объемом, который занимает гель, образующийся при полном набухании сефадекса.

Объем извлеченного сока рассчитывают по формуле

$$x = \frac{y_1 \cdot y_2}{y_3} - (y_4 - y_5),$$

где x — объем (мл) извлеченного сока; y_1 — объем жидкости, которая поглощается 1 г сухого сефадекса, использованной в опыте марки, при полном его набухании; y_2 — объем геля, который образуется при полном набухании 1 г сефадекса; y_3 — объем геля сефадекса после добавления к извлеченному из желудка гелю определенного объема воды; y_4 — объем воды, добавленной к извлеченному из желудка гелю сефадекса для обеспечения условий, при которых сефадекс достигает полного набухания; y_5 — объем избытка жидкости, находящейся над слоем гранул сефадекса, осевших на дно мерного сосуда после добавления определенного объема воды к гелю, извлеченному из желудка.

Установив объем извлеченного сока, гранулы сефадекса отделяют центрифугированием, а надосадочную жидкость разбавляют водой или соответствующим буферным раствором и используют для определения кислотности и протеолитической активности сока. Определение pH сока осуществляют с помощью pH-метра, электроды которого погружают прямо в гель извлеченного сефадекса. Наличие сефадекса в соке pH последнего не изменяет.

Результаты апробации метода и их обсуждение

Испытания предлагаемого метода провели на 5 мышах массой 20—22 г и 10 беспородных крысах-самцах массой 150—180 г. Для введения сефадекса мышам использовали прозрачную хлорвиниловую трубочку внешним диаметром 2,5 мм, внутренним — 2 мм, длиной 120 мм; для введения крысам использовали трубочку внешним диаметром 3 мм, внутренним — 2,5 мм и длиной 250 мм. Трубочки заполняли сефадексом марки G-50, оставляя свободным 10 мм со стороны срезанного конца. Для проталкивания порошка сефадекса из трубочки в полость желудка использовали шприц вместимостью 1 мл. Через 2,5 ч после введения сефадекса из полости желудков извлекали образовавшийся гель, содержащий выделившийся за это время пищеварительный сок. Определяли его pH. Затем гели помещали в мерные пробирки. К гелям, извлеченным из полости желудков мышей, добавили по 2 мл воды, а к гелям, извлеченным из желудков крыс, по 4 мл (y_4). После тщательного перемешивания извлеченных гелей с водой смеси оставляли отстаиваться на 15 мин, после чего измеряли объем образовавшегося геля сефадекса (y_3) и объем надосадочной жидкости (y_5). Для определения y_1 и y_2

проделали следующий опыт: ки смешали с избытком взвесью тщательно перемешивание 15 мин, т. е. на 15 мин из полости желудка геля сефадекса после набухания объема жидкости и поглощает 10,8 мл жидкости. Занимает объем 11,4 мл (по выше формулу, рассчитано для животного).

Для определения pH извлеченного сока его помещали в каждую смесь, содержащую определенный объем воды, который незначительное разведение сока. Отделяли центрифугированием для определения кислотности. Кислотность определяли по фенолфталеину, диметиламинатри, протеолитическую активность. При этом смешивали 0,1 буфера (pH 1,7) и 1 мл ультрафиолетом в течение раствора ТХУ и через 15 минут измеряли при 280 нм. Показатели экстинкции (ед. экстинкции).

Предложенным способом $\pm 0,05$ мл пищеварительного сока составляла 0,28 ед. экстинкции.

Желудочный сок к определению pH нами методом, характеризующимся точностью и качественными показателями.

Объем, мл

pH

Кислотность общая,

Кислотность свободная,

Кислотность связанная,

Протеолитическая активность

Протеолитическая активность нами методом, оказавшимся точной, полученной $\pm 0,01$ ед. экстинкции).

По-видимому, это свидетельствует о сложности методики, живых животных, с которыми нежелательно проводить эксперимент, воспаления и т. д. По этому способу сок собирали, слизистую оболочку раздували, а содержимое в привыводили по предложенному методу, продуцируется у мелких животных, получаемый с помощью методики.

Использование предложенного метода получения сока при таких условиях

торая затрудняет последую-
в полость желудка. Срезан-
од в полость желудка. Сво-
шом, с помощью которого
ть желудка. Вынимают тру-
клетки, где они находятся в
промежутки времени после
полости желудка вместе с
его извлеченного сока и его

рого образовался извлечен-
лученного сока по разности
введенного сухого сефадек-
образовался извлеченный
лученного сока, используя
са соотношения между его
ает при полном набухании,
азующийся при полном на-

по формуле

а),

— объем жидкости, которая
овавшейся в опыте марки,
я, который образуется при
и геля сефадекса после до-
пределенного объема воды;
му из желудка гелю сефа-
х сефадекс достигает пол-
сти, находящейся над сло-
сосуда после добавления
нному из желудка.

анулы сефадекса отделяют
сть разбавляют водой или
пользуют для определения
сока. Определение рН сока
роды которого погружают
ние сефадекса в сок рН

5 мышях массой 20—22 г
—180 г. Для введения се-
хлорвиниловую трубочку
мм, длиной 120 мм; для
ешним диаметром 3 мм,
чки заполняли сефадексом
стороны срезанного конца.
убочки в полость желудка
рез 2,5 ч после введения
разовавшийся гель, содер-
жательный сок. Определяли
бирки. К гелям, извлечен-
по 2 мл воды, а к гелям,
После тщательного пере-
и оставляли отстаиваться
вавшегося геля сефадекса
Для определения y_1 и y_2

проделали следующий опыт. Один грамм сухого сефадекса той же мар-
ки смешали с избытком 0,1 н раствора HCl и через 2,5 ч набухания
взвесить тщательно перемешали. Затем ее оставили отстаиваться в те-
чение 15 мин, т. е. на время отстаивания и взвеси сефадекса, извлечен-
ного из полости желудка. При этом оказалось, что 1 г использовавшего
сефадекса после набухания в течение 2,5 ч при наличии достаточ-
ного объема жидкости и последующего отстаивания в течение 15 мин
поглощает 10,8 мл жидкости (y_1), а образовавшийся при этом гель за-
нимает объем 11,4 мл (y_2). Используя эти результаты и приведенную
выше формулу, рассчитали объем сока, извлеченного из желудка каж-
дого животного.

Для определения протеолитической активности и кислотности из-
влеченного сока его предварительно разводили в 40 раз. При этом к
каждой смеси, содержащей сок, сефадекс и воду, добавили еще такой
объем воды, который необходим для того, чтобы в итоге получить ука-
занное разведение сока. После тщательного перемешивания сефадекс
отделяли центрифугированием, а надосадочную жидкость использовали
для определения кислотности и протеолитической активности сока. Кис-
лотность определяли по Михаэлису, используя в качестве индикаторов
фенолфталеин, диметиламиноазобензол и ализаринсульфоновокислый
натрий, протеолитическую активность определяли по Ансену (см. [2]).
При этом смешивали 0,1 мл надосадочной жидкости, 0,9 мл цитратного
буфера (рН 1,7) и 1 мл раствора гемоглобина. Смесь инкубировали в
ультратермостате в течение 1 ч, затем к ней добавляли 2 мл 5 %-ного
раствора ТХУ и через 15 мин фильтровали. Фильтрат спектрофотомет-
рировали при 280 нм. Протеолитическую активность выражали в еди-
ницах экстинкции (ед. экст.).

Предложенным способом из желудка мышей получили $0,17 \text{ мл} \pm$
 $\pm 0,05 \text{ мл}$ пищеварительного сока, протеолитическая активность кото-
рого составляла $0,28 \text{ ед. экст.} \pm 0,02 \text{ ед. экст.}$

Желудочный сок крыс, полученный с помощью предложенного
нами метода, характеризовался следующими значениями количествен-
ных и качественных показателей:

Объем, мл	$2,85 \pm 0,01$
рН	$1,57 \pm 0,02$
Кислотность общая, мл NaOH/100 мл сока	$74,20 \pm 2,36$
Кислотность свободная, мл NaOH/100 мл сока	$23,30 \pm 1,60$
Кислотность связанная, %	$0,71 \pm 0,002$
Протеолитическая активность, ед. экст.	$0,58 \pm 0,02$

Протеолитическая активность сока, полученного у крыс предложен-
ным нами методом, оказалась в 2,7 раза выше протеолитической актив-
ности сока, полученного с помощью фистулы ($0,22 \text{ ед. экст.} \pm$
 $\pm 0,01 \text{ ед. экст.}$).

По-видимому, это связано с тем, что при получении сока по пред-
ложенной методике, животных не подвергали хирургическим вмеша-
тельствам, с которыми неизбежно связано воздействие на организм та-
ких неблагоприятных факторов, как травма тканей, болевые раздра-
жения, воспаление и т. д. К тому же при получении сока по описанно-
му способу сок собирали при наличии в полости желудка обычного для
слизистой оболочки раздражителя и животных при этом не фиксирова-
ли, а содержали в привычных для них условиях. Вероятно, полученный
по предложенному методу сок больше соответствует тому, который про-
дущируется у мелких животных в физиологических условиях, чем сок,
получаемый с помощью фистулы или другой применявшейся до сих пор
методики.

Использование предлагаемого метода расширяет возможности по-
лучения сока при таких исследованиях, при которых исключается при-

менение ранее использовавшихся методов или фиксации животных (например, при изучении влияния на организм пониженного давления, когда животных помещают в барокамеру, или при проведении исследований по космической биологии, когда животных помещают в центрифугу).

I. A. Frankov, T. N. Sokolova

A NEW METHOD TO OBTAIN THE GASTRIC JUICE IN SMALL ANIMALS

A new method is suggested to obtain gastric juice in small animals. This technique is considered to be preferable in comparison with other known techniques as it permits obtaining gastric juice without surgery which is inevitably associated with such unfavorable factors as tissue traumas, pain irritation, inflammation, etc. According to the described technique the gastric juice is collected with the presence of stimulus (dry substance) in the gastric cavity. The animals are not fixed in this case but maintained under ordinary conditions. So, the obtained juice corresponds better to that produced in small animals under physiological conditions than the juice obtained using fistula or by another technique applied up to now.

Medical Institute, Ministry of Public Health of the Byelorussian SSR, Vitebsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глазырина В. В. Простой метод изучения пищеварения у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1951. — № 12. — С. 431—433.
2. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
3. Komarov S., Shay H., Rayport M., Fels S. Some observation on gastric secretion in normal rats // Gastroenterology. — 1944. — 3, N 5. — P. 406—413.
4. Shay, Komarov S., Fels S., Merange D. et al. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat // Ibid. — 1945. — 5, N 1. — P. 43—61.

Витебск, мед. ин-т
М-ва здравоохранения БССР

Материал поступил
в редакцию 06.02.89

УДК [612.311+616.31—008.12]—073.178

А. Н. Ряховский, В. С. Райцес

Новый способ оценки функции жевания у человека

Для характеристики измельчения продуктов при жевании используются различные термины: «жевательная эффективность», «жевательная способность», «жевательный эффект», «жевательный индекс» и др. Однако в понимании этих терминов до сих пор существуют путаница и разночтение [2—7, 10, 12]. Известные жевательные тесты обладают рядом существенных погрешностей: использование в качестве тестового материала естественных пищевых продуктов; критерии продолжительности жевания до рефлекса глотания или в течение заданного промежутка времени; пренебрежение энергозатратами жевательных мышц; отсталость методов анализа измельченного материала. Это приводит к снижению объективности и точности оценки результатов, ограничивает перспективы применения жевательных проб.

Цель нашей работы — теоретическое обоснование, разработка и апробация более совершенной жевательной пробы.

Методика

Принципиальное отличие заключае- по трем основным по- ная работа по измельч- вательной способности- порции при жевании, эффективности (Е) — стовой порции ко всей

Полезную работу- ских законов определе- Кирпичева) [1] в зави- Затраченную работу о- ческой активности груп

Обследуемому пре- ряда 20 жевательным- двух цилиндров отвер- новременно регистрир- тивности правых и ле- (Σи-ЭМГ) и время ж- ских сигналов исполн- установку (экспериме- периментальной меди- лосы пропускания 10- ра — анализатор мног

Униполярные сере- ли на моторных точка- укрепили на мочке у- ент находился в экра- суммарной биоэлектри- мышц вычисляли по- шкалы самописца ана- ствительность электро- размахе по записи 20- мени анализа — 4 с ф

Измельченный в р- из полости рта и разд- нием под потоком вод- последующего сита от- раз, отверстия сит — к- наименьшего — 0,25 м- сили в отдельные гра- с поправкой на объем- классов крупности не- ходной тестовой порци- фекта использовали за- частиц каждого класса- метические значения- ции. Значение средне- ляли по формуле $d_{ср} =$

тиц узкого класса кру- Жевательный эффект

— $\frac{1}{\sqrt{d_{ср}}}$ W, где W — диаметр частиц тестов- мельченных частиц, k — вательную способность- ко времени жевания и