

S. JÓŹKIEWICZ, J. STANOSEK, M. PUCHALIK, J. GRZESIK

BADANIA NAD WPŁYWEM POLA AKUSTYCZNEGO I ULTRAAKUSTYCZNEGO NA PROCESY BIOCHEMICZNE

II. WPŁYW NA POZIOM LIPIDÓW CAŁKOWITYCH, LIPOPROTEIDÓW ORAZ BIAŁKA I FRAKCJI BIAŁKOWYCH KRWI ŚWINEK MORSKICH

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Śląskiej A. M. w Zabrze-Rokitnicy
Kierownik: doc. dr *S. Józkiwicz*

Z Zakładu Fizyki Lekarskiej Śląskiej A. M. w Zabrze-Rokitnicy
Kierownik: prof. dr *M. Puchalik*

Z Instytutu Medycyny Pracy w Przemyśle Węglowym i Hutniczym w Zabrze-Rokitnicy
Dyrektor: prof. dr *B. Nowakowski*

W poprzednich badaniach [5] stwierdziliśmy, że dłuższe działanie pola akustycznego i ultraakustycznego generatora strumieniowego wywołuje we krwi świnek morskich spadek poziomu glikozy i zwyżkę kwasu pirogronowego. Wytworzoną hipoglikemię, utrzymującą się jeszcze przez czas dłuższy po ustaniu bodźców, uważamy za jedną z przyczyn tzw. „choroby ultradźwiękowej”.

Należało przewidywać, że w takich warunkach bionegatywnych wpływów na gospodarkę węglowodanową, nastąpi w ustroju zwiększenie innych procesów metabolicznych dla wyrównania niedoborów energetycznych. Zaobserwowany przez nas równocześnie spadek napięcia powierzchniowego w surowicy krwi większości badanych podówczas świnek morskich [5] nasuwał przypuszczenie, że chodzi tu przede wszystkim o zwiększenie przemian tłuszczowych.

Celem niniejszej pracy było potwierdzenie takiego założenia przez pomiar lipidów całkowitych. Zwróciliśmy ponadto uwagę na zachowanie się frakcji lipoproteidowych i białkowych krwi.

METODYKA

20 świnek morskich płci męskiej, wagi około 600 g, hodowanych w identycznych warunkach, poddawaliśmy działaniu generatora strumieniowego typu Hartmanna (w modyfikacji *Matuty*) w ciągu 24 dni, po 30 minut dziennie. Analizę pola (częstotliwość: 100 Hz do 50 000 Hz; natężenie: 160 [\pm 5] db) wytwarzanego przez generator tego typu oraz technikę i czas pobierania prób krwi podaliśmy uprzednio [5].

Lipidy całkowite w surowicy krwi oznaczaliśmy metodą *Huergi, Jesincka i Poppera*.

Rozdział lipoproteidów i analizę białek surowicy krwi przeprowadziliśmy metodą elektroforezy bibułowej według *Magasa*. Barwienie pasków i eluowanie frakcji wykonaliśmy metodą *Swahna*.

WYNIKI

Wyniki pomiarów poziomu lipidów całkowitych w surowicy krwi przedstawia tab. 1, zmiany frakcji lipoproteidowych w surowicy krwi są zebrane w tab. 2, zmiany zawartości białek i przesunięcia we frakcjach białkowych w surowicy krwi ilustruje tab. 3.

Tabela 1. Średnie wartości poziomu lipidów całkowitych (w mg^{0/0}) w surowicy krwi
Table 1. The mean value of total lipid levels (in mg^{0/0}) in serum of guinea pigs

	Grupa kontrolna (b)	Grupa nadźwiękawiana		
		24 razy (c)	b a d a n a	
			po 8 dniach po zakończeniu nadźwiękawiań (d)	po 24 dniach nadźwiękawiań (e)
Poziom lipidów całkowitych (w mg ^{0/0}) w surowicy krwi (a)	310	402,5	503	315
Fm	±12,14	±25,48	±34,28	±49,18

Total lipid level in mg^{0/0} (a), control group (b), determination in serum of the exposed group after 24 exposures (c), 8 days after the last exposure (d), 24 days after the last exposure (e).

Tabela 2. Wyniki elektroforetycznych badań frakcji lipoproteidowych surowicy krwi
Table 2. Results of the electrophoretic determination of lipoproteids in serum of guinea pigs

	Grupa kontrolna (a)	Grupa nadźwiękawiana	
		24 razy (b)	badana po 24 dniach po zakończeniu nadźwiękawiań (c)
Fracja alfa	20,9±2,0	22,6±3,0	25,4±2,4
Fracja beta	57,8±2,1	57,8±5,0	52,6±3,6
Reszta	23,3±3,0	19,6±2,0	21,9±1,6

Control group (a), determination of the exposed group after 24 exposures (b), 24 days after the last exposure (c).

Tabela 3. Wynik elektroforetycznych badań białek surowicy krwi
Table 3. Results of electrophoretic determination of serum protein

	Grupa kontrolna (b)	Grupa nadźwiękawiana			
		11 razy (c)	24 razy (d)	b a d a n a	
				po 8 dniach po zakońc. (e)	po 24 dniach nadźwiękawiań (f)
Ogólny poziom białka w g% (a)	5,65±0,13	5,51±0,10	6,26±0,10	6,11±0,31	6,26±0,21
Albuminy %	36,2±0,66	34,2±2,1	30,8±0,70	30,9±0,91	37,2±1,15
α-Globuliny %	26,5±0,49	25,9±0,76	26,7±0,59	25,7±0,76	24,8±0,24
β-Globuliny %	20,0±0,72	21,5±1,2	21,6±0,53	21,7±0,78	22,1±1,22
γ-Globuliny %	17,3±0,69	18,4±1,27	20,9±1,08	22,0±0,97	15,7±0,53

Total protein in g% (a), control group (b), determinations in serum of the exposed group after 11 exposures (c), after 24 exposures (d), 8 days after the last exposure (e), 24 days after the last exposure (f).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zgodnie z przewidywaniem stwierdziliśmy wzrost poziomu lipidów całkowitych w surowicy krwi (tab. 1), jako wyraz mobilizacji rezerw tłuszczowych. Za zwiększoną przemianą tłuszczową w ustroju świnek morskich, poddanych działaniu pola akustycznego i ultraakustycznego, przemawiają z kolei przesunięcia we frakcjach lipoproteidowych (tab. 2), a w szczególności wzrost frakcji alfa [3].

Zwyżka frakcji alfa kosztem frakcji beta lipoproteidów oznacza przejście większych i mniej ruchliwych cząsteczek lipoproteidów w drobiny mniejsze i bardziej ruchliwe w polu elektrycznym [13]. Przyjmuje się ostatnio [11], że w grupie α przeważają fosfolipidy i monoglicerydy, związki ułatwiające — jak wiadomo [4, 7] — prawidłowe wchłanianie tłuszczów.

Wzrost frakcji α-lipoproteidów utwierdza nas ponadto w mniemaniu, wyrażonym w pracy poprzedniej [5], iż zwiększona zawartość fosfolipidów i monoglicerydów jest przyczyną zaobserwowanej obniżki wartości napięcia powierzchniowego w surowicy krwi świnek morskich, badanych podówczas w takich samych, jak obecnie, warunkach nadźwiękawiań. Dalszym argumentem za słusznością takiej interpretacji byłby i ten fakt, iż po 24-dniowej przerwie od chwili ustania nadźwiękawiań obserwujemy spadek zwiększonego poziomu lipidów całkowitych (tab. 1), w tym samym

okresie czasu stwierdziliśmy u większości zwierząt powrót wartości napięcia powierzchniowego surowicy krwi do normy [5].

Obok zmian w przemianach węglowodanowych i tłuszczowych u świnek morskich, poddanych działaniu silnych dawek energii generatora strumieniowego, stwierdzamy także zmiany w metabolizmie białek (tab. 3). W szczególności zaznacza się statystycznie znamienne wzrost ogólnego poziomu białek oraz spadek poziomu frakcji albuminowych, przy wzroście wszystkich, a przede wszystkim γ , frakcji globulinowych.

W piśmiennictwie naukowym spotyka się [2, 8] opisy badań nad wpływem pola ultraakustycznego na krew, o częstotliwościach znacznie wyższych (800—1000 kHz) niż je daje generator typu Hartmanna. Wydaje się, iż zmiany białek krwi pod wpływem ultradźwięków w tym przedziale częstotliwości mogą być wywołane dwojako. Bezpośredni wpływ energii ultradźwięków na drobinę białkową, powodując zmiany w jej stanie koloidowym, własnościach chemicznych i biologicznych, doprowadza w konsekwencji do objawów, jakie towarzyszą wprowadzeniu do ustroju białka obcogatunkowego. Ten mechanizm terapeutycznego działania ultradźwięków przyjmuje m. in. *Stuhlfauth*. Należy przypuszczać, że takie zmiany białek są następną, obok hipoglikemii, przyczyną „choroby ultradźwiękowej”.

Zmiany w białkach można też tłumaczyć pośrednim wpływem pola ultraakustycznego na narządy krwiotwórcze. Wynikiem tego działania będą zmiany ilościowe i jakościowe widma białkowego. Białko tak zmienione zachowuje nadal swoje cechy bioserologiczne, można je zatem uważać za białko rodzime.

W piśmiennictwie spotyka się [2, 8] głównie doniesienia z badań (w większości *in vitro*, rzadziej *in vivo*) nad bezpośrednim wpływem ultradźwięków na białka krwi. Stwierdzono m. in. przyśpieszenie OB, silne utlenienie hemoglobiny, przesunięcie pH krwi w stronę zasadową. Te zmiany tłumaczy się częściowo zjawiskiem kawitacji [15]. Należy zaznaczyć, iż w większości doniesień nie opisano dokładnych warunków doświadczeń, a zwłaszcza ilości dawek i czasu nadźwiękawiania, stąd też i odmienne wyniki różnych obserwacji. Jedni z autorów wykazali zwiększenie poziomu γ -globulin, przy braku zmian we frakcji albuminowej [12, 15], inni badacze [1, 14] wykazali wzrost frakcji albuminowych kosztem frakcji globulinowych. Zagadnienia wpływu ultradźwięków na białka krwi są zatem nadal otwarte.

Brak dotychczas doniesień na temat zachowania się białek krwi pod wpływem pola akustycznego i ultraakustycznego, wytworzonego generatorem typu Hartmanna. Mogło by się wydawać, iż energia pola takiego generatora nie powinna wywoływać znamienych przesunięć w białkach krwi. Nie potwierdzają jednak takiego mniemania wyniki naszych badań.

Jak wiadomo — w warunkach patologicznych poziom białka we krwi raczej się obniża niż podwyższa. W naszych doświadczeniach stwierdzamy wzrost ogólnego poziomu białek surowicy krwi (tab. 3).

W warunkach patologicznych nawet przy poziomie prawidłowym białek obserwuje się przesunięcia poszczególnych frakcji białkowych. Nie spotyka się zwyżki poziomu albumin, natomiast wiele chorób przebiega z obniżeniem tej frakcji białkowej. Zgodnie z tymi obserwacjami stwierdziliśmy również w naszych badaniach spadek albumin (tab. 3).

Nie wiadomo dlaczego we krwi badanych przez nas zwierząt dochodzi do zwiększenia poziomu γ -globulin, skoro w wyniku działania energii akustycznej i ultraakustycznej, a przede wszystkim ultraakustycznej, powinno się oczekiwać raczej przesunięć w kierunku ich rozbitcia. Podobne zwiększenie frakcji γ -globulin w surowicy krwi końskiej, poddanej wpływowi ultradźwięków, stwierdzili *Prudhomme* i *Grabar*.

Wydaje się nam, że obserwowany spadek albumin, przy wzroście frakcji globulinowych, jest wyrazem czasowego uszkodzenia wątroby. Tłumaczyłoby to obserwowaną równocześnie hipoglikemię. W takich warunkach biogenatywnych wpływów silnych dawek pola akustycznego i ultraakustycznego organizm zwierzęcy powiększa przemiany tłuszczowe, dla wyrównania niedoborów energetycznych. Przyjmujemy z pewnym prawdopodobieństwem, że — wobec równoczesnych zahamowań prawidłowych obrotów cyklu cytrynianowego — zwiększają się także przemiany białkowe, między innymi transaminacje. Wyjaśnią to dalsze badania.

С. Юзькевич, Ю. Станосек, М. Пухалик, Я. Гжесик

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО И УЛЬТРААКУСТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ.

II. Влияние на уровень липидов, липопротеидов, белков и белковых фракции в крови морских свинок.

Содержание

В предыдущей работе [5] авторы наблюдали гипогликемию и повышение уровня пировиноградной кислоты в крови морских свинок, подверженных длинному действию акустического и ультраакустического аэродинамического генератора.

В настоящих опытах обнаружено у животных, как прежде облученных, повышение уровня липидов, как выражение мобилизации жировых резервов. Одновременное повышение фракции альфа-липопротеидов сыворотки крови за счет бета-фракции может свидетельствовать об этом.

Акустическое и ультраакустическое поле вызывает тоже изменения белков крови морских свинок. Обнаружено повышение общего уровня белков, снижение уровня альбуминов при одновременном повышении всех, главным образом гамма, глобулиновых фракции, вероятно с причины временного повреждения печени.

S. Józkiewicz, J. Stanosek, M. Puchalik, J. Grzesik

INVESTIGATIONS OF THE INFLUENCE OF ACUSTIC AND ULTRAACUSTIC FIELD ON BIOCHEMICAL CHANGES

II. The influence on total lipid level, lipoproteids, serum proteins and electrophoretic fractions in serum of guinea pigs

Summary

In the previous publication [5] the authors observed a decrease of glucose level and increase of pyruvic acid level in blood of guinea pigs, exposed for 30 minutes daily to the acustic and ultraacustic field of the aerodynamic generator for 24 subsequent days.

In the present paper the authors discuss the results of determined total lipids, lipoprotein fractions, proteins and electrophoretic fractions of proteins in serum of guinea pigs, exposed to the influence of this generator in the same conditions. The observed increase of total serum lipids may be a phenomenon of lipid reserve mobilization. This acceptance may be supported by the fact of simultaneous increase of the alpha, and the decrease of the beta lipoprotein fraction.

The acustic and ultraacustic field of the aerodynamic generator leads also to changes in serum levels and electrophoretic fractions. An increase of serum proteins, decrease of albumin and general increase of all globulin fractions were observed. The highest of all was the increase of the gamma globulin fraction. This may be a sign of the temporally destruction of the liver parenchyme.

PIŚMIENNICTWO

1. Baumgartl F., Gleiss J.: *Arztl. Wschr.*, 1952, 7, 574.
2. Bergmann L.: *Der Ultraschall und seine Anwendung in Wissenschaft und Technik*, 6A., S. Hirzel Stuttgart, 1954.
3. Eder H., Russ E. M., Prichett R. A. R., Wilber M. W., Barr D. P.: *J. clin. Invest.*, 1955, 34, 1147.
4. Frazer A. C.: *Physiol. Rev.*, 1940, 20, 561; 26, 103; *Exp. Cell. Res. Suppl.*, 1949, 1, 331.
5. Grzesik J., Józkiewicz S., Puchalik M., Stanoszek J.: *Acta Physiol. Polon.*, 1960, 11, 223.
6. Huerga De La J., Jesinck C., Popper H.: *Amer. J. Clin. Path.*, 1953, 23, 1163.
7. Józkiewicz S.: *Wiadom. Chem.*, 1957, 9, 487.
8. Józkiewicz S.: *Ultradźwięki w biologii i medycynie*, *Wiadom. Chem.* 1960, 14, 39.
9. Magas S.: *Postępy Biochemii*, 1956, II, 157.
10. Matuła B.: *Postępy Akustyki*, Poznań, 1956, Nr 1.
11. Oncley J. L., Scatchard G., Brown A.: *Physic Chem.*, 1947, 51, 184.
12. Prudhomme R. O., Grabar P.: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1947, 29, 122.
13. Schramm G.: *Angew. Chem.*, 1941, 54, 7.
14. Stolz A., Seydl G.: *Der Ultraschall in der Medizin Kongressbericht der Erlanger Ultraschalltagung*, 1959, S. Hirzel Zurich, 1949.
15. Stuhlfauth K.: *Ultraschallwellen in der Medizin (Kongressbericht der Erlanger Ultraschalltagung 1949)*, 189.
16. Swahn B.: *Scand. J. clin. lab. Invest.*, 1952, 4, 98.

Otrzymano: 25. 10. 1959.