

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПСИНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ И ТКАНЯХ

В.А.Телепнев, А.П.Курдеко

Стределение ферментативной функции слизистой оболочки является ведущим методом оценки желудочного пищеварения у животных при экспериментальных и клинических исследованиях. Рекомендуемые в качестве унифицированных методы В.Н.Туголукова и Ансона-Мирски в модификации М.П.Черникова имеют недостатки, главными из которых являются труднодоступные субстраты: сухая человеческая плазма или денатурированный, диализированный и лиофилизированный гемоглобин.

Целью работы была модификация методики М.П.Черникова в направлении изыскания доступного субстрата, который в избранных условиях позволял бы определять протеазную активность пепсина по количеству отщепленных тирозина и триптофана. Калибровку реакции производили по кристаллическому пепсину-стандарту. Изучили возможность использования 1%-ных растворов (по белку) в децибормальном глициновом буфере с рН 1,5 кристаллического альбумина, неспецифического глобулина в трех формах (осажденного спиртом, полиэтиленгликолем, расфасованного для применения в ветеринарии), плазмы крови свиней и сыворотки крупного рогатого скота.

Посредством спектрофотометрии в ультрафиолетовой зоне при 280 нм установили типичную линейную зависимость скорости накопления ароматических аминокислот при расщеплении пепсином альбумина, неспецифического глобулина и белков нативной плазмы свиней. Мы избрали раствор глобулина, который изготавливают заводы ветпрепаратов, и плазму крови свиней, получение которой не представляет особого труда.

На основании ряда определений с этими субстратами получены близкие по значению данные, на основании которых построен калибровочный график. На его оси абсцисс отложена концентрация пепсина с интервалом 5 мкг/мл на 1 см графика, на оси ординат — разность экстинкций с интервалом 0,0004 на 1 см. С использованием описанной модификации определена концентрация пепсина в жидкой части желудочного содержимого у свиней. При одинаковых условиях опыта она колебалась от 2,25 до 2,50 мг/мл.

Отработана техника определения концентрации фермента в слизистой оболочке желудка. У свиней натощак она составляет от 15,0 до 18,0 мг на 1 г ткани. Методика может быть использована для определения пептической активности кишечного содержимого и мочи.