



TARTU RIIKLIK ÜLICOOL

S.Teesalu, T.Hinrikus

SEEDENÄÄRMETE TALITLUSE
UURIMINE

TARTU 1974

TARTU RIIKLIK ÜLIKOOL

Füsioloogia kateeder

S.Teesalu, T.Hinrikus

SEEDENÄÄRMETE TALITLUSE
UURIMINE

TARTU 1974

Kinnitatud Arstiteaduskonna nõukogus
30. veebr. 1974.

S i s s e j u h a t u s

Seedenäärmete talitluse iseloomulikuks omaduseks on nende rakkude sekretsioon ja nõre juhtimine seedetrakti valendikku. Sekretsiooniks nimetatakse raku võimet sünteesida ja väljutada spetsiifiliste omadustega produkte. Sekret moodustub rakkudes anaboolsete protsesside tulemusena. Sekretsiooniprotsess toimub tsükliliselt ja jaotatakse kolme perioodi:

- 1) sekretsiooni produkti või selle eelastme süntees,
- 2) sekreedi kogunemine,
- 3) sekreedi väljutamine.

Sekretoorsest näärrest väljutatud sekreedi koostise põhjal saab määrata sekretoorse tsükli faasi. Sekretsiooni uurimise kõrval on seedenäärmete talitluse hindamiseks veel teisi uurimismeetodeid, nagu gastroskoopia, gastrobiopsia, uuringud märgitud aatomitega jne.

Seedenõred ei eritu mitte ainult seedetrakti (sekretsioon), vaid ka verre (inkretsioon). Sekretoorsete fermentide esinemine veres on fermentide eksogeen-endogeense divergentsi tulemus, mille puhul suurem osa fermentidest lahkuvad näärrest seedetrakti valendikku, väiksem osa läheb sekretoorsetest rakkudest otse verre. Mitmed seedefermentid lähevad verest ka uriini.

I

SEEDENÄÄRMETE BASAAL- SEKRETSIOON, SEKRETSIOONI STIMULATSIOON JA HUMORAAINE REGULATSIOON

Basaalsekretsiooni all mõistetakse seda näärme sekretiooni, mis toimub sekretoorsete rakkude suhtelisel puhkeperioodil. Sekretoorsete rakkude tegevuse tulemusena valmib pidevalt teatud hulk sekreeti. Basaalsekretsiooni tingimustes on üksikute sekretoorsete rakkude sekretoorne tsükkel eri faasides - sekretoorised rakud töötavad asünkroonselt. Stimuleeritud sekretsiooni puhul tegutsevad rakud sünkroniseeritult, mistõttu väljutatud sekreeidi hulk on suurem. Seedenäärmete talitlust uuritakse nii basaalsekretsiooni kui ka stimuleeritud sekretsiooni puhul. Basaalsekretsiooni uurimiseks kogutakse sekreeti ühe tunni või 30min. jooksul (tühja kõhuga) enne näärme stimulatsiooni. Saadud andmeid nimetatakse ka lähtefooni andmeteks. Seedenäärmete talitluse stimuleerimiseks kasutatakse toitu ja mitmesuguseid keemilisi aineid.

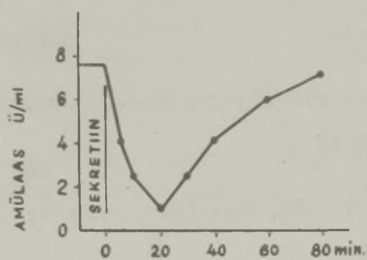
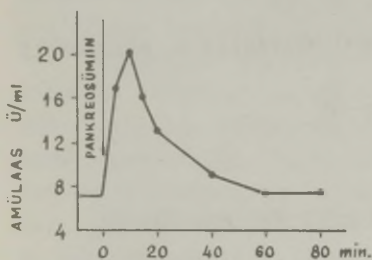
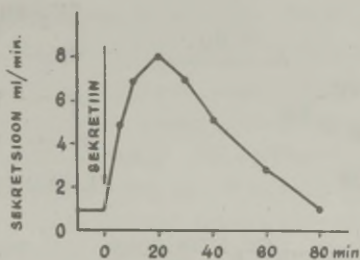
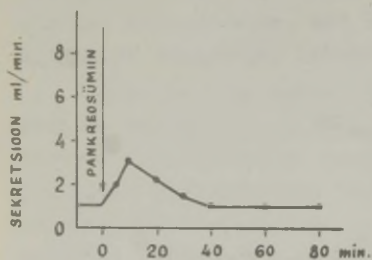
Keemiliste ainetega stimuleerimisel ületab mõju enamasti füsioloogilise piiri. Sekretioonitsükkel võib moonuda, mõni tsükli faas võib välja langeda. Tsütoloog E.A. Ššubnikova märgib, et liiga tugeva toimega keemiliste ainete kasutamisel väljutatakse sekreet rakust enne lõplikku formeerumist ja see ei peegelda sekretoorsete rakkude talitlust füsioloogilistes tingimustes.

Seedenäärmete stimuleerimiseks loetakse kõige sobivaks toitu. Toidu kasutamist sekretsiooni stimuleerijana inimesel takistab asjaolu, et saadud sekreet on siis toiduga

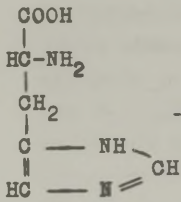
segunenud, mistõttu sekreedi koguse määramine ja koostise analüüs on raske või isegi võimatu. Eksperimendi tingimustes on vastavalt opereeritud loomadel võimalik ka toidule järgnenud sekretsiooni uurida. Inimese puhul kasutatakse seedenäärmete stimuleerimisel eeskätt neid hormone, mis võtavad osa seedenäärmete talitluse regulatsioonist. Seedenäärmete talitluse hormonaalne regulatsioon organismis teostub eelkõige nende hormoonide kaasabil, mis moodustuvad seedetraktis eneses, nad on ühed nn. koehormoonidest. Neist tähtsamad on mao pülooruse osas moodustuv gastriin, kaksteistsõrmiksoole limaskestas moodustuvad sekretiin ja pankreosümiin.

Gastriin avaldab ergutavat mõju mao sekretsioonile. Sealjuures mõjutab ta esmajoones nõre vedela osa ja HCl sekretsiooni, fermentide sekretsiooni ta ei stimuleeri. Sekretiin avaldab stimuleerivat mõju pankreasele - intensiivistab nõre vedela osa ja bikarbonaatide sekretsiooni, fermentide sekretsiooni ta ei stimuleeri. Pankreosümiin stimuleerib pankrease fermentide sekretsiooni (joon. 1). Seedenäärmete tegevuse hormonaalsest regulatsioonist võtavad osa veel mõned ained, mille keemiline ehitus erineb eespool nimetatud hormoonidest. Need on histamiin, serotoniin, bradükiniin ja teised plasmakiniinid. Viimaseid nimetatakse ka lokaalseteks hormoonideks (vt. S. Rapoport). Histamiini, serotonini, gastriini, sekretiini, pankreosümiini jt. taolisi aineid käsitletakse mõnikord ka nn. koehormoonidena. Histamiin ja serotoniin on suhteliselt lihtsa ehitusega ja kuuluvad bioloogiliselt aktiivsete amiinide hulka. Histamiin on aminohappe histidiini dekarboksüleerimise produkt, mis tekib organismis peamiselt peensooles, samuti leidub teda mõnedes toiduainetes. Serotiniin peamiseks valmistamise kohaks on enterokromafiinsed rakud seedetraktis. Bradükiniin on 9 aminohappest koosnev polüpeptiid (joon. 2).

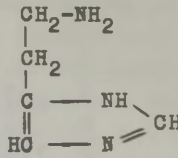
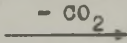
Kõikidel viimati nimetatud ainetel on seedetrakti talitlusele mitmekesine toime. Nad avaldavad mõju nii sekretsiooniprotsessidele kui ka motoorikale, samuti organismi teistele funktsioonidele. Suhteliselt rohkem on uuritud



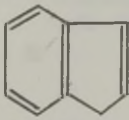
Joonis 1. Pankrease sekretsioon pankreosümiinile ja sekretiinile (Dreilingi ja Janowitzi j.).



HISTIDIIN

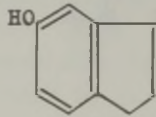


HISTAMIIN



$\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$

TRÜPTOPAAN



$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$

5-HÜDROKSÜTRÜPTAMIIN e. SEROTONIIN

H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH

BRADÜKINIIN

Pyr-Gly-Pro-Trp-Met-(Glu)₅-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂

GASTRIIN

His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Asp-Ser-
Ala-Arg-Leu-Gln-Arg-Leu-Leu-Gln-Gly-Leu-Val-NH₂

SEKRETIIN

Lys-(Ala, Gly, Pro, Ser)-Arg-Val-(Ile, Met, Ser)-Lys-Asn-(Asn, Gln,
 His, Leu₂, Pro, Ser₂)-Arg-Ile-(Asp, Ser)-Arg-Asp-(Gly, Met, Trp, Tyr)-
 Asp-Phe-NH₂

PANKREOSÜMIIN-KOLETSÜSTOKINIIN (preparaadinimetusi: pankreozy-
 min-cholecystokinin, PZ/CCK, Cecekin)

Joonis 2. Mõningate seedetrakti humoraalsest regulat-
 sioonist osavõtvate ainete keemiline ehitus.

nende toimet veresoontele. On näidatud, et bradükiniin on tähtis mitmete näärmete funktsionaalse hüperemia tekkes. Süljenäärmete sekretsiooniga seoses on selgitatud, et parasümpaatilised sekretoorsed närvid kutsuvad esile bradükiniini vallandumise, mis laiendab süljenäärmete veresooni; selle tagajärjel intensiivistub sülje sekretsioon.

Tabelis 1 on kokku võetud tuntumate hormoonide toimed ning ka histamiini ja serotonini seni teada olevad toimed. Hormoon pankreosümiini kohta peab märkima täiendavalt, et praegusel ajal peetakse õigeks seda hormooni nimetada pankreosümiin/koletsüstokiniiniks, kuna sellel hormoonil on ka sapipõie ja sapijuha kontraktsioone esilekutsuv toime. Varem oldi seisukohal, et sapipõie kontraktsiooni esilekutsuv hormoon erineb pankreosümiinist ja rõhutamaks toimet just sapipõiele kasutati nimetust "koletsüstokiniin".

Hormoonsete mõjustuste kõrval reguleeritakse seedenäärmete talitlust ka reflektorselt. Söömise alguses on mõjud tingitud-reflektorsed - toidu lõhn, toidu ja kaetud laua nägemine jne. Toidu suhu sattumisel (alates toidu vahe- tust kokkupuutest suu limaskestaga) lisanduvad ka tingima- tud reflektorsed mõjustused. Viimaste puhul on tähtsad toi- du maitse, keemiline koostis, konsistents jne. Seedenäär- mete sekretsiooni reflektorne stimulatsioon on vajalik selleks, et seedetrakti ette valmistada saabuva toidu see- dimiseks. Pavlov nimetas seda sekreeti isumahlaks ja rõhu- tas selle faasi erakordset tähtsust normaalse seedimise kind- lustamisel. Eriti tundlikud reflektorsete mõjustuste suhtes on seedetrakti algusosa näärmed ehk nn. suured seede- näärmed - süljenäärmed, maonäärmed ja pankreas. Maonäär- mete ja pankrease sekretsiooni regulatsioonis on tähtsad siiski ka hormonaalsed mõjutused. Pavlovi ettepanekul jaotatakse nende näärmete sekretsioon faasideks vastavalt sel- lele, missugune mõjutus on ülekaalus. Esimest faasi nimetas Pavlov liitreflektorseks, teist neurokeemiliseks. Kasuta- takse ka niisugust jaotust, milles on aluseks võetud see, missugusest piirkonnast stimulatsioon lähtub.

Nimetus "kefaalne faas" tuletub nimest encephalon (kr. k. - peaju), "gastreaalne nimest gaster (kr. k. - mahu), "intestinaalne" nimetusest intestinum (ld. k. - sool). Selles jaotuses esimene faas vastab liitreflektorsele faasile Pavlovi järgi ja kaks järgmist neurokeemilisele.

Toitumise tervishoiu seisukohalt on vaja silmas pidada seda, et esimest faasi suurte seedenäärmete talitluses saab kõige enam mõjutada toidu õige valiku ja meeldiva serveerimisega.

Joonisel 3 toodud skeemis on näidatud olulisemad mõjustused, mis stimuleerivad (++) ja pärssivad (--) sülje- ja maonäärmete ning pankrease sekretsiooni. Mao ja pankrease sekretsiooni pärssiva hormoonina on märgitud enterogastroon. See nimetus võeti kasutusele käesoleva sajandi algul, kui leiti, et peensoole ekstraktid inhibeerivad mao ja pankrease sekretsiooni. Praeguseks ajaks ei ole enterogastrooni molekuli ehitust kindlaks tehtud, küll on keemiline ehitus teada peensoole limaskestast isoleeritud polüpeptiididel, mis inhibeerivad mao sekretsiooni. On selgunud, et ka sekretiin pärssib mao sekretsiooni (tabel 1). Mõned uurijad soovivad nimetada sekretsiooni inhibeerivaid hormone haloonideks, teised enterogastroonideks. Viimaste hulka kuuluksid mitmed sekretsiooni pärssivad ained, mida valmistatakse sooles. Praeguseks ajaks ei ole ühtset seisukohta enterogastrooni ümbernimetamise suhtes ja seda nimetust kasutatakse kirjan- duses ainsuses. Sellest on juhitud ka käesoleva skeemi koostamisel.

Tabel 1

Maonäärme ja pankrease sekretsiooni
humoraalsed mõjustused.

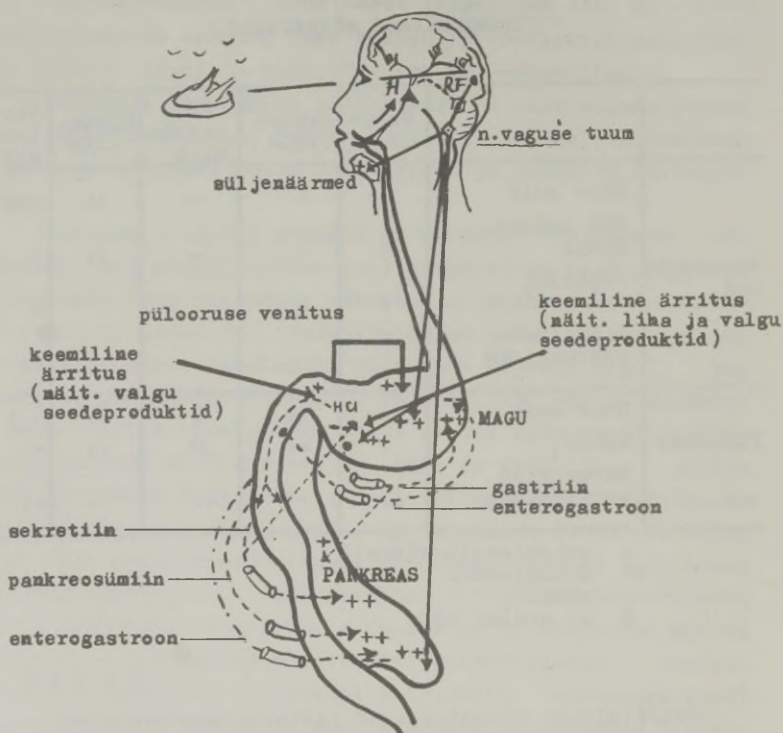
		Gast- riin	Sekre- tiin	Pank- reosü- miin	Hista- miin	Sero- to- niin
Maonäär- med	Nõre hulk	+	-	→	++	- +
	HCl sekret- sioon	++	-	→	++	-
	Pepsiini sekretsioon	+	+			+
	Limaainete sekretsioon				-	++
Pankreas	Nõre hulk	+	++	0	++	- +
	NaHCO ₃	+	++	0	++	-
	Fermentide sekretsioon	++		++	-	++

+ stimuleerib nõrgalt
++ stimuleerib
- pärsib
0 ei avalda mõju

Tabel 2

Sekretsiooni stimuleerivad faktorid seedekanalisis
(täiendatult R. Schubert, Physiologie des Menschen,
1968 järgi).

	Reflek- toorne	Tingitud reflek- toorne	Mehaani- line	Keemilis- humoraalne
Sülg	+	+	-	-
Maonõre				
kefaalne faas	+	+	-	-
gastraalne faas	-	-	+	+
intestinaalne faas	-	-	-	+
Soolenõre	-	-	+	+
Pankrease nõre	+	+	-	+
Sapp	+	+	-	+



Joonis 3. Skeem olulisemate virgutavate (++) ja pärssivate (--) mõjude kohta suurtel seedenäarmetel.

H - hüpotaalamus

RF - retikulaarformatsioon

II

SEEDETRAKTI PERIODILINE TEGEVUS

Väga oluline on uuringute läbiviimisel arvestada seda, et toidu puudumisel maos ja soolestikus esineb mao-sooletraktis perioodiline tegevus. Teatud aja järel (70 - 135 min.) tekib mao, peensoole, sapipõie, sapijuha ja pankrease juhade muskulatuuri kontraktsioon, millega kaasneb mao, soole ja pankrease sekretsiooni ning sapinõristuse intensiivistumine. Nii perioodide kestuses kui ajavahemikus perioodide vahel on individuaalseid erinevusi. Patoloogilistes seisundites seedetrakti perioodika iseloom muutub.

III

SEEDENÕREDE KOGUMINE EKSPERIMENDI TINGIMUSTES

I.P. Pavlovi poolt väljatöötatud kroonilise katse meetod annab võimaluse koguda puhtaid seedenõrsid ning jälgida seedenäärmete talitlust kogu seedimisprotsessi ja toitainete imendumise kestel seedekanali mitmesugustes osades. Krooniliseks katseks valmistatakse loom ette vastava kirurgilise operatsiooniga. Operatsioon viiakse läbi selliselt, et seedeorgan säilitaks pärast operatsiooni oma

struktuuri, verevarustuse, enamasti ka närviühendused ning eritaks oma sekreedi väljapoole seedekanalit. Organitel, millel on viimajuhad (näit. süljenäärre, pankreas), saavutatakse see viimajuhade väljajuhtimisega, õõnesorganite puhul kasutatakse välismaailmaga ühenduse loomiseks metallist või plastmassist toru või moodustatakse organi seintest eraldi kotike, mille üks ots viiakse ühendusse nahaga. Sel viisil saadud avaused on kirurgiliselt rajatud fistulid, kasutatud torusid nimetatakse fistulitorudeks. Operatsioonide eeskirjad enam kasutatavate meetodite puhul on antud E. Spensanskaja poolt koostatud käsiraamatus.

Süljenäärme talitluse jälgimiseks opereeritakse süljeristul Pavlov-Glinski järgi. Koeral saab eraldi moodustada gl. parotis'e fistuli, gl. sublingualis'e ja gl. submandibularis'e juhad aga suubuvad suuõõnde ühiselt. Operatsioonil prepereeritakse lahti suu limaskest süljenäärme juha ümber, tehakse lõige põsenahasse ning õmmeldakse sinna suust väljatoodud süljenäärme juha koos ümbritseva limaskestaga. Suuõõnes olev limaskesta haav suletakse.

Võimalusi maonäärmete talitluse jälgimiseks saab luua mitmesuguste operatsioonimeetoditega. Tervikliku pildi saamiseks maosekretsiooni regulatsioonist kõrvutatakse katsetulemusi erinevalt opereeritud katseloomadelt.

1. Maofistuli operatsioon koos ösofagotoomiaga. Operatsioon toimub kas ühes või kahe etapis. Viimasel juhul viiakse operatsiooni esimeses etapis makku fistulitoru, II etapis pärast looma paranemist lõigatakse kaelal söögitoru läbi ja mõlemad otsad õmmeldakse nahahaava.

2. Väikemao operatsioon Pavlovi järgi. Mao suurelt kurvatuurilt moodustatakse väike kotike ehk nn. väikemagu, kusjuures lõike tegemisel jäetakse terveks maoseina lihaskest ja serooskest, limaskest prepereeritakse lahti ning võlvi moodustamisega suletakse ühendus suure ja väikese mao vahel. Suures maos tekkinud avaus suletakse õmbluste-

ga, väikemao avatud ots õmmeldakse kõhuhaava. Väikemao säilib nii verevarustus kui innervatsioon.

3. Väikemao operatsioon Heidenhaini järgi. Lõige tehakse samas piirkonnas, kuid lõikega läbitakse kõik maoseina kihid ja eraldatakse suurest kurvatuurist osa, millest moodustatakse väikemagu. Suure mao haav suletakse. Verevarustus väikemaole säilitatakse. Sel viisil opereeritud magu nimetatakse denerveeritud maoks. Sellel maal puudub vagaalne innervatsioon, kuna sümpaatiline innervatsioon, mis kulgeb koos veresoontega, säilib. Sellepärast ei vasta Heidenhaini järgi opereeritud väikemao sekretoorsed reaktsioonid iga kord nelle, mida võiks oodata denerveeritud maolt. Viimasel ajal on füsioloogid seda eriti rõhutanud. Selleks et hinnata, kas konkreetsel juhul on denervatsioon saavutatud või mitte, soovitatakse kontrollida mao sekretsioonireaktsioonides mitmeid kriteeriume, millest üheks olulisemaks loetakse latentsusaega. TRÜ füsioloogiakateedri uurimused on näidanud, et mõnikord on Heidenhaini järgi opereeritud väikemao latentsusaeg üsna lühike (6 - 8 min.) ja mitu kuud pärast operatsiooni hakkab pikenema. Oleme täheldanud ka väikemao sekretoorse talitluse vähenemist kuni vaba HCl kadumiseni maonõres. Mõningate ainetega (fenobarbitaal) on võimalik niisuguses seisundis mao sekretoorset talitlust intensiivistada (E. Käer-Kingisepp, S. Teesalu, 1968). Vagaalse denervatsiooni ulatuse kontrollimiseks soovitatakse kasutada insuliinitesti, kuna insuliin toimib vagaalse süsteemi kaudu.

Pankrease nõre saamine eksperimendis on tunduvalt raskem kui maonõre saamine. Pankrease välissekretoorse talitluse uurimiseks võib opereerida Pavlovi järgi. Selleks prepaareeritakse välja kahest pankrease juhast see, mis suubub peensoolde näärme kaudaalsest osast. Soolehaav suletakse, juha koos rombikujulise soolelapiga õmmeldakse kõhuhaava. Selliselt opereeritud loomad kaotavad ainult väljajuhitud juha kaudu eritunud nõre. Pankrease peaosast suundub aga pankrease sekreet kaksteistsõrmiksoolde koos sapiga ühise juha kaudu.

Kummagi juha kaudu väljutatud nõre kogused on katseloomadel erinevad. Kui väljajuhitud nõre hulk on suhteliselt suur, võib see põhjustada katselooma haigestumise. Pankrease fistuliga katseloomade seisund on parem, kui neid hoitakse spetsiaalsel dieedil, mis sisaldab vähe liha, rohkesti piima, kohupiima ja süsivesikuid. Ülevaate mitmesugustest moodustest pankrease fistuli opereerimiseks annab R.A.Gregory (1962). Väärtuslikke andmeid on saadud J. Skljarovi ja kaastööliste poolt rakendatud meetodiga, kus koer valmistatakse vastava operatsiooniga ette korduvateks pankrease biopsiateks. Pankrease talitlust uuritakse ka akuutsetes katsetes. Sel juhul kasutatakse katseloomadena kõige enam küülikuid ja rotte.

Uuringud isoleeritud pankrease puhul on vajalikud pankrease talitluse regulatsiooniga seotud küsimuste lahendamiseks.

Katseloomadena on seedenäärmete talitluse uurimisel kasutatud koeri, küülikuid, rotte, vähesel määral merisigu, linde ja mäletsejalisi. Viimasel ajal väidetakse, et kõige sobivamaks katseloomaks pankrease sekretsiooni uurimisel eksperimendi tingimustes on siga.

IV

SEEDENÕREDE ANALÜÜSIMISE ÜLDPRINTSIIBID

Seedenõred on mitmekesise koostisega vesilahused, milles on anorgaanilisi ja orgaanilisi osiseid. Seedenõrede analüüsimise ülesandeks on üksikute komponentide sisalduse määramine (keemilis-biokeemiline analüüs) ja seedenõrede füsioloogilise toime hindamine. Käesolevaks ajaks on paremini välja arendatud anorgaaniliste osiste analüüsimise meetodid - HCl määramine maonõrest ja bikarbonaatide sisalduse määramine pankrease nõrest. Nende ainete analüüside eeskirjad on toodud vastavates käsiraamatutes.

Oluline on ka sülje, duodenaal- ja maosisaldise ning pankrease nõre pH määramine. In vivo pH mõõtmiseks kasutatakse raadiopille või sondiga sisseviidavaid elektroode (E.J. Linar, 1968). Elektrolüütide Na^+ , K^+ , Ca^{++} kvantitatiivne analüüs seedenõudes (in vitro) viiakse tavaliselt läbi leekfotomeetriga.

Meetodi valikul fermentide analüüsimiseks loetakse oluliseks meetodi täpsust, tehnilist läbiviidavust ja standardsust. Viimane küsimus on eriti oluline tulemuste võrdlemisel kirjanduse andmetega. Et aga vastavad meetodid seedefermentide määramiseks on enamikus unificiteerimata või unificiteerimisel, siis ei ole viimase nõude täitmine kerge. Laboratoorsete uuringute unificiteerimiseks annab NSV Liidu Tervishoiuministeerium perioodiliselt välja eribrošüüri. Selle esimeses väljaandes on näit. α -amülaasi määramiseks soovitatud kasutada Smith-Roe mikrometodit.

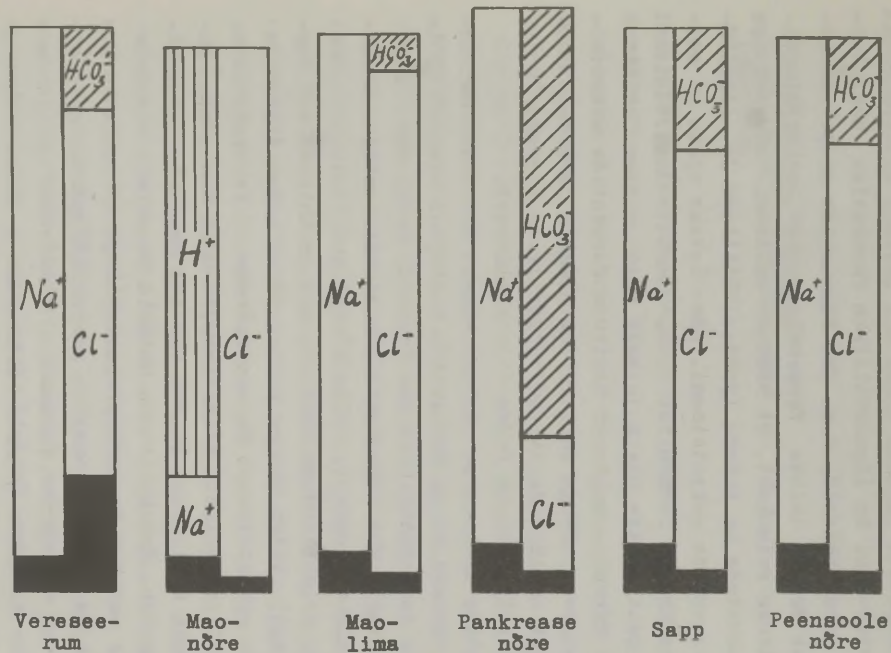
Fermentide aktiivsus sõltub paljudest faktoritest. On kindlaks tehtud, et mao ja pankrease proteolüütilised fermentid esinevad kompleksidena. Kompleksis esinevate fermentide toime pH optimumid on erinevad, nende aktiivsused olenevad ka aktivaatorite ja inhibiitorite juuresolekust. Eksperimentaalsed uuringud näitavad, et üksikute fermentide sekretsiooni regulatsioon toimub erinevalt. Pankrease denervatsioonil muutub eriti ühe proteolüütilise fermenti - elastaasi aktiivsus. Üldine proteolüütiline aktiivsus aga peaaegu ei muutu. Kompleksidest üksikute fermentide aktiivsuse määramine on võimalik ainult vastavate sünteetiliste substraatide kasutamisel, millele valikuliselt toimib ainult üks ferment. Kui vastavat substraati ei ole võimalik kasutada, siis määratakse kogu kompleksi toime ning võib juhtuda, et üksiku fermenti aktiivsuse muutust ei saa kindlaks teha. Kui pankrease funktsiooni hindamisel kasutatakse substraadina munavalget, fibriini või hemoglobiini, siis saab hinnata vaid summaarset proteolüütilist aktiivsust, sest nendele substraatidele toimivad kõik pankrease valke-seedivad fermentid. Näit. trüpsiini ak-

Tabel 3

Seedenõrede koostis.

	Sülg	Maonõre	Pankrease nõre
Vesi	99,5	99,5	98,7
Kuivjääk (%)	0,7	0,5	1,3
Valk (%)	0,11-0,44	1,0	1-10
pH	6,4-7,0	0,9-1,5	7,8-8,4
Na ⁺ mmol/l	10-40	20	140
K ⁺ mmol/l		8	5
HCO ₃ ⁻ mmol/l	10	0	110
Cl ⁻ mmol/l	10-30	145-150	40
H ⁺ mmol/l	0,0001	120	0,00001
Süsivesikuid seedivad fermendid	α-amülaas	-	α-amülaas
Valke seedivad fermendid	-	Pepsiinid (toime optimumiga pH 2-6) Kümosiin	Trüpsiin Kümotrüpsiin Karboksüpeptidaas A Karboksüpeptidaas B Elastaas Kollagenaas
Rasvu seedivad fermendid	-	Lipaas (pH optimum 5-8)	Lipaas (pH optimum 8-9) Fosfolipaas A Fosfolipaas B
Hulk ööpäevas ml	600-1500	1000-2500	700-1100

Tabeli koostamisel on aluseks olnud P. Balinti "Lehrbuch der Physiologie" (1963) ja S.M. Rapoporti "Medizinische Biochemie" (1962).



Joonis 4. Elektrolütide sisaldus vereseerumis ja seedenõredes (J.H. Cort, V.F. Fencil, Physiologie der Körperflüssigkeiten, Jena, 1958, S. 74).

tiivsuse määramiseks on vaja kasutada spetsiifilist substraati, millele toimib ainult trüpsiin.

Pankreas valmistab fermente kõikide toitainete lõhustamiseks. Käesoleva sajandi algul oli levinud arvamus, et nii amülo-, proteo- kui ka lipolüütiliste fermentide sekretsioon toimub paralleelselt, s.o. ühe fermentide grupi sekretsioon määrab ära ka teiste fermentigruppide sekretsiooni. Sellest tulenes seisukoht, et näit. α -amülaasi määramisega saab iseloomustada ka teiste (proteolüütiliste ja lipolüütiliste) fermentide sekretsiooni. Käesolevaks ajaks on selgunud, et pankrease fermentide nn. paralleelsekretsiooni teooria ei kehti mitte alati ja seda eriti näärme häiritud funktsiooni korral - muutused üksikute fermentide sekretsioonis on erinevad. Seega selleks, et hinnata pankrease funktsiooni, tuleb analüüsida nii amülolüütiliste, proteolüütiliste kui lipolüütiliste fermentide aktiivsust.

Fermentide aktiivsuse väljendamiseks loetakse Rahvusvahelise Biokeemia Liidu Fermentide Komisjoni otsusel 1961.a. standardseks fermentiühikuks see fermenti hulk, mis katalüüsib substraadi ühe mikromooli lõhustumise antud tingimustes ühe minuti jooksul. Selle kõrval soovitatakse veel kasutada nn. eriaktiivsuse ühikuid, mis on ühikute arv fermentipreparaadi valgu ühe mg kohta. Mõned autorid soovitavad kasutada eriaktiivsust ka seedenõrede fermentatiivse aktiivsuse väljendamisel; eriaktiivsuse ühik saadakse, jagades fermenti aktiivsuse ühikud vastava seedenõre valgusaldusele mg-des. Eriaktiivsuse ühikuid on siiski otstarbekas kasutada eeskätt fermentipreparaatidega töötamiseks, kus eriaktiivsus on proportsionaalne preparaadi puhtusega. Seedenõrede puhul on sobivam fermenti aktiivsust väljendada ühikutes nõre ml kohta (üh/ml). Niisuguse ühiku tähendus erineb standardsest ühikust ja on kasutatav ainult antud meetodi puhul. Seepärast on tingimata vajalik alati ära näidata, missuguse meetodiga on tulemus saadud.

Uuritava fermenti seede võimsust indiviidil võimaldab hinnata nõristunud fermenti hulk (täpsem: aktiivsuse ühikute arv) ajaühikus. See saadakse, korrutades fermenti aktiivsuse üh/ml nõre hulga ajaühikus. Otstarbekaks peetakse avaldada eeltoodu veel indiviidi kehakaalu kg kohta üh/min/kg.

V

SEEDENÕREDE VALKUDE UURIMINE ELEKTROFOREESI MEETODIL

Seedenõredes sisalduvad valgud on peamiselt fermentatiivsete omadustega. Nende valkude fraktsioneerimiseks on võimalik kasutada elektroforeesi meetodit (EF). Süljes ja maonõres on valgusisaldus $< 1\%$ ja neid tuleb enne EF-i lüofiliseerida või dialüüsida. Pankrease nõre valgusisaldus on $> 1\%$ (enamasti 2 - 4 %) ja EF-i jaoks ei ole nõre kontsentreerimine vajalik. EF kujutab kolloidosakeste liikumist elektrivälja mõjul sõltuvalt molekuli laengust, molekuli suurusest ja keskkonnast. Eristatakse vaba EF-i (Tizelius) ja EF-i tahketel lahustiga immutatud kandjatel (peamiselt paber ja geel). Käesolevas juhendis tuuakse mõningaid andmeid koera pankrease nõre valkude fraktsioneerimise kohta paberelektroforeesil ja elektroforeesil polüakrüülamiidgeelis (diskelektroforees). EF-il saadud valgufraktsioonide identifitseerimiseks võib kasutada mitmesuguseid keemilisi meetodeid. Pärast elektroforeesi valgud tavaliselt denatureeritakse ja värvitakse - saadakse elektroforeogramm, antud juhul proteinogramm. Proteinogrammide analüüsimisel määratakse fraktsioonide esinemissagedus (mitmes proovis proovide üldarvust fraktsioon esineb, väljendatuna protsentides) ja mõõdetakse nende suhteline sisaldus (mitu % moodustab antud fraktsioon kogu valgusisaldusest proteinogrammis). Suhteline sisaldus määratakse värvitud proteinogrammil densitomeetriliselt või pärast valgu elueerimist kolorimeetriliselt. Kuna seedenõredes, eriti pankrease nõres, on enamik valke fermendiomadustega, siis kasutatakse neid omadusi ka proteinogrammi fraktsioonide tähistamiseks.

Pankrease nõre valkude uurimisel selgus nii paber-elektroforeesil kui ka polüakrüülamiidgeeliga elektroforeesil, et on rida fraktsioone, mille esinemissagedus on 100 %, on aga ka fraktsioone, mis ei esine alati - esinemissagedus mõnest protsendist kuni 70 - 80 %-ni. Alaliselt esinevaid fraktsioone nimetatakse põhifraktsioonideks ja väiksema esinemissagedusega - lisafraktsioonideks. Põhifraktsioonide suhteline sisaldus on enamasti kõrgem kui lisafraktsioonidel. EF-il polüakrüülamiidgeelil on põhi- ja lisafraktsioonide eristamine mõnevõrra selgepiirilisem - põhifraktsioone saadakse alati 5, lisafraktsioonide arv varieerub olenevalt sekretsiooni stimuleerimiseks kasutatud vahendist. Seda arvesse võttes on põhifraktsioonid tähistatud järjekorranumbritega, lisafraktsioonid aga indeksega a ja b. Paberelektroforeesil saadud proteinoграмmidel ei ole võimalik nii selgesti põhi- ja lisafraktsioone eristada ja sellepärast kasutatakse seal pidevat numeratsiooni. Valgufraktsioonide fermentiomaduste määramisel selgus, et paberelektroforeesil saadud proteinoграмmil paiknevad proteaasid neljas fraktsioonis, amülaas kahes fraktsioonis ja lipaas ühes fraktsioonis. Proteolüütilise aktiivsusega fraktsioonide fermentatsioonivõime määramisel röntgenfilmil (substraat želatiin) on selgunud, et piima söömisel eritunud pankrease nõres fraktsioon nr. 5 seedib alati želatiini, fraktsioonid nr. 3, 4 ja 6 omavad želatiini seedivat toimet tunduvalt harvem - vastavalt 5 %, 20 % ja 50 % määramistest. Teiste sekretsioonivallandajate puhul on andmed erinevad. Vastavate spetsiifiliste substratide kasutamisel on võimalik hinnata ka trüpsiini, kumotrüpsiini jt. proteaaside sisaldust nõres. Amülaasifraktsioonidest see, mis jääb nulljoonele, esineb proteinoграмmil alati, anoodne amülaasifraktsioon mitte alati. Kuna need amülaasifraktsioonid toimivad mõlemad ühele substraadile - tärklisele, nende liikuvus on aga erinev, siis nimetatakse neid isoamülaasideks. Anoodse isoamülaasi esinemissagedus varieerub õige suurtes piirides (25 - 60 %-ni) ja oleneb

sekretsioonivallandajast. Diskelektroforeesi meetod on kasutatav ka duodenaalsisaldise valgufraktsioonide uurimiseks.

VI

SÜLJENÄÄRMETE SEKRETSIOONI (SALIVATSIOONI) UURIMINE

Sülge on suurte süljemäärmete ja suu limaskestast väiksemate näärmete produkt. Ühe suure süljenäärme sekreedi kogumine on võimalik vastavalt opereeritud loomadelt, kellel on rajatud süljenäärme juha fistul. Inimesel on võimalik ühe süljenäärme puhast sekreeti koguda kapsli abil (näit. Krasnogorski kapsel), enamasti aga uuritakse inimesel segasülge. Sülje kogumise tehnika on kirjeldatud peatükis X.

Sülje koostis

Sülje koostis oleneb üksikute süljenäärmete histoloogilisest ehitusest. Gl. parotis koosneb seroosetest näärmetest ja tema sekreet on vedel, veerikas. Gl. submandibularis ja gl. sublingualis on oma histoloogiliselt ehituselt seganäärmed. Nad sisaldavad nii seroosseid kui limanäärmeid, mistõttu nende sekreet on limarikkam ja viskoossem. Segasülge sisaldab 99,3% vett ja 0,7% kuivainet. Viimane koosneb mitmesugustest anorgaanilistest sooladest (0,2%) ja orgaanilistest ainetest. Valgusisaldus süljes on 0,11 - 0,44 %.

Orgaaniliste ainete hulka kuuluvad ferment α -amülaas (ptüaliin), vähesel määral mõningaid teisi fermente, lima-aine mutsiin, seerumalbumiinid ja -globuliinid. Sülj sisaldab samu elektroliite mis vereplasma, kuid madalamas kontsentratsioonis, mistõttu sülje osmootne rõhk on vereplasma osmootselt rõhust madalam (külmumistäpi langus $0,20^{\circ}\text{C}$, vereplasmal $0,56^{\circ}\text{C}$). Erinevalt viimasest sisaldab sülj veel rodaniidione (SCN^- , esinevad eriti suitsetajate süljes ja on tõenäoliselt tubakasuitsus oleva HCN detoksikatsiooni produkt). Värske sülje pH on 6,4 - 7,0. Seismisel või soojendamisel kaotab sülj CO_2 ja muutub alkaalsemaks. Inimesel on sülje basaalsekretsioon umbes 15 - 25 ml tunnis. See püsib ka magamise ajal (vt. Balint, lk. 462). Füsioloogiliseks sekretsiooni intensiivistajaks on toidu nägemine ja lõhn (tingitud-reflektoorne sekretsioon) ning toidu söömine (tingimatu-reflektoorne sekretsioon). Tavaliselt valmistavad süljenäärmed ööpäevas 600 - 1500 ml sülge, millest 70 % langeb gl. submandibularis'e arvele, 25 % gl. sublingualis'e ja 5 % gl. parotis'e arvele. Süljes sisalduv vesi resorbeerub seedekanalil. Kui mingisugustel põhjustel (näit. eksperimendi tingimustes kõikide suurte süljenäärmete fistulid) organism kaotab suurel hulgal sülge, siis võib see esile kutsuda organismis dehüdratatsiooni nähtusi.

Sülje uurimine

Sülje uurimisel määratakse esmajoones α -amülaasi aktiivsus. Selleks võib kasutada sama meetodit, mida kasutatakse veres leiduva α -amülaasi aktiivsuse määramiseks (Smith-Roe meetod). Sülje amülaasi aktiivsuse tase korre-

leerub hästi vastava pankrease fermenti aktiivsuse tasemega. Et pankrease nõre on raskesti kättesaadav, siis soovivad mõned autorid andmete saamiseks süsivesikuid seeditavate fermentide aktiivsuse kohta organismis analüüsida sülje amülaasi aktiivsust. Kui duodenaalsisaldise hankimine ei ole võimalik, võiks selline kaudne hindamine kõne allatulla.

Sülje pH-d peetakse iseloomulikuks näitajaks organismi mitmesuguste seisundite hindamisel. Sülje pH põhjal on püütud hinnata sportlaste treenitust ja leitud võrdlemisi häid seoseid (R. Keevallik, 1969, E. Linar, 1959). Nende uuringute puhul tuleb silmas pidada, et sülje pH-d mõjustab oluliselt ka hammaste seisund. Karioosete hammaste olemasolul on sülje pH tunduvalt happelisem (S. Russak, 1969).

VII

MAOSEKRETSIOONI UURIMINE

Eksperimendi tingimustes saadakse maonõret vastavalt opereeritud loomadelt. Enamasti kasutatakse katseloomadena koeri. Inimeselt saadakse maomahla sondi abil. Peale otsuste uuringute on kasutusel mõningad kaudsed uuringud maosekretsiooni hindamiseks. Neid kasutatakse kliinikus enamasti siis, kui patsient ei nõustu sondeerimisega või kui sondi viimine makku on vastunäidustatud. Kaudselt saab maolimaskesta soolhapet valmistavat võimet hinnataioonvahetusvaikude abil. Need võetakse sisse suu kaudu. H-ioonid reageerivadioonvahetusvaiguga, vabastades ekvivalentse hulga madalmolekulaarset ühendit (värvaine, kiniin, jt.), mis resorbeerub soolest ja mida võib kvantitatiivselt määrata uriinis.

Maosekretsiooni kaudse uuringuna on soovitatud ka pepsiini määramist uriinis, nn. uropepsiinitesti. Uropepsiini tase ei korreleeru alati pepsiini moodustumisega maos, vaid oleneb rohkem hüpofüsaar-adrenaalsüsteemi seisundist. Sellepärast sobib uropepsiinitest rohkem viimati mainitud süsteemi seisundi hindamiseks.

Maosekretsiooni stimuleerimine

Maosekretsiooni stimuleerimiseks kasutatakse nn. proovieineid. Need on kindla koostisega toiduportsjonid, mida antakse uuritavale isikule (näit. saiakuivikud ja tee, kapsamahl, kofeiinilahus jne.). Teatud ajavahemiku järel viiakse sond makku ning kogutakse maonõret. Kuna proovieinete kasutamisel on saadud maonõre segunenud toiduga ja täpsemate analüüside tegemine sellest on raskendatud, siis eelistatakse niisuguseid stimulatsioonivii-
se, mille abil on võimalik saada puhast maonõret.

Puuduseks mao sekretsiooni stimuleerimisel mitmesuguste ainete süstimisega on see, et sekretsioon ja nõre koostis võib-olla ei kajasta täpselt toidu söömisele järgnevat. Puhata maonõre saamiseks stimuleeritakse maosekretsiooni hormoonpreparaat gastrini või tema sünteetiliste analoogidega (tetra- ja pentagastrinid), histamiini või insuliiniga. Gastrin võtab osa sekretsiooni regulatsioonist. Kuna gastrin ja selle sünteetilised analoogid on defitsiitsed, kasutatakse praktikas rohkem teisi keemilisi aineid, nagu näiteks bioloogiliselt aktiivset amiini - histamiini. See aine mõjub peamiselt mao limaskestast parietaalrakkele, intensiivistades nende sekretsiooni, mille tulemusena eritub rohkesti HCl-rikast maonõret. Fermentide sisaldus maonõres sellise stimulatsiooni puhul on madal. Tavaliselt kasutatav histamiiniannus on 0,01 mg ja 0,04 mg ühe kg kehakaalu kohta (Kay, A.W., Brit. Med. J., 1953, 2, 77-80). Maonäärmete sekretsiooni vallandamiseks kasutatakse veel insuliini 10 - 20 üh. või 0,1 üh/kg intravenoos-

selt, näiteks insuliinitest Hollanderi järgi (S.A.D.Bouchier, 1969). Insuliin langetab vere suhkrusisaldust, see omakorda põhjustab toitekeskuse aktiivsuse tõusu, mis uitnäarvi kaudu kutsub esile mao soolhappe^{HCl}, fermentide ja limaaainete sekretsiooni intensiivistumise. Insuliiniproovi puhul tuleb paralleelselt määrata ka vere suhkrusisaldus, sest kui kasutatud insuliiniansus ei kutsu esile vere suhkrusisalduse langust, siis puudub sellel annusel ka stimuleeriv mõju maosekretsioonile.

Maosekretsiooni mitmekülgseks uurimiseks oleks vaja uuritavaal teha nii insuliini- kui histamiinitest. Mõlemate ainete puhul esinevad mõnikord kõrvaltoimed ja sellepärast tuleb alati hooliga jälgida uuritava seisundit nende proovide läbiviimisel. Enamasti kasutatakse nn. submaksimaalset histamiiniansust 0,01 mg/kg. Maksimaalse histamiiniansuse puhul (0,04 mg/kg) tuleb aga kõrvaltoimete kupeerimiseks sageli kasutada antihistamiinseid preparaate.

Maonõre analüüsimise üldised põhimõtted

Maonõre analüüsides on kõige enam kasutusel soolhappesisalduse määramine. Seda tehakse tavaliselt tiitrimise teel Michaelise järgi, kusjuures määratakse vaba, seotud ja üld-HCl sisaldus ja maonõre üldhappesus. Mõned autorid ei pea oluliseks ega õigeks vaba soolhappe määramist, vaid ainult üld-HCl määramist (H.W. Davenport, 1962). Seotud happesus oleneb puhverainete sisaldusest maonõres. Seega juhul, kui vaba soolhappe väärtused saadakse madalad või koguni null, ei ole see iga kord tingitud parietaalrakkude sekretsiooni puudulikkusest, vaid hapet siduvate ainete sekretsiooni intensiivistumisest, kusjuures seotud happe suurus näitab kaudselt nende ainete sisaldust maonõres. Valgulistest puhverainetest on kõige olulisemad need, mis elektroforeesil liiguvad negatiivse pooluse suunas.

Maonõre pH määramiseks in situ kasutatakse kas raadiopille või sondi kaudu makku viidud elektroode. pH väärtusi maos on uurinud põhjalikult E. Linar (1968). In vitro pH määramiseks kasutatakse pH-meetreid.

Maonõre kolloidosiste fraktsioneerimiseks kasutatakse elektroforeesi meetodit. Fermentide aktiivsuse määramisel valitakse meetod vastavalt sellele, missuguste fermentide aktiivsust uuritakse. Nimetatud küsimusi käsitletakse hiljem.

VIII

PANKREASE SEKRETSIOONI UURIMINE

Pankrease sekretsiooni on eksperimentaalselt võimalik uurida selle näärme akuutse või kroonilise fistuliga katseloomadel. Fistuli kaudu kogutud nõre omadused olenevad sellest, kas nõre kogumiseks on kasutatud kanüüli või mitte. Kanüüli kaudu kogutud pankrease nõres saadakse proteolüütilised fermentid inaktiivsetena, ilma kanüülita kogutud nõres on ka toimivaid proteolüütilisi fermente. Kanüüli viimisel pankrease juhasse tuleb jälgida, et kanüül ei vigastaks juha limaskesta. Inimesel saab pankrease nõre osiseid uurida duodenaalmahlast.

Pankrease sekretsiooni stimulatsioon

Loomeksperimendi tingimustes on pankrease sekretsiooni stimuleerimiseks võimalik kasutada ka kõige füsioloogilisemat ärritajat - toitu. Uuringutes inimesel aga ei tule see kõne alla, sest niisugusel juhul on duodenaalsisaldis segunenud toiduga ja sellest pankrease fermente ana-

lõusida ei saa. Pankrease sekretsiooni stimuleerijatena on soovitatud kasutada narkoosieetrit, olliiviõli, koliini, A-vitamiini jne. Nende ainete toimemehhanism pankreasele ei ole päris selge ja käsiraamatutes pole nende ainete kasutamise kohta ka täpseid eeskirju. Kõige sobivamaks on osutunud stimulatsioonitest sekretiini ja pankreosümiiniga. (M. Gūlzow jt. 1963). Need mõlemad on hormoonid, mis võtavad osa pankrease sekretsiooni füsioloogilisest regulatsioonist. Sekretiin stimuleerib rohkem nõre vedela osa ja bikarbonaatide sekretsiooni, pankreosümiin intensiivistab enam pankrease fermentide sekretsiooni. Nende preparaatide defitsiitsuse tõttu on osutunud vajalikuks otsida teisi aineid pankrease sekretsiooni stimuleerimiseks. Kasutatakse metakoliini e. mekolüüli (metacholinum s. mecholyl, atsetüül-β-metüülkoliin) annuseis 10-15 mg intramuskulaarselt. Selle aine toime on sarnane atsetüülkoliiniga, kuid kestab pikemat aega, stimuleerib pankrease fermentide sekretsiooni.

Mõnedes käsiraamatutes soovitatakse pankrease sekretsiooni stimuleerida 0,5%-lise soolhappega. Selleks viiakse duodeenumisse 30 ml 0,5%-list HCl ja pärast seda kogutakse duodenaalsisaldist iga 15 min. järel 1,5 tunni jooksul. HCl toimel vabaneb duodeenumi limaskestas sekretiin, mis ongi pankrease sekretsiooni vallandajaks. Antud juhul räägime pankrease sekretsiooni stimuleerimisest organismis eneses moodustunud endogeense sekretiiniga. Sekretiini süstimisel räägime stimuleerimisest eksogeense sekretiiniga. Nii endogeense kui eksogeense sekretiini toimel saadakse rohkesti bikarbonaatide rikat pankrease nõret. Praktiliselt on pankrease sekretsiooni stimuleerimist soolhappega raske läbi viia. HCl viimisel duodeenumisse muutub duodenaalsisaldise pH tugevasti happeliseks. Kuid bikarbonaate võib pankrease nõrest määrata alles siis, kui pH on vähemalt 7,0 või rohkem, ja pankrease fermente siis, kui pH on vähemalt 6,0 (M.M. Forell ja J. Stahlheber. - Klin. Wschr. 1964, 42, 675). Arvestades neid asjaolusid, ei kasutata viimasel ajal enam pankrease sekretsiooni stimuleerimiseks soolhapet. Ülevaade praegu kasutatavatest testidest on toodud tabelis 4.

Pankrease sekretsiooni stimuleerimise meetodid.

Sekretiini-pankreo- sümiinitest	20 min. lähteperioodi, siis süstitakse 1 RÜ/kg kehakaalu kohta intravenoosselt sekretiini, 10 min. pärast 1 RÜ pankreosümiini. Duodenaalmahl kogutakse 80 min. jooksul portsjonite kaupa iga 20 min. järel.	M. Gülzow, K. Koelsch, H. Kuntzen. Gastroenterologie. Jena, 1969, lk. 565.
Sekretiini-metakoliini- test	20 min. lähteperioodi, siis süstitakse 1 RÜ/kg kehakaalu kohta intravenoosselt sekretiini, 10 min. pärast 10 - 15 mg metakoliini intramuskulaarselt. Duodenaalmahl kogutakse samuti kui eelmise testi puhul.	- " -
Prostigmiinitest	Tühja kõhuga inimesel võetakse vereproov (6 - 8 ml), siis süstitakse 1 mg (2 amp.) prostigmiini intramuskulaarselt. Pärast süsti võetakse vereproovid 30, 60, 90 min. järel. Määratakse vereseerumis amülaas.	A. Gitter. Taschenbuch klinischer Funktionsprüfungen. Jena, 1957, lk. 197.
Metakoliini-(meko- lüüli)test	0,25 mg/kg subkutaanselt, testi käik sama mis prostigmiinitesti puhul.	- " -
Soolhappetest	30 min. jooksul kogutakse 2 portsjonit (à 15 min.) duodenaalnõret, seejärel viiakse duodenaalsondi kaudu 30 ml 0,5%-list HCl duodenumisse, pärast seda 1,5 t. jooksul kogutakse 6 portsjonit iga 15 min. järel.	A.A. Щелагуров. Пankреатиты. Москва, изд. "Медицина" 1967.

Kaudsed testid pankrease sekretsiooni uurimisel

Pankrease sekretoorse funktsiooni hindamiseks on kasutusel ka mõningad kaudsed testid. Nende hulka kuuluvad pankrease fermentide uurimine vereplasmast ja toitainete omastamise uurimine. Võimalik on määrata veres pankrease amülaasi ja lipaasi aktiivsus. Pankrease proteolüütilised fermentid on vereplasmas inaktiivsed, seetõttu ei ole nende analüüsimine terve inimese veres võimalik. Proteolüütiliste fermentide inaktiivsuse peamiseks põhjuseks on vastavate inhibiitorite toime. Viimaseid sünteesitakse samuti pankreases ja tõenäoliselt niisugusel hulgal, et terves organismis on vereplasmas alati olemas vaba, s. o. fermentidega mitteseotud inhibiitor. Haiguslike protsesside, eriti pankreatiitide puhul inhibiitori süntees väheneb. Samal ajal langeb ka veres vaba inhibiitori sisaldus. Selle tulemuseks on proteolüütiliste fermentide puudulik inaktiveerimine. Üheks pankrease proteolüütiliste fermentide seisundi hindamise testiks ongi vaba trüpsiini-inhibiitori sisalduse määramine veres (Мищенко Н.С. и др., 1966).

Pankrease fermentide analüüsimisel verest tuleb arvestada seda, et veres võib esineda nii amülolüütilisi, lipolüütilisi kui ka proteolüütilisi fermente, mis ei ole pankrease päritoluga. Nende fermentide eristamine on võimalik nn. isofermentide diferentseeritud määramise põhjal. Isofermentide toime substraadile on samasugune, kuid erineva molekulaalu tõttu saab neid lahutada elektroforeesi teel. Pankrease amülaasi puhul on kindlaks tehtud, et paberelektroforeesil migreerub pankrease amülaas koos vere γ -globuliiniga. Maksa amülaas liigub koos vere albumiinide fraktsiooniga.

IX

SEEDETRAKTI FERMENTIDE ESINEMINE VERES JA SELLE MÄÄRAMISE DIAGNOSTILISEST TÄHTSUSEST

Nagu juba eespool nimetatud, on andmeid, mis saadud seedefermentide analüüsimisel verest ja uriinist, hakatud viimasel ajal pidama hüpofüsaar-adrenaalsüsteemi näitajateks. Selle seisukoha mõistmiseks võiksid huvi pakkuda mõningad V.J. Brodski ja kaastööliste (1966) andmed seedetrakti tegevuse kohta.

Söömisele järgneb alati terve rida muutusi organismis, mida ei ole võimalik otseselt seostada toidu omastamisega organismis. Juba söömise ajal ja eriti pärast söömist tekib leukotsütoos, eosinopeenia, vere tihenemine, naatriumi-kaaliumikoefitsiendi tõus, vereauhkrupeegli tõus, 17-oksükortikosteroidide tõus. Eriti viimast asjaolu peetakse kaudseks tõendiks selle kohta, et toitumisel tekkinud üldreaktsioonis on tähtis koht hüpotaalamo-hüpofüsaar-adrenaalsüsteemil. Eespool kirjeldatud muutused võivad toimuda paralleelselt seedenäärmete sekretsiooniga, kuid neil võib olla ka teatud autonoomia. Seega söömisakt on selleks normaalseks, perioodiliselt korduvaks faktoriks, mis kindlustab teatud aktiivsuse taseme süsteemile hüpofüüs - neerupealiste koor. Refleksikaar võiks olla järgmine: retseptoorne osa distantsretseptoritelt ja mao-sooletraktist, edasi üle toitekeskuse mitmete osade, hüpofüüsi- ja neerupealishormoonide. Selles regulatsioonis on reflektorsed ja humoraalsed lülid. Missugune füsioloogiline tähtsus on nendel nähtustel? Võimalik, et adrenokortikotroopsed hormoonid võtavad otseselt osa mao-näärmete tegevuse regulatsioonist. On näidatud, et neeru-

pealise koore hormoonid mõjustavad pepsinogeeni väljutamist pearakkudest. Nende toime võib avalduda otse või üldise toitereaktsiooni kaudu. Mõningaid näiteid võiks tuua ka patoloogiast. On hästi teada, et patoloogilistel juhtudel neerupealiste koore funktsiooni intensiivistumine tõstab maonäärmete pearakkude sekretoorset aktiivsust, mis tugeva stressi puhul võib viia kuni haavandite tekkeni.

Seedefermentide sisaldus veres ei korreleeru alati nende sisaldusega seedetrakti valendikust võetud materjalis. Ilmselt on otstarbekas mõlemaid uuringuid läbi viia paralleelselt, mis annaks niisugustel juhtudel mitmekülgsemat informatsiooni. Pepsinogeeni inkretsiooni ja sekretsiooni küsimusi on põhjalikult uurinud G.F. Korotko (1965).

X

PRAKTLISED TÖÖD SUURTE SEEDENÄÄRMETE TALITLUSE UURIMISEL

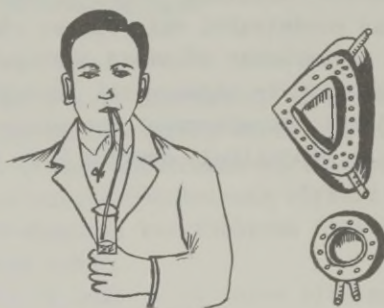
1. SALIVATSIOONI UURIMINE INIMISEL

Inimesel kogutakse sülge mitmel viisil. Järgnevalt toome kolm võimalust.

a) 100 - 150-ml mahuga silindrile asetatakse klaaslehter. Lehterile pannakse destilleeritud veega niisutatud filterpaber. Uuritav isik sülitab lehtrisse portsjonite kaupa sülge, mis on suhu kogunenud. Niisugusel viisil sülje kogumiseks kulub aega mõni tund, sest sülge koguneb vähe ja filtreerimine võtab aega.

b) Vaatlusalune loputab suu, kallutab pea ettepoole veidi ühele küljele, teeb suu lahti, sirutab keele välja ja

tõstab seda, hoides alumise huule keelest eemal ja hingab läbi avatud suu. Selle tagajärjel suu limaskest veidi kum-
vab, mis stimuleerib sülje eritamist. Sülg hakkab välja
tilkuma alumise huule kohalt suunurgast. Sinna asetatakse
lehter ja silinder ning lastakse sülg sisse tilkuda. Nii-
sugusel kogumisel on sülg selge ja uuringuteks ei ole se-
da vaja filtreerida.



Joonis 5. Sülje kogumine inimeselt
Krasnogorski kapsli abil.

c) Sülg kogutakse süljejuhast kapslite abil. Kapsleid on mitmesuguseid. Joonisel on toodud süljekapsel Krasnogorski järgi. Kapsel on valmistatud hõbedast, diameeter 7-10 mm, sügavus 2 - 3 mm. Kapsli servas on 1,5 mm ja 2-3mm sügavune renn; nii kapsli kambrist kui ka rennist väljuvad lühikesed torud, mille külge kinnitatakse kummivoolikud, neist esimese kaudu juhitakse ära kambrisse kogunev sülg, see voolik ühendatakse kas registreerimisseadeldisega või sülje kogumise nõuga. Teise kummivooliku abil imetakse õhk välja välimisest kambrist ja tekkiva vaakuumiga liibub kapsel suu limaskestale. Vaakuumi tekitamiseks võib kasutada suuremat süstalt. Kui kapsel on fikseeritud, asetatakse kummivoolikule klemm ja võetakse süstal vooliku küljest. Kapsel asetatakse limaskestale nii, et süljejuha

ava jääks kapsli keskele. Kapsli välimisest kambrist väljuv kummivoolik ühendatakse hermeetiliselt suletud anumaga, millest on eelnevalt õhk välja pumbatud.

Kui kapsel on korralikult paigaldatud, siis on uuri-taval isikul võimalik vabalt neelata ja mäluda.

NB! Kapsli pealeasetamisel ei tohi tekitada liiga tugevat vaakuumi kapsli rennis, sest siis tõmbub kapsel liiga tugevasti vastu suu limaskestast ja tekitab valu, vahel isegi veritsemist.

Ilma kapslita ei ole võimalik sülge koguda söömise ajal, kapsli kasutamisel saab aga sülge koguda ka söömise ajal.

2. SÜLJE AGAR- ELEKTROFOREES

Elektroforeesi tingimused: 220 V, pH 8,6 (mediaal-veronaalpuhver), lahutamise aeg 4 t., agaragariga kaetud plaadile kantakse 0,02 ml eelnevalt tihendatud sülge. Sülje valgukontsentratsioon on äärmiselt väike, seepärast soovitatakse valgukontsentratsiooni tõsta 4-6 %-ni. (lüofiliseerimine või dialüüs).

Foregrammide värvimiseks kasutatakse amiidomusta.

Sülje valgud lahutuvad antud meetodil 4 - 8 fraktsiooniks.

3. MAOSEKRETSIOONI UURIMINE VÄIKEMAOGA KOERAL

Katse viiakse läbi koeral, kellel on opereeritud väikemagu kas Pavlovi või Heidenhaini järgi.

Vahendid: pukkalus, maosond (5 - 6 cm pikk), nõre ko-

gumise nõu, mõõtsilinder, keeduklaasid (3 - 4 tk.), lakmus- või kongopaber, reaktiivid maonõre soolhappesisalduse tiitrimiseks, vahendid maonõre sekretsiooni stimuleerimiseks.

Töö käik. Väikemaoga koeral viiakse väikemakku sond ja kinnitatakse see ümber kere kummipaelaga. Kontrollitakse maonõre reaktsiooni, märgitakse kellaaeg ja tulemus protokollis. Mao basaalsekretsiooni jälgitakse 30 min. jooksul, kogutud maonõre mõõdetakse ja analüüsitakse. Tavaliselt on maosekretsioon tühja kõhuga madal. Vaja on kontrollida, kas eritunud nõre on happeline või mitte. Järgnevalt kasutatakse ühte maosekretsiooni stimulaatorit, mis valitakse olenevalt uurimise eesmärgist. Märgitakse stimuleerimise kellaaeg ja kontrollitakse lakmus- või kongopaberi abil igas minutis maonõre reaktsiooni. Kui maonõre basaalsekretsiooni ajal oli happeline, siis võib maonõre kogumist alustada kohe pärast stimulatsiooni. Kui basaalsekretsiooni ajal ei olnud maonõre happeline, siis tuleb kindlaks teha, millal pärast stimulaatori kasutamist ta muutub happeliseks. See on maonäärmete sekretsiooni peite- e. latentsusaeg. See aeg kantakse protokollis ja alustatakse nüüd happelise maonõre kogumist. Pärast stimulatsiooni maonõre hulk mõõdetakse iga 30 - 60 min. järel ja proovid analüüsitakse. Katse lõpetatakse, kui intensiivne maosekretsioon vaibub. Andmed kantakse tabelisse.

Katsetulemuste analüüsimisel tuleb hinnata maonäärmete sekretsiooni latentsusaega, iseloomustada maonõre sekretsiooni dünaamikat ja nõre koostist, seedeõimet ning nende omavahelisi seoseid. Andmed esitada graafiliselt ja nende põhjal teha järeldused.

4. MAONÕRE SOOLHAPPE- SISALDUSE TIITRIMINE (Michaelise järgi)

Analüüsi käigus määratakse vaba HCl, seotud HCl, üld-HCl ja maonõre üldhappesus.

Vaba HCl iseloomustab dissotsieerunud H^+ - ja Cl^- -ioonide sisaldust maonõres.

Seotud HCl - mittedissotsieerunud HCl molekulide hulk - on seotud maonõres sisalduvate valkude ja teiste puhverainetega (potentsiaalne happesus).

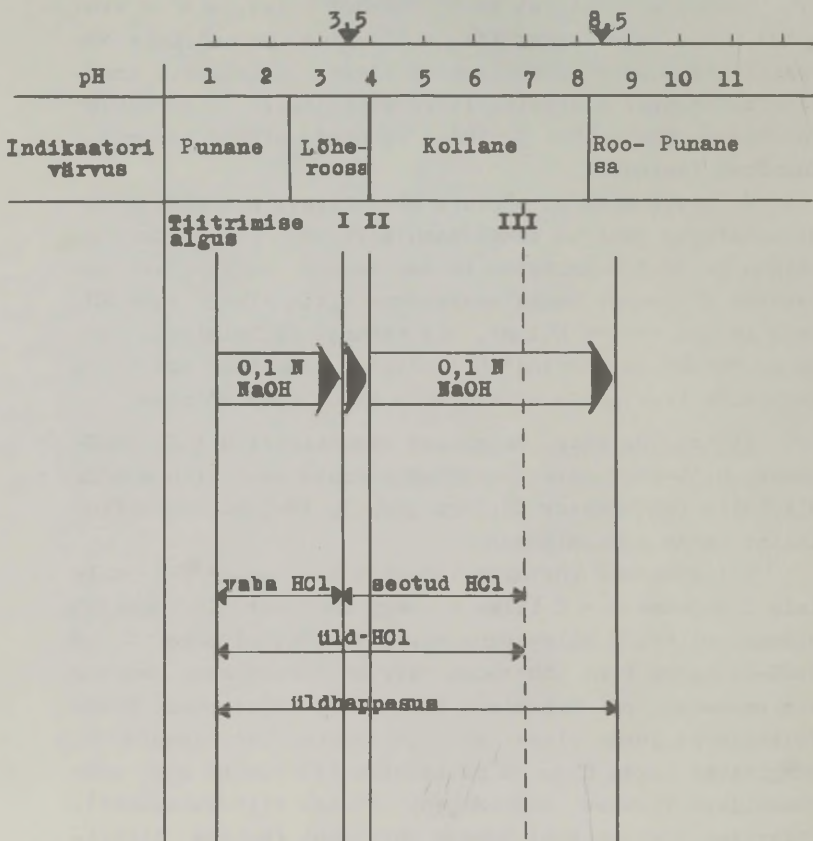
Üld-HCl on vaba ja seotud HCl summa.

Üldhappesus ületab veidi üld-HCl hulga, mis on tingitud happeliste fosfaatide, sulfaatide ja nõrkade orgaaniliste hapete (püroviinamarjahape, piimhape, kreaatiinfosforhape, adnosiin-fosforhape jne.) sisaldusest maonõres. Mõningatel juhtudel on nende ainete sisaldus maonõres tõusnud.

Viimasel ajal on mõnedes kliiniliste analüüside käsiraamatutes juhitud tähelepanu sellele, et tiitrimise käigus neutraliseeritakse ka osa seotud soolhapest vabanenud H^+ -ioonide. Seega määratakse mitte ainult vaba HCl, vaid ka osa seotud HCl-st, mis vabaneb tiitrimisel. Seega on "vaba" ja "seotud" HCl mõisted tinglikud ega vasta H-ioonide tegelikule sisaldusele keemilises mõistes.

Tiitrimise käik. Vajalikud reaktiivid: 0,1 N NaOH-lahus, 0,5%-line paradimetüülaminoasobensooli lahus etüülalkoholis (indikaator Töpferi järgi), 1%-line fenoolftaleiini lahus etüülalkoholis.

Tiitrimiseks võetakse vähemalt 2 ml maonõret, millele lisatakse 1 - 2 tilka kumbagi indikaatorit (vaba HCl olemasolul tekib helepunane värvus). Tiitritakse 0,1 N NaOH-lahusega kuni lõheroosa värvuse tekkimiseni. See värvus saadakse pH vahemikus 2,4 - 4,0, täpne punkt peaks Volkheimeri järgi olema pH 3,5 juures, vt. joonis 6. Märgitakse lugem üles ja jätkatakse tiitrimist kuni sidrunkollase värvuse tekkimiseni (teine tiitrimispunkt), tiitritakse edasi kuni punase värvuseni (kolmas tiitrimispunkt) - saadakse pH 8,2 - 10,0 juures. Tiitrimisel kulunud 0,1 N NaOH hulk arvutatakse 100 ml maonõre kohta ja saadakse maonõre HCl-sisaldus nn. tiiterühikutel. On selge, et maonõret peab olema võimalikult rohkem, sest ümberarvutamisel suurenevad ka tiitrimisel tekkinud ebatäpsused.



Joonis 6. Maonõre HCl tiitrimise skeem.

Arvutuse näide: 10 ml maonõre tiitrimiseks kulus

esimese tiitrimispunktini (lõheroosa)	4,10 ml
teise -"- (sidrunkollane)	4,44 ml
kolmanda -"- (punane)	6,36 ml

Vaba HCl määratakse tiitrimisel Töpferi indikaatoriga, s. o. esimese tiitrimispunktini tiitrimisel. Selleks kulus 10 ml maonõre puhul 4,1 ml 0,1 N NaOH, 100 ml maonõre kohta oleks kulunud $10 \times 4,1 = 41,0$ ml. Seega on vaba HCl 41 tiiterühikut. Üld-HCl sisalduse arvutamiseks leitakse teise ja kolmanda tiitrimispunktini kulunud 0,1 N NaOH aritmeetiline keskmine. Seega $\frac{4,44 + 6,36}{2} =$

$= 5,4$, siit üld-HCl 100 ml kohta $5,4 \times 10 = 54$ tiiterühikut. Üld-HCl arvutamist aritmeetilise keskmise põhjal on põhjendatud järgmiselt: kõige lähedasem õigele tulemusele oleks saada tiitrimispunkt pH 7 juures. Kasutatud indikaatoritega saadakse teine tiitrimispunkt happelisemas keskkonnas ja kolmas tiitrimispunkt aluselises, mistõttu nende aritmeetiline keskmine peaks olema pH 7-le lähemal kui kumbki punkt eraldi.

Seotud HCl arvutatakse üld-HCl ja vaba HCl põhjal: $54 - 41 = 13$ tiiterühikut.

Üldhappesus arvutatakse kolmanda tiitrimispunktini kulunud 0,1 N NaOH põhjal. Seega $6,36 \times 10 = 63,6$ tiiterühikut. Tiitrimine Michaelise järgi on esitatud juhendis näitamaks, kuidas tiitrimine toimub, ja selgitamaks vaba ja seotud HCl mõistet. Kuna seotud HCl võiks olla kaudseks puhverainesisalduse näitajaks, siis on selle määramine vajalik. Skeemilt (joon. 6) nähtub, et värvuse muutumine tiitrimisel toimub teatud pH väärtuste vahemikus. Täpsem oleks tiitrimispunkt määrata pH-meetriga. Missugune see pH peaks olema vaba ja seotud HCl määramiseks, on skeemilt selgesti näha. Kui on võimalik pH-meetri abil tiitrida, siis on see kahtlemata täpsem.

Maonõre HCl-sisalduse väljendamine

Maonõre HCl-sisaldust väljendatakse milliekvivalentides 1 l maonõre kohta (mekv/l) ja %-des. Varem oli kliinilises kirjanduses ja igapäevases praktikas kasutusel rohkem mõiste "tiiterühik", viimasel ajal on rohkem kasutusel mekv/l või %. Tiiterühikutest ümberarvutamisel tuleb arvestada seda, et 0,1 N NaOH-ga tiitrimisel määratakse kindlaks 0,1 N HCl sisaldus maonõres ja et maonõre tiiterühik näitab 0,1 N HCl ml arvu 100 ml maonõres.

Arvutuse näide tiiterühikutest mekv/l-tele. Vaba HCl sisaldus maonõres on 41,0 tiiterühikut. Seega 100 ml maonõres on 41 ml 0,1 N HCl. On vaja teada, mitu milliekvivalenti sisaldab 1 ml 0,1 N HCl.

Tuletame meelde, et

1 N HCl	1000 ml	sisaldab	1	grammekvivalent	HCl e.	36,5 g
0,1 N HCl	1000 ml	"	0,1	"	"	3,65g
0,1 N HCl	1 ml	"	0,1	milligrammekvivalenti	HCl e.	0,00365g

Seega meie näites 100 ml maonõres on 41,0 ml 0,1 N HCl, mis sisaldab $41,0 \times 0,1 = 4,1$ milligrammekvivalenti e. milliekvivalenti. Ühes liitris maonõres oleks aga $4,1 \times 10 = 41,0$ milliekvivalenti. Seega arvuliselt on võrdsed HCl-sisaldus tiiterühikutes 100 ml-s ja milliekvivalentides 1 l kohta (mekv/l).

Maonõre HCl-sisalduse väljendamisel %-des tuleb meelde tuletada, et 1 ml 0,1 N HCl sisaldab 0,00365 g HCl, tiiterühik aga näitab 0,1 N HCl ml-te arvu 100 ml maonõre kohta. Meie näites oleks vaba HCl sisaldus niisiis $41,0 \times 0,00365 = 0,14965$ %.

Kvantitatiivselt väljendatakse mao HCl-moodustumise intensiivsust ka milligrammides tunnis (mg/t) või milliekvivalentides tunnis (mekv/t). Mõlemal juhul on arvutamiseks vaja teada maonõre hulka 1 tunni jooksul. Need näitajad iseloomustavad maos produtseeritud HCl hulka ajaühikus ja arvutatakse vaba HCl, seotud HCl ja üld-HCl jaoks.

Arvutuse näide. Maonõre hulk on 4 ml/t, vaba HCl sisaldus on 60 TÛ. 100 ml maonõret sisaldab $3,65 \times 60 = 21,9$ mg, 4 ml sisaldab

$$\frac{21,9 \times 4}{100} = 0,876 \text{ mg}$$

Seega on vaba HCl moodustumise intensiivsus 0,876 mg/t.HCl erituse väljendamiseks milliekvivalentides 1 t.jooksul tuleb meelde, et 100 ml maonõres on meie näites $60,0 \times 0,1 = 6,0$ milliekvivalenti. On vaja leida HCl-sisaldus milliekvivalentides 4 ml maonõre kohta:

$$\frac{6,0 \times 4,0}{100} = 0,24 \text{ mekv}$$

Seega on vaba HCl moodustumise intensiivsus 0,24 mekv/t. Analoogiliselt arvutatakse seotud ja üld-HCl moodustumise intensiivsus. Maolimaskesta HCl moodustumise võime hindamiseks ei tohi piirduda ainult HCl-sisalduse määramisega nõres, vaid tuleb pöörata tähelepanu ka tema moodustumise intensiivsusele. Olgu näit. andmed kahe isiku kohta järgmised:

	I	II
Maonõre hulk ml/t	22,0	155,0
Üld-HCl mekv/l	90,0	20,0
HCl sekretsioon mekv/t	1,98	3,1

Kui otsustada ainult happesisalduse järgi, siis leiaksime, et teisel juhul on HCl-sisaldus maonõres tunduvalt madalam. Kuna aga maonõre hulk ajajuhikus on suurem, produtsseerivad maonäärmed teisel juhul kogusummas HCl siiski rohkem.

Maonõre HCl-sisalduse määramisel füsioloogia praktikumis tuleb protokollivihikusse kanda üksikasjalikult tiitrimise käik ja arvutused HCl-sisalduse kohta maonõres ja sekretsiooni intensiivsuse kohta (tiiterühikud, mekv/l, %, mg/t, mekv/t).

5. PROTEOLÜÜTILISTE FERMENTIDE MÄÄRAMINE MAONÕRES

Proteolüütiliste fermentide määramiseks maonõres on mitmeid meetodeid. Pepsini jaoks on kõige sobivamad spet-

siifilised sünteetilised substraadid. Need on defitsiitsed ja sellepärast peetakse praktikas küllalt kõlblikuks substraadiks hemoglobiini. Lahjendatud maonõrele lisatakse hemoglobiini ja segu inkubeeritakse temperatuuril 37° C. Pärast seda sadestatakse lõhustamata hemoglobiin trikloor-äädikhappega ja filtreeritakse. Filtraadile lisatakse NaOH ja fenoolreaktiiv. Hüdroolüüsil vabanenud türosiin ja trüptofaan annavad värvusreaktsiooni fenoolreaktiiviga, mida mõõdetakse spektrofotomeetriga lainepikkusel 540 nm. Tulemusi võrreldakse standardkõveraga (saadakse kindlaid pepsiinikaalutisi kasutades).

Kasutatud kirjandus

Anson, M.L., Mirsky, A.E., J. Gen. Physiol., 1932, 16, 59.

Bouchier, S.A.D., Clinical Investigation of Gastrointestinal Funktion, Oxford. Edinburgh, 1969, p. 55.

Биохимические методы исследования в клинике. Под. ред. А.А. Покровского, стр. 197.

6. PANKREASE SEKRETSIOONI UURIMINE KROONILISES KATSES (katseloom koer)

Vahendid: pukkalus, nõre kogumise nõu, lehter, mõõtsilinder, toit (200 - 300 g liha või 400-600 ml piima; toidu hulk valitakse vastavalt katselooma suurusele).

Töö käik. Koera on toidetud viimati 16 - 20 t. enne katse algust.

Enne söötmist kontrollitakse pankrease fistuli ava piirkonda ja märgitakse protokollis, kas sekretsiooni oli võimalik kindlaks teha või mitte. Siis asetatakse fistuli

ava kohale kogumislehter, kinnitatakse see kummipaelaga ümber koera keha, lehteri otsa asetatakse nõre kogumise nõu (sobib gradueeritud tsentrifuugiklaas). Jälgitakse sekretsiooni 30 min. vältel, et kindlaks teha nn. basaalsekretsiooni. Siis antakse koerale toit, märgitakse söömise alguse ja lõpu kellaaeg. Pankrease sekretsiooni jälgitakse 3 - 4 tunni jooksul ning nõre hulk mõõdetakse iga poole tunni järel. Analüüsitakse pankrease nõre amilolüütilist, proteolüütilist ja lipolüütilist aktiivsust, viiakse läbi pankrease nõre elektroforees.

Praktikumis on vaja hinnata pankrease sekretsiooni intensiivsust, ajalist kulgu, nõre omadusi. Võrrelda katses saadud andmeid kirjanduse andmetega ja nendega, mis on saadud teistes õpperühmades.

7. PANKREASE NÕRE PAPER-ELEKTROFOREES

Elektroforees viiakse läbi temperatuuril $+2^{\circ}$ C, potentsiaali gradient 5,1 - 7,5 V/cm, voolutugevus 1 mA ühe riba kohta, aeg 14 tundi, kasutatakse kromatograafilist paberit (ПУ-757-57 "Б"). Elektroforees viiakse läbi veronaal-mediinaalpuhvril pH 8,6 juures, lahuse $\mu = 0,06$ (10,3 g mediinaali, 1,84 g veronaali + 1 liiter destilleeritud vett). Iga le paberiribale kantakse mikropipetiga alati võrdne hulk (0,015 ml) pankrease nõret. Pärast elektroforeesi lõppu mäetakse ribad umbes 20 min. õhu katta kuivama ning seejärel hoitakse 15 min. temperatuuril 100° C. Värvitakse amiidomustaga 20 minutit (0,2 g amiidomusta 1 liitris 10%-lises äädikhappes), seejärel pestakse fenooläädikhappe lahusega (40 g fenooli, 100 ml äädikhapet, 860 ml vett), kuni valku mitteadsorbeerinud ala on muutunud valgeks. Saadud foregrammidel mõõdetakse fraktsioonide kaugused nulljoonest ja arvutatakse fraktsioonide liikuvus.

Elektroforeetilise liikuvuse arvutamiseks on vaja teada selle aine poolt potentsiaaligradiendi toimel läbitud tee pikkust ajaühikus.

Kui d on iooni tee pikkus (cm) aja t jooksul (sek.) potentsiaaligradiendi x (V/cm) toimel, siis elektroforeetiline liikuvus U avaldub järgmiselt:

$$U = \frac{d}{x \cdot t} \text{ cm}^2 \text{V}^{-1} \text{sek}^{-1}$$

Valgufraktsioone võib määrata kvantitatiivselt elektroforegrammide densitometreerimise teel või elueeritud fraktsioonide fotoelektrilise kolorimetreerimise teel. Fraktsioonid elueeritakse 0,1 N NaOH-ga.

Elektroforeesil saadud valgufraktsioonide fermentatsiooniomaduste määramisel elektroforegramme ei kuumutata ega värvita, vaid viiakse läbi uuritavatele fermentidele iseloomulikud reaktsioonid. Kvalitatiivsel määramisel kantakse otse foregrammile substraat, millele ferment toimib, ja selgitatakse vastava värvusreaktsiooniga fermenteeriva fraktsiooni asukoht. Kvantitatiivsel määramisel ferment elueeritakse ja määratakse tema fermentatsioonivõime. Amülolüütiliste fermentide kvalitatiivseks määramiseks võib kasutada K. Wallenfeldsi ja E.Pechmanni poolt soovitatud meetodit, kvantitatiivseks määramiseks Smith-Roe meetodit. Proteolüütiliste fermentide kvalitatiivseks määramiseks sobib I. Hais'i ja K.Matseki meetod. Proteolüütiliste fermentide kvantitatiivseks määramiseks võib kasutada J. Charney ja Tomarelli meetodit. Trüpsiini, kumotrüpsiini jt. proteolüütiliste fermentide üksikult määramiseks tuleb kasutada spetsiifilisi substraate. Esteraaside aktiivsuse kvalitatiivsel määramisel võib kasutada substraadina p-nitrofenoolstearaati, kvantitatiivselt võib määrata C. Huggins ja J.Lapides'i järgi.

Kasutatud kirjandus

- Smith, B.W., H.J. Roe. J. Biol. Chem., 1949, 179, 53.
Charney, J., R. Tomarelli. J. Biol. Chem., 1947, 171, 501.
Huggins, C., J. Lapides. J. Biol. Chem., 1947, 170, 467.

8. PANKREASE NÕRE GEELELEKTROFOREES POLÜAKRÜÜLAMIIDGEEELIS

Elektroforees viiakse läbi B. Davise ja L. Ornsteini meetodil. Voolutugevus 3 - 4 mA ühe torukese kohta, aeg 90 min., temp. +4° C.

Kasutatakse 7,5%-list polüakrüülamiidgeeli. Ühes torukeses lahustatava valgu hulk - 200γ (e. gammat). Värvimiseks võib kasutada erinevaid aineid (amiidomust, Xylen Brilliant Cyanin jt.).

Antud meetodit kasutatakse pankrease nõre anoodfraktsioonide uurimiseks, mis lahustuvad viieks põhifraktsiooniks ja lisafraktsioonideks. Erinevate fraktsioonide isoleerimiseks määratakse kindlaks nende Rf (Rf - rate of march of the foot elements, s.o. kui kaugele mingi fraktsioon on antud elektroforeesi aja vältel liikunud pealekandmiskohast); ja fraktsioonide protsentuaalne sisaldus kogu valgusisaldusest elektroforeogrammis.

Kasutatud kirjandus

Davis, B.J., Annals of the New York Academy of Sciences, 121, 404, 1964.

Ornstein, L., Annals of the New York Academy of Sciences, 121, 321, 1964.

9. AMÜLAASI AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE (Smith-Roe mikromeetod)

Meetod põhineb fermentatiivse hüdrolüüsi tõttu toimuva tärklise kontsentratsiooni alanemise fotomeetrilisel mõõtmisel. Järgnev kirjeldus on antud amülaasi aktiivsuse määramiseks vereseerumis, meetod on kasutatav ka pankrease nõre jaoks, kuid sel juhul tuleb nõre eelnevalt vajalikul määral lahjendada. Seda meetodit võib kasutada ka amülaasi aktiivsuse määramiseks uriinis.

Aparatuur. Termostaat.

Fotoelektrokolorimeeter.

Reaktiivid. 1. 2%-line tärkliselahus.

200 mg lahustuvad tärklis (nomenkl. N^o 100833, GOST 10163-62) suspendeeritakse 1 ml külmas destilleeritud vees, saadud suspensioon lahustatakse keevas vees ja pärast jahutamist toatemperatuuril lisatakse vett 10 ml-ni. Lahus on tarvitamiskõlblik külmustuskapis säilitamisel 5 - 7 päeva.

2. 0,1 M fosfaatpuhver, pH 7,2.

72 ml 0,1 M Na₂HPO₄ (19,595 g/l) segatakse 28 ml 0,1 M KH₂PO₄ (14,978 g/l).

3. 3%-line NaCl-lahus.

4. 1%-line HCl-lahus.

5. 0,1 N joodilahus.

30 g KJ lahustatakse 250 ml-s destilleeritud vees, lisatakse 12,7 g kristallilist joodi ja täiendatakse maht veega 1000 ml-ni. Säilitatakse pimedas. Lahus on püsiv.

Määramise käik.

0,5 ml tärkliselahust segatakse 0,3 ml fosfaatpuhvri ja 0,1 ml 3%-lise NaCl-lahusega. Pärast 10-minutist soojendamist temperatuuril 37^o C lisatakse 0,1 ml vereseerumit. Segatakse hästi ja inkubeeritakse täpselt 30 min. temperatuuril 37^o C. Hüdrolüüs katkestatakse 0,1 ml 0,1%-lise soolhappelahuse lisamisega. 0,2 ml saadud lahust viiakse 50-ml mõõtekolbi. Lisatakse umbes 40 ml destilleeritud vett, 0,5 ml soolhappelahust ja 0,1 ml joodilahust ning täiendatakse veega märgini.

Paralleelselt põhiproovile valmistatakse kontrollproov, millele aga vereseerumit ei lisata ja mida ei inkubeerita. Mõlemas proovis määratakse kohe ekstinktsioon punase filtri juures (lainepikkus 656 nm), võrreldes destilleeritud veega. Hüdrolüüsumud tärklis arvutatakse järgmiselt:

E kontrollproov - E põhiproov . 10 . 20 (mg tärklis, kontrollproov)

mis on hüdrolüüsitud 1 ml vereseerumi poolt 1-tunnisel inkubatsioonil temperatuuril 37° C).

10 - tärglise hulk mg-des, mis on viidud kontrollproovi ja põhiproovi.

20 - ümberarvutamise koefitsient 1 ml seerumile ja 1 t inkubatsioonile.

Norm vereseerumis 400 ühikut Smith-Roe järgi.

Amllaasi ekskretsioon uriiniga S. A. D. Bouchier'i järgi (Bouchier, S., 1969) 150 - 60 üh/t on normi piires.

Kasutatud kirjandus

Унифицированные методы клинических лабораторных исследований. Выпуск I. Москва, 1970.

10. TRÜPSIINI AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE DUODENAALMAHLAS

Meetod põhineb trüpsiini lõhustaval toimel sünteetilisele värvitule substraadile bensoüülarginin-p-nitroaniliidile, kusjuures moodustub värviline p-nitroaniliin, mille hulk määratakse kolorimeetriliselt.

Aparatuur. Termostaat (parem on vesitermostaat).

Spektrofotomeeter (näit. CF-4 või CF-4A).

Reaktiivid. 1. 0,2 M barbitaalnaatrium (medinaal) :
41,2 g barbitaalnaatriumi lahustatakse
1 liitris destilleeritud vees. Säilitatakse külmutuskapis.

2. 0,2 M HCl.

3. Veronaalpuhver pH 8,2: 50 ml-le barbitaalnaatriumi lahusele lisatakse 12,7 ml 0,2 M HCl ja täidetakse destilleeritud veega 200 ml-ni. Säilitatakse külmutuskapis.

4. Dimetüülformamiid.
5. Bensoüülarginiin-p-nitroaniliidi 20-mg%-line lahus veronaalpuhvrís: 2 mg ainet lahustatakse 0,1 ml dimetüülformamiidis ja täiendatakse veronaalpuhvriga 10 ml-ni. Valmistatakse vahetult enne määramist.
6. 0,5 N HCl.
7. 0,14 N NaCl lahus: 8,12 g NaCl lahustatakse 1 liitris destilleeritud vees.
8. 0,1 μ M p-nitroaniliin: 13,8 mg p-nitroaniliini lahustatakse 1 liitris destilleeritud vees.

Määramise käik.

1 ml duodenaalmahlale lisatakse 9 ml 0,14 N NaCl lahust, segatakse. Nii kontrollproovi kui põhiproovi katseklaasidesse valatakse 0,5 ml lahjendatud duodenaalmahla ja lisatakse 4 ml 20-mg% bensoüülarginiin-p-nitroaniliidi lahust.

Kontrollproovile lisatakse kohe 0,5 ml 0,5 N HCl lahust fermentreaktsiooni katkestamiseks ja asetatakse termostaati temperatuuril 37° C 30 minutiks.

Põhiproov asetatakse samuti 30 minutiks temperatuurile 37° C ja pärast seda lisatakse 0,5 ml 0,5 N HCl. Spektrofotomeetriga määratakse kontrollproovi ja põhiproovi optilised tihedused lainepikkusel 410 nm.

Kuna mõningatel juhtudel toimub põhiproovis lahuse hägustumine, siis vastava paranduse sisseviimiseks tuleb määrata optiline tihedus nii kontroll- kui ka põhiproovis samuti 550 nm lainepikkuse juures, kus vabanenud p-nitroaniliin spetsiifilist neeldumist ei anna.

Arvutuskäik.

$$\frac{\Delta E_{410} - \Delta E_{550}}{A} \cdot 166,7 \text{ milliühikut,}$$

kus ΔE_{410} - erinevus põhiproovi ja kontrollproovi optiliste tiheduste vahel lainepikkusel 410 nm;

- ΔE_{550} - erinevus põhiproovi ja kontrollproovi optiliste tiheduste vahel lainepikkusel 550 nm;
A - 50 μ M p-nitroaniliini lahuse optiline tihedus.

Kasutatud kirjandus

A.A. Покровский. Биохимические методы исследования в клинике. Москва. Изд. "Медицина", 1969, стр. 210 - 211.

11. LIPAASI MÄÄRAMISE METOODIKA

Meetod põhineb lipaasi toimel oliiviõli emulsioonist vabanevate rasvhapete tiitrimisel. Kirjeldatud on määramise käik vereseerumis, sama meetodit saab kasutada ka lipaasi määramiseks pankrease ja teiste seedenäarmete nõres.

Aparatuur. Vesitermostaat.

Homogenisaator.

- Reaktiivid. 1. Oliiviõli (Oleum olivae neutralisatum, sterilisatum).
2. Tris-puhver (trioksimetüülamiinmetaan) pH 8,0.
3. 0,05 N NaOH.
4. Etüülalkohol 96°.
5. 1%-line fenoolftaleiini lahus 70° alkoholis. (põrdeala pH)
6. 2%-line tümoolftaleiini lahus 96° alkoholis. (põrdeala pH)
7. 0,4%-line Na-desoksükolaat (Na-desoksükolaati on võimalik valmistada ka desoksükoolhappest NaOH lisamisega.)

Tris-puhvri valmistamine.

6,06 g Tris-puhvrit lahustatakse ca 900 ml bidestilleeritud vees, 1 N HCl lahuse lisamisega reguleeritakse la-

huse pH 8,0-ni ja täidetakse kolb destilleeritud veega märgini.

Määramise käik.

Vahetult enne katse algust valmistatakse vajalik hulk oliiviõli emulsiooni: segatakse 40 ml Tris-puhvrit, 8 ml oliiviõli ja 1 ml Na-desoksükolaati (emulgaator). Segu homogeniseeritakse 5 min. (3000 pöört minutis).

0,2 - 1,0 ml vereseerumile lisatakse 0,1 ml Na-desoksükolaati (aktivaator) ja 3 ml oliiviõli emulsiooni (substraat).

Paralleelselt igale määramisele tehakse kontrollkatse, kus vereseerumi asemel võetakse sama hulk füsioloogilist lahust. Kõik proovid inkubeeritakse termostaadis temperatuuril 37° C 1 tund.

Fermendi toime katkestamiseks lisatakse pärast inkubeerimist 5-10 ml etanooli igale proovile. Lisatud alkohol lahustuvad ka fermendi toimel vabanenud rasvhapped ja on paremini tiitritavad.

Järgnevalt proovid tiitritakse 0,05 N NaOH-ga, kasutades indikaatorina fenoolftaleiini või tümoolftaleiini. Esimesega saadakse mõnevõrra madalamad tulemused, teise puhul on aga värvuse üleminek raskemini fikseeritav.

Lipaasi aktiivsuse ühikuks Moerloosi järgi on selline fermendi hulk, mis katsetingimustes vabastab rasvast 10 ekvivalenti hapet (rasvhapet) minutis.

Arvutuskäik:

$$N_n = \frac{N_a (V_a - V_o)}{V_h} \quad U_1 = \frac{N_h \cdot 100 \cdot V}{60}$$

- N_h - tiitritava lahuse normaalsus (happe g-ekvivalentide arv 1 liitris lahuses).
 V_h - tiitrimiseks võetud lahuse ruumala ml.
 N_a - NaOH-lahuse normaalsus.
 V_a - proovi tiitrimiseks kulunud NaOH hulk ml.
 V_o - kontrollproovi tiitrimiseks kulunud NaOH hulk ml.
 U_1 - lipaasi aktiivsuse ühikute arv 1 ml uuritavas lahuses.
 V - proovi üldmaht (seerum, substraat, etanool, Na-desoksükolaat).
 100 - happe ekvivalentide arvu ümberarvutamiseks kümneteks ekvivalentideks.
 60 - inkubeerimise kestus minutites.

Analüüs tuleb teha võimalikult värskest seerumist. Külmutatult säilib seerum nädal aega. Toatemperatuuril säilitamiseks võib lisada 1 tilga toluueeni 5 ml seerumi kohta, lipolüütiline aktiivsus sellest ei muutu.

Kasutatud kirjandus

- H. Weber. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 26, 1157 - 1196, 1965.
 N.W. Tietz, T. Borden, J.D. Stepleton. Am. J. Clin. Path., vol. 31, 2, 148 - 154, 1959.
 R.J. Henri, C. Sobel, S. Berkman. Clinical Chemistri, vol. 3, 2, 77 - 89, 1957.
 P. Moerloos, Pharmac. weekbl., 98. N^o 14, 544 - 546, 1963.

Soovitav kirjandus

- Balint, P. Lehrbuch der Physiologie. Budapest, 1963.
- Bouchier, S.A.D. Clinical investigation of gastrointestinal function. Oxford, Edinburgh, 1969.
- Cheret, A.M., Bonfils, S. Pepsine et pepsinogene. Path. Biol., 1970, 18, 5 - 6, 317 - 342.
- Davenport, H.W. The physiology of the digestive tract. Chicago, 1962.
- Gregory, R.A. Secretory mechanisms of the gastrointestinal Tract. London, 1962.
- Gülzow, M., Koelsch, K., Kuntzen, H. Gastroenterologie, Jena, 1969.
- Haschen, R.J. Enzymdiagnostik. Jena, 1970.
- Ilomets, T., Teesalu, S., Koppel, H. Koera pankrease nõre ja vereplasma proteinogramm. TRÜ Toime- tised, 1964, 163, 247 - 250.
- James, A.H. The physiology of gastric digestion. London, 1957.
- Keevallik, R. Sülje pH muutustest sportlastel treeningu vältel. Auhinnatöö. Tartu, 1969.
- Käer-Kingisepp, E., Epler, M., Vasar, E., Teesalu, S., Hansson, E. Füsioloogia praktikum. Tartu, 1971.
- Menguy, R.M.D. Gastric mucus and the gastric mucous barrier. Am. J. Surg., 1969, 117, 6, 806-812.
- Männik, E., Lõokene, A., Kalda, K., Mere, A. Pankrease funktsiooni hindamisest kroonilise pankrea- tiidi haigetel. Üliõpilaste võistlustöö. Tartu, 1968.
- Rapoport, S.M. Medizinische Biochemie. Berlin, 1962.

- Rothman, S.S. Exocrine Secretion from the isolated Rabbit pancreas. Nature, 1964, 204, 4953, 98 - 99.
- Salupere, V. Gastriit. Tartu, 1968.
- Salupere, V. Pankreatiit. Tartu, 1971.
- Strassner, W. Laborwerte und ihre klinische Bedeutung. Berlin, 1969.
- Teesalu, S. Pankrease sekretoorse talitluse uurimine koertel kroonilises katses mitmesuguste mõjustuste puhul. Kand.-diss., Tartu, 1965.
- Texter, Physiology of gastrointestinal tract. 1966.
- Бродский В.Я. Трофика клетки. Изд. "Наука", Москва 1966.
- Классификация и номенклатура ферментов. Москва 1962.
- Коротько Г.Ф. Инкреция и выделение пепсиногена. Изд. "Медицина", Ташкент 1965.
- Кяр-Кингисепп Э.Г., Тээсалу С.А. К вопросу о продолжительности секреторной работы гейденгайновских желудочков. Учен. зап. ТГУ Гастроэнтерология, 1968, 215, 52-55.
- Линар Е.Ю. Кислотно-образовательная функция желудка в норме и патологии. Изд. "Зинатне", Рига, 1968.
- Мищенко Н.С., Веремеенко К.Н., Кизим А.И. Патол.физиол. и эксперим. терапия. 1966, 10, 2, 61.
- Новые методы хирургической подготовки животных для хронических опытов. Под ред. проф. Склиарова Я.П. Львов, 1962.

- Руссак С.А. Распространение кариеса зубов и его связь с изменением гормонального состояния организма и некоторых биохимических свойств смешанной слюны. Автореферат канд. дисс. Рига, 1969.
- Сперанская Е.Н. Методики операций на собаках и проведения хронических опытов в физиологии. Москва, 1963.
- Унифицированные методы клинических лабораторных исследований. Москва, 1970.
- Щубникова Е.А. Цитология и цитофизиология секреторного процесса. Изд. Московского университета 1967.

S i s u k o r d

Sissejuhatus	3
I. Seedenäärmete basaalsekretsioon, sekretsiooni stimuleerimine ja humoraalne regulatsioon.	5
II. Seedetrakti perioodiline tegevus	13
III. Seedenõrede kogumine eksperimendi tingimustes	13
IV. Seedenõrede analüüsimise üldprintsipiibid	16
V. Seedenõrede valkude uurimine elektroforeesi meetodil	21
VI. Süljenäärmete sekretsiooni (salivatsiooni) uurimine	23
VII. Maosekretsiooni uurimine	25
VIII. Pankrease sekretsiooni uurimine	28
IX. Seedetrakti fermentide esinemine veres ja selle määramise diagnostilisest tähtsusest..	32
X. Praktilised tööd suurte seedenäärmete talitluse uurimisel	33
1. Salivatsiooni uurimine inimesel	33
2. Sülje agarelektroforees	35
3. Maosekretsiooni uurimine väikemaoga koeral	35
4. Maonõre soolhappesisalduse tiitrimine (Michaelise järgi)	36
5. Proteolüütiliste fermentide määramine maonõres	41

6. Pankrease sekretsiooni uurimine kroonilises katses	42
7. Pankrease nõre paberelektroforees	43
8. Pankrease nõre geelelektroforees polüakrüülamiidgeelis	45
9. Amülaasi aktiivsuse määramine (Smith-Roe mikromeetod)	45
10. Trüpsiini aktiivsuse määramine duodenaalmahlas	47
11. Lipaasi määramise meetodika	49
Kirjandus	52

С.Тевсалу, Т.Хиврикус
 ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИИ ЖЕЛЕЗ ПИЩЕВАРЕНИЯ
 На востонском языке
 Тартуский государственный университет
 ЭССР, г.Тарту, ул. Юликооли, 18.
 Vastutav toimetaja E. Hansson
 Korrektor M. Raissa

Paljundamisele antud 7.X 74. Trükipaber nr. 1, 30x42.1/4. Trükipoognaid 3,5. Ping-trükipoognaid 3,26. Arvestuspoognaid 2,6. Trükiaev 500. MB 07564. Tell. nr. 1062. TRÜ trükikoda, ENSV, Tartu, Pälsoni t.14.

Hind 9 kop.