

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

BADANIA NAD WPŁYWEM POLA AKUSTYCZNEGO
I ULTRAAKUSTYCZNEGO NA PROCESY BIOCHEMICZNE

I. WPŁYW NA POZIOM GLIKOZY I KWASU PIROGRONOWEGO WE KRWI
ORAZ NA WARTOŚĆ NAPIĘCIA POWIERZCHNIOWEGO W SUROWICY KRWI
ŚWINEK MORSKICH

Z Instytutu Medycyny Pracy w Przemysle Węglowym i Hutniczym w Zabrze-Rokitnicy

Dyrektor: prof. dr *B. Nowakowski*

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Śląskiej A. M. w Zabrze-Rokitnicy

Kierownik: doc. dr *Ś. Józkiwicz*

Z Zakładu Fizyki Lekarskiej Śląskiej A. M. w Zabrze-Rokitnicy

Kierownik: prof. dr *M. Puchalik*

Nieliczne dotychczas badania nad szkodliwością silnych pól akustycznych i ultraakustycznych dla ustroju żywego, nie zezwalają jeszcze na szersze wnioski co do mechanizmu działania tych pól i jakości obserwowanych zmian. Prace o charakterze histologicznym [1, 14], histochemicznym [2] i biochemicznym [4], spotykane w piśmiennictwie naukowym, różnią się w zasadzie odmiennym rodzajem stosowanej aparatury, a zatem inną częstością i natężeniem bodźców akustycznych i ultraakustycznych. Stąd też wpływają trudności w interpretacji i odtwarzalności opisywanych wyników.

W planach naukowych naszego ośrodka postanowiliśmy przebadać procesy biochemiczne w polu akustycznym i ultraakustycznym w ściśle określonych warunkach fizykalnych. Celem niniejszej pracy było prześledzenie zmian w przemianach węglowodanowych, ze szczególnym uwzględnieniem poziomu glikozy i kwasu pirogronowego w krwi świnek morskich. Z przyczyn, o których będzie dalej mowa, zwróciliśmy ponadto uwagę na wartość napięcia powierzchniowego w surowicy krwi. Zwierzęta te wybraliśmy za obiekt doświadczalny ze względu na ich stosunkowo dużą wrażliwość na urazy akustyczne i ultraakustyczne, oraz na ich podobny zakres słyszalności do zakresu człowieka.

METODYKA

A. *Material zwierzęcy*

20 świnek morskich płci męskiej z dobrze rozwiniętym krążeniem usznym, wagi około 600 g, hodowanych przez czas dłuższy w dobrych warunkach (odpowiednie wyżywienie, oświetlenie, temperatura, wilgotność) w pomieszczeniu o niskim poziomie hałasu, poddaliśmy działaniu generatora strumieniowego typu Hartmanna (w modyfikacji *Matuly*) w ciągu 24 dni po 30 minut dziennie w godzinach popołudniowych (15.00—16.00). W czasie nadźwiękawiania zwierzęta umieszczano w skrzyni drewnianej. Generator ustawiano nad środkiem dna na wysokości 30 cm.

B. *Charakterystyka pola stosowanego w badaniach*

Pole wytworzone przez generator Hartmanna zanalizowaliśmy pod względem akustycznym. Aparatura pomiarowa składała się z mikrofonu pomiarowego i wzmacniacza do mikrofonu (firmy Bruel i Kjaer — Kopenhaga), analizatora harmonicznego typu Pimonowa (firmy L. E. A. — Paris) oraz woltomierza piszącego (firmy Bruel i Kjaer — Kopenhaga).

Analizę przeprowadziliśmy dla częstości od 100 Hz do 50 000 Hz. Uwzględniając krzywą przeniesienia mikrofonu pomiarowego, skorygowaliśmy uzyskane widmo i sporządziliśmy tzw. mozaikę. W celu stwierdzenia, czy w badanym widmie występują tony sinusowe, przeprowadziliśmy analizę dla wstęgi przepuszczalności analizatora o szerokości połówkowej 30 Hz i dla 3 Hz.

Uzyskane widma (po wykonaniu mozaiki) przedstawia ryc. 1. Z widm tych wynika, że generator Hartmanna wytworzył pole szumowe z występującymi równocześnie słabymi tonami sinusowymi około 6000 Hz, 24 000 Hz i 30 000 Hz. Natężenie częstości składających się na wspomniany szum można w całym zakresie pomiarowym uważać za podobne. Ogólny poziom intensywności pola wytworzonego przez generator Hartmanna wynosił 160 (± 5) db.

C. *Pobieranie prób*

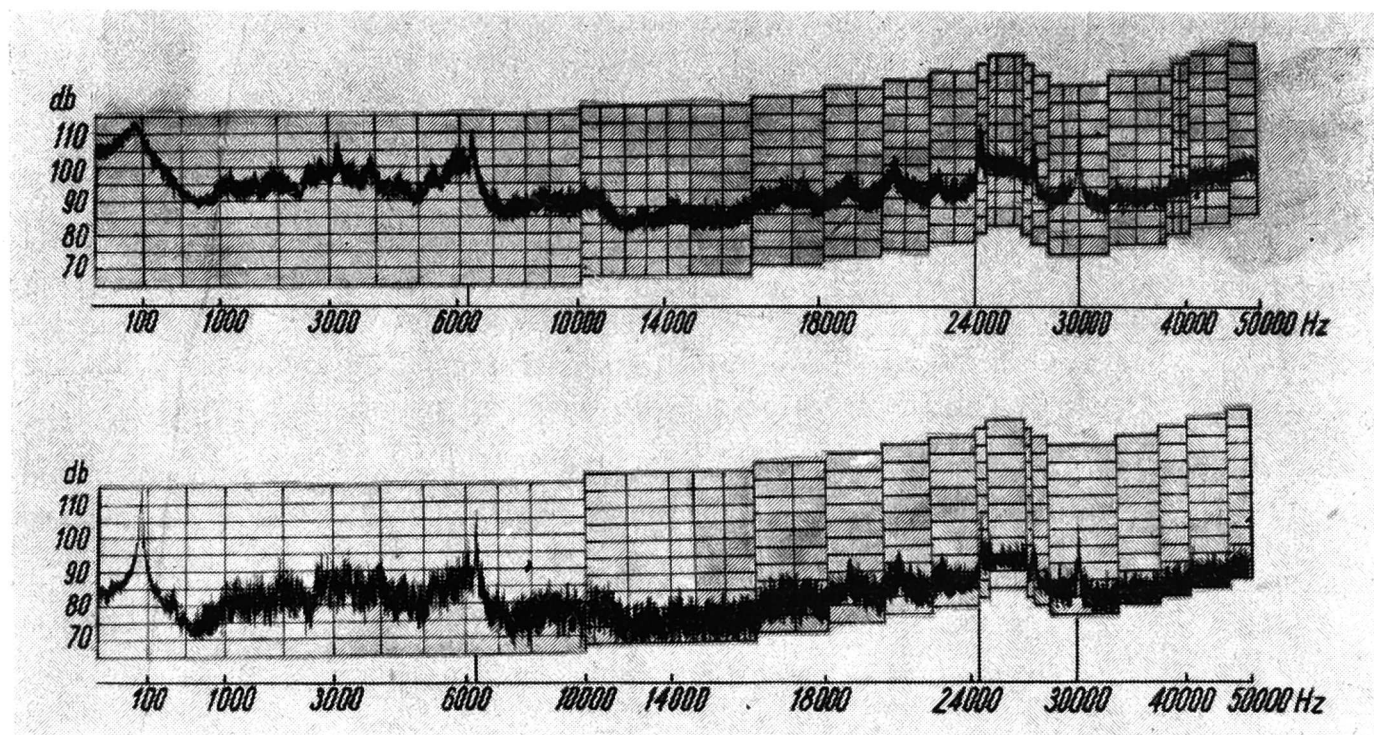
Przed rozpoczęciem doświadczenia zwierzętom oczyszczano dokładnie, lecz ostrożnie małżowiny uszne. Następnie nacinano skalpelem naczynia żyłne i pobierano potrzebne ilości krwi kolejno do oznaczeń: glikozy, kwasu pirogronowego, napięcia powierzchniowego. Pobieranie materiału powtórzono po pierwszym działaniu bodźca oraz kilkakrotnie w ciągu całego doświadczenia (tab. 1—3). Pobieranie krwi po działaniu bodźca dokonywano w ciągu 30 minut od chwili zakończenia nadźwiękawiania.

D. *Metodyka badań*

Cukier w krwi oznaczaliśmy metodą *Hagedorna* i *Jensena*.

W oznaczaniu poziomu kwasu pirogronowego w krwi oparliśmy się na klasycznej metodzie *Friedemanna* i *Haugena*. Metoda ta, uważana do tej pory za najlepszą [28, 32], wymaga do oznaczeń 1 ml krwi. Te ilości krwi można praktycznie uzyskać jedynie przez punkcję serca, co dla zwierzęcia nie jest obojętne i równocześnie wyklucza kilkakrotne powtórzenie badania w krótkich odstępach czasu. Modyfikacji tej metody, podanej przez *Tsao* i *Browna*, nie stosowaliśmy, gdyż wymaga ona specjalnych mi-

kropipet. Z tych przyczyn opracowaliśmy własną modyfikację, w której stosowaliśmy tylko jedną wykalibrowaną pipetę o objętości 0,7 ml. Pipetę wykonaliśmy z rurki szklanej o średnicy 3 mm z długo wyciągniętym końcem (duża pipeta pasterowska), którą wykalibrowaliśmy wodą.



Ryc. 1. Skorygowane widmo stosowanego generatora aerodynamicznego. Krzywa górna przedstawia widmo w zakresie od 100 Hz do 50 000 Hz dla wstęgi przepuszczalności (bramki) analizatora o szerokości połówkowej 30 Hz, krzywa dolna dla wstęgi o szerokości połówkowej 3 Hz. Na obydwu widmach występują pewne maksyma około 6000 Hz, 24 000 Hz i 30 000 Hz. Zwężenie wstęgi przepuszczalności nie wpłynęło na wysokość amplitudy, co jest dowodem, że występujące maksyma odpowiadają tonom sinusowym.

Fig. 1. Corrected spectrum of the aerodynamic generator used.

The upper curve represents the spectrum within the 100—50 000 Hz range for the transmittability band (gate) of the analyzer with a 30 Hz halfwidth, and the lower curve that for a band of a 3 Hz halfwidth. Both spectra show certain maxima near 6000, 24 000 and 30 000 Hz. Narrowing of the transmittability band had no effect on amplitude height, whereby the maxima are shown to correspond to sinus tones.

Sposób postępowania był następujący: do 0,9 ml kwasu trójchlorooctowego dodaliśmy 0,1 ml krwi. Zawiesinę dokładnie wymieszaną odstawiliśmy na 5 minut, po czym wirowaliśmy. 0,7 ml klarownego płynu, pobranego wykalibrowaną pipetą (wyżej opisaną), przenieśliśmy do innej probówki i zmieszaliśmy z 0,1 ml odczynnika hydrazynowego. Do ekstrakcji użyliśmy 1 ml toluenu i 1 ml 10% węgla sodu. Po ekstrakcji pobraliśmy 0,7 ml płynu, który z 1 ml 1,5 N NaOH dawał ostateczną reakcję barwną. Wszystkie pozostałe czynności wykonywaliśmy według metody klasycznej [13].

Pomiarów dokonywaliśmy na fotometrze Pulfircha, używając filtra S_{53} i półmikrokuiwet o 2 cm grubości warstwy. Krzywą wzorcową wykonaliśmy używając roztworów pirogronianu sodu („Centrofarm” — Katowice; Imp. Nr 1158/57) o stężeniach odpowiadających 1—5 mg% kwasu pirogronowego. Wartości ekstynkcji tych stężeń były zgodne z prawem Lamberta i Beera.

Wartości prawidłowe kwasu pirogronowego w krwi całkowitej u człowieka wynoszą 0,7—1,2 mg⁰/₀ [15]. Wartości uzyskane przez nas, wyżej podanym tokiem postępowania, u 8 studentów, którym pobierano krew w godzinach popołudniowych (15.00—16.00), wynosiły średnio: 1,2±0,05 mg⁰/₀. Wynika z tego, że nasza modyfikacja daje nieco wyższe wartości.

Pomiary napięcia powierzchniowego w surowicy krwi wykonaliśmy przyrządem opisanym przez *Iwieronową*.

WYNIKI

Uzyskane średnie wartości cukru w krwi ilustruje tab. 1, wartości kwasu pirogronowego w krwi — tab. 2, wyniki pomiarów napięcia powierzchniowego w surowicy krwi zebrano w tab. 3. Ze względu na to, iż średnie od-

Tabela 1. Wartości średnie glikozy (w mg⁰/₀) we krwi
Table 1. The mean values of the blood glucose in mg⁰/₀

	Ilość ekspozycji 1)						Ilość dni po zakończeniu doświadczenia 2)	
	1 raz 3)		12 razy 3)		24 razy 3)		8 dni 4)	24 dni 4)
	przed 5)	po 6)	przed 5)	po 6)	przed 5)	po 6)		
Poziom we krwi w mg ⁰ / ₀ 7)	96,8	102,0	96,0	90,0	80,1	62,0	59,6	60,6
Fm	±2,4	±2,2	±3,1	±3,3	±2,9	±3,2	±3,2	±4,1
Test znamienności 8)	—	—	—	—	+	+	+	+

Number of expositions 1); Number of days after termination of experiment 2); 1 (12,24) time 3); 8 24 days 4); before 5); after 6); Level in blood in mg⁰/₀ 7); Significance test 8).

Tabela 2. Wartości średnie kwasu pirogronowego (w mg⁰/₀) we krwi
Table 2. The mean values of the blood pyruvic acid in mg⁰/₀

	Ilość ekspozycji 1)						Ilość dni po zakończeniu doświadczenia 2)	
	1 raz 3)		12 razy 3)		24 razy 3)		8 dni 4)	24 dni 4)
	przed 5)	po 6)	przed 5)	po 6)	przed 5)	po 6)		
Poziom we krwi w mg ⁰ / ₀ 7)	1,21	1,16	1,39	1,17	2,11	1,94	1,67	1,51
Fm	±0,097	±0,086	±0,168	±0,119	±0,105	±0,117	±0,12	±0,09
Test znamienności 8)	—	—	—	—	+	—	—	—

Notations as in table 1.

chylenia od średnich arytmetycznych były stosunkowo duże, obliczono dla cukru i kwasu pirogronowego średnie ważone, które były podstawą dalszych obliczeń statystycznych [24]. Testy znamienności obliczono na podstawie średnich ważonych.

Tabela 3. Jakościowe zmiany wartości napięcia powierzchniowego w surowicy krwi *
Table 3. The qualitative changes of the values of serum surface tensions *

	Ilość ekspozycji 1)		Ilość dni po zakończeniu doświadczenia 2)	
	po 12 eksp. 3)	po 24 eksp. 3)	8 dni 4)	24 dni 4)
Spadki 5)	63,2%	57,9 %	63,6%	16,7%
Bez zmian 6)	26,3%	21,05%	9,1%	33,3%
Wzrosty 7)	10,5%	21,05%	27,3%	50,0%

* Podstawą do obliczenia zmian jakościowych były wartości uzyskane u tych samych zwierząt przed rozpoczęciem doświadczenia.

Number of expositions 1); Number of days after termination of experiment 2); after 12 (24) exp. 3); 8 (24) days 4); falls 5); no changes 6); rises 7).

* Qualitative changes were calculated on the basis of the values obtained from the same animals before the experiments.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Po pierwszej dawce pola akustycznego i ultraakustycznego stwierdziliśmy (tab. 1) wyższą poziomą glikozy we krwi. Jest to spowodowane prawdopodobnie wyrzuceniem adrenaliny do krwi wskutek nagłego urazu akustycznego.

Dalsze dawki pola powodują niższą glikozę krwi, co było też opisane uprzednio w kilku doniesieniach innych autorów [17, 18, 29, 30].

U osób zatrudnionych przy młotach parowych lub innych maszynach udarowych obserwowano [5, 6, 16] objawy zmęczenia, których przyczyny nie są do tej pory dostatecznie wyjaśnione. Być może, iż jedną z przyczyn tej tzw. „choroby ultradźwiękowej” [7, 8, 9, 27] należy upatrywać właśnie w zaistniałej hipoglikemii, utrzymującej się nadal, nawet po ustaniu bodźców akustycznych.

Stwierdzona hipoglikemia może być spowodowana zahamowaniem rozpadu glikogenu wątrobowego, jako wynik zaburzeń regulującego wpływu ośrodkowego układu nerwowego, a tym samym zaburzeń czynnościowych gruczołów dokrewnych. Nie jest także wykluczona i możliwość wzmożonego spalania glikozy na obwodzie u badanych zwierząt pod wpływem urazów akustycznych i ultraakustycznych.

Przeciwko tej drugiej alternatywie przemawiałby jednak zaobserwo-

wany przez nas wzrost kwasu pirogronowego we krwi (tab. 2), jakkolwiek nie ma do tej pory zgodności w poglądach na współzależność poziomu kwasu pirogronowego od stopnia glikemii. W piśmiennictwie naukowym, zwłaszcza włoskim, istnieje na ten temat sporo publikacji. Jedni z autorów [22] nie stwierdzają zależności między poziomem kwasu pirogronowego a stopniem glikemii, inni [26] donoszą o zwwyżce kwasu pirogronowego po obciążeniu glikozą, i to w pewnej równoległości do cukru.

Zwiększenie poziomu kwasu pirogronowego we krwi innych zwierząt (myszy i szczurów), poddanych działaniu energii ultradźwiękowej, opisali również *Euler* i *Skarżyński*. Te spostrzeżenia w łączności z inną obserwacją jednego z nas [21], iż pole ultraakustyczne o częstotliwości 880 kHz wywołuje w wątrobie świnek morskich częściowe zahamowanie dehydrogenazy bursztynianowej, nasuwają nam myśl o bloku metabolicznym w następnych po kwasie pirogronowym ogniwach spalań węglowodanowych. W konsekwencji tego organizm żywy, znajdując się w warunkach bionegatywnych wpływów urazów akustycznych i ultraakustycznych na przemiany węglowodanowe, powinien zwiększyć inne procesy metaboliczne dla wyrównania niedoborów energetycznych. Innymi słowy — należy przewidywać uruchomienie rezerw tłuszczowych. Mając to na uwadze wykonaliśmy dodatkowe pomiary napięcia powierzchniowego (tab. 3).

W piśmiennictwie istnieje, jak dotąd, niewielka ilość doniesień na temat wpływów na napięcie powierzchniowe krwi. Nie stwierdzono wyraźnego wpływu kwasów żółciowych [3]. Dopiero stosunkowo znaczne ilości kwasów żółciowych wywołują obniżkę, bardzo zaś niski poziom tych kwasów wywołuje zwyczajną wartość napięcia powierzchniowego. Spostrzeżenia te nie mają jednak większego znaczenia biologicznego [11]. Natomiast stwierdzono znaczny wpływ trucizn czynnościowych na wartość napięcia powierzchniowego krwi [25].

W surowicy krwi większości badanych przez nas świnek morskich (tab. 3) stwierdziliśmy spadek wartości napięcia powierzchniowego. Wobec zahamowania glikolizy w ustroju zwierząt nadźwiękawianych, jest to być może właśnie wyrazem mobilizacji rezerw tłuszczowych, a zwłaszcza fosfolipidów i monoglicerydów, odpowiedzialnych [12] z kolei za obserwowaną niżkę napięcia powierzchniowego.

Я. Грзесик, С. Юзькевич, М. Пузалик, Ю. Станосж

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО И УЛЬТРААКУСТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ.

I. Влияние на уровень глюкозы и пировиноградной кислоты в крови, а также на величину поверхностного напряжения в сыворотке крови морских свинок.

Содержание

Авторы наблюдали в крови морских свинок, подверженных действию акустического и ультраакустического поля аэродинамического генератора, снижение уро-

вня глюкозы и повышение уровня пировиноградной кислоты, как выражение заторможения гликолиза. Подано собственную модификацию классического метода Фридемманна и Гаугена обозначения уровня пировиноградной кислоты, приспособленного к обозначениям в 0,1 мл крови.

Одновременно обнаружено снижение величины поверхностного напряжения сыворотки крови у большинства исследуемых под опытных, повидимому в силу мобилизации жировых резервов.

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

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

I. The Influence on Glucose and Pyruvic Acid Level in Blood and on the Surface Tension in Serum of Guinea Pigs

Summary

It has been observed that the acustic and ultraacustic field of the aerodynamic generator causes a decrease of glucose level and an increase of pyruvic acid level in blood. This phenomenon may be taken as the sign of a depressed glycolysis. A new modification of the classical method of *Friedemann* and *Haugen* [13] adapted for 0,1 ml of blood is given.

Simultaneously the decrease of the values of serum surface tension in the majority of the investigated animals has been stated, probably as a sign of the mobilization of lipids reserves.

PISMIENNICTWO

1. *Anthony A.*: J. Acoust. Soc. Amer., 1956, 28, 270.
2. *Anthony A., Ackerman E.*: J. Acoust. Soc. Amer., 1955, 27, 1144.
3. *Blanquet P., Tayan F.*: Bul. Soc. Chim. Biol., 1947, 29, 683.
4. *Bugard P.*: Arch. Malad. Profess. De Med. du Travail et de sec. soc., 1958, 19, 21.
5. *Bugard P., Guennec M., Selz J.*: Ann. Telecommun., 1952, 7, 47.
6. *Chavasse M. P., Lehmann M. R.*: Nuovo Cim., 1950, 7, Suppl. 2, 116.
7. *Davis H.*: Ann. Otol. Rhin. Laryng., 1949, 58, 732.
8. *Davis H., Halovell R.*: J. Acoust. Soc. Amer., 1948, 20, 589, 605.
9. *Davis H., Parrack H. O., Eldredge D. H.*: Ann. Otol. Rhin. Laryng., 1949, 58, 739.
10. *Euler H. v., Skarżyński B.*: Arkiv. Kem. Mineral. Geol., 1943, 17 B, 1.
11. *Flaschenträger B.*: „Physiologische Chemie”, B, 1, Springer Verlag, Berlin, 1951.
12. *Frazer A. C.*: Physiol. Rev., 1940, 20, 561; 26, 103. Exp. Cell. Res. Suppl., 1940, 1, 331.
13. *Friedemann T., Haugen G.*: J. Biol. Chem., 1943, 147, 415.
14. *Frings H., Frings M.*: J. Acoust. Soc. Amer., 1952, 24, 163.
15. *Gey K.*: Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem., 1958, 294, 128.
16. *Ghose S. C.*: Nature (London), 1950, 165, 66.
17. *Grognot P.*: J. de Physiol., 1952, 44, 255.
18. *Grzesik J., Puchalik M.*: Wpływ pola akustycznego generatora strumieniowego na poziom cukru we krwi i na napięcie powierzchniowe surowicy świńek morskich, Prace V Otwartego Seminarium z Akustyki, Olsztyn 1958 (w druku).

19. Hagedorn-Jensen, wg: Predteczenkij E. W., Borowskaja W. M., Margolina Ł. T.: „Metody badań laboratoryjnych”, PZWL 1953.
20. Iwieronowa W. I.: „Fizycznyj Praktikum”, Moskwa--Leningrad 1951.
21. Józkiwicz S.: Naturwiss., 1959, 46, 513. Acta Physiol. Polon., 1959, 10, 721.
22. Van Marken Lichtenbelt H., Florijn E.: Acta Med. Scand., 1955, 152, 259.
23. Matuła B.: Postępy Akustyki, Poznań, 1956, Nr 1.
24. Mozolowski W.: Post. Biochemii, 1954, 2, 8.
25. Neymayr A.: Wien. Z. inn. Med., 1949, 30, 26.
26. Pansini R., Casaula A.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1952, 28, 1783.
27. Pharris G.: Industr. Hyg. Quat., 1948, 9, 57.
28. Schepper P. De, Parmentier G., Vanderhaeghe H.: Biochim. et Biophys. Acta, 1958, 28, 507.
29. Stanosek J.: Wpływ pola ultraakustycznego o częstotliwości 880 kHz na przebieg krzywych glikemicznych u świnek morskich. Prace V Otwartego Seminarium z Akustyki, Olsztyn 1958 (w druku).
30. Tillich A.: Strahlenther., 1952, 87, 528.
31. Tsao M. U., Brown S.: J. Lab. Clin. Med., 1950, 35, 420.
32. Zwiars J. H. L., Noyons E. C.: Ned. T. Geneeskde., 1950, 94, 2096.

Otrzymano: 24. 10. 1959.