

Рефракто-віскозиметричні зміни сироватки собак при експериментальній алкоголізації.

Д. Д. Шмаль (Київ).

Кафедра патологічної фізіології (зав.—проф. М. П. Вашетко) Київського медичного інституту (директор — д-р Шашко).

Знаючи великий вплив алкоголю на білкові колоїди, ми повинні очікувати на ті чи інші зміни в колоїдній системі крові при алкоголізації. Вивчення цих змін могло б дати деякий матеріал для розуміння впливу такої поширеної отрути, як алкоголь.

В усій приступній нам літературі майже не удалось знайти праць, які безпосередньо стосувались би цього питання.

У нашій роботі визначено коефіцієнт рефракції (nD) і в'язкості (η) у сироватці крові при отруєнні алкоголем. Ці ж коефіцієнти були переобчислені на відповідну кількість білків у сироватці (GE — Gesamt-einweis).

Об'єктами для експериментів були 5 собак (№№ 2, 4, 5 — самці і №№ 1, 3 — самиці) 2—3 років. Вранці натще ми їх отруювали через шлунковий зонд продажною 40° горілкою. Рацион тварин був звичайний — кістки голови, варена картопля, пшоняна та гречана каші. Кров бралася шприцем з пахвинного венозного сплетення — один раз на день до початку алкоголізації і в дні, вільні від неї; у дні ж алкоголізації кров бралася через 1½—2 години — перший раз, через 4—5 годин — другий раз і через добу — третій раз. Алкоголь вводилося 2—3 рази протягом тижня, кров же бралася значно рідше.

Для всіх досліджень потрібно було приблизно 5 куб. см крові. Собаці № 1 вводилося 6—10 г абсолютного алкоголю на кілограм ваги, собакам №№ 2, 3 і 4 — 2—4 г, собака № 5 була контрольною і їй вводилося відповідну кількість води.

Щодо загального впливу доз алкоголю і картини сп'яніння, то, як і в людей, у наших собак ми спостерігали надзвичайно великі індивідуальні особливості: тоді як деякі собаки переносили навіть значні дози алкоголю порівняно легко, деякі реагували на них надзвичайно бурхливими явищами збудження, які змінювались великим занепадом, що межував з коматозним станом.

Експерименти робилося над собакою № 1 — 59 днів, № 2 — 72 дні, № 3 — 64 дні, № 4 — 165 днів і № 5 — 165 днів.

Методи визначення.

Рефрактометрія. nD визначався рефрактометром Аббе з нагрівними призми. Reiss* показав, що у сироватці головну частину nD становить білок; цей автор опрацював таблицю для переобчислення nD на

* Reiss E. — Refraktometrische Bluteintersuchungen. Abderhald. Handbuch d. biol. Arbeitsmeth. Bd. IV, T. III, H. 1—3, S. 299—344 (1924).

загальну кількість білку сироватки, за якою ми й у своїй роботі обчислювали білок. Помилка цього методу становить приблизно 0,3%. Сироватку здобувалося відстоюванням протягом кількох годин і дальшим центрофугуванням при невеличкій кількості обертів. Сироватку з слідом гемолізу не вживалося. Щоб обчислити відносний об'єм сироватки SV (*Serumvolumen*), визначалося nD сироватки крові, розведеної вдвоє і вчетверо фізіологічним розчином кухонної солі ($nD = 1,33440$) і обчислювалося за формулою:

$$SV = \frac{K(R_x - R_k)}{R - R_k},$$

де K — відносний об'єм фізіологічного розчину, R_k — його рефрактор (nD), R_x — nD суміші і R — nD чистої сироватки.

За SV бралася середню величину двох розведень. Ми повинні зробити застереження, що своїм цифрам SV великої ваги не надаємо, бо помилково ми взяли розведення значно більші, ніж це рекомендується, тобто в 2 і 4 рази замість $1/2$ — $3/4$. Крім того, точність цього методу в літературі під великим сумнівом.

Віскозиметрія. Визначення η робилося з допомогою великої моделі віскозиметра Hess'a для сироватки. За η бралася середню величину 3—5 визначень. На нашу думку, ця велика модель не зовсім заслуговує на назву „*praecission Viskosimeter*“, бо при практичному її застосуванні є багато джерел для помилок. Naegeli* наводить таблицю, яка дає змогу за η обчислити GE ; проте, цифри білка, як що взяти до уваги наш матеріал, лише грубо орієнтовні.

Відносна кількість сероглобуліну (T). T ми визначали за методом Rohrer'a**. Грунтуючись на тому, що T і альбумін однаково підвищують nD , але на η впливають різно (альбумін підвищує більше, ніж глобулін), — Rohrer емпірично опрацював таблицю в формі кривих у системі двох координат — із значеннями для nD по одній осі і для η — по другій. Місце перетину ліній, які відповідають nD і η для даної сироватки, і дає зразу кількість альбуміну або глобуліну в процентах до загальної кількості білків сироватки. Метод швидкий і простий, проте його застосування вимагає деякої обережності.

Праць, які безпосередньо стосувались би нашої теми, за винятком праць Furth'a з співавторами, у приступній нам літературі ми не знайшли.

Результати наших досліджень.

Наші дані на собаках ми подаємо тут за окремими компонентами крові.

1. **Коефіцієнт заломлення і GE за Reiss'ом.** Окремі цифри для кожної тварини подано в таблиці. З них видно, що nD наших собак коливався від 1,34616 до 1,35095, що відповідає 5,92—8,71% GE . Зміни коефіцієнту заломлення під впливом приймання алкоголю подано в тій самій таблиці. У кожному рядку даної таблиці у графі „до введення“ стоять дані, які здобуто взагалі до алкоголізації і в дні, вільні від неї. У графах „після введення“ подано дані проб через $1\frac{1}{2}$ —2, 4—5 і 24 години після введення алкоголю. Цифри взято середні від всіх відповідних проб.

* Naegeli — Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 1923.

** Rohrer — Mischungverhältnisse $\frac{\text{Albumin}}{\text{Globulin}}$. Deut. Arch. f. Klin. Med. Bd. 121.

Зміна рефракції, в'язкості, відносної кількості глобулінів і відносного об'єму сироватки до і після алкоголізації.

Modification de la réfraction, de la viscosité, de la quantité relative des globulines et du volume relatif du sérum avant et après l'alcoolisation.

№№ собак № du chien	Рефракція (в од. Pulf. рефрактометра) Réfraction (en unités du réfractomètre Pulf)				В'язкість Viscosité				Глобулін Globuline				Об'єм сироватки Volume du sérum			
	До введення Avant l'introduction	Після введення через Après l'introduction			До введення Avant l'introduction	Після введення через Après l'introduction			До введення Avant l'introduction	Після введення через Après l'introduction			До введення Avant l'introduction	Після введення через Après l'introduction		
		1 1/2-2 год. 1 1/2-2 heures	4-5 год. 4-5 heures	24 год. 24 heures		1 1/2-2 год. 1 1/2-2 heures	4-5 год. 4-5 heures	24 год. 24 heures		1 1/2-2 год. 1 1/2-2 heures	4-5 год. 4-5 heures	24 год. 24 heures		1 1/2-2 год. 1 1/2-2 heures	4-5 год. 4-5 heures	24 год. 24 heures
1	51,8	52,6	51,4	49,7	1,58	1,61	1,61	1,59	38	39	49	54	50,5	43,0	46,0	50,0
2	53,5	55,6	52,9	54,2	1,69	1,73	1,72	1,70	52	50	53	54	41,0	44,6	43,5	44,1
3	54,4	57,4	56,5	55,2	1,71	1,75	1,73	1,72	53	46	47	50	41,0	40,7	40,8	42,1
4	56,3	59,5	58,4	57,5	1,74	1,83	1,81	1,79	51	50	51	53	45,0	44,3	39,8	47,6
5	55,8	55,9	56,9	54,1	1,68	1,74	1,72	1,68	40	51	43	50	41,0	44,4	43,1	43,2

З цієї таблиці видно, що в період часу між введенням алкоголю і взяттям першої проби nD значно підноситься, щоб далі при другій і третій пробах зменшувались, за винятком собаки № 2, в якій середня величина третіх проб вища від такої величини других проб. Коли саме починається збільшення nD , де його максимум і мінімум, ми сказати не можемо, бо відповідних досліджень не робилося. При розгляді цифр створюється враження, що амплітуда коливань nD після алкоголізації більша. Якщо взяти до уваги дані досліджень собаки № 1, то слід гадати, що доза впливає на амплітуду. Собака № 4, яка дуже довго отруювалась, після тримісячного проміжку, протягом якого вона лише алкоголізувалась, кров же в неї не бралася, дала особливо велике збільшення nD .

Пояснити це тільки рефлекторним впливом травми, від якої собака повинна була вже відвикнути, не можна, бо наші перші проби були, якщо не більше, то в усякому разі не менш травматичні, подруге — ця собака була найспокійніша. Мабуть, це є вияв впливу хронічного отруєння алкоголем. У контрольній тварини nD протягом цього часу теж коливався, проте не так закономірно, як в алкоголізованих.

Зважаючи на те, що GE ми обчисляли за nD , то, зрозуміло, що вони цілком паралельні.

В'язкість (η) Коефіцієнт в'язкості η у сироватці наших тварин коливався в межах від 1,55 до 1,89, що відповідає, за Naegeli, 6,40 — 9,42% GE . Впадає в очі більша кількість білків у тих же пробах за методом Naegeli, ніж за Reiss'ом.

З наших 90 паралельних досліджень тільки в чотирьох випадках перші цифри були менші. Різниця між ними коливалась від 0,2% до 1,21% білка, що залежить або від неточності методу Негелі, або від неможливості застосування його таблиці до крові собак.

Змін η під впливом алкоголізації ми спеціально не описуємо, бо вони цілком аналогічні змінам nD .

Сероглобулін (Gl). Коливання відносної кількості глобулінів досить великі, проте в межах цифр, що їх подають інші автори. У наших собак сероглобулін змінювався в межах 32 — 65% GE . Щодо змін Gl в результаті алкоголізації, то з таблиці можна бачити, як у всіх чотирьох собак після приймання алкоголю його кількість збільшується, залишаючись такою навіть через 24 години.

В коливаннях кількості Gl в собаки № 5 (контрольної) не відзначено такої закономірності.

Serumvolumen (SV). Про обережність, потрібну при трактуванні наших абсолютних цифр SV , ми вже говорили. Але загалом ці цифри, з нашого погляду, порівнювати можна, бо великих розходжень вони не дають. У наших собак SV коливався в межах 32,5 — 59,5%. Щодо впливу алкоголю на нього, то, як це добре видно з таблиці, він завжди збільшував SV , який ще через добу залишався на високих цифрах, за винятком собаки № 4, де цього не відзначено. Особливо демонстративна картина в собаки № 1. У контрольній тварини такого піднесення SV ми не спостерігали.

Ані Gl , ані SV відмінно до nD і η не мають тенденції до збільшення з хронічністю алкоголізації.

Тлумачення наших даних потребує уважного розгляду раць Furth'a, Bluh'a*, Pechold'a** і Keller'a***. Вони *in vitro* до сироватки рогають

* Furth u. Bluh—Biochem. Zeitschr., Bd. 146, S. 198 — 204.

** Furth u. Pechold—Biochem. Zeitschr., Bd. 164, S. 9 — 18.

*** Furth u. Keller—Biochem. Zeitschr., Bd. 141, S. 187 — 192.

удоби додавали етиловий, метиловий та ізопропіловий алкоголь і ацетон, тобто дегідратуючі речовини. Досліджуючи nD і η , вони констатували їх підвищення майже по прямій лінії з підвищенням концентрації цих речовин у сироватці. Проте, при порівняно ще невеликій концентрації на цій прямій помічається незначне її вигинання донизу. Якщо розташувати у ряд речовини за концентраціями, при яких виявляється ця аномалія, то матимемо таке: метиловий спирт—1,2%, етиловий—1,8% та ізопропіловий—5%, ацетон же—2,4%. Отже, виходить гомологічний ряд, вилучаючи ацетон, який не належить до спиртів. А розклавши ці речовини за їх діелектричною сталою,—метиловий спирт—31,5%, ацетон—21,5%, етиловий спирт—20,8% та ізопропіловий спирт—13,8%,—матимемо той самий ряд, але вже з певним місцем і для ацетону (після етилового спирту).

Для пояснення цього згадані автори вдаються до теорії „диполів“. Диполями вони назвали ті речовини, молекули яких через деякі структурні особливості є полярні—з позитивним та негативним зарядом. Таким чином, будучи електроактивними, вони мають тенденцію до зближення своїми протилежними зарядами. А це призводить до коагуляції. До дипольних речовин належать гідрозолі білків, алкоголь, вода тощо.

Гідрозоль білка, значить, слід уявляти собі як велику білкову молекулу (диполь), з багатьма зв'язаними з нею значно меншими диполями води (гідратизація), які утворюють навколо своєрідну оболонку. Ця оболонка і є тим стабілізуючим фактором, який перешкоджає молекулам сполучатися і коагулювати. А тому, згідно з даною теорією, у гідрозолях білків власне нема „вільної“ води, бо вона досить міцно пов'язана з білковою молекулою. При додаванні алкоголю або інших „дегідратуючих“ речовин, його диполі, поки їх мало, просто приєднуються до води, утворюючи другу оболонку навколо білкової молекули, яка збільшує її рухливість, а це позначається на зменшенні в'язкості. Дальшим додаванням алкоголю ми до того збільшуємо кількість його диполів, що вони зовсім не зв'язують воду, відриваючи її від білкових молекул (дегідратація), які сполучаються в конгломерати—коагулюють, а це підвищує в'язкість паралельно до ступеня коагуляції.

З погляду цієї теорії стають зрозумілі й факти, що їх спостерігав Furth із співавторами.

Ці дані перевірив Hayashi*. Ніякої аномалії у змінах η він не спостерігав: у нього, починаючи з найменших доз алкоголю, η підвищувався відповідно до збільшення концентрації. Заперечуючи йому, Furth говорить, що ці дані Hayashi не тільки не суперечать його даним, але й покриваються ними: якщо додавати алкоголь до розведеної водою сироватки, то ця аномалія поступово зменшується і при 10% розведення зовсім зникає. Це й спостерігав Hayashi, бо свою сироватку він приблизно так і розбавляв.

У резюме Furth, погоджуючись з шкідливим впливом великих доз алкоголю, про невеличкі дози (максимум 6% до ваги всіх соків організму) говорить буквально так: вони „dem Organismus nicht nur nicht schadet, sondern sogar fördernd Wirkt“, ув'язуючи це з тим, що з віком η збільшується. Такий висновок механістичний і, на наш погляд, дуже ризикований.

Переходячи до інтерпретацій наших даних, підвищення η спочатку можна вважати за рівноцінне тому загальному підвищенню η , яке від-

* Hayashi—Kolloid. Zeitschrift. Bd. 36. S. 227 (1925).

значав Furth, а саме — в результаті деякої дегідратації. Дальше пониження η , можливо, є результатом тієї величезної здатності організму до компенсації, яку часто можна відзначити. Щоб протидіяти дегідратуючому впливові алкоголю, з тканини собаки у кров викидається велика кількість води, навіть більша, ніж потрібно (закон гіперкомпенсації Weber'a), що зменшує nD й η і збільшує SV .

Проте, тривале отруєння, хоч би і невеличкими дозами, мабу зменшує ці компенсаторні можливості, бо в наших собак №№ 1, 2, 3 з тривалим отруєнням nD і η з часом почали коливатися на вищих цифрах.

Те відносне збільшення Gl , яке ми спостерігали після введення алкоголю, вказує на підвищення лабільності колоїдної системи крові.

У зв'язку з цим цікаво згадати стару теорію Dubois, який сугерує незначного впливу вбачав у дегідратації білків, насамперед білків плазмової системи. Адже справді давно вже відомо про пониження життєвого тону клітин аж до анабіозу при вилученні з них води. Рослин, наприклад, у парі наркотиків навіть виділяють воду на листі. Overton особливо великий вплив наркотиків на нервову систему пояснює розчинним впливом цих речовин на ліпоїдну оболонку нервових елементів. Якщо додержуватися такого погляду, то зовсім не потрібно вважати алкоголь вбачати якусь специфічну „нервову“ отруту, бо переважний його вплив на нервову систему можна пояснити великою дегідратацією білків завдяки кращій проникності в клітину через розчинену ліпоїдну оболонку. Отже, ми маємо підставу говорити про гідратацію організму (але не крові, бо в ній ми спостерігаємо дегідратацію) після введення алкоголю у наших тварин, бо зменшуються nD і η і збільшується SV .

Слід відзначити підвищення nD і η з тривалістю отруєння навіть від невеличких доз. Якщо підвищення η тлумачити за Furth'ом, то тоді навпаки, треба зробити висновок, що й невеличкі дози алкоголю шкідливі.

Чи не відіграє ролі це збільшення в'язкості сироватки у шкідливому впливі, що його спричиняє алкоголь кровоносній системі? Чи можна частину тих утворів у клітинах, що їх морфологи виявляють при алкогольному отруєнні і кваліфікують як інфільтрацію або дегенерацію, вважати за результат коагуляції, яка при певному ступені шкідливості стає необоротною?

Висновки.

1. Введення собакам *per os* алкоголю зразу підвищує коефіцієнт рефракції (nD) і в'язкості (η) сироватки. Далі nD і η починають падати в усякому разі ще протягом 24 годин. Загальна кількість білків у сироватці (GE) змінюється аналогічно.
2. Відносні кількості сероглобуліну (Gl) і об'єм рідкої частини крові (SV) при цьому, навпаки, збільшуються.
3. У трьох собак з чотирьох з тривалістю алкоголізації nD і η виходять на вищі цифри. Глобулін і об'єм сироватки такої тенденції не виявляють.
4. У контрольній собаки з введенням води замість алкоголю усі ці елементи теж коливались, але без певної закономірності.
5. З твердженням Furth'a, що невеличкі дози алкоголю „організму мові не шкодять, а стимулюють“, аж ніяк не можна погодитися, бо шкідливість при тривалому прийманні цілком виразна.

Рефракто-вискозиметрические изменения сыворотки собак при экспериментальной алкоголизации.

Д. Д. Шмаль.

Кафедра патологической физиологии (зав.—проф. Н. П. Вашетко) Киевского мединститута (директор—д-р Шашко).

На 5 собаках—3 самцах и 2 самках изучалось влияние введенного *per os* алкоголя на белки кровяной сыворотки. По коэффициентам рефракции и вязкости определялось количество белков сыворотки и составные части их. Кровь бралась через $1\frac{1}{2}$ —2 часа, через 4-5 часов и на вторые сутки после введения алкоголя. Алкоголь в дозах 6—10 г абсолютного спирта на 1 кг веса подопытного животного в разбавленном виде вводился животному 2-3 раза в течение недели. Рефракция определялась рефрактометром Аббе, а вязкость—вискозиметром для сыворотки Гесса. Путем разбавления крови водой и определения в ней коэффициента рефракции n_D вычислялся относительный объем сыворотки и форменных элементов. По коэффициентам рефракции и вязкости определялось количество альбумина и глобулина.

Результаты длительного наблюдения над отравляемыми животными таковы:

1. Введение алкоголя собакам *per os* сразу повышает в сыворотке собак как коэффициент рефракции (n_D), так и коэффициент вязкости (η). Возвращение их к норме происходит в общем на протяжении 24 часов. Аналогично изменяется общее количество белков в сыворотке.

2. При этом относительное количество сероглобулина и объем жидкой части крови увеличивается.

3. У 3 из 4 собак с продолжительностью алкоголизации коэффициенты рефракции и вязкости вообще постепенно повышались; глобулины же в объем сыворотки такой тенденции не проявляют.

4. У контрольных собак, которым вместо алкоголя вводилась *per os* вода, все эти элементы тоже колебались, но без определенной закономерности.

5. Мнения Furth'a с соавторами, что малые дозы алкоголя „подстегивающе“ действуют, мы разделить не можем, так как на нашем материале вредность этих доз, выражающаяся в хроническом повышении как коэффициента и рефракции, так и вязкости, была отчетливо выражена.

Modifications réfracto-viscosimétriques du sérum du chien dans l'alcoolisation expérimentale.

D. D. Schmal.

Chaire de physiologie pathologique (chef—prof. N. P. Vachetko) de l'Institut de médecine de Kiev (directeur—dr. Chachko).

L'effet de l'alcool, introduit *per os*, sur les albumines du sérum sanguin était étudié sur 5 chiens (dont 2 chiennes). La teneur en albumines du sérum et les composantes de celles-ci étaient déterminées d'après les coefficients de réfraction et de viscosité. Le sang était prélevé une heure et demie, 2 heures, 4-5 heures et 24 heures après l'introduction de l'alcool. L'alcool

à doses de 6—10 gr. d'alcool absolu étendu d'eau par kilogramme poids de l'animal était introduit à celui-ci 2-3 fois au cours d'une semaine. La réfraction était déterminée à l'aide du réfractomètre Abbe et la viscosité — à l'aide du viscosimètre à sérum de Hesse. Le volume relatif du sérum et des éléments figurés était calculé au moyen de la détermination du coefficient de réfraction n_D du sang, étendu d'eau. La quantité de buline et d'albumine était déterminée d'après les coefficients de réfraction et de viscosité.

Les résultats de ces observations prolongées sur des animaux empoisonnés sont les suivants :

1. L'introduction de l'alcool per os fait brusquement augmenter le coefficient de réfraction n_D et celui de viscosité dans le sérum du chien. Ces coefficients reviennent à la norme au bout de 24 heures. Il en est de même de la teneur totale du sérum en albumines.

2. Le taux relatif de séroglobuline et le volume de la fraction liquide du sang augmentent en même temps.

3. Chez trois sur quatre chiens l'alcoolisation prolongée était accompagnée d'une augmentation graduelle des coefficients de réfraction et de viscosité, alors que les globulines et le volume du sérum n'ont pas cette tendance.

4. Chez les chiens de contrôle qui, au lieu l'alcool, recevaient de l'eau, ces éléments oscillaient également, mais sans régularité aucune.

5. Nous ne pouvons pas partager l'opinion de Furth et de ses collaborateurs qui prétendaient que les petites doses d'alcool ont une action tonique, car nos observations ont très nettement montré la nocivité de ces doses, consistant en une augmentation chronique des coefficients de réfraction et de viscosité.

~~К-4489~~

П48783

Экспериментальная Медицина

Шестьдесятый журнал



№ 6

Червень
juin

1936

La médecine
expérimentale

Держмедгизав