

T. PALIWODA, S. ZIAREK, F. KOKOT

## ZASTOSOWANIE AMINOKWASÓW W DOŚWIADCZALNYM WSTRZĄSIE URAZOWYM

Z Kliniki Chirurgicznej Śląskiej A. M. w Zabrze  
Kierownik: doc. dr S. Szyszko  
Z III Kliniki Chorób Wewn. Śląskiej A. M. w Bytomiu  
Kierownik: prof. dr K. Gibiński

Celem niniejszej pracy było stwierdzenie:

1. Czy dożylne podanie aminokwasów w początkowym okresie wstrząsu urazowego wpływa w sposób znamieny na odsetek zwierząt przeżyjących wstrząs lub średni czas przeżycia psów, które padają bezpośrednio wskutek wstrząsu.

2. Czy podanie aminokwasów do żyły wrotnej zamiast do żył obwodowych wpływa na długość przeżycia psów poddanych doświadczalnemu wstrząsowi urazowemu.

3. Czy dożylne podanie aminokwasów wpływa na charakter widma białkowego normalnie obserwowanego we wstrząsie urazowym.

### METODYKA

Badania przeprowadzono na psach oży płci, wagi od 7 do 17 kg. Wstrząs urazowy wywołano przez miażdżenie mięśni uda po ich uprzednim wypreparowaniu. Rozległość miażdżenia mięśni dostosowana była każdorazowo do wagi zwierzęcia. Miażdżenie mięśni wykonano w w narkozie pentotalowej (25 mg/kg wagi dożylnie). Równocześnie ze zmiażdżeniem mięśni psom usuwano śledzionę. Wszystkie zwierzęta podzielono na trzy grupy.

Grupa pierwsza składała się z 10 zwierząt, którym po wywołaniu wstrząsu nie podano żadnego leku.

Grupa druga obejmowała 10 psów, którym po wywołaniu wstrząsu podano roztwór aminokwasów (Aminolijn — 3,5% roztwór aminokwasów przygotowany na 5% roztworze glukozy) wprost do żyły śledzionowej.

Grupa trzecia składała się również z 10 zwierząt, którym po wywołaniu wstrząsu podano roztwór aminokwasów do jednej z żył obwodowych kończyn.

Przeciętna ilość podanego roztworu aminokwasów wynosiła 30 ml/kg wagi. Bezpośrednio przed wywołaniem wstrząsu jak również w odstępach 3-godzinnych po

zmiażdżeniu mięśni, dokonano pomiaru ciśnienia tętniczego krwi, częstości tętna i ilości oddechów.

Do oznaczeń ogólnej ilości białka w surowicy krwi i badań elektroforetycznych pobierano krew żylną bezpośrednio przed wywołaniem wstrząsu jak również na szczycie wstrząsu. Oznaczenia te wykonano w grupie pierwszej i drugiej. Ogólną ilość białka oznaczano mikrometodą Kjeldahla, poszczególne zaś frakcje metodą elektroforezy bibułowej.

Przy przeprowadzaniu rozdziału elektroforetycznego białek surowicy panowały następujące warunki: różnica napięć na elektrodach 350 V, natężenie prądu przypadające na pasek szerokości 2,5 cm wynosiło 1,5 miliampera, użyty bufor weronolowo-medinalowy o pH 8,6 miał siłę jonową 0,1  $\mu$ . Czas trwania elektroforezy wynosił 4,5 godziny. Paski barwiono azokarminem B po czym poszczególne pola odpowiadające podfrakcjom wycinano, barwik eluowano w 0,1 N NaOH i następnie zabarwienia eluatu odczytywano na fotometrze Pulfricha. Sumę ekstynkcji wszystkich frakcji określano jako 100%, z czego obliczano zawartość odsetkową poszczególnych frakcji. W naszych warunkach badania elektroforetycznego wśród globulin rozróżniano po dwie frakcje  $\alpha$  i dwie frakcje  $\beta$ -globulin oraz jedną frakcję  $\gamma$ -globulin. Po zakończeniu doświadczeń wszystkie psy poddawano badaniu pośmiertnemu. Wyniki tych badań omówiono w oddzielnej pracy (4).

## WYNIKI

Wyniki dotyczące czasu przeżycia zwierząt przedstawiono w tabeli 1. Badania ogólnego poziomu białek oraz wyniki badań elektroforetycznych grupy pierwszej i drugiej przedstawiono w tabeli 2 i 3. W tych ostatnich tabelach podano średnie wartości uzyskane u wszystkich zwierząt danej grupy.

1. Wpływ podania roztworu aminokwasów na zachowanie się czasu przeżycia zwierząt we wstrząsie urazowym.

Jak to widać z tabeli 1, wszystkie zwierzęta grupy pierwszej — kontrolnej — padły. Średni czas przeżycia wynosił w tej grupie 11 godzin.

Tabela 1. Średnia przeżycia psów we wstrząsie  
Table 1. Average survival time of dogs in shock

Grupa (1)	Liczebność grupy (2)	Przeżyło wstrząs (3)	Średni czas przeżycia pozostałych psów (4)
I	10	0	11 godz.
II	10	3	15 godz. 25 minut
III	10	4	26 godz. 50 minut

Group (1); number of animals (2); survivals (3); average survival time of remaining animals (4).

W drugiej grupie zwierząt otrzymujących roztwór aminokwasów bezpośrednio do żyły śledzionowej wstrząs przeżyły trzy psy, zaś średni czas przeżycia pozostałych 7 psów wynosił 15 godzin 25 minut.

Wśród zwierząt grupy trzeciej, którym podano roztwór aminokwasów do żył obwodowych kończyn, wstrząs przeżyły 4 psy, zaś średni czas przeżycia dla 6 padłych wynosił 26 godzin 50 minut.

2. Wpływ podania roztworu aminokwasów na zachowanie się ogólnej ilości białka i jego podfrakcji u psów we wstrząsie urazowym.

Jak to widać z tabeli 2 i 3 największy spadek ogólnej ilości białka i albumin obserwujemy w grupie kontrolnej. O ile ogólna ilość białka wykazuje spadek o 1,8 g<sup>o</sup>%, co równa się 25,7<sup>o</sup>% wartości wyjściowej, to albuminy spadają w tym samym czasie o 1,74 g<sup>o</sup>%, co odpowiada 59,0<sup>o</sup>% wyjściowej ich wartości. Innymi słowy cały prawie spadek zawartości białka w surowicy krwi odbywa się kosztem albumin.

Tabela 2. Wynik elektroforetycznych badań białek surowicy  
Table 2. Results of electrophoretic determination of serum protein

	Ogólny poziom białka w g% (1)	w t y m					
		albumin.	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\gamma$
I przed wstrząsem (2)	7,06 —	2,93 41,6%	0,43 6,08%	0,80 11,04%	0,53 7,3%	1,03 14,5%	1,34 19,12%
we wstrząsie (3)	5,24 —	1,19 22,84%	0,46 8,76%	0,75 14,6%	0,43 8,9%	0,75 14,0%	1,61 30,9%
II przed wstrząsem (4)	6,90 —	3,04 44,0%	0,46 6,6%	0,78 11,3%	0,46 6,6%	0,83 12,3%	1,33 19,2%
we wstrząsie (5)	5,46 —	2,19 40,6%	0,44 7,8%	0,68 12,5%	0,45 8,2%	0,64 11,0%	1,06 19,2%

Total protein in g% (1); I before shock (2); in shock (3); II before shock (4); after shock (5).

Mimo, że ogólna ilość globulin grupy kontrolnej nie podlega wyraźnej zmianie ilościowej, to w obrębie podfrakcji globulinowych obserwujemy wyraźny wzrost przede wszystkim  $\gamma$ -globulin kosztem spadku  $\beta_2$ -globulin. Pozostałe frakcje globulinowe nie wykazują większych odchyień od stanu wyjściowego.

W drugiej grupie zwierząt otrzymujących aminokwasy do żyły śledzionowej obserwujemy spadek ogólnej ilości białka o 1,44 g<sup>o</sup>%, co równa się

20,8% ich wyjściowej wartości. Spadek ogólnej ilości białka odbywa się kosztem albumin i globulin, przy czym spadek albumin jest większy od globulin. W grupie drugiej spadek albumin, wyrażony jako odsetek ich wartości wyjściowej, wynosi 27,5%. W odróżnieniu do grupy pierwszej,

Tabela 3.

Table 3.

Grupa (1)	Ogólna ilość białka (2)	Spadek ogólnego poziomu białka (3)		Po- ziom album. (6)	Spadek poziomu albuminy (7)		Po- ziom glob. w g% (10)	Spadek poziomu globuliny (11)	
		w g% (4)	jako % wartości wyjściowej (5)		w g% (8)	jako % wartości wyjściowej (9)		w g% (12)	jako % wartości wyjściowej (13)
I przed wstrząsem (14)	7,06			2,93			4,13		
we wstrząsie (15)	5,24	1,82	25,7	1,19	1,74	59,0	4,05	0,08	1,8
II przed wstrząsem (16)	6,90			3,04			3,86		
we wstrząsie (17)	5,46	1,44	20,8	2,19	0,85	27,7	3,27	0,59	15,2

Group (1); total protein (2); total protein fall (3); in % of original level (5); albumin level in g% (6); albumin fall (7); in g% (8); in % of original level (9); globulin level in g% (10); globulin fall (11); in g% (12); in % of original level (13); I before shock (14); in shock (15); II before shock (16); in shock (17).

w grupie drugiej obserwujemy już znaczniejszy spadek ogólnej ilości globulin i to o 15,2%. W tej grupie zwierząt na szczycie wstrząsu w obrębie podfrakcji globulinowych obserwujemy spadek przede wszystkim  $\beta_2$  i  $\gamma$ -globulin przy prawie niezmienionych podfrakcjach  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  i  $\beta_1$ -globulin.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zadany przez nas uraz wywołał niewyrównany wstrząs urazowy określany w piśmiennictwie nazwą nieodwracalnego. Wskazuje na to padnięcie wszystkich psów w grupie pierwszej — kontrolnej. Porównując wyniki uzyskane u psów grupy pierwszej z danymi grupy drugiej i trzeciej można przyjąć, że aminokwasy wywierają dodatni wpływ w zwalczaniu doświad-

czalnego wstrząsu urazowego i być może będą mogły znaleźć zastosowanie w leczeniu wstrząsu urazowego u ludzi. W grupie pierwszej żaden pies nie przeżył doświadczenia, w grupie drugiej zaś i trzeciej wstrząs urazowy przeżyło łącznie siedem psów, co równa się 35% wszystkich zwierząt grupy drugiej i trzeciej. Czas przeżycia psów, które ostatecznie padły w grupie drugiej i trzeciej był średnio o 10 godzin dłuższy, niż w grupie pierwszej. Podanie roztworu aminokwasów do żył obwodowych wywiera prawdopodobnie korzystniejszy wpływ na jego przebieg, niż podanie tego roztworu do żyły wrotnej. Mogłaby na to wskazywać dłuższa średnia przeżycia oraz przeżycie wstrząsu przez jednego psa więcej w grupie, której podano roztwór aminokwasów do żyły obwodowej. Potwierdzenie tego przypuszczenia wymaga jednak przeprowadzenia badań na większej liczbie zwierząt.

Zmiany zachodzące we wstrząsie w obrębie frakcji białkowych surowicy, podane przez poszczególnych autorów, nie są ze sobą zupełnie zgodne. Niektórzy z nich stwierdzili zmniejszenie ilości albumin i wzrost ilości globulin (1), inni zaś zmniejszenie frakcji globulin. Powodem tych rozbieżności są najprawdopodobniej różne warunki, w jakich były przeprowadzane badania. W naszej grupie pierwszej, w której psy po wywołaniu wstrząsu urazowego nie otrzymały żadnych środków, spadek białka dotyczył tylko albumin. Poziom globulin u tych zwierząt praktycznie pozostał niezmienny, jednakże w podfrakcjach globulin stwierdzono u zwierząt grupy kontrolnej pewien wzrost  $\gamma$  oraz spadek  $\beta_2$  przy prawie niezmiennych frakcjach  $\alpha_1$  i  $\alpha_2$  i  $\beta_1$ -globulin. Podawanie aminokwasów powoduje mniejszy spadek białka surowiczego, a szczególnie oszczędza albuminy.

Należy przypuszczać, że przyczyną obniżenia się poziomu białka, jaki stwierdziliśmy u zwierząt w badanych grupach, jest ich rozpad na aminokwasy. Powinno to teoretycznie prowadzić w konsekwencji do podwyższenia poziomu aminokwasów we krwi.

Doświadczenia innych autorów (2, 6) potwierdzają to przypuszczenie, przy czym wysuwane są różne koncepcje co do przyczyny rozpadu białek w surowicy (2, 3, 5, 6).

Skłaniamy się jednak do przypuszczenia, że w początkowym okresie wstrząsu urazowego wydolna jeszcze wątroba może zużytkować wolne aminokwasy na resyntezę większych kompleksów białkowych.

Ponieważ stosowany przez nas „aminolin” jest roztworem aminokwasów przygotowanym na 5% roztworze glukozy, nasuwa się pytanie, czy obserwowany przez nas wpływ tego leku na przeżycie zwierząt i widmo białkowe jest wynikiem samych tylko aminokwasów, czy też glukozy, względnie obu tych czynników razem wziętych. Zagadnienie to wymaga badań i będzie przedmiotem dalszych doświadczeń.

Wyniki naszych badań można ująć w następujących wnioskach:

## WNIOSKI

1. Roztwór aminokwasów podany we wczesnym okresie niewyrównanego wstrząsu urazowego przedłuża życie zwierzęcia doświadczalnego i może zapobiec nieodwracalności wstrząsu.

2. Stwierdzenie, czy nie ma istotnej różnicy w wynikach uzyskanych przy podaniu roztworu aminokwasów wprost do żyły wrotnej w stosunku do zwykłej drogi podawania, tj. do żył obwodowych, wymaga dalszych badań, gdyż wydaje się, że podawanie aminokwasów do żył obwodowych jest korzystniejsze.

3. W wywołanym przez nas wstrząsie doświadczalnym w grupie zwierząt kontrolnych nie otrzymujących żadnych lekarstw stwierdzono znaczne obniżenie poziomu białka i to wyłącznie kosztem albumin. Równocześnie stwierdzono pewien wzrost  $\gamma$ -globulin u zwierząt w tej grupie. U zwierząt otrzymujących roztwór aminokwasów spadek ogólnej ilości białka w surowicy krwi jest mniejszy i w mniejszym stopniu odbywa się kosztem albumin. W obrębie frakcji globulinowych tych zwierząt stwierdzamy nie wzrost a spadek  $\gamma$ -globulin oraz spadek  $\beta_2$ -globulin.

T. Паливода, С. Зярек, Ф. Кокот

#### ПРИМЕНЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТРАВМАТИЧЕСКОМ ШОКЕ

##### Содержание

Исследовалось влияние однократного введения аминокислот в периферические вены и в воротную вену на срок выживания в характер белкового спектра у собак у которых вызывали травматический шок.

На основании приведенных наблюдений авторы приходят к следующим заключениям:

1. Раствор аминокислот, вводимый в раннем периоде некомпенсированного травматического шока, удлиняет срок выживания животных и может предупредить необратимую фазу шока.

2. Определение лет ли каких либо существенных разниц в получаемых терапевтических эффектах при введении раствора непосредственно в воротную вену вместо периферических вен, требует дальнейших исследований. Возможно, что введение в воротную вену окажется более эффективным.

3. У животных, которым после произведения шока не подавали никаких средств (контрольная группа) наблюдалось значительное понижение уровня белков и то исключительно за счёт альбуминов. Группа животных, которым подавали аминокислоты (экспериментальная группа) отличалась менее выраженным понижением уровня белков, который относился равным образом за счёт альбуминов и глобулинов. В глобулиновых фракциях у всех животных наблюдалось понижение  $\beta_2$  глобулинов. Кроме того в группе контрольных животных отмечено повышение  $\gamma$  глобулинов, а в исследованной группе их понижение.

T. Paliwoda, S. Ziarek, F. Kokot

## THE USE OF AMINOACIDS IN EXPERIMENTAL TRAUMATIC SHOCK

## Summary

Aminoacids were injected in single doses into peripheral or the portal vein and the effect on survival time and protein spectrum of dogs in experimental traumatic shock were studied.

The results have led the authors to the following conclusions:

1. A solution of aminoacids administered in the early stage of an unstabilized traumatic shock extends survival time and may prevent the shock from becoming irreversible.

2. It appears preferable to inject the aminoacids directly into the peripheral veins, rather than into the portal vein, but this point needs to be further studied.

3. In animals which received no treatment after the experimental traumatic shock (controls), the protein level was considerably reduced, the fall affecting exclusively albumins. This fall was considerably milder in animals treated with the solution of aminoacids (experimental animals) and affected both albumins and globulins. Of the globulin subfractions,  $\beta_2$ -globulin fell in both group of animals. Furthermore,  $\gamma$ -globulin rose in control animals, but fell in animals of the experimental group.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bogdanikowa B., Chmiel J.: Pol. Tyg. Lek., 1956, 2, 1246. — 2. Engel F. L., Winton M. G.: J. Exper. Med., 1943, 77, 397. — 3. Hoar W. S., Haist R. E.: J. Biol. Chemistry, 1944, 154, 331. — 4. Paliwoda T., Sośniarz M., Ziarek S.: Patologia Pol. (w druku). — 5. Russell J. A., Long C. N., Wilhelmi A. E.: J. Exper. Med.: 1944, 79, 23. — 6. Sayers M. A., Sayers G., Engel M. G., Engel F. L., Long C. N.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1945, 60, 20.

Otrzymano dnia 23. IV. 1959 r.