

О сравнительной ценности некоторых простейших микрометодов количественного определения сахара в крови.

Д-ра Ф. Л. Шпанира.

Количественное определение сахара в крови является весьма важным при ряде болезненных состояний и особенно в последнее время приобретает большое значение при оценке результатов инсулиновой терапии и опасности ее в смысле появления гипогликемии. Важно оно также для определения тяжести нарушения обмена веществ и назначения терапии в тех случаях диабета, когда гликозурия отсутствует, или ничтожна, а равно при инсулиновой терапии недиабетических состояний, где в начале лечения нет гипергликемии, и благодаря этому выступает опасность вызвать последнюю. Наконец, установлено, что состояние вегетативной нервной системы и эндокринного аппарата вообще находит отражение в содержании сахара в крови.

Из ряда предложенных для этой цели методов большая часть не может удовлетворить практического врача, которому необходим метод легко выполнимый, достаточно обоснованный химически и не требующий ни сложной аппаратуры, ни большой затраты времени, ни взятия у больного значительных количеств крови. Последнее обстоятельство особенно важно в тех случаях, когда исследования приходится производить многократно у одного и того же больного.

Пользующиеся наибольшей известностью методы Bang'a и Folin-Wu при большой точности их пригодны скорее для научных целей, чем для повседневной клинической работы. Сложность реактивов, применение торсионных весов и специальных бумажек—при способе Bang'a, употребление колориметра и необходимость взятия более значительных количеств крови—при способе Folin-Wu, при значительной затрате времени на выполнение кропотливого исследования, естественно дали толчок к поискам, быть может, и менее точных, но зато более простых и удобовыполнимых методов.

Способы Michaelis'a, Lehmann'a-Maquenn'a, Hugh'a McLean'a, Komm'a, Mendel-Bausch'a, Herzfeld'a, Eisenhardt'a, Lewis'a и Benedikt'a, Lorber'a, Flatau, Benedikt'a в достаточной степени сложны как по технике своего выполнения, так и по аппаратуре. Из способов, доступных в обстановке небольшой больницы лаборатории и даже для практического врача, нами были испытаны два—Reist'a и Becher'a-Herrmann'a.

Reist (из клиники Sahli) предложил следующую методику: 0,1 к. см. крови набирается, путем укола мякоти пальца или ушной мочки, в пипетку и выдувается в пробирку с 3 к. см. абсолютного алкоголя. Пипетка повторно промывается. После встряхивания и получасового отстаивания жидкость фильтруют, споласкивают пробирку и фильтр алкоголем (2 раза по 2 к. см. алкоголя) и перегоняют все на водяной бане. Затем вводят в отгон по 0,3 к. см. первого и второго растворов Рауу (см. ниже) и 1,8 к. см. дистиллированной воды, смешивают и подогревают до начала кипения, после чего титруют из пипетки, разделенной на сотые части (или микробюретки) раствором виноградного сахара 1:1000 до обесцвечивания жидкости.

Расчет: для обесцвечивания взятого количества меди (в растворе Рауу) нужно 0,0003 виноградного сахара. Часть этого количества имелась в виде сахара крови, недостающая же часть была прилита при титровании. Зная количество потраченного раствора, легко высчитать количество сахара во взятой крови—вычтя из 0,0003 количество сахара, прилитого при титровании.

Если (при гипергликемии) обесцвечивание наступает без дальнейшего прибавления раствора сахара (т. е. если в 0,1 к. см. крови содержится более, чем 0,0003 сахара),—берут удвоенное количество растворов Рауу и соответственно рассчитывают. Предварительно следует всегда проверять титр раствора сахара, причем, если он не совпадает точно с указанным выше, его все же можно применять, внося соответственную поправку путем умножения числа, полученного при титровании с кровью, на найденный титр.

Растворы Рауу готовятся следующим образом:

I. Медного купороса	4,158,
воды дистиллированной до	500,0.
II. Сегнетовой соли	20,4,
едкого кали	20,4,
аммиака жидкого	300,0,
воды дистиллированной до	500,0.

Описанный способ лег в основу т. н. гэмоглюкозиметра Weiss'a, им широко рекламируемого. Этот несложный прибор может быть изготовлен домашними средствами.

Второй метод, подвергнутый нами испытанию, предложили Вешер и Негманн. Чрезвычайно несложный, требующий самых простых реактивов, он может быть выполнен в течение нескольких минут. Техника его такова: в капиллярную пипетку набирают из укола пальца 0,1 к. см. крови и выдувают в пробирку с 1,9 к. см. дистиллированной воды; пипетку повторно промывают; приливают 1,5 к. см. 1,2% раствора пикриновой кислоты, после встряхивания белок отфильтровывают и к 2,1 к. см. фильтрата добавляют 0,3 к. см. 4% раствора едкого натра; смесь кипятят на слабом огне 1—2 минуты, жидкость переносят в градуированный цилиндр на 10 к. см. и доливают водой до 2,4 к. см., после чего рассматривают на белом фоне при падающем свете. В норме она имеет желтоватый цвет с ничтожным коричневатым оттенком. При наличии 0,2% сахара замечается слабый коричневатый оттенок, при большем содержании сахара коричневый оттенок бывает выражен резко. Учет результатов облегчается при применении штандартов—растворов виноградного сахара в 0,1%, 0,2% и т. д., с которыми предельвают реакцию.

Как видно из описания, метод этот весьма прост. Для практического врача особенно ценно обстоятельство, что для выполнения его у постели больного брать с собой приходится весьма немного: немного эфира, иглу, пипетку, пробирку с водой. Раствор крови с водой можно взять домой и там произвести реакцию.

Метод Becher'a-Herrmann'a был испытан многими авторами. Так, F. Blumenthal произвел ряд проверочных исследований параллельно с определением сахара крови по Folin-Wu и нашел, что данные почти совпадают. Некоторые незначительные изменения, внесенные им в оригинальную методику, мало существенны. F. Lindauer, сравнивая описываемый способ с определением сахара по Michaelis'y, считает его пригодным во всех отношениях. Он настаивает только на необходимости применения удвоенных количеств крови и реактивов, а также советует, применяя штандартные растворы, сравнивать их не при падающем свете, а при проходящем. Becher и Herrmann, подвергнув критическому разбору предложения двух вышеназванных авторов, отвергают их целесообразность и рекомендуют придерживаться оригинальной методики.

Мы задались целью проследить сравнительную ценность описанных двух методов главным образом с точки зрения их точности. Исследования велись параллельно с определением сахара по методу Hagedorn'a-Iensen'a, завоевавшего себе прочное место в клинике в силу своей точности при относительной (сравнительно с методами Bang'a и Folin-Wu) простоте.

Мы не приводим здесь подробного описания метода Hagedorn'a-Iensen'a, т. к. в русской литературе есть несколько детальных описаний техники выполнения исследования по этому методу.

Пользуясь этими тремя методами, мы произвели значительное количество исследований крови у здоровых людей, диабетиков и больных другими болезнями. При этом прежде, чем перейти к изложению наших результатов, отметим, что, хотя по общепринятому мнению физиологическими границами колебаний содержания сахара в крови считаются цифры 0,07—0,11%,—в среднем, по Bang'y, 0,09%,—наши данные, в согласии с результатами исследований Галвьяло, Образцова и Федорова, показывают, что норма колеблется в пределах 0,055—0,1% сахара.

Возвращаясь к итогам наших опытов, мы не можем не признать их весьма ободряющими. Некоторые из полученных нами результатов приводим для сравнения.

Таблица I.

№№	Сахар крови в мгр. ‰		
	Hagedorn-Iensen.	Reist.	Becher-Herrmann.
1	74	70	80
2	105	115	100
3	163	160	160
3	136	135	140
3	107	105	100
4	241	240	250
5	310	295	300

Из приведенной таблицы видно, что полученные нами результаты отличались друг от друга весьма мало.

Желая затем выяснить, не отражается ли на точности результатов незначительность количества крови, применяемой для определения, мы поставили ряд опытов с удвоенными количествами крови и реактивов, но особенной разницы в смысле уменьшения границ расхождений отметить нам не удалось.

Нами были также поставлены исследования с растворами виноградного сахара произвольной концентрации. Определения эти, произведенные по трем методам, дали приблизительно совпадающие данные, как показывает таблица II.

Таблица II.

Раствор глюкозы в mgr. %		
Hagedorn-Jensen.	Reist.	Becher-Herrmann.
54	56	50
108	110	100
238	242	250
156	152	150
94	91	100
309	299	300
457	461	450

Полученные нами результаты вполне подтверждают т. о. пригодность методов Reist'a и Becher'a-Herrmann'a для определения сахара в крови.

Подводя итоги вышеуказанному, мы вправе сделать следующие выводы:

1) Способ Becher'a-Herrmann'a может служить, как простейший ориентировочный метод, вполне применимый и в поликлинической работе.

2) Способ Reist'a, являясь достаточно точным и для клинических целей, позволяет следить за колебаниями содержания сахара в процессе лечения инсулином.

3) Достоинства обоих этих способов,—простота их методики, отсутствие надобности во взятии значительных количеств крови, быстрота выполнения при достаточной точности,—позволяют рекомендовать их там, где применение более сложных и точных методов представляется затруднительным.

ЛИТЕРАТУРА.

I. Bang. Mikromethoden zur Blutuntersuchung. Wiesbaden. 1922.—Folin-Wu. Journ. of biol. chem., 1920, 41, 367.—Michaelis. Bioch. Zeitschr., 1914, 59, 167.—Ruszejnski. Leitfaden für biochemische Mi-

kromethoden. 1926.—Pincussen. Микрометодика. 1925.—Mandel u. Steudel. Minimetrische Methoden der Blutuntersuchung, 1924; Kl. W. 1921, № 29.—Гальберканн и Степун. Микрохимический анализ крови. Москва. 1927.—Комм. Münch. med. Woch., 1925, № 38.—Herzfeld. Zschr. f. physiol. Chemie, 77.—Eisenhardt. Münch. med. Woch., 1920, № 48; 1921, № 39.—Lewis a. Benedict. Journ. of biol. chem., 1915, 20, 61; 1918, 34, 203.—Lorber. Biochem. Zschr., 158, 205; Münch. med. Woch., 1925, № 45.—Flatau. Ib., 1926, № 47.—Weiss. Untersuchungsmethoden. Berlin. 1924.—Reist. Münch. med. Woch., 1921, № 39.—Becher u. Herrmann. Münch. med. Woch., 1924, № 42; 1925, № 41.—Blumenthal. Münch. med. Woch., 1925, № 29.—Lindauer. M. m. Woch., 1925, № 34.—Hagedorn u. Iensen. Bioch. Zschr., 1923, 135, 46.—Ивановский. Саратов. Вестник Микроб. и Эпидем., 1925, т. IV, вып. 2.—Поспелов и Цукерштейн. Русская Клиника, 1925, № 16.—Бронштейн и Иваненко-Чоповский. Врач. Газета, 1926, № 7.—Федоров. Там же, № 8—9.
