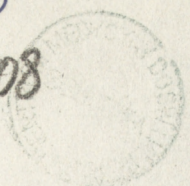


66  
25  
H3208

CENTRUM MEDYCYNY DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Pracownia Fizjologii Krążenia



Anna MIODUSZEWSKA

METODA CIĄGŁEGO OZNACZANIA ZMIAN pH  
PRZY POMOCY ELEKTRODY ANTYMONOWEJ WŁASNEJ KONSTRUKCJI  
ORAZ PRÓBY JEJ ZASTOSOWANIA  
W PRACUJĄCYM MIĘŚNIU SERCOWYM IN SITU

Praca doktorska

Promotor: Prof.dr med.Zbigniew SEMERAU-SIEMIĄNOWSKI

WARSZAWA 1980 r.

## SPIS TREŚCI

	str.
I. Wstęp.....	1
II. Cel pracy.....	6
III. Metodyka.....	7
Budowa elektrody antymonowej.....	8
Pomiary in vitro.....	10
Pomiar zmian pH w mięśniu sercowym in vivo....	12
IV. Wyniki.....	15
IV.1. Wyniki pomiarów przeprowadzonych in vitro... 15	15
IV.1.1. Charakterystyka elektrody antymonowej do pomiaru pH, czyli zależność zmiany potencjału elektrody od zmiany pH środowiska, w którym znajduje się elektroda....	15
IV.1.2. Wpływ nasycania roztworu buforowego tlenem na wartość wyniku pomiaru.....	17
IV.1.3. Wpływ temperatury roztworu buforowego na wynik pomiaru.....	17
IV.1.4. Wpływ adrenaliny na wartość wyniku pomiaru.....	18
IV.1.5. Wpływ obecności mleczanu w roztworze buforowym na wartość wyniku pomiaru.....	18
IV.1.I. Podsumowanie wyników uzyskanych w doświadczeniach in vitro.....	20
IV.2. Wyniki pomiarów przeprowadzonych in vivo....	21
IV.2.1. Wpływ hipowentylacji na wartość potencjału elektrod antymonowych umieszczonych w mięśniu sercowym i we krwi tętniczej.....	21

IV.2.2.	Wpływ wlewów adrenaliny na wartość..... potencjałów elektrod antymonowych umiesz- czonych w mięśniu sercowym.....	24
IV.2.3.	Wpływ kwasu mlekowego i dwuwęglanu sodu na wartość potencjałów elektrody antymo- nowej umieszczonej w mięśniu sercowym....	27
IV.2.I.	Podsumowanie wyników uzyskanych w doś- wiadczeniach in vivo.....	29
V.	Omówienie wyników.....	31
V.1.	Omówienie wyników in vitro.....	31
V.1.I.	Wnioski z pomiarów in vivo.....	35
V.2.	Omówienie wyników in vivo.....	36
V.2.1.	Wnioski z pomiarów in vivo.....	42
VI.	Podsumowanie. Cechy dodatnie i ujemne elektrod antymonowych o konstrukcji przed- stawionej w niniejszej pracy.....	43
VII.	Piśmiennictwo.....	43
VIII.	Streszczenie.....	52

## I. WSTĘP

Rzeczywisty rozwój zainteresowań pomiarami wewnątrzkomórkowego pH datuje się od lat pięćdziesiątych naszego stulecia. W roku 1954 Caldwell wprowadził pomiar pH<sub>i</sub> przy pomocy mikroelektrody szklanej /7/ , a następnie w roku 1959 - Waddell i Butler zastosowali metodę DMO do pomiaru wewnątrzkomórkowego pH mięśnia szkieletowego./67/. W następnych latach prace nad udoskonaleniem metod pomiaru pH<sub>i</sub> idą głównie w dwóch kierunkach: ulepszania metody DMO i konstruowania coraz lepszych mikroelektrod szklanych /47,68/.

W chwili obecnej pH in vivo można wyznaczać następująco:

- metodą DMO /tzw. metodą "słabego kwasu"/
- metodą z zastosowaniem kwasu węglowego
- metodą z zastosowaniem słabej zasady /"nikotynową"/
- stosując barwniki
- przy pomocy mikroelektrod /szklanych lub antymonowych/
- metodą "magnetycznego rezonansu jądrowego" /NMR/.

Metoda DMO nie jest zbyt skomplikowana technicznie, lecz wymaga dość długiego czasu pomiaru. DMO /5,5-dimethyl-2,4-oxazeolidinedione/ jest słabym kwasem, którego dystrybucja przez błony komórkowe zależna jest od wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego pH. Błona komórkowa jest znacznie bardziej przepuszczalna dla kwasu niezjonizowanego. W chwili, gdy słaby kwas jest zrównoważony w tkance, jego stężenie w postaci niezjonizowanej jest jednakowe w płynie zewnątrz- i wewnątrzkomórkowym. Całkowite stężenie kwasu zjonizowanego i niezjonizowanego dla płynów zewnątrz- i wewnątrzkomórkowego jest funkcją ich pH. Ważne jest, aby zastosowany

tu słaby kwas nie był metabolizowany, toksyczny, aby nie wiązał się z białkami, nie gromadził się w tkance tłuszczowej, a także nie był aktywnie transportowany przez błonę komórkową. Największą czułość i dokładność metody można uzyskać, gdy pH kwasu jest bliskie 6,0. Wartość wewnątrzkomórkowego pH obliczana jest na podstawie pomiaru całkowitego i zewnątrzkomórkowego stężenia słabego kwasu. Zależność między zewnątrz- i wewnątrzkomórkową dystrybucją słabego kwasu, a wartością wewnątrzkomórkowego pH nie jest funkcją liniową /47,68,49,72,12,60/.

Podobna zasada obliczania wewnątrzkomórkowego pH stosowana jest w metodzie z zastosowaniem kwasu węglowego, oraz w metodzie "nikotynowej", z zastosowaniem słabej zasady /47/. Ta ostatnia metoda jest rzadziej stosowana ze względu na większy błąd pomiaru.

Wszystkie trzy metody są pośrednie, wymagają długiego czasu pomiaru /3-60 minut/ i skomplikowanych obliczeń.

Określanie pH przy pomocy barwników /47/ , aczkolwiek pozwalające na wychwycenie szybkich zmian pH, charakteryzuje się małą dokładnością wyniku. W metodzie tej wskaźnikami pH są słabe kwasy, bądź zasady organiczne, które reagując z wodą dają układy sprzężone: kwas-zasada /39/. Gdy człony układu mają różne zabarwienia - są to wskaźniki dwubarwne - np.: oranż metylowy; - gdy tylko jeden z nich jest zabarwiony - są to wskaźniki jednobarwne - np.: fenoloftaleina. Zmiana barwy wskaźnika dwubarwnego jest widoczna wówczas, gdy około 10% wskaźnika przejdzie w postać inaczej zabarwioną. Wskaźniki jednobarwne należy stosować zawsze w jednakowym stężeniu, aby wykazane przez nie wartości pH były

porównywalne. Istnieją także wskaźniki fluorescencyjne, które przy określonym pH zmieniają barwę fluorescencji, lub zaczynają fluoryzować.

Metoda "magnetycznego rezonansu jądrowego" jest jedną z najnowocześniejszych metod pomiaru pH /47/. Zastosowano ją m.in. do pomiaru pH perfundowanego serca szczura /25/ i świnki morskiej /53/. Dla pH około 7,0 jon fosforanowy występuje w komórce<sup>w</sup> mieszaninie jedno-i dwuwodorowego kwasu fosforowego, przy czym proporcje kwasów zmieniają się wraz ze zmianą pH. Jon fosforanowy ma w każdym kwasie inny rezonans magnetyczny. Na podstawie otrzymanego widma rezonansu magnetycznego można określić wartość wewnątrzkomórkowego pH.

Zastosowanie mikroelektrod do pomiaru pH mięśnia serca pozwala otrzymać bezpośredni wynik pomiaru oraz wykazać szybkie zmiany pH. Czas pomiaru jest stosunkowo krótki /od kilku sekund do około 3 minut/. Najczęściej korzysta się z elektrod szklanych, których wymiary muszą być odpowiednio zminiaturyzowane ze względu na wymiary średnicy włókna mięśnia serca /10-20  $\mu\text{m}$ / /69,73/. Aby uniknąć błędu pomiaru, wynikającego z faktu, że tylko część czułego na zmiany pH szkła elektrody znajduje się w komórce, skonstruowano elektrody z tzw. "wgnębionym czubkiem" /"recessed tip", Thomas, 1970/, wgnębionym na około 15  $\mu\text{m}$  /63/. Wykonanie takich elektrod nastęrcza duże trudności techniczne. Elektrody szklane są bardzo kruche; zastosowanie ich do pomiarów w pracującym sercu jest praktycznie niemożliwe. Pewnym kompromisem na rzecz pomiaru pH w sercu pracującym jest stosowanie elektrody /szklanej, lub antymonowej/ do pomiarów śródmiąższowych, o większych wymiarach i większej wytrzymałości mechanicznej.

Elektroda taka nie daje informacji o pH wewnątrzkomórkowym, umożliwia jednak pomiar pH w tkance pracującego serca.

Badania nad zastosowaniem elektrody antymonowej do pomiaru pH, zapoczątkowane przed przeszło pięćdziesięcioma laty /24/ podyktowane były niewątpliwą zaletą tej elektrody, jaką jest jej duża wytrzymałość mechaniczna. Pomiar pH elektrodą antymonową możliwy jest dzięki zależności jej potencjału od mierzonego pH. /24,54,42,34,39/.

W roku 1968 Vieira i Malnic z powodzeniem zastosowali antymonowe mikroelektrody do pomiarów *in vivo* /66/. Kolejni badacze /6,50/ sygnalizowali pewne trudności na jakie napotkali, stosując te elektrody do pomiarów *in vivo*. Polegały one między innymi na zależności wyniku pomiaru od składu chemicznego badanego środowiska i na małej powtarzalności wyniku. Rozwiązanie tych trudności autorzy doniesień upatrywali w zastosowaniu do kalibracji elektrod roztworów wzorcowych o składzie identycznym, jak badane środowisko pomiarowe.

Zdając sobie sprawę z wyżej wspomnianych wad elektrody antymonowej zdecydowałam się skonstruować elektrodę antymonową przeznaczoną specjalnie do pomiarów pH w pracującym mięśniu sercowym w sposób ciągły. Odpowiednią wytrzymałość mechaniczną zamierzałam uzyskać przez zastosowanie takiego podłoża dla antymonu, które wyklucza możliwość wygięcia igły podczas umieszczania elektrody w sercu, a także nie ulega korozji w tkance.

Zapis pH powinien być uzyskiwany stale z tego samego obszaru w tkance mięśnia sercowego.

W celu dokonywania pomiaru pH na zamierzonej głębokości w mięśniu sercowym, długość igły elektrody powinna być regulowana.

Koszty i czas produkcji powinny być możliwie małe.



## II. CEL PRACY

Celem pracy było zaprojektowanie i wykonanie elektrody antymonowej do pomiaru zmian pH w sposób ciągły w pracującym sercu kota na różnych głębokościach w mięśniu sercowym oraz przeprowadzenie prób zastosowania tej elektrody w warunkach doświadczalnych.

### III. METODYKA

Metoda ciągłego oznaczania pH w pracującym mięśniu serca in situ, zastosowana w niniejszej pracy, polega na pomiarze i ciągłej rejestracji zmian potencjału elektrody antymonowej, odpowiadających zmianom pH.

Elektrody do pomiaru pH w pracującym mięśniu serca powinny spełniać następujące wymagania:

- powodować możliwie małe uszkodzenie mięśnia,
- charakteryzować się dużą wytrzymałością mechaniczną oraz małymi wymiarami i ciężarem,
- posiadać dużą czułość i krótki czas ustalania się wyniku pomiaru.

Jak już wspomiano, wymaganiem stawianym elektrodom jest także możliwość dokonywania pomiaru pH na różnych głębokościach mięśnia serca.

W celu spełnienia tych wymagań zdecydowałam się zastosować igłową elektrodę antymonową, a to ze względu na jej dużo większą wytrzymałość mechaniczną w porównaniu ze sztyletową elektrodą szklaną, dużą czułość oraz krótki czas ustalania się wyniku pomiaru.

Wykonałam serię elektrod antymonowych o odmiennej od stosowanych przez firmy zachodnie /Transidyne General Corporation/ konstrukcji, polegającej na zastosowaniu opisanego poniżej talerzyka, nasuniętego na igłę elektrody, dzięki czemu uzyskano możliwość określania zmian pH na różnych głębokościach serca w sposób ciągły, bez konieczności przyszywania elektrody do mięśnia i stosowania manipulatora do umieszczenia jej w sercu.

## BUDOWA ELEKTRODY ANTYMONOWEJ

Elektroda taka, przedstawiona na ryc.A i fot.1, jest wykonana w formie pokrytej antymonem igły (a) ze stopu platyny z irydem, co zapewnia jej dużą wytrzymałość mechaniczną i odpowiednią twardość. Średnica igły, zaostrejzonej na końcu, wynosi 0,2 mm. Przyjęto dwie długości igieł elektrod: 9 mm i 5 mm.

Na igłę nasadzony jest srebrny talerzyk (b) o średnicy 6 mm, będący w kontakcie elektrycznym z igłą elektrody. Talerzyk pełni następującą funkcję:

- określa wymaganą głębokość zanurzenia igły elektrody w mięsień, a zatem pozwala na ustalenie dokładnej głębokości, na jakiej się dokonuje pomiaru bez konieczności przyszywania elektrody do mięśnia,

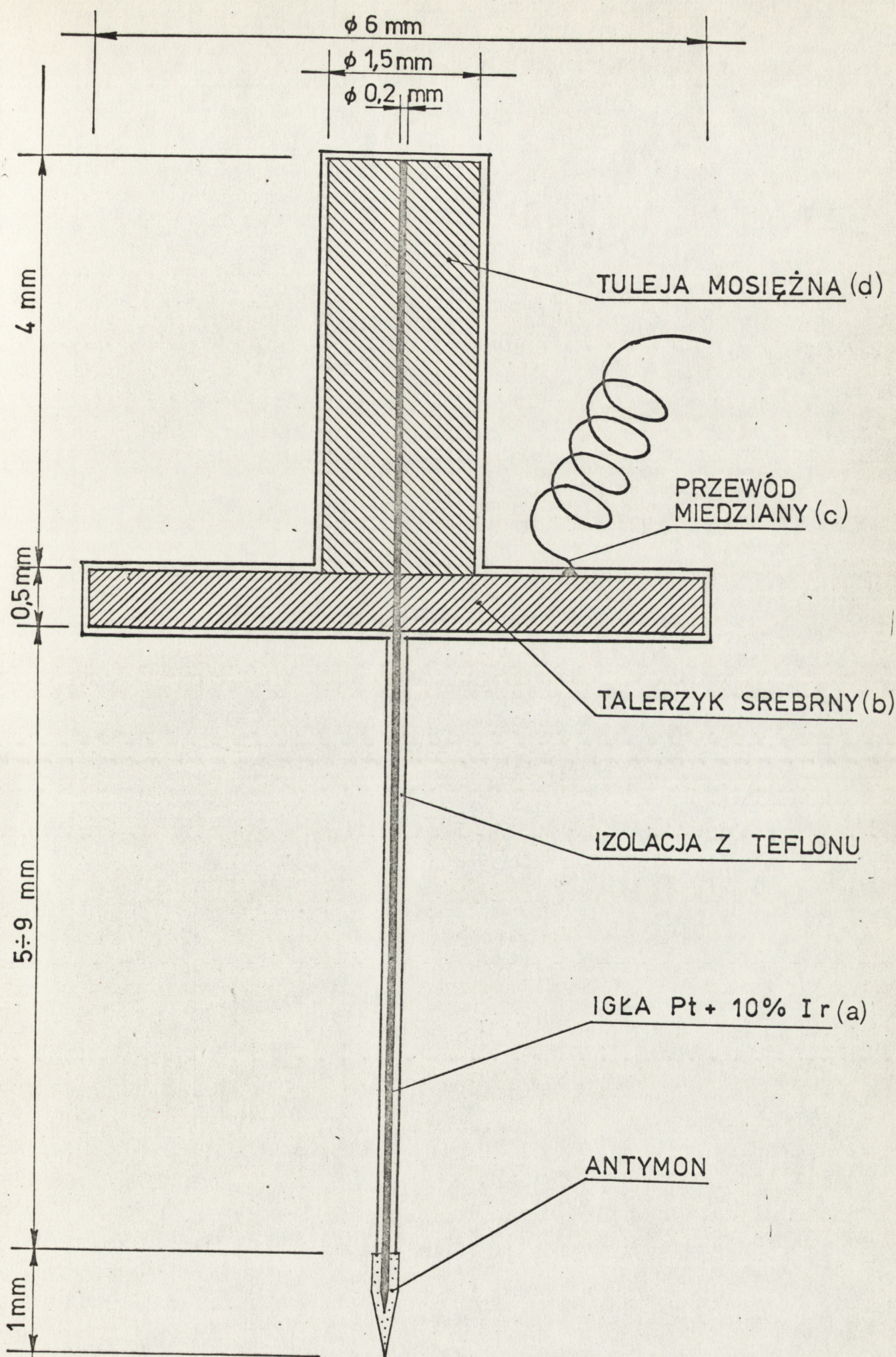
- nadaje elektrodzie większy ciężar, co jest szczególnie ważne w momencie umieszczania elektrody w mięśniu,

- pozwala na dogodnie dla użytkownika wyprowadzenie kabelka elektrody, przylutowanego do górnej powierzchni talerzyka.

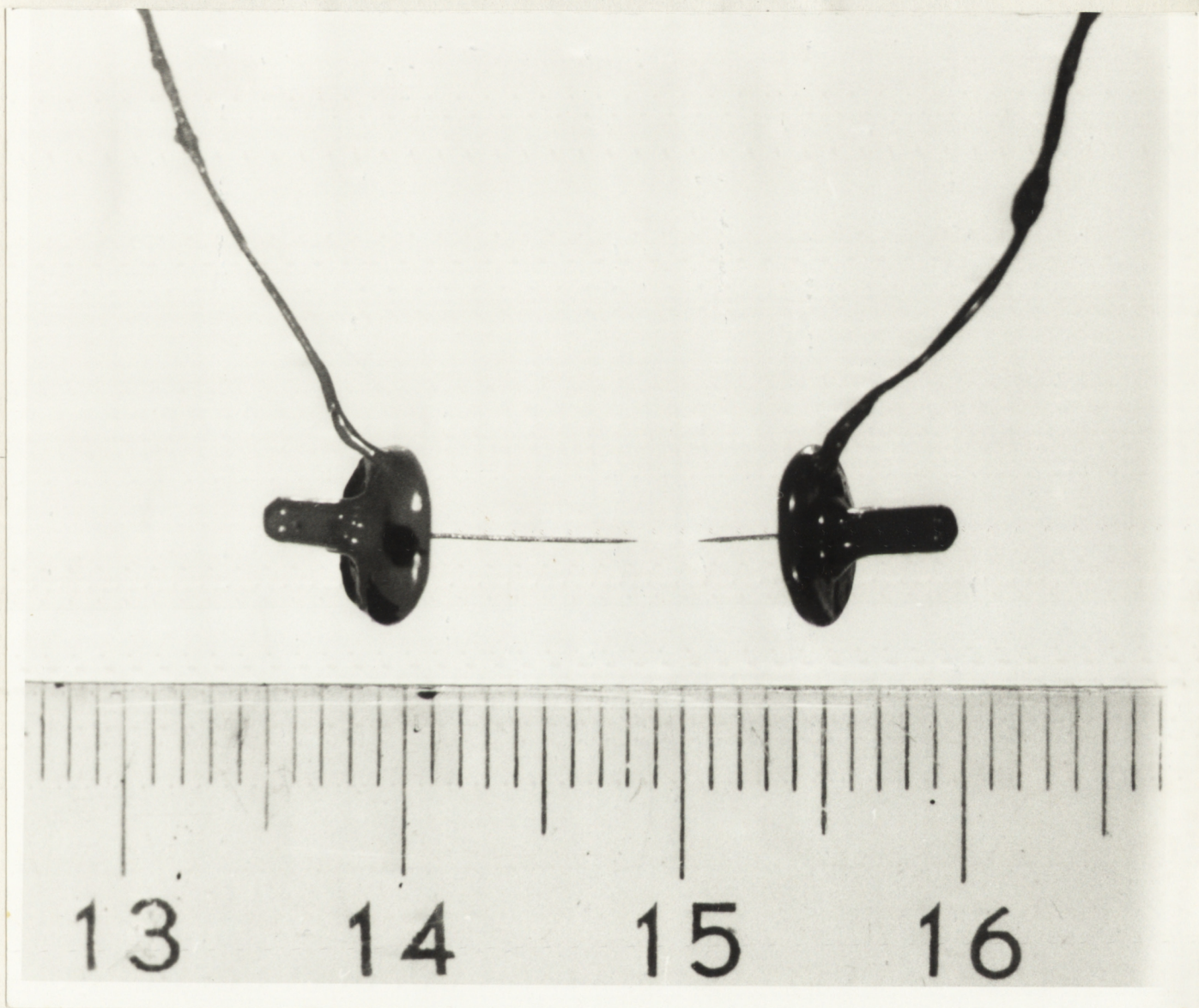
Kabelek elektrody (c) stanowi wielożyłowy przewód miedziany o średnicy 0,3 mm, zwinięty spiralnie i połączony z przewodami pehametru odpowiednim łącznikiem.

Tuleja mosiężna d, nasadzona na drugi koniec igły, zwiększa dodatkowo ciężar elektrody, a więc i siłę, z jaką elektroda wbijana jest w mięsień serca, oraz ułatwia osadzenie elektrody w przyrządzie własnej konstrukcji (fot.2), służącym do wstrzeliwania elektrody w serce.

Przyrząd ten zastosowano w celu zmniejszenia uszkodzenia mięśnia w momencie umieszczenia w nim elektrody.



Ryc. A. Budowa elektrody antymonowej do pomiaru pH



Fot.1 Elektrody antymonowe własnej konstrukcji, pozwalającej na pomiar zmian pH na różnych głębokościach w mięśniu sercowym

Konstrukcja tego przyrządu umożliwia regulację siły wystrzału elektrody. Elektrody wstrzeliwano w serce w kierunku prostopadłym do jego powierzchni.

Igłę elektrody pokrywano antymonem, a następnie całą elektrodę pokrywano lakierem izolacyjnym, zostawiając nieizolowany koniec igły, długości około 1 mm. Warstwa antymonu wykonana techniką naparowywania okazała się zbyt łatwo ściernalna, wobec czego zdecydowano się kłaść ją galwanicznie. Warunki elektrolizy ustalono doświadczalnie, starając się otrzymać jak najgładszą, jednolitą powierzchnię antymonu. W celu poprawienia jakości warstwy antymonu podgrzewano roztwór elektrolityczny do temperatury 50°C oraz poruszano elektrodą przez cały czas trwania procesu pokrywania antymonem, wynoszący od 45 do 60 minut. Roztwór elektrolityczny składał się z 50 g  $Sb_2O_3$ , 184 g kwasu cytrynowego i 286 g cytrynianu potasu, rozpuszczonych w 1 litrze wody destylowanej. Po zakończeniu elektrolizy oceniano jakość powierzchni antymonu pod mikroskopem stosując 100-krotne powiększenie.

Elektrodą odniesienia była elektroda Ag/AgCl z drutu srebrnego o średnicy 0,5 mm, pokrytego elektrolitycznie chlorkiem srebra.

Schemat zestawu do ciągłego pomiaru zmian pH w pracującym mięśniu serca kota przedstawia rys.B.

Pomiar zmian potencjałów elektrod, odpowiadających zmianom pH, dokonywany jest przy pomocy pehametru N5122 ELWRO - produkcji krajowej i - po zmianie wyjścia prądowego pehametru na wyjście napięciowe - zapisywany na rejestratorze typu WTR 281 "WATANABE" produkcji japońskiej, po odpowiedniej adaptacji elektronicznej. Adaptacja ta ma

na celu eliminację, lub minimalizację sygnału potencjału czynnościowego serca, sumującego się z sygnałem z elektrod pomiarowych i polega ona na zastosowaniu filtra RC, zbudowanego z kondensatora o wartości pojemności  $C_1 = 4,7 \mu\text{F}$  oraz rezystora o wartości rezystancji  $R_1 = 100 \text{ k}\Omega$ . Konstrukcja pehametru N5122 ELWRO pozwala na kompensację składowej stałej mierzonego napięcia.

Przeprowadzono pomiary *in vitro* i *in vivo*.

#### POMIARY IN VITRO

Do pomiarów *in vitro*, mających na celu określenie czułości elektrody antymonowej, a zatem uzyskanie wartości nachylenia charakterystyki elektrody, tj.: zmiany potencjału elektrody dla zadanej zmiany pH środowiska, stosowano roztwory buforowe o pH od 4 do 9.

Skład chemiczny roztworów buforowych był następujący:

1. roztwór buforowy fosforanowy / $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ /
2. roztwór buforowy maleinianowy /Tris, kwas maleinianowy i NaOH/.

Pomiarów dokonywano w temperaturze pokojowej tj.:  $23^\circ\text{C}$  -  $25^\circ\text{C}$ , modyfikując wartości pH w zależności od temperatury. Kontrolę pH roztworów buforowych przeprowadzano pehametrami: N5122 ELWRO i duńskim pehametrem firmy Radiometer. Elektrody umieszczano w roztworach buforowych na okres od 1 do 20 min. /najczęściej na 3 min./, aby uzyskać pewność, że wartość mierzonego napięcia ustaliła się.

Sprawdzono zależność wyniku pomiaru od ciśnienia parcjalnego tlenu w roztworze buforowym, kontrolując  $p\text{O}_2$  przy pomocy aparatu "Astrup" /Blood Microsystem BMS-3,

Digital Acid-Base Analyzer PHM 72, "Radiometer", Copenhagen/  
i pobierając próbkę roztworu buforowego wysyconego tlenem  
po ok. 3 min. saturacji, w momencie kiedy ustaliła się nowa  
wartość napięcia.

Sprawdzono również zależność wyniku pomiaru od tempe-  
ratury roztworu buforowego, którą zmieniano w granicach od  
22°C do 39°C.

Wykonano także pomiary w roztworach zawierających:

1. adrenalinę - w ilości 0,3  $\mu$ g w 1 litrze roztworu  
buforowego fosforanowego lub maleinianowego
2. noradrenalinę - w ilości 0,3  $\mu$ g w 1 litrze roztworu  
buforowego fosforanowego lub maleinianowego
3. mlecza - w ilości 1 lub 2 ml roztworu buforowego  
mleczanowego o pH = 6 w 20 ml roztworu buforowego fosfora-  
nowego o pH = 6.

Pomiary te wykonano w celu sprawdzenia bezpośredniego wpły-  
wu tych substancji na wynik mierzonego napięcia. Wykorzy-  
stano tu metodę z zastosowaniem mostka elektrolitycznego,  
łączącego czysty roztwór buforowy z elektrodą odniesienia  
Ag/AgCl z roztworami buforowymi, zawierającymi powyższe  
składniki wraz z pomiarową elektrodą antymonową. Pozwoliło  
to na wykluczenie błędu wynikającego z reakcji elektrody  
odniesienia, a nie elektrody pomiarowej na daną substancję.  
Pomiary powtarzano od 2 do 5 razy dla tych samych warunków  
dla każdego egzemplarza elektrody w celu zbadania powtarzal-  
ności wyniku pomiaru.

Zmierzono również czas upływający od momentu umieszczenia  
elektrody w roztworze buforowym do ustalenia się wyniku  
pomiaru na skali pehametru.



## POMIAR ZMIAN pH W MIĘŚNIU SERCOWYM IN VIVO

Pomiary in vivo przeprowadzono na 19 kotach obojga płci o wadze od 2,5 do 4,5 kg. Jako środka anestetycznego użyto w części doświadczeń nembutalu, lub vetbutalu /30 mg/kg/. W miarę potrzeby powtarzano dawkę. Pozostałym zwierzętom, po wstępnym znieczuleniu vetbutalem /30 mg/kg/, podawano uretan z chloralozą /120 mg uretanu i 50 mg chloralozy/kg/. Po wykonaniu tracheotomii stosowano sztuczną wentylację przy pomocy klasycznej pompy oddechowej produkcji "Medipan". Mięśnie oddechowe porażano stosując Tricuran /3 mg/kg/ lub Tubocurarin /1 mg/kg/. Wartość wyjściową częstości oddechów i pojemności oddechowej korygowano stosownie do wyników pomiarów pH,  $pO_2$  i  $pCO_2$  krwi tętniczej.

Celem uzyskania próbek krwi tętniczej kaniulowano tętnicę udową. Pomiary pH,  $pO_2$  i  $pCO_2$  krwi tętniczej przeprowadzono kontrolnie w trakcie całego doświadczenia aparatem "Astrup" produkcji f-my Radiometer. Drugą tętnicę udową kaniulowano, aby rejestrować ciśnienie krwi. Pod pojęciem ciśnienie krwi rozumiano średnie ciśnienie tętnicze krwi. Pomiarów ciśnienia krwi dokonywano przy użyciu elektromanometru EK-4 produkcji FARUM, zapisując je na rejestratorze "Watanabe" przez cały czas trwania doświadczenia. Kaniulowano także żyłę udową do podawania leków. Temperaturę zwierzęcia /37°C/ utrzymywano przy pomocy promiennika ciepła.

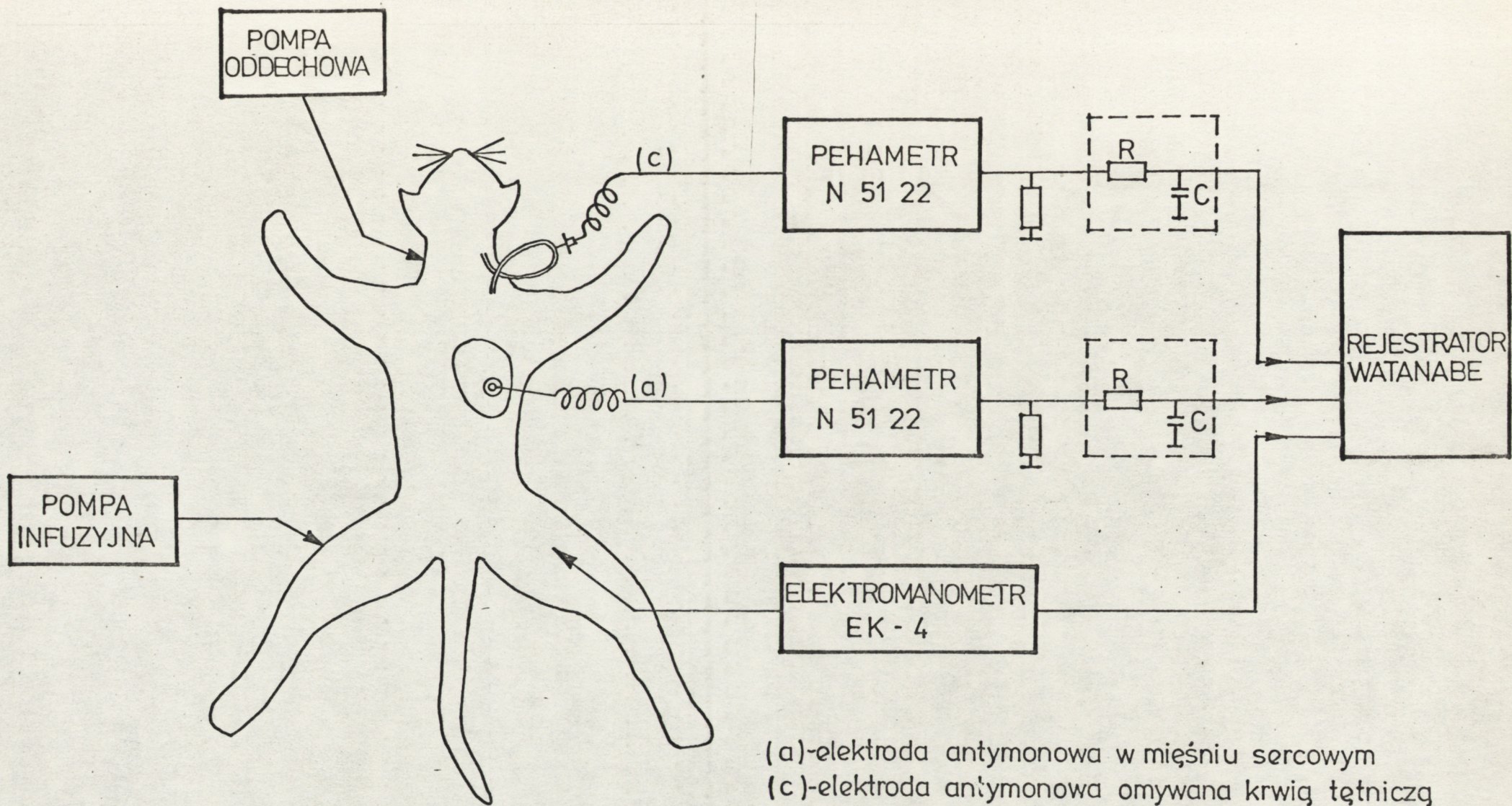
Klatkę piersiową otwierano w linii środkowej. Po otwarciu osierdzia elektrody antymonowe /a/ do pomiaru pH wstrze-  
liwano w lewą komorę oraz w koniuszek serca przy pomocy  
opisanego uprzednio przyrządu, a elektrody odniesienia  
Ag/AgCl /b/ umieszczono pod skórą kończyn przednich - jak  
to przedstawiono schematycznie na rys.B i fot.3.

U ośmiu kotów zakaniulowano również tętnicę szyjną,  
przy czym kaniulę uformowano w pętlę /c/. Jeden koniec ka-  
niuli wprowadzano do obwodowego, a drugi do dośrodkowego  
końca przeciętej tętnicy. W pętli umieszczono elektrodę.  
Po podaniu heparyny /1.000 j.m./kg/ otwierano przepływ krwi,  
która omywała elektrodę. Układ ten przedstawiony jest na  
ryc.B. Wartość mierzonego napięcia elektrody antymonowej  
w pętli odczytywaną na pehametrze N5122 ELWRO porównywano  
z wartościami pH krwi tętnicznej, mierzonymi aparatem  
"Astrup".

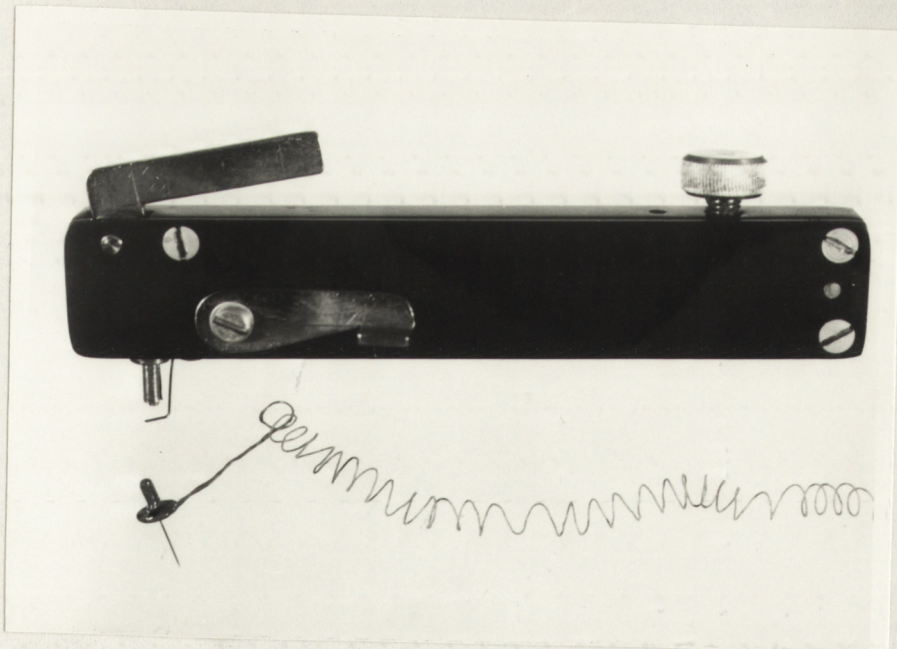
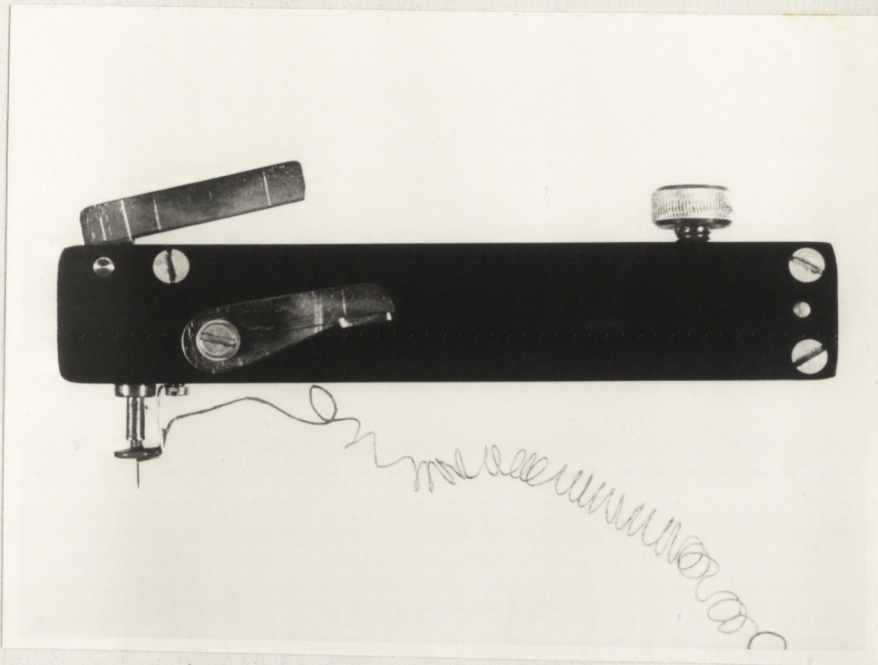
Opisana manipulacja dawała możliwość przeprowadzenia kalib-  
racji elektrody antymonowej we krwi, a więc i możliwość od-  
czytywania wyniku pomiaru bezpośrednio w jednostkach pH,  
a nie w mV.

Przeprowadzono trzy typy doświadczeń in vivo, w któ-  
rych starano się wywołać i określić kierunki zmian pH  
mięśnia serca.

I. Jako model pierwszy przyjęto serce pracujące w wa-  
runkach hipowentylacji, spowodowanej zmniejszeniem obję-  
tości pompy oddechowej do 50% i 30% objętości początkowej.



RYC. B. Schemat zestawu do ciągłego pomiaru zmian pH w pracującym mięśniu sercowym



Fot.2 Przyrząd do wstrzeliwania elektrod w pracujący mięsień sercowy.

Powyżej: elektroda osadzona w "lufie" przyrządu.

Poniżej: elektroda wystrzelona z przyrządu

II. Drugim modelem było badanie zmian pH w mięśniu sercowym podczas wlewu adrenaliny w ilościach od  $0,6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  do  $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ , podawanych w ciągu 5-10 minut.

III. Model trzeci polegał na ocenie zmian pH mięśnia serca wywołanych przez:

1/ podanie roztworów kwasu mlekowego 0,062-molarnego, 0,124-molarnego, 0,58-molarnego i 0,97-molarnego do żyły udowej w ilości od  $1,56 \text{ mg}/\text{kg}/\text{min}$  do  $24,36 \text{ mg}/\text{kg}/\text{min}$  we wlewie ciągłym w czasie od 5 do 15 minut.

2/ jednorazowe podanie dożylnie kwasu mlekowego 1-molarnego w ilości 1 ml.

3/ jednorazowe podanie dożylnie dwuwęglanu sodu /Natrium bikarbonat. - Losöng 8,40 g/100 ml, Salvia-Werk/ w ilości 10 ml.

Zmiany potencjału elektrod, rejestrowane w sposób ciągły, porównywano ze zmierzonymi aparatem "Astrup" zmianami pH,  $p\text{O}_2$  i  $p\text{CO}_2$  próbek krwi tętniczej, pobieranych na początku, w trakcie oraz po zmianie parametrów wentylacji, lub po podaniu w/w. substancji.

Po zakończeniu doświadczenia pobierano fragment mięśnia serca, w którym znajdowały się elektrody pomiarowe, utrwalano go w 4% roztworze formaliny i dokonywano oceny histologicznej stopnia uszkodzenia mięśnia przez elektrody. Badania histologiczne przeprowadzono dla 5-ciu kotów wybranych losowo.

#### IV. WYNIKI

##### IV.1. WYNIKI POMIARÓW PRZEPROWADZONYCH IN VITRO

##### IV.1.1. Charakterystyka elektrody antymonowej do pomiaru pH, czyli zależność zmiany potencjału elektrody od zmiany pH środowiska, w którym znajduje się elektroda

Reakcje ośmiu wykonanych elektrod antymonowych na zmiany pH roztworów buforowych maleinianowych i / lub fosforanowych przedstawiono graficznie na rys. 1-15, a wyniki pomiarów zmian potencjałów elektrod w zależności od pH tych roztworów buforowych zestawiono w tabelach I-IX.

Ryc.1 przedstawia charakterystykę elektrody antymonowej nr 1 w roztworze buforowym maleinianowym w temp. 23°C. Przedstawiono wyniki kolejnych czterech pomiarów, wykonanych w takich samych warunkach. Wartości pomiarów na wykresie odpowiadają tym, które rejestrowano po ustaleniu się wyniku pomiaru. Na rycinie wykreślono także krzywą odpowiadającą teoretycznemu nachyleniu charakterystyki elektrody antymonowej, obliczonemu na podstawie wzoru Nernsta i wynoszącemu 59 mV/jedn.pH

Tabela I zawiera wyniki pomiarów zmian potencjału elektrody nr 1 w zależności od zmian pH roztworu buforowego maleinianowego o temperaturze 23°C z uwzględnieniem czasu ustalania się wyniku pomiaru dla poszczególnych wartości pH od momentu zanurzenia elektrody w roztworze buforowym /czas 0/.

Charakterystyki pozostałych siedmiu elektrod w roztworze buforowym maleinianowym przedstawiają kolejne ryciny

2 + 8, a wartości kolejnych pomiarów dla poszczególnych elektrod zamieszczono w tabelach II - VIII.

Stwierdzono małą powtarzalność wyników uzyskanych w kolejnych pomiarach, dokonanych tą samą elektrodą, na co mogła mieć wpływ jakość powierzchni elektrody i warstwy izolacyjnej, czystość chemiczna antymonu oraz skład roztworu buforowego.

Zależność potencjału elektrody antymonowej w roztworze buforowym maleinianowym, otrzymana na podstawie wyników uzyskanych dla 8 badanych elektrod, przedstawiona jest na ryc.14. Na wykresie zaznaczono również wartości odchyłek standardowych. Zmiana potencjału elektrod, wywołana zmianą pH roztworu buforowego maleinianowego wynosiła około 54 mV/ jednostka pH dla wartości pH niższych od 6,5, natomiast powyżej pH równego 6,5 nachylenie charakterystyki było mniejsze i wynosiło około 23 mV/jednostkę pH. Otrzymaną charakterystykę elektrody antymonowej w roztworze buforowym maleinianowym można byłoby przedstawić w postaci krzywej składającej się z dwóch odcinków prostoliniowych o różnych nachyleniach. Pierwszy odcinek charakterystyki, dla wartości pH niższych od 6,5, można obliczyć na podstawie równania regresji w postaci:

$$y = 213,403 + 53,71 \cdot x$$

a drugi odcinek /dla wartości pH wyższych od 6,5/ - z równania regresji w postaci:

$$y = 410,913 + 23,25 \cdot x$$

mV]

Ryc.1. Charakterystyka elektrody antymonowej nr.1  
w roztworze buforowym maleinianowym

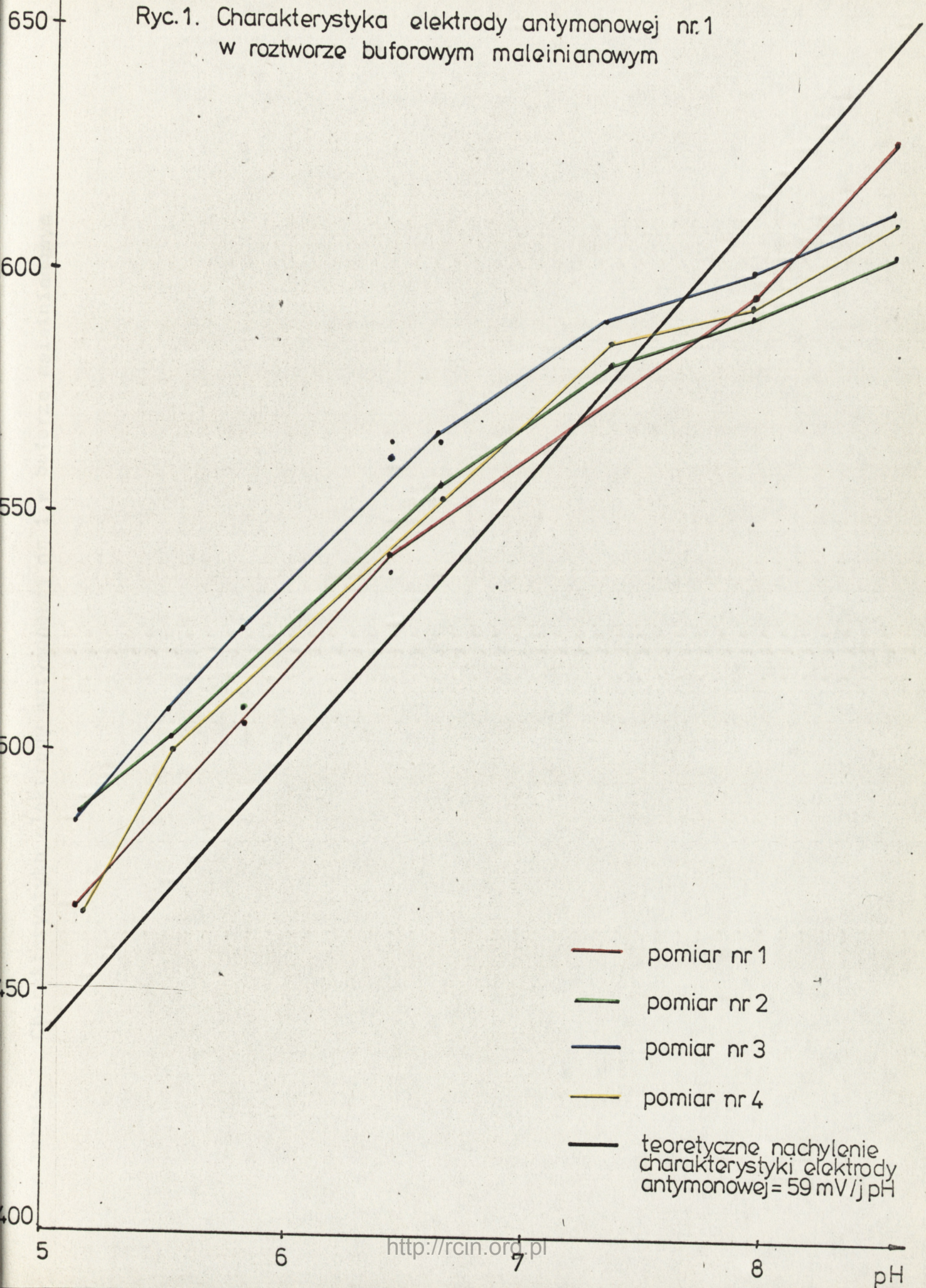




Tabela I. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 1 w buforze maleinianowym

pH	U mV pomiar 1	czas pom. min	U mV pomiar 2	czas pom. min	U mV pomiar 3	czas pom. min	U mV pomiar 4	czas pom. min	U mV pomiar 5	czas pom. min
5.1	-468	0	- 488	0	- 490	0	- 490	0	- 468	0
	- 468	3	- 488	10	- 488	1	- 488	1	- 468	1
					- 486	2	- 486	5		
					- 486	5				
					- 486	6				
5.5	- 504	0	- 504	0	- 510	0	- 506	0	- 502	0
			- 503	1	- 508	30s	- 508	10s	- 502	3
			- 503	3	- 508	1	- 509	1		
					- 508	2	- 509	2		
							- 509	3		
5.8			- 510	0	- 520	0	- 526	0		
			- 510	2	- 518	3s	- 526	1		
					- 518	30s				
					- 518	1				
					- 519	3				
					- 518	30				
6.4	- 538	0	- 562	0	- 550	0	- 560	5s	- 538	1
	- 540	5	- 564	3	- 551	15s	- 561	20s	- 540	2
	- 542	10	- 566	4	- 552	30s	- 562	30s	- 540	3
	- 542	15	- 566	5	- 552	1	- 562	1		
					- 554	3	- 562	2		
					- 554	5	- 562	3		

cd. Tabeli I

pH	U mV pomiar 1	czas pom. min	U mV pomiar 2	czas pom. min	U mV pomiar 3	czas pom. min	U mV pomiar 4	czas pom. min	U mV pomiar 5	czas pom. min
cd.6.4					- 556 - 556	20 25	- 560	4		
6.6	- 554 - 556	0 15	- 556 - 554 - 556 - 556	0 1 2 3	- 562 - 562 - 562	0 3 5	- 567 - 567 - 567	0 1 2	- 556 - 556	0 1
7.3	- 562 - 566 - 567	0 3 15	- 582 - 582	0 2	- 578 - 578	0 2	- 590 - 590 - 590	0 1 2	- 586 - 588 - 588	4 6 8
7.9	- 590 - 594 - 592 - 595	0 1 2 30	- 592 - 592	0 2	- 582 - 584 - 586 - 586 - 586	0 1 3 5 7	- 600 - 600	30s 1	- 594	9
8.5	- 626 - 628 - 628 - 628	0 1 3 10	- 602 - 604 - 604 - 604	0 1 2 3	- 590 - 590 - 590	0 2 30	- 614 - 614 - 614 - 614	15s 1 2 3	- 612 - 612	0 2

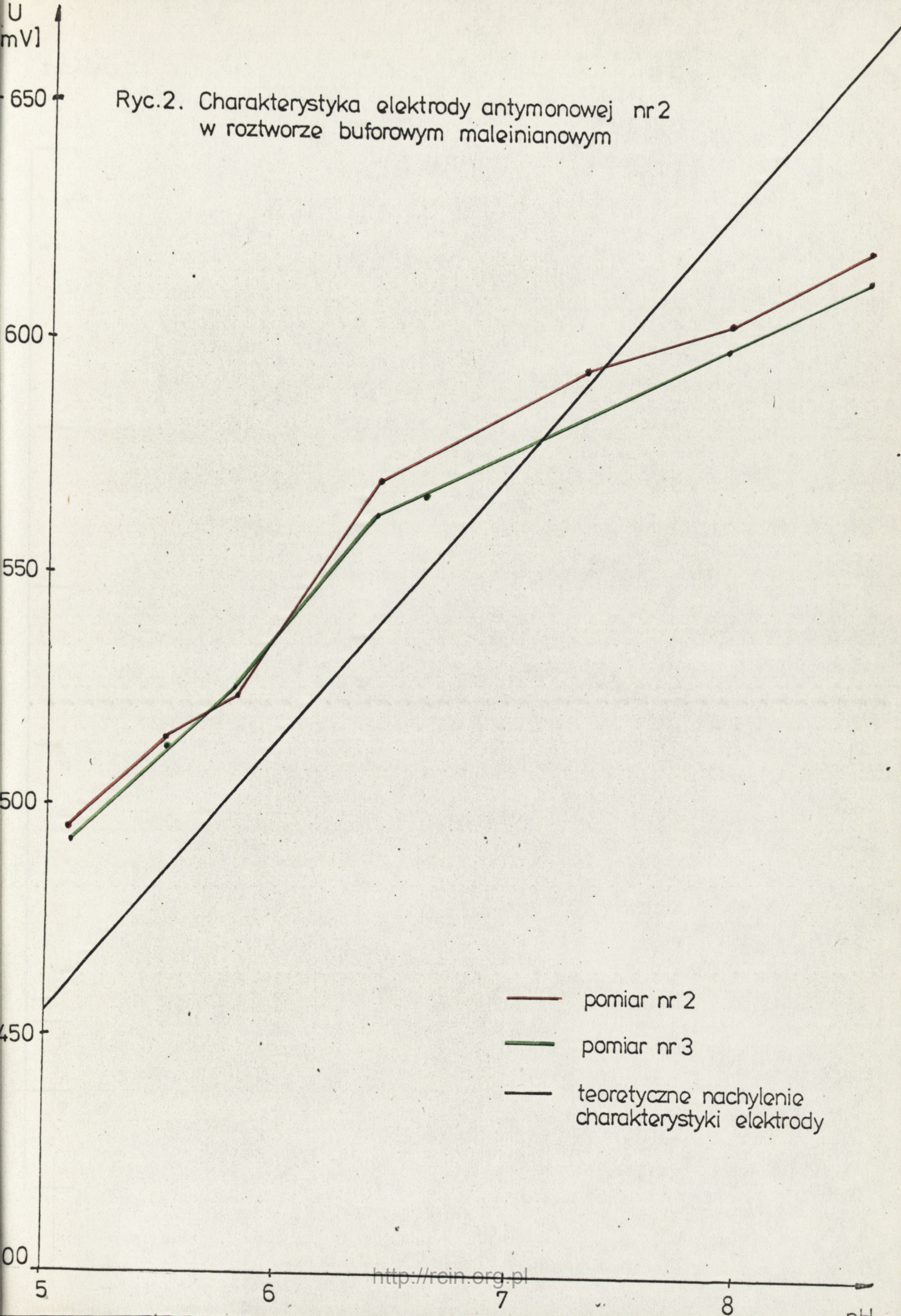


Tabela II. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 2 w buforze maleinianowym

pH	U mV pomiar nr 1	czas pom. min	U mV pomiar nr 2	czas pom. min	U mV pomiar nr 3	czas pom. min
5,1	- 486	0	- 494	0	- 500	0
	- 486	5	- 494	3	- 496	1
					- 494	3
					- 492	5
					- 492	7
5,5	- 502	0	- 512	0	- 508	0
	- 502	3	- 513	1	- 510	10s
			- 513	2	- 512	30s
					- 512	1
					- 512	2
5,8	- 522	0	- 523	0	- 522	0
	- 522	2	- 524	1	- 524	10s
			- 524	2	- 525	30s
					- 525	1
					- 525	2
6,4	- 550	0	- 570	0	- 550	0
	- 545	1	- 570	2	- 554	10s
	- 548	5	- 570	3	- 556	20s
			- 570	4	- 558	30s
					- 560	1
					- 562	3
					- 563	5
					- 563	6
				- 563	7	
6,6			- 566	0	- 568	1
			- 566	3	- 568	3
7,3			- 590	0	- 590	1
			- 594	1	- 592	3
			- 594	2	- 592	5

cd. Tabeli II

pH	U mV pomiar nr 1	czas pom. min	U mV pomiar nr 2	czas pom. min	U mV pomiar nr 3	czas pom. min
7,9			- 602	0	- 602	1
			- 604	1	- 598	8
			- 604	2	- 598	10
8,5			- 614	0	- 610	1
			- 616	3	- 612	2
			- 620	10	- 614	4
			- 620	20	- 614	6

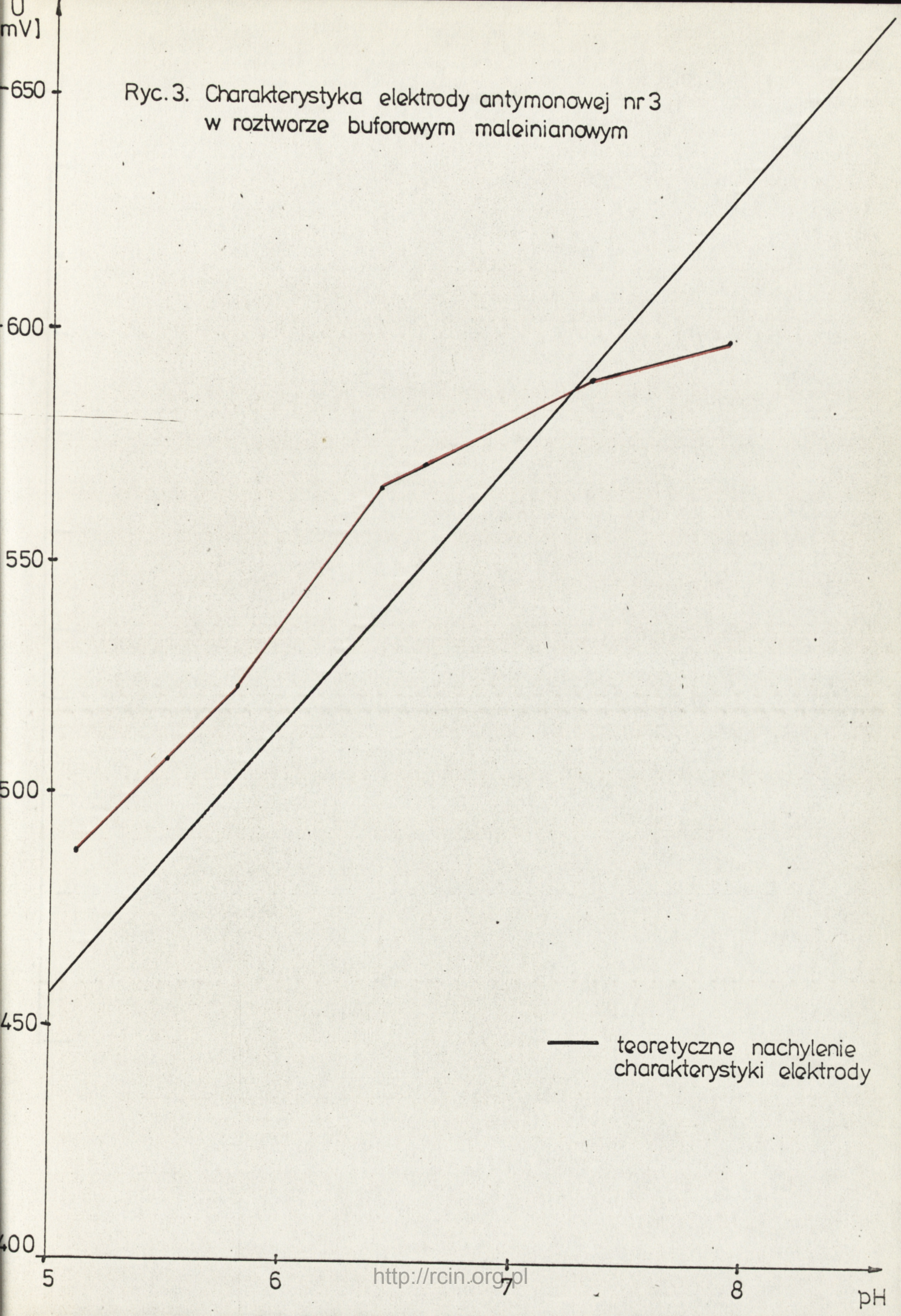


Tabela III. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 3 w buforze maleinianowym

pH	U mV pomiar nr 1	czas pom. min	U mV pomiar nr 2	czas pom. min
5,1	- 482	0	- 488	0
	- 482	1	- 488	3
5,5	- 504	0	- 510	0
	- 502	1	- 508	2
	- 502	2	- 508	3
5,8	- 520	0	- 526	0
	- 520	3	- 524	1
			- 524	2
6,4	- 548	0	- 566	0
	- 550	5	- 566	3
	- 550	11		
6,6			- 572	0
			- 572	3
7,3			- 586	1
			- 590	3
			- 590	5
7,9			- 600	0
			- 598	1
			- 598	5
8,5			- 606	0
			- 604	3
			- 604	4
			- 604	5

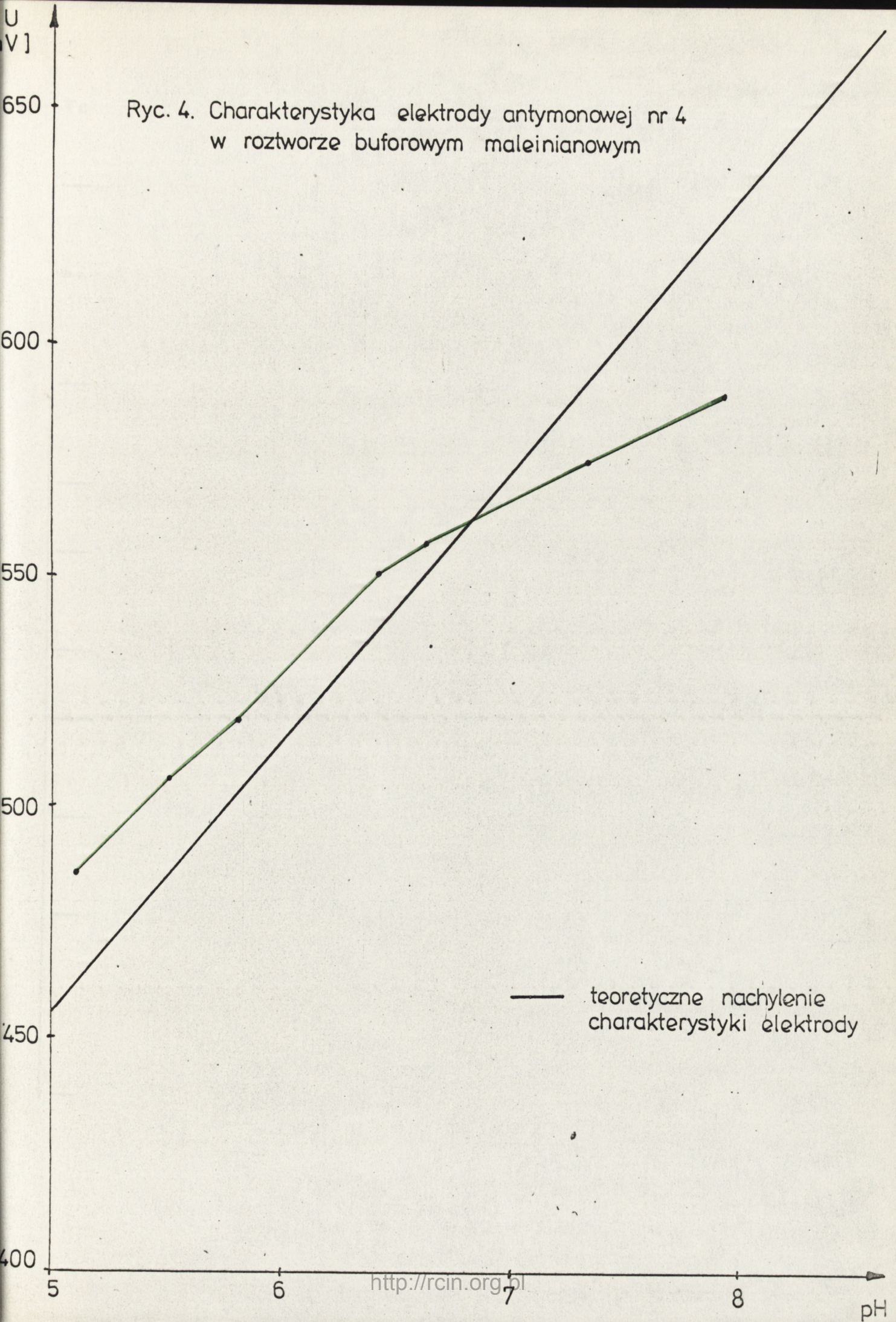




Tabela IV. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 4 w buforze maleinianowym

pH	U mV pomiar nr 1	czas pom. min	U mV pomiar nr 2	czas pom. min
5,1	- 483	0	- 486	0
	- 484	1	- 486	3
	- 483	3		
5,5	- 504	0	- 510	0
	- 502	1	- 506	3
	- 502	3	- 506	5
5,8	- 516	0	- 518	0
	- 516	2	- 518	1
6,4	- 542	0	- 550	0
	- 544	30s	- 550	3
	- 544	2		
6,6			- 556	0
			- 556	3
7,3			- 572	0
			- 574	1
			- 574	2
7,9			- 580	0
			- 582	1
			- 588	5
8,5			- 592	0
			- 594	1
			- 596	3
			- 597	5
			- 598	6

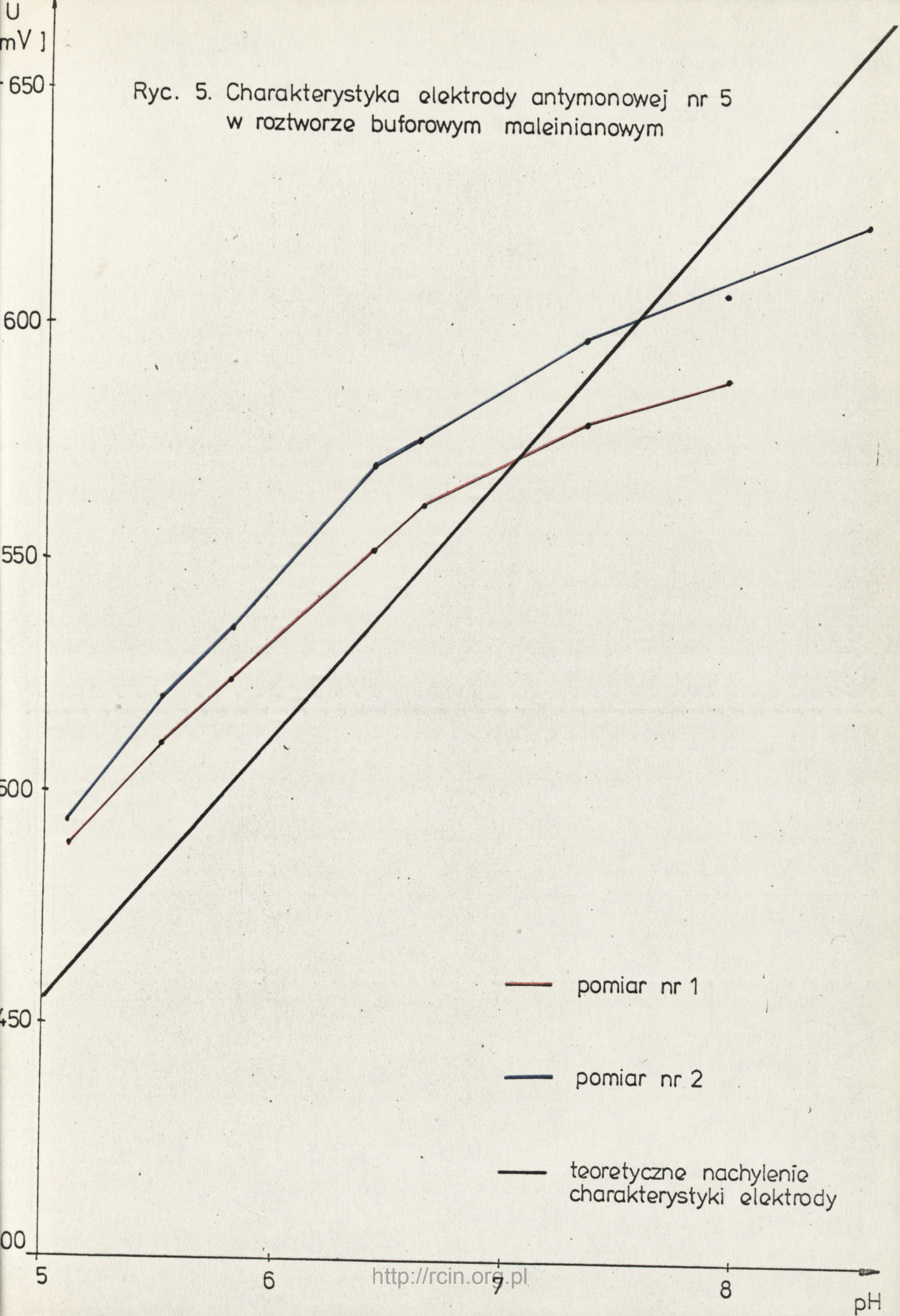


Tabela V. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 5 w buforze maleinianowym

pH	U mV pomiar nr 1	czas pom. min	U mV pomiar nr 2	czas pom. min
5,1	- 482	0	- 497	0
	- 486	1	- 496	1
	- 488	2	- 496	2
	- 488	3	- 495	3
			- 494	4
			- 494	5
5,5	- 512	0	- 522	0
	- 511	1	- 521	1
	- 510	2	- 520	2
	- 510	3	- 520	3
5,8	- 524	0	- 534	10s
	- 524	1	- 534	1
	- 524	2	- 535	2
	- 524	3	- 535	3
6,4	- 554	0	- 566	0
	- 552	3	- 568	1
	- 552	5	- 569	2
			- 570	3
			- 570	4
6,6	- 560	0	- 576	0
	- 562	30s	- 576	1
	- 562	1	- 576	3
	- 561	2		
	- 561	3		
	- 562	10		
7,3	- 578	0	- 596	0
	- 580	1	- 598	5
	- 580	2		
	- 580	3		

cd. Tabeli V

pH	U mV		U mV	
	pomiar nr 1	czas pom. min	pomiar nr 2	czas pom. min
7,9	- 588	0	- 604	0
	- 590	1	- 606	15s
	- 590	2	- 607	30s
	- 590	3	- 608.	1
			- 608	2
			- 608	3
8,5	- 588	3	- 622	0
	- 590	4	- 622	3
	- 590	5		

Ryc. 6. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 6  
w roztworze buforowym maleinianowym

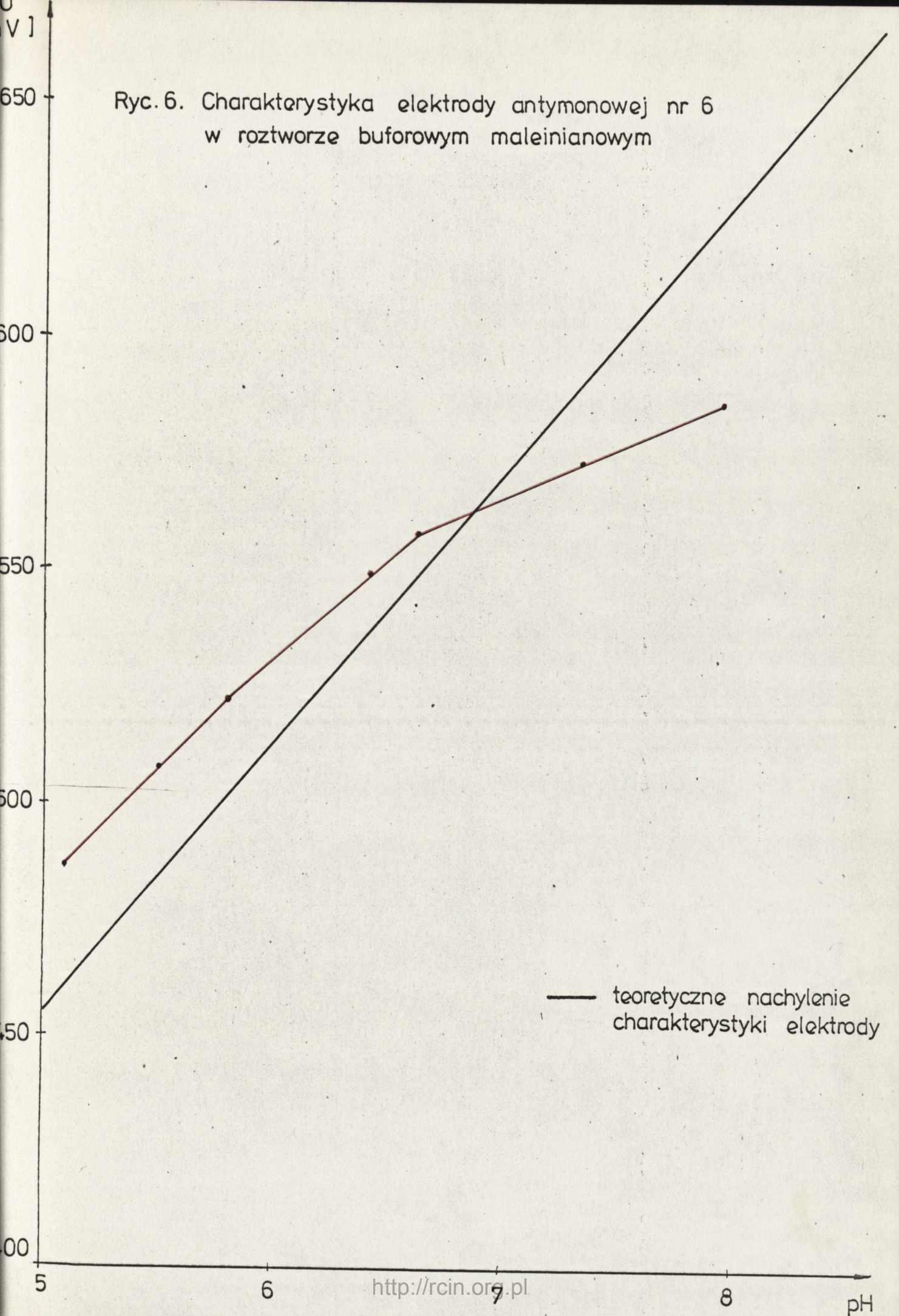


Tabela VI. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 6  
w buforze maleinianowym

pH	U mV	czas pom. min
5,1	- 486	0
	- 486	1
	- 486	2
	- 486	3
5,5	- 509	0
	- 509	1
	- 508	2
	- 508	3
5,8	- 522	0
	- 522	1
	- 522	3
6,4	- 552	0
	- 550	30s
	- 550	2
	- 550	3
6,6	- 562	0
	- 560	5s
	- 559	1
	- 559	2
	- 558	5
7,3	- 575	0
	- 574	1
	- 574	2
	- 574	3

cd. Tabeli VI

pH	U mV	czas pom. min
7,9	- 580	0
	- 580	1
	- 582	2
	- 583	3
	- 585	5
	- 586	6
	- 586	9
	- 586	10
8,5	- 582	1
	- 585	12

Ryc. 7. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 7  
w roztworze buforowym maleinianowym

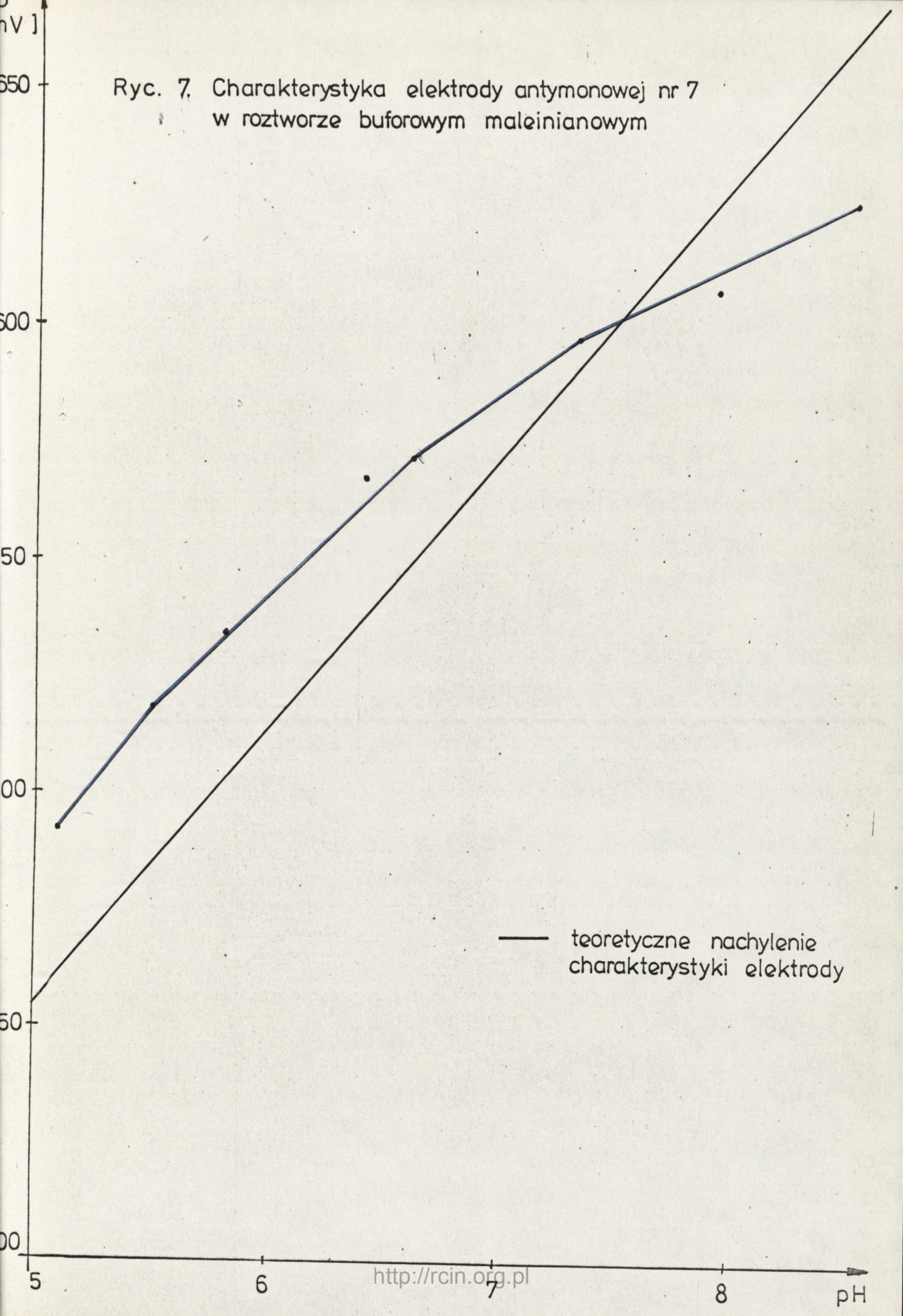




Tabela VII. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 7  
w buforze maleinianowym

pH	U mV	czas pom. min
5,1	- 492	0
	- 492	3
5,5	- 518	0
	- 516	1
	- 516	2
	- 518	3
5,8	- 532	0
	- 533	1
	- 534	2
	- 534	3
6,4	- 562	0
	- 564	30s
	- 566	1
	- 568	2
	- 568	3
6,6	- 574	0
	- 572	30s
	- 572	1
	- 572	2
	- 572	3
7,3	- 592	0
	- 596	1
	- 597	2
	- 597	3
	- 597	5

cd. Tabeli VII.

pH	U mV	czas pom. min
7,9	- 606	0
	- 608	1
	- 608	2
	- 608	11
8,5	- 624	30s
	- 624	1
	- 626	2
	- 626	3
	- 628	30

Ryc. 8. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 8 w roztworze buforowym maleinianowym

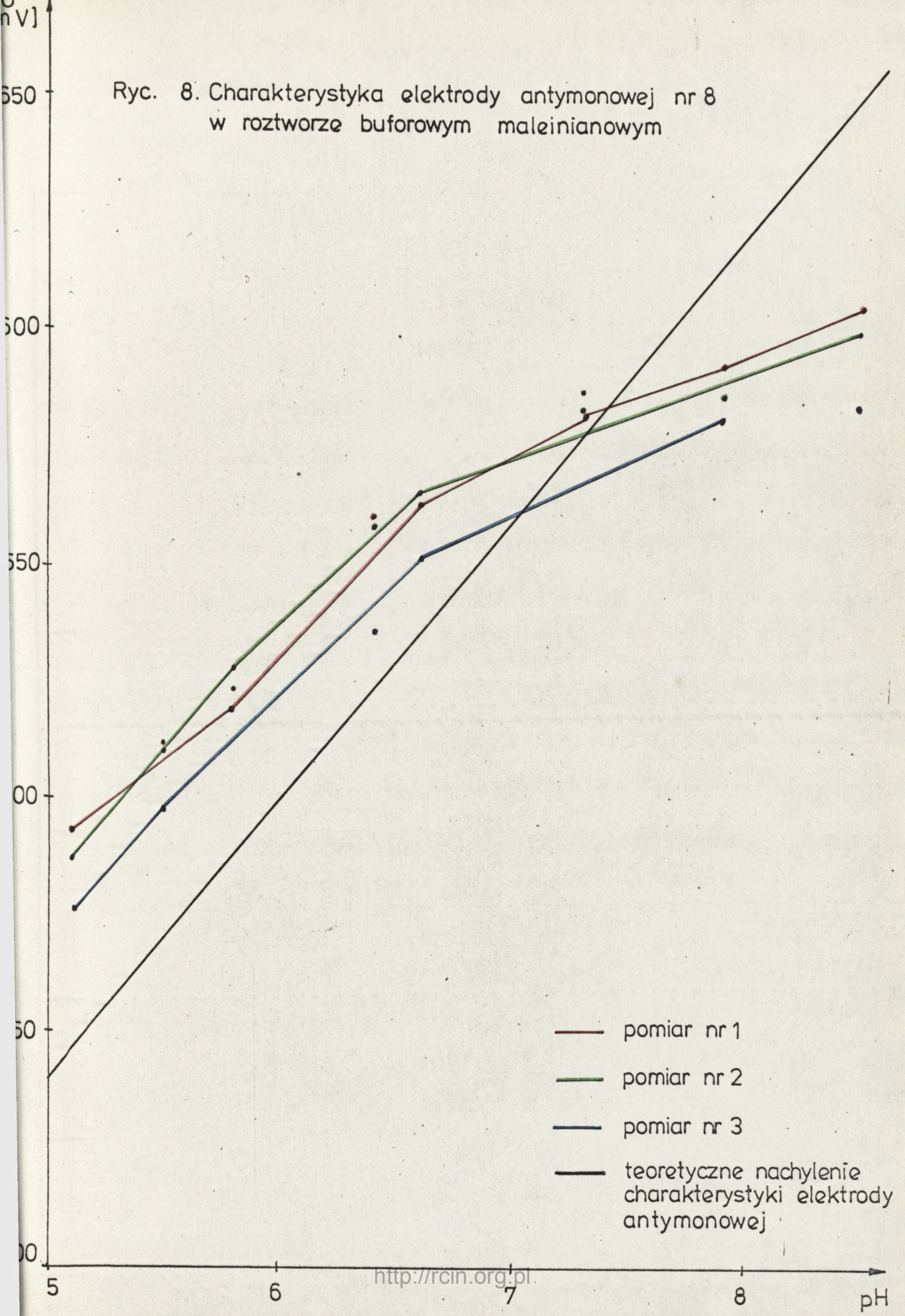


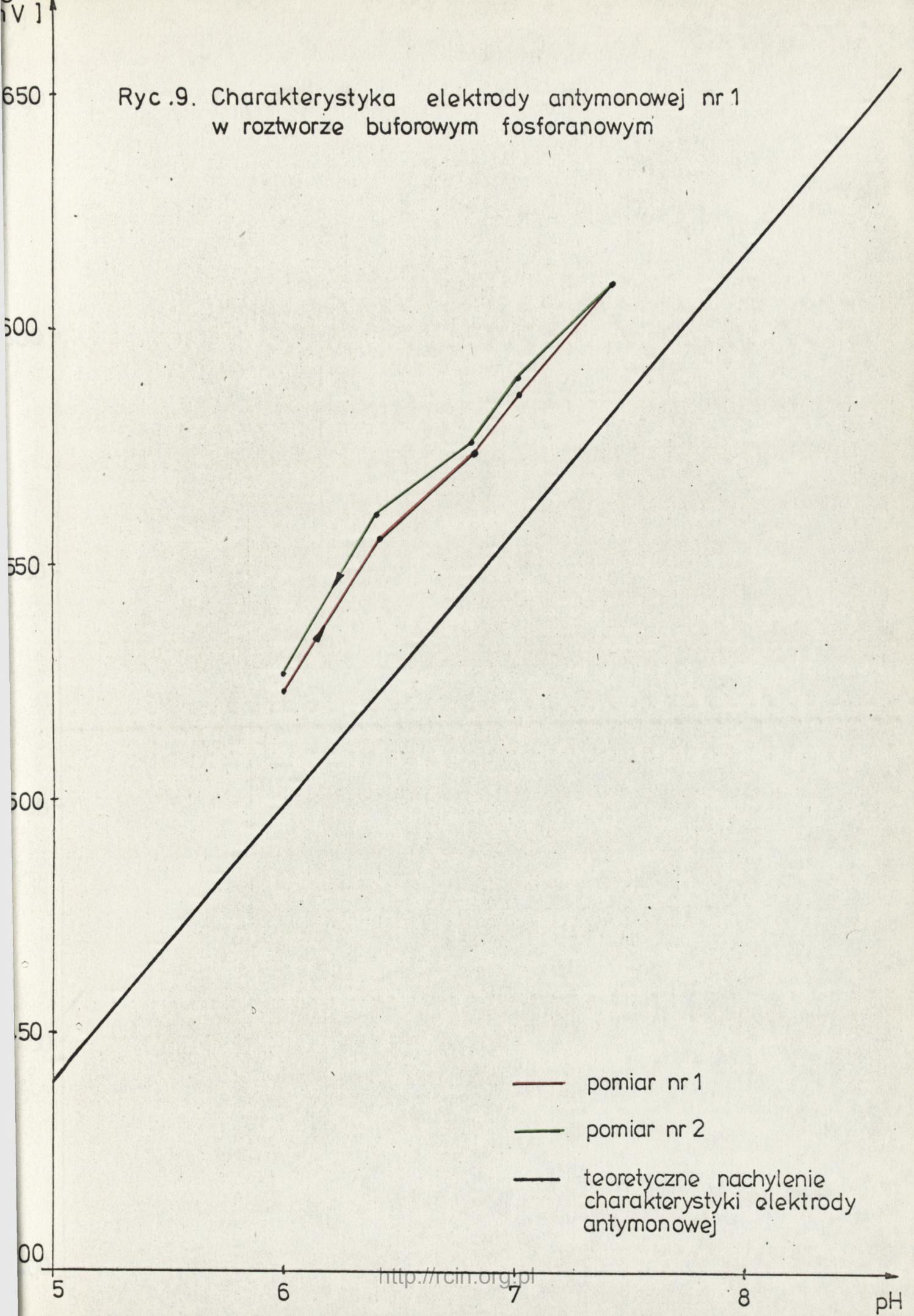
Tabela VIII. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 8 w buforze maleinianowym

pH	U mV pomiar nr 1	czas pom. min	U mV pomiar nr 2	czas pom. min	U mV pomiar nr 3	czas pom. min
5,1	- 496	30s	- 488	0	- 476	0
	- 495	2	- 488	3	- 476	1
	- 495	5				
5,5	- 516	0	- 514	15s	- 500	0
	- 514	15s	- 513	1	- 498	3
	- 514	30s	- 512	2		
	- 512	1	- 512	3		
	- 513	2				
	- 513	3				
5,8	- 524	0	- 530	0	- 526	0
	- 520	30s	- 526	1	- 524	1
	- 520	1	- 526	2	- 523	3
	- 519	2	- 528	3	- 524	11
	- 519	3	- 528	4		
	- 520	10	- 528	5		
6,4	- 564	0	- 560	1	- 533	0
	- 562	10s	- 560	3	- 534	3,
	- 562	1			- 536	5
	- 561	2				
	- 561	3				
6,6	- 564	0	- 566	5s	- 556	0
	- 564	1	- 564	1	- 552	3
	- 564	2	- 565	2		
	- 564	3	- 565	3		
7,3	- 582	0	- 584	0	- 588	0
	- 582	1	- 584	1	- 586	4
	- 582	2	- 584	2	- 586	16
	- 582	3				

cd. Tabeli VIII

pH	U mV	czas. pom. min	U mV	czas pom. min	U mV	czas pom. min
	pomiar nr 1		pomiar nr 2		pomiar nr 3	
7,9	- 588	0	- 586	0	- 580	0
	- 590	1	- 588	1	- 580	1
	- 590	2	- 586	5		
	- 592	4				
	- 592	6				
8,5	- 602	0	- 595	1	- 580	0
	- 602	1	- 596	2	- 582	1
	- 603	2	- 598	3	- 582	20
	- 604	3	- 600	8		
	- 608	10	- 600	10		

Ryc.9. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 1  
w roztworze buforowym fosforanowym



V]

650

500

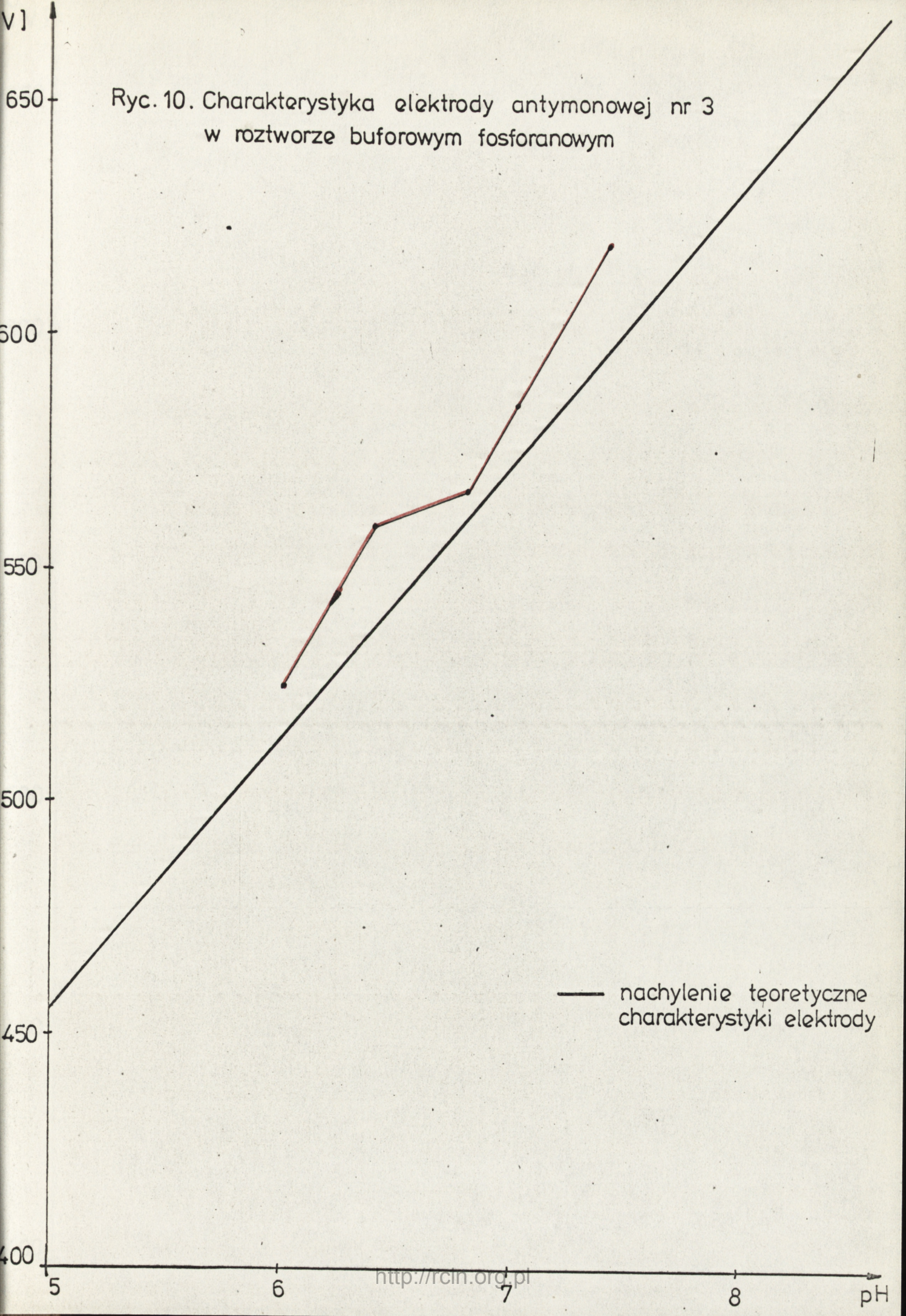
550

500

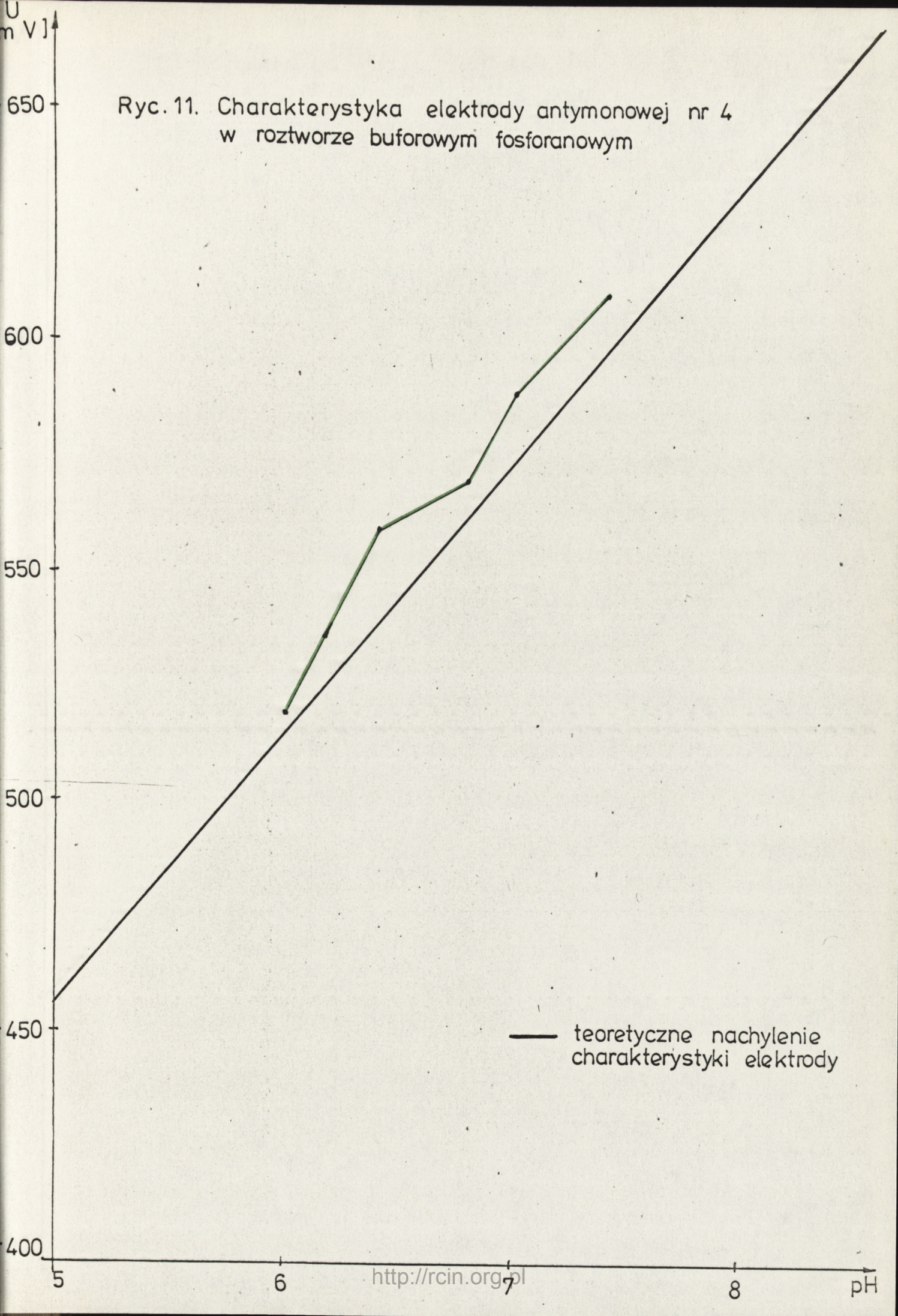
450

400

Ryc. 10. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 3  
w roztworze buforowym fosforanowym

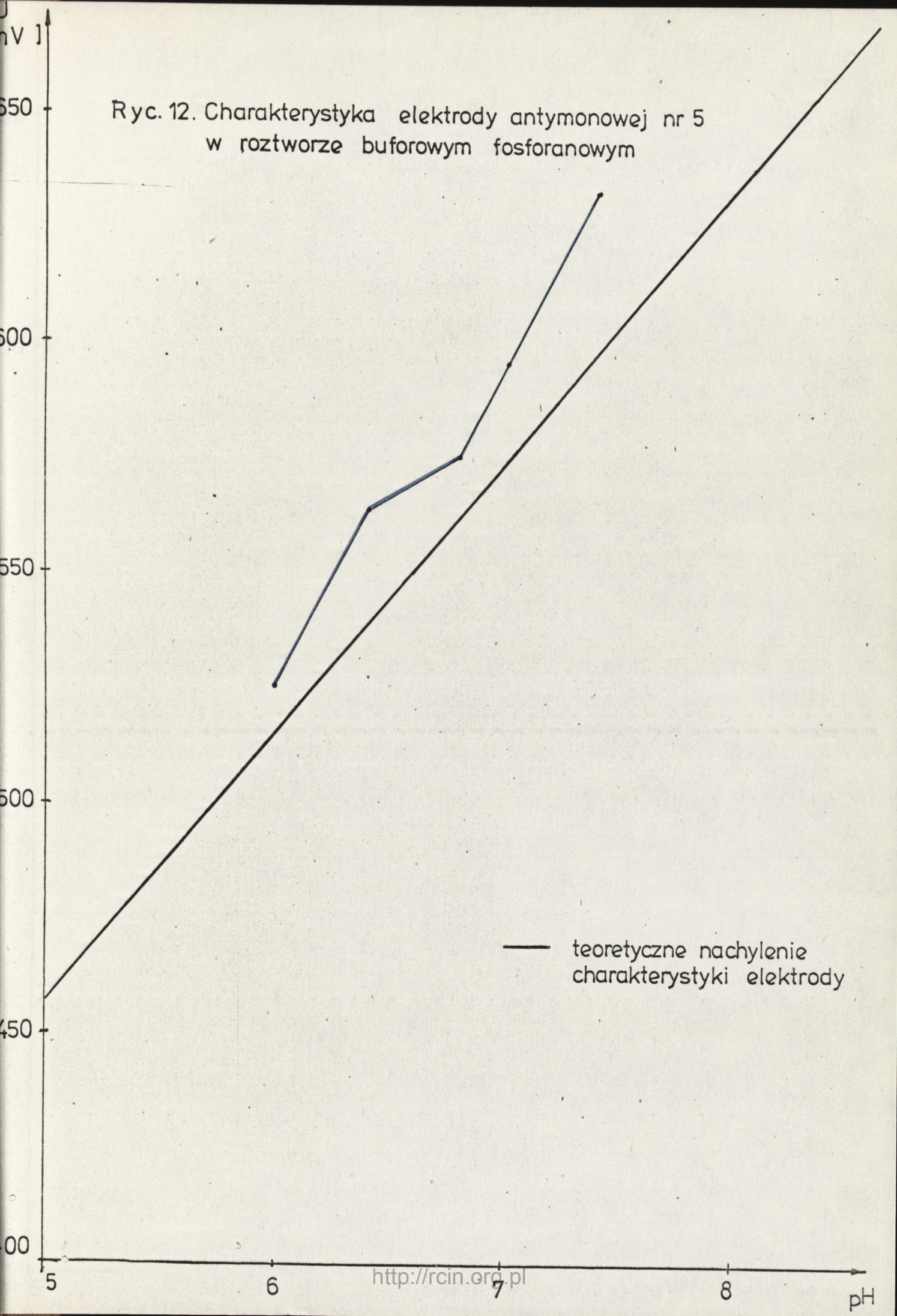


— nachylenie teoretyczne  
charakterystyki elektrody





Ryc. 12. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 5  
w roztworze buforowym fosforanowym



Ryc. 13. Charakterystyka elektrody antymonowej nr 8  
w roztworze buforowym fosforanowym

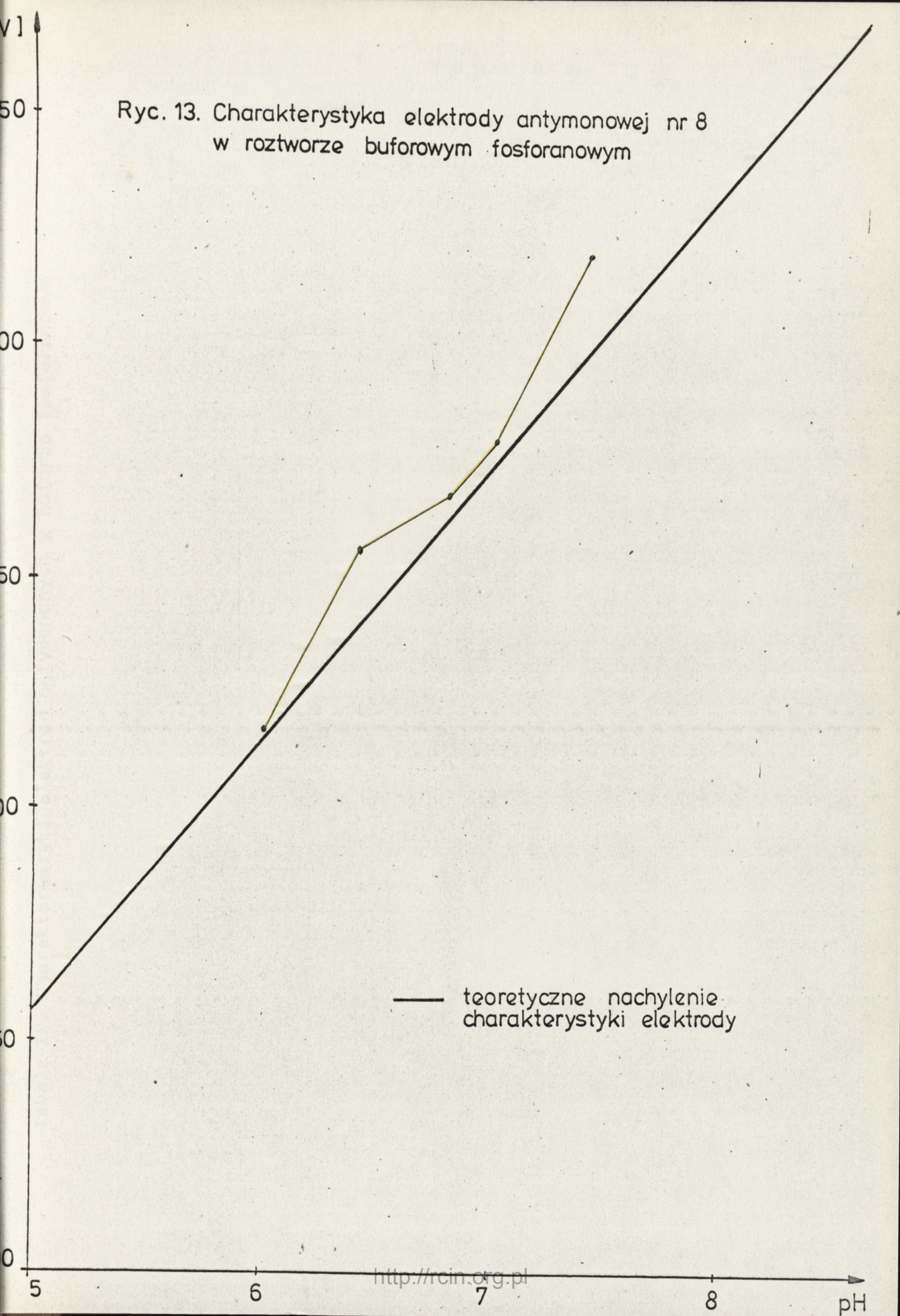


Tabela IX. Charakterystyki elektrod antymonowych w buforze fosforanowym

pH temp. 24°C	U mV Elektroda nr 1	czas pom. min	U mV Elektroda nr 3	czas pom. min	U mV Elektroda nr 4	czas pom. min	U mV Elektroda nr 5	czas pom. min	U mV Elektroda nr 8	czas pom. min
6.0	- 524	0	- 534	10s	- 520	0	- 528	5	- 526	0
	- 524	3	- 532	15s	- 520	3	- 526	10	- 522	5s
			- 529	30s			- 528	15	- 521	10s
	- 527	0	- 528	40s			- 528	30	- 520	20s
	- 527	3	- 528	50s			- 524	1.5h	- 518	1
			- 528	1					- 516	3
			- 526	2					- 516	5
			- 525	15						
			- 525	20						
	6.4	- 554	0	- 566	5s	- 564	0	- 564	5s	- 560
- 556		30s	- 562	20s	- 562	30s	- 564	1	- 558	10s
- 556 <sup>^</sup>		1	- 560	30s	- 560	1	- 564	3	- 556	30s
- 556		2	- 560	45s	- 558	2			- 554	50s
- 556		3	- 560	1	- 560	3			- 554	1
			- 560	2					- 555	1.5
- 568		0	- 560	3					- 556	100s
- 566		15s							- 556	2
- 562		30s							- 556	3
- 562		1							- 556	5
								- 555	10	
								- 555	15	

cd. Tabeli IX

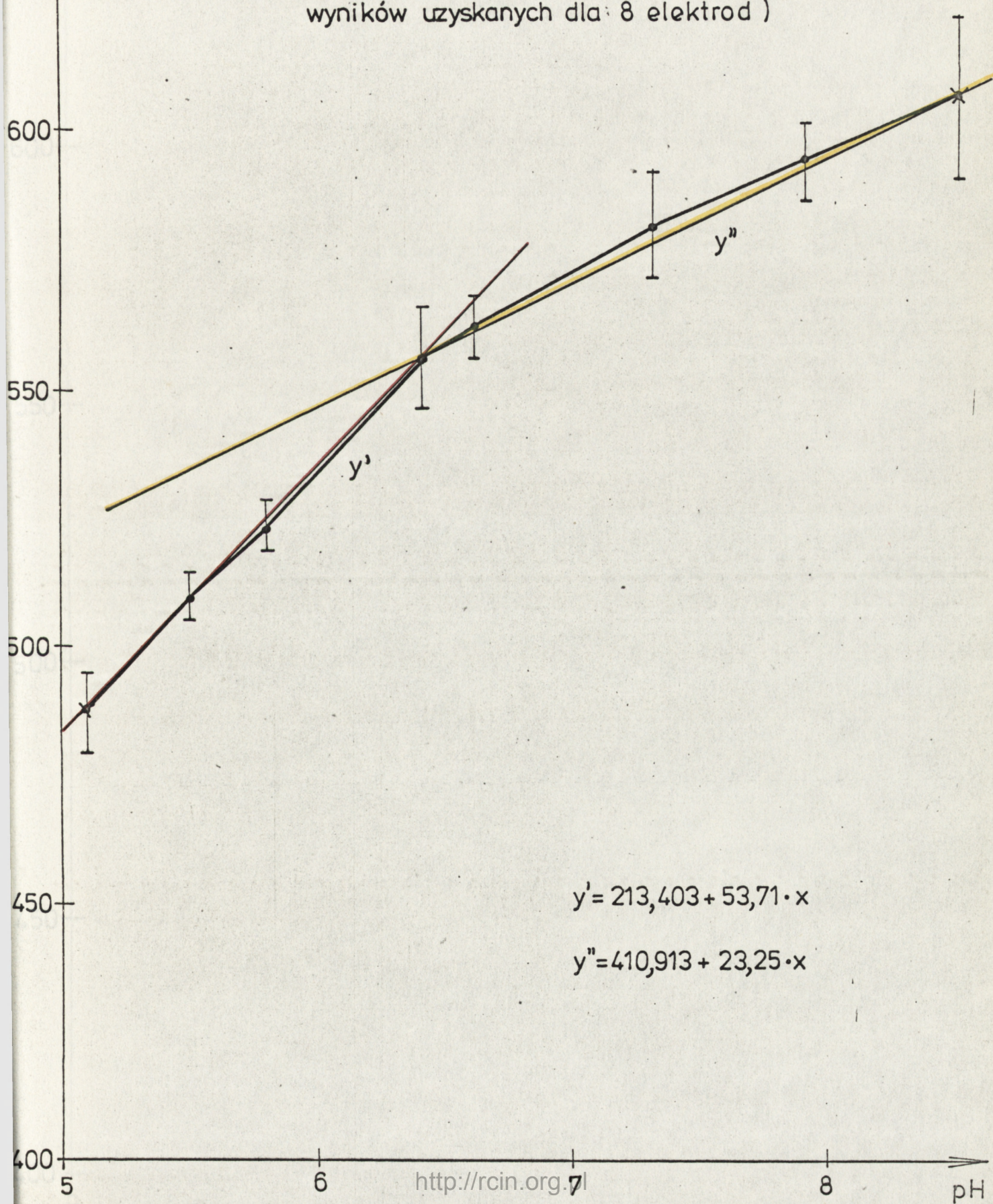
pH temp. 24°C	U mV Elektroda nr 1	czas pom. min	U mV Elektroda nr 3	czas pom. min	U mV Elektroda nr 4	czas pom. min	U mV Elektroda nr 5	czas pom. min	U mV Elektroda nr 8	czas pom. min	
6.8	- 572	30s	- 570	0	- 572	0	- 566	0	- 574	5s	
	- 573	1	- 568	3	- 571	1	- 568	30s	- 572	10s	
	- 574	2			- 570	2	- 574	5	- 571	20s	
	- 574	3			- 570	3	- 576	11	- 570	30s	
									- 570	50s	
	- 580	0							- 570	1	
	- 578	15s							- 569	2	
	- 576	30s							- 569	3	
	- 576	1							- 569	4	
	- 576	2							- 569	5	
	- 576	3									
	7.0	- 586	5s	- 594	10s	- 588	5s	- 594	5s	- 581	0
		- 586	30s	- 590	15s	- 588	30s	- 594	30s	- 580	1
- 586		1	- 588	30s	- 588	1	- 594	1			
- 586		2	- 588	45s	- 588	2	- 596	3			
			- 587	1			- 596	5			
- 594		0	- 586	1.5							
- 590		30s	- 586	2							
- 588		1	- 586	3							
- 588		2									
- 590		3									

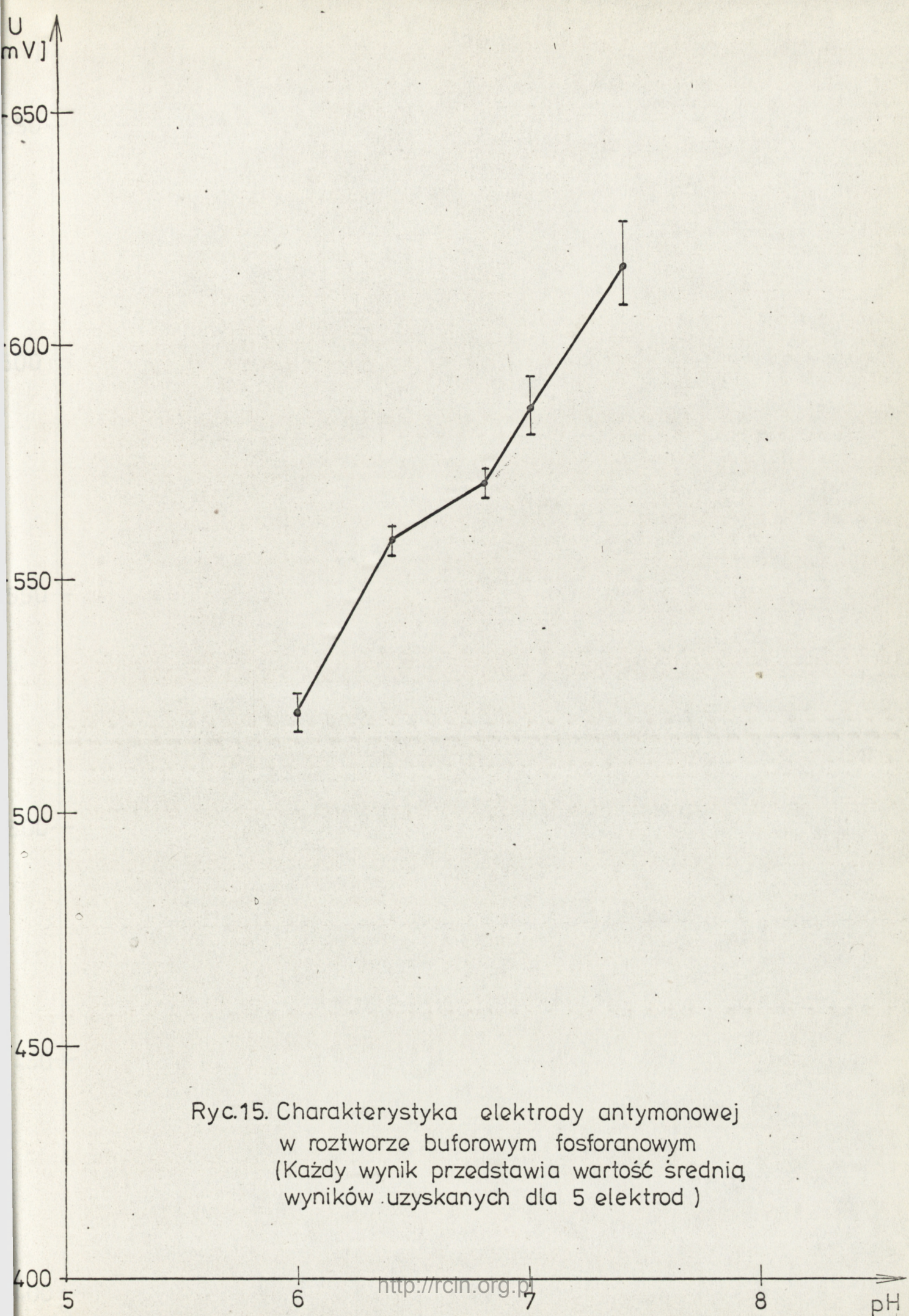
cd. Tabeli IX

pH temp. 24°C	U mV Elektroda nr 1	czas pom. min	U mV Elektroda nr 3	czas pom. min	U mV Elektroda nr 4	czas pom. min	U mV Elektroda nr 5	czas pom. min	U mV Elektroda nr 8	czas pom. min
7.4	- 606	15s	- 620	0	- 610	5s	- 634	5s	- 620	0
	- 607	30s	- 620	3	- 610	10s	- 634	10s	- 620	1
	- 608	2			- 610	15s	- 633	2	- 620	2
	- 609	3			- 610	20s	- 633	3	- 620	3
	- 610	5			- 610	25s	- 633	5		
	- 610	10			- 609	30s				
					- 610	2				
				- 610	3					

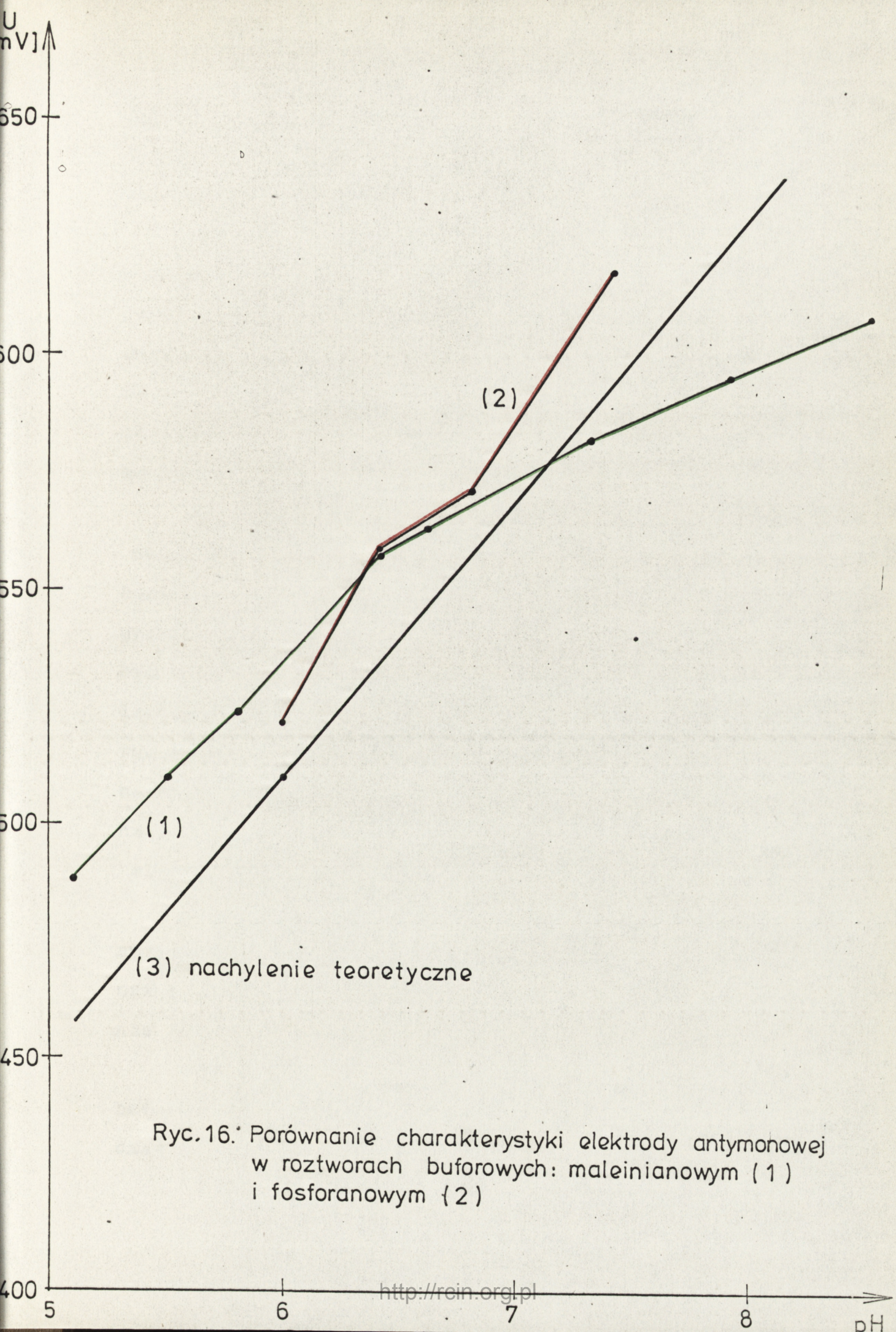
U  
[mV]

Ryc. 14. Charakterystyka elektrody antymonowej  
w roztworze buforowym maleinianowym  
(Każdy wynik przedstawia wartość średnią  
wyników uzyskanych dla 8 elektrod)





Ryc.15. Charakterystyka elektrody antymonowej  
w roztworze buforowym fosforanowym  
(Każdy wynik przedstawia wartość średnią  
wyników uzyskanych dla 5 elektrod )



Ryc.16. Porównanie charakterystyki elektrody antymonowej w roztworach buforowych: maleinianowym (1) i fosforanowym (2)



/gdzie zmienna  $y$  wyraża wartości potencjału elektrody, zmienna  $x$  - wartości pH/, co stwierdzono po przeprowadzeniu analizy regresji.

Ryc.9-13 przedstawiają zmiany potencjału elektrod w zależności od zmian pH roztworów buforowych fosforanowych, zmierzone w temperaturze 24°C. Wartości na wykresach odpowiadają wartościom rejestrowanym po ustaleniu się wyniku pomiaru. Na rycinach naniesiono teoretyczne nachylenie charakterystyki elektrody antymonowej. Czas ustalenia się wyniku oraz kolejne wartości pomiarów zestawiono w tabeli IX.

Zauważono, że nachylenie charakterystyk elektrod w roztworze buforowym fosforanowym jest podobne dla wszystkich badanych elektrod. Wydaje się, że różnice odpowiedzi poszczególnych egzemplarzy elektrod na tę samą wartość pH mogły być związane z jakością elektrod /szczelnością warstwy izolacyjnej, drobnoziarnistością powierzchni antymonu. Na ryc.15 przedstawiono zależność potencjału elektrody antymonowej od pH roztworu buforowego fosforanowego, otrzymaną na podstawie wyników uzyskanych dla pięciu wybranych losowo elektrod antymonowych.

Stwierdzono, że nachylenie charakterystyki elektrody antymonowej w roztworze buforowym fosforanowym jest większe, niż w roztworze buforowym maleinianowym, co daje się wyraźnie zauważyć na ryc.16.

Czas ustalania się wyniku pomiaru zarówno w roztworach buforowych maleinianowych, jak i fosforanowych nie przekraczał na ogół 3 minut.

#### IV.1.2. Wpływ nasycenia roztworu buforowego tlenem na wartość wyniku pomiaru

W celu oceny wpływu prężności tlenu w roztworze buforowym na wartość potencjału elektrody wybrano losowo jedną elektrodę, zanurzono ją w roztworze buforowym maleinianowym o temp.  $23^{\circ}\text{C}$ , który wysycano tlenem do momentu ustalenia się nowej wartości wyniku pomiaru. Jak wynika z zestawienia /tabela X/, ze wzrostem ciśnienia parcjalnego tlenu o 100 mm Hg bezwzględna wartość napięcia malała o około od 4 do 8 mV. Możliwe przyczyny takiej reakcji elektrody zostaną podane w rozdziale "Omówienie wyników in vitro".

#### IV.1.3. Wpływ temperatury roztworu buforowego na wynik pomiaru

Wyniki, zamieszczone w tabeli XI, wykazały, że podwyższenie temperatury o  $1^{\circ}\text{C}$  powoduje wzrost bezwzględnej wartości napięcia o około 1-3 mV. Efekt ten nie był brany pod uwagę w pomiarach in vivo ze względu na utrzymywaną stałą temperaturę zwierzęcia, kontrolowaną przez cały czas trwania doświadczenia.

#### IV.1.4. Wpływ adrenaliny na wartość wyniku pomiaru

Badania wpływu adrenaliny na wyniki pomiaru przeprowadzono przy użyciu mostka elektrolitycznego. Mostek elektrolityczny /w postaci szklanej rurki w kształcie litery U, wypełnionej zakrzepniętym roztworem agaru nasyconym chlorkiem potasu/ nie dopuszcza do mieszania się roztwo-

Tabela X. Zależność potencjału elektrody antymonowej nr 2 od ciśnienia parcjalnego tlenu w buforze maleinowym

pH	U mV	pO <sub>2</sub> mm Hg
5,8	- 528	137,8
	- 512	528,1
6,4	- 574	150,4
	- 546	487,4
7,3	- 602	161,3
	- 576	542,8

Tabela XI. Wpływ temperatury na wartość potencjału elektrody antymonowej nr 5, umieszczonej w buforze fosforanowym o pH = 7,4

T /°C/	23	34	35	36	37	38	39	38	34	35	36	37
U /mV/	-608	-634	-644	-646	-648	-648	-649	-646	-636	-640	-642	-644

rów, natomiast zapewnia przepływ prądu między nimi. Mostek ten zastosowano celem wykluczenia wpływu elektrody odniesienia na wynik pomiaru. Wybrana losowo elektroda antymonowa /nr 4/ umieszczona była w roztworze buforowym z adrenaliną w ilości  $0,3 \mu\text{g}$  adrenaliny /Polfa/ w 1 litrze roztworu buforowego. Dodawanie takiej ilości adrenaliny do roztworu buforowego nie spowodowało zmiany jego pH, co każdorazowo kontrolowano przy pomocy elektrody szklanej. Nie stwierdzono różnicy w odpowiedzi elektrody antymonowej po dodaniu adrenaliny do roztworu buforowego.

#### IV.1.5. Wpływ obecności mleczanu w roztworze buforowym na wartość wyniku pomiaru

Elektrody antymonowe wykazały wyraźną zależność odpowiedzi od obecności mleczanów w roztworze buforowym, co stwierdzono na podstawie wyników zestawionych w tabeli XII. Zauważono, że umieszczenie elektrody pomiarowej w roztworze buforowym fosforanowo-mleczanowym o  $\text{pH} = 6$ , o stężeniu mleczanu litu równym  $50 \text{ mM}$ , spowodowało wzrost bezwzględnej wartości potencjału elektrody o  $20 \text{ mV}$ , a umieszczenie jej w roztworze buforowym o stężeniu mleczanu litu równym  $100 \text{ mM}$  - spadek pH buforu do wartości  $5,9$  oraz wzrost bezwzględnej wartości potencjału elektrody o  $14 \text{ mV}$  w stosunku do wartości zmierzonej w roztworze buforowym fosforanowym o  $\text{pH} = 6$ , nie zawierającym roztworu buforowego mleczanowego. Wszystkie pomiary przeprowadzono przy użyciu mostka elektrolitycznego,

co wykluczało możliwość wpływu elektrody odniesienia na wynik pomiaru. Mniejszy wzrost bezwzględnej wartości potencjału dla drugiego przypadku zostanie przedyskutowany w rozdziale "Omówienie wyników *in vitro*".

Tabela XII. Zależność potencjału elektrody antymonowej do pomiaru pH od obecności mleczanów w buforze fosforanowym o pH = 6

U mV	czas pom. min	U mV	czas pom. min	U mV	czas pom. min
Bufor nie zawierający mleczanu pH = 6		Bufor, w którym stężenie mleczanów = 50 mM		Bufor, w którym stężenie mleczanów = 100 mM	
- 540	10	- 560	10	- 554	10
- 542 *	10	- 560 *	10		

\* powtórzenie pomiaru

IV.1.I. PODSUMOWANIE WYNIKÓW UZYSKANYCH W DOŚWIADCZENIACH  
IN VITRO

1. Elektrody antymonowe reagują zmianą potencjału na zmiany pH roztworu buforowego.

2. Powtarzalność wyników uzyskanych w kolejnych pomiarach tą samą elektrodą jest mała.

3. Nachylenie charakterystyki /mV/jednostka pH/ każdej elektrody jest podobne dla kolejnych pomiarów.

4. Stwierdzono, że odpowiedzi elektrod, umieszczonych w dwóch różnych roztworach buforowych o tym samym pH, są różne.

5. Szybkość ustalania się wyniku pomiaru nie przekracza na ogół 3 min.

6. Ze wzrostem ciśnienia parcjalnego tlenu w roztworze buforowym wartość bezwzględna potencjału elektrody maleje.

7. Ze wzrostem temperatury roztworu buforowego wartość bezwzględna potencjału elektrody rośnie.

8. Obecność adrenaliny w roztworze buforowym /w ilości 0,3  $\mu\text{g}/\text{l}$ / nie wywołuje zmiany odpowiedzi elektrody.

9. Obecność mleczanu /w stężeniu 50 mM i 100 mM/ w roztworze buforowym wywołuje wzrost wartości bezwzględnej potencjału elektrody antymonowej o około 20 mV.

#### IV.2. WYNIKI POMIARÓW PRZEPROWADZONYCH IN VIVO

##### IV.2.1. WPŁYW HIPOWENTYLACJI NA WARTOŚĆ POTENCJAŁU ELEKTROD ANTYMONOWYCH UMIESZCZONYCH W MIĘSNIU SERCOWYM I WE KRWI TĘTNICZEJ.

Wykonano 6 doświadczeń, w których obniżano wentylację, zmniejszając objętość pompy oddechowej, co prowadziło do spadku  $P_{O_2}$ , wzrostu  $P_{CO_2}$  i spadku pH krwi tętniczej, stwierdzonych metodą Astrupa. We wszystkich przypadkach stwierdzono obniżenie wartości bezwzględnej potencjału elektrody antymonowej, umieszczonej w pracującym mięśniu sercowym, wskazujące na obniżenie wartości pH tkanki.

Analiza przebiegu poszczególnych doświadczeń wskazuje, że we wstępnym okresie doświadczenia, tj. od momentu umieszczenia elektrody w mięśniu sercowym do chwili rozpoczęcia pierwszej hipowentylacji, trwającym od 30 min do 1 godziny, następował wzrost bezwzględnej wartości potencjału elektrod o 20 mV. Wzrost ten niezależny był od temperatury zwierzęcia, ani też od zmian pH,  $P_{O_2}$  i  $P_{CO_2}$  krwi tętniczej, określonych metodą Astrupa. Wyjściowe wartości gazometryczne były następujące:  $P_{O_2} = 96,23$  mm Hg,  $P_{CO_2} = 21,33$  mm Hg, pH = 7,398. Po upływie 30 - 60 minut potencjał elektrod stabilizował się. Stałym wartościom pH,  $P_{O_2}$  i  $P_{CO_2}$  krwi tętniczej, rejestrowanym w okresie późniejszym w trakcie doświadczenia, odpowiadało utrzymywanie się stałej wartości potencjału zarówno elektrody antymonowej umieszczonej w sercu, jak i omywanej krwią tętniczą. Pod koniec hipowentylacji,



trwającej przeciętnie 15 minut, prężność gazów ulegała zmianie i wynosiła:  $P_{O_2} = 44,26$  mm Hg,  $P_{CO_2} = 56,23$  mm Hg. Obniżenie bezwzględnej wartości potencjału elektrody w czasie trwania hipowentylacji, przeprowadzonej 11-krotnie /w 6-ciu doświadczeniach/, uzyskano we wszystkich przypadkach.

W 9 z nich zmniejszono objętość pompy oddechowej ponad 50%. Uzyskiwano wówczas spadek wartości bezwzględnej potencjału elektrod, umieszczonych w mięśniu sercowym, od 5 do 20 mV. Rejestrowane w 3 przypadkach zmiany potencjału elektrod omywanych krwią tętnicą wykazały obniżenie o 3 - 12 mV. Stwierdzono zależność pomiędzy obniżeniem potencjału elektrody w mięśniu sercowym i we krwi tętniczej. Zmiany potencjału elektrody antymonowej omywanej krwią tętniczą miały także kierunek zgodny z kierunkiem zmian pH krwi tętniczej /pomiar metodą Astrupa/. Ze względu na niewielką ilość wyników nie przystąpiono jeszcze do obliczenia korelacji dla tej grupy wyników.

Po zakończeniu hipowentylacji następował powrót bezwzględnych wartości potencjałów elektrod i powrót pH krwi tętniczej do wartości wyjściowych. Zauważono, że zachowanie się ciśnienia tętniczego krwi w trakcie i po hipowentylacji nie miało wpływu na potencjał elektrod.

W 2 przypadkach hipowentylacji zaobserwowano, że mniejszego stopnia redukcja objętości pompy oddechowej /nie przekraczająca 50%/ spowodowała najpierw obniżenie, a następnie wzrost bezwzględnej wartości potencjału

elektrody. W czasie takiej hipowentylacji samoistne "wyrównywanie się" potencjału elektrody przebiegało w jednym przypadku równocześnie ze stopniowym spadkiem ciśnienia tętniczego krwi, a w drugim - ze wzrostem ciśnienia. Zachowanie się elektrody antymonowej w mięśniu sercowym w czasie hipowentylacji obrazuje ryc.17.

Ryc.17 Wpływ hipowentylacji na wartość potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym.

Zapis górny - ciśnienie tętnicze krwi.

Zapis dolny - zmiany potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym. Początek i koniec hipowentylacji oznaczone strzałkami.

W trakcie hipowentylacji - postępujący spadek potencjału elektrody, wskazujący na obniżenie się pH w mięśniu sercowym.

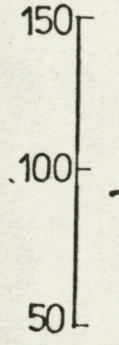
Po zakończeniu hipowentylacji - stopniowy wzrost potencjału elektrody do wartości wyjściowej.

Kropkami oznaczono moment pobrania krwi tętniczej do oznaczeń gazometrycznych.

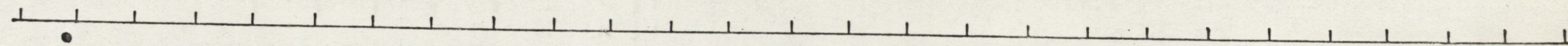
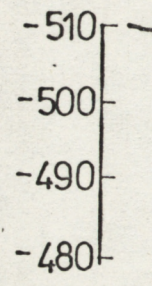
W czasie trwania hipowentylacji - pH krwi tętniczej obniża się.

# HIPOWENTYLACJA

BP  
mmHg



U<sub>serce</sub>  
mV



pHa	7,304
PaO <sub>2</sub>	105,400
PaCO <sub>2</sub>	27,200

	7,127	7,116	
	55,800	47,800	
	42,700	47,700	

1 2 3 min

#### IV.2.2. WPŁYW WLEWÓW ADRENALINY NA WARTOŚĆ POTENCJAŁU ELEKTRODY ANTYMONOWEJ UMIESZCZONEJ W MIĘŚNIU SERCOWYM.

Wykonano 8 doświadczeń, w których podawano adrenalinę we wlewie ciągłym. Stosowano dawkę od  $0,615 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  do  $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  w czasie od 5 do 10 min /wyjątkowo w jednym doświadczeniu czas ten wyniósł 36 min, dla niewielkiej dawki minutowej adrenaliny/.

Wartości kontrolne prężności gazów we krwi tętniczej oraz pH mierzone metodą Astrupa były następujące:  $P_{\text{O}_2} = 85,03 \text{ mm Hg}$ ,  $P_{\text{CO}_2} = 18,4 \text{ mm Hg}$ ,  $\text{pH} = 7,412$ . Podobnie, jak w poprzedniej grupie doświadczalnej, w większości przypadków we wstępnym okresie doświadczenia następował wzrost wartości bezwzględnej potencjałów elektrod antymonowych, nie związany ze zmianami  $P_{\text{O}_2}$ ,  $P_{\text{CO}_2}$  i pH krwi tętniczej, lub temperatury zwierzęcia. Prężność gazów mierzona we krwi tętniczej oraz pH, mierzone pod koniec wlewu wynosiły:  $P_{\text{O}_2} = 72,16 \text{ mm Hg}$ ,  $P_{\text{CO}_2} = 23,47 \text{ mm Hg}$ ,  $\text{pH} = 7,330$ . We wszystkich 8 doświadczeniach stwierdzono spadek bezwzględnej wartości potencjału elektrody antymonowej w mięśniu sercowym podczas wlewu adrenaliny. Obniżenie potencjału elektrody notowano po upływie 30 - 90 sekund od momentu rozpoczęcia wlewu. Wynosiło ono od 2 do 16 mV w poszczególnych przypadkach. W czasie trwania wlewu obniżało się pH krwi tętniczej /0,008 - 0,084/, co stwierdzono na podstawie pomiarów metodą Astrupa. Po zakończeniu wlewu

obserwowano stopniowy wzrost bezwzględnej wartości potencjału elektrody w mięśniu sercowym. Wartość ta osiągała wartość wyjściową po 1 - 2 minutach od zakończenia wlewu.

Ciśnienie tętnicze krwi podwyższało się w czasie trwania wlewu adrenaliny o 11 - 50%. Stwierdzono, że wzrost ten nie powodował artefaktycznych zmian zapisu sygnału z elektrody antymonowej.

Zachowanie się elektrody antymonowej w mięśniu sercowym w czasie wlewu adrenaliny przedstawia przykładowo ryc.18.

W celu zbadania reaktywności elektrody antymonowej, umieszczonej w mięśniu sercowym, w jednym z doświadczeń w czasie trwania wlewu adrenaliny podano jednorazowo dożylnie 5 ml  $\text{Na HCO}_3$ . Obniżenie potencjału elektrody wywołane wlewem adrenaliny uległo w ciągu około 30 s wyrównaniu po iniekcji dwuwęglanu sodu /ryc.19/. Świadczyłoby to o dużej reaktywności elektrod antymonowych *in vivo*.

W kolejnym doświadczeniu podano dwukrotnie tę samą dawkę adrenaliny i otrzymano każdorazowo taką samą zmianę potencjału elektrody w mięśniu sercowym, co wskazywałoby na możliwość uzyskiwania powtarzalnych wyników pomiarów dokonywanych elektrodami antymonowymi *in vivo*.

Zauważono, że w pięciu doświadczeniach zmiany pH krwi tętniczej w czasie wlewów adrenaliny były proporcjonalne do zmian potencjałów elektrod, notowanych podczas tych wlewów.

Uzyskane wyniki zestawiono w tabeli XIII i przedstawiono graficznie na ryc.20. W wyniku przeprowadzonej analizy

regresji otrzymano równanie regresji o postaci:  
 $y = 1,22 + 188,06784 \cdot x$  : /zmienna y wyraża zmiany potencjałów elektrod, zmienna x - zmiany pH krwi tętniczej/. Prostą regresji pokazuje ryc.20. Po przeprowadzeniu weryfikacji istotności odchylenia współczynnika b od zera stwierdzono, że regresja jest wysoce istotna /otrzymana wartość  $t = 10,335$  i przewyższa wartość  $t$  z tablic: dla 3 stopni swobody i  $p = 0,002$ :  $t = 10,214$ /. Współczynnik korelacji  $r = 0,9865$  /przewyższa on wartość tablicową  $r$  dla 3 stopni swobody i  $p = 0,005$ :  $r = 0,9740$ , zatem korelacja jest wysoce istotna/. Przeprowadzone obliczenia wskazują na korelację między spadkiem pH krwi tętniczej, a obniżeniem potencjału elektrody w trakcie wlewu adrenaliny.

Ryc.18. Wpływ adrenaliny na wartość potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym.

Zapis górny - ciśnienie tętnicze krwi.

Zapis dolny - zmiany potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym.

Początek i koniec wlewu adrenaliny /w dawce  $1,3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}/$  oznaczono strzałkami.

W trakcie wlewu adrenaliny - obniżenie się potencjału elektrody, wskazujące na spadek pH w mięśniu sercowym.

Po zakończeniu wlewu - wzrost potencjału elektrody antymonowej w mięśniu sercowym.



ADRENALINA 1,3  $\mu$ g/kg/min

BP  
mmHg

150  
100

U<sub>serce</sub>  
mV

-480  
-470  
-460

1 2 3 min

pH<sub>a</sub>  
PaO<sub>2</sub>  
PaCO<sub>2</sub>

7,421  
86,430  
18,500

7,335  
68,900  
23,000

Ryc.19. Wpływ adrenaliny na wartość potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym.

Zapis górny - ciśnienie tętnicze krwi.

Zapis dolny - zmiany potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym.

Początek wlewu adrenaliny /w dawne  $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}/$  oznaczono strzałką.

Po rozpoczęciu wlewu adrenaliny - spadek potencjału elektrody, wskazujący na obniżenie się pH mięśnia sercowego.

Po 5 minutach trwania wlewu - podanie dożylnie 5 ml  $\text{Na H CO}_3$ , po którym następuje narastanie potencjału elektrody, wskazujące na wzrost pH w mięśniu sercowym.

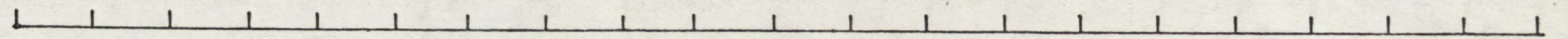
ADRENALINA  $4\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$

BP  
mmHg

200  
100  
0

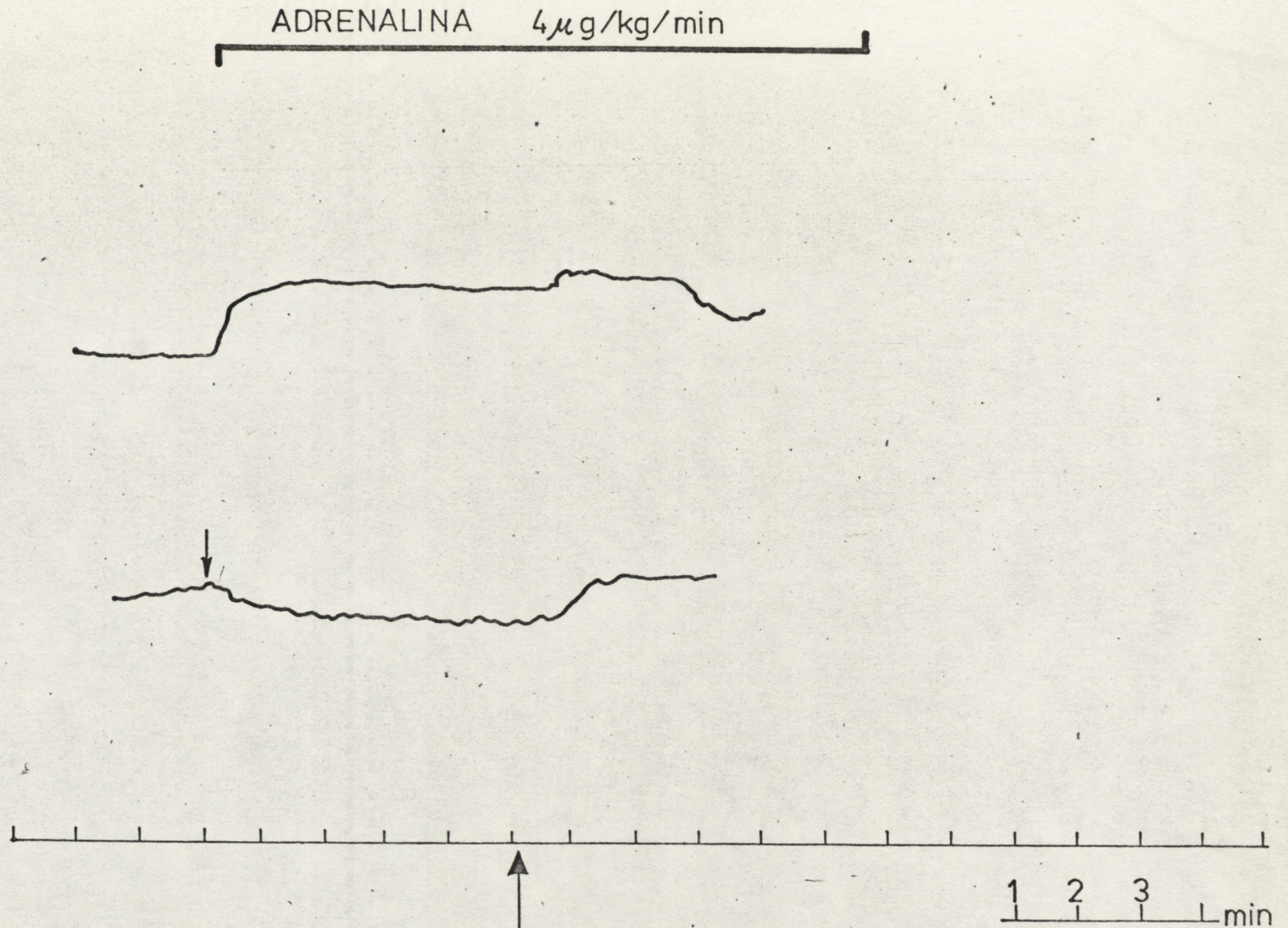
U<sub>serce</sub>  
mV

-490  
-470

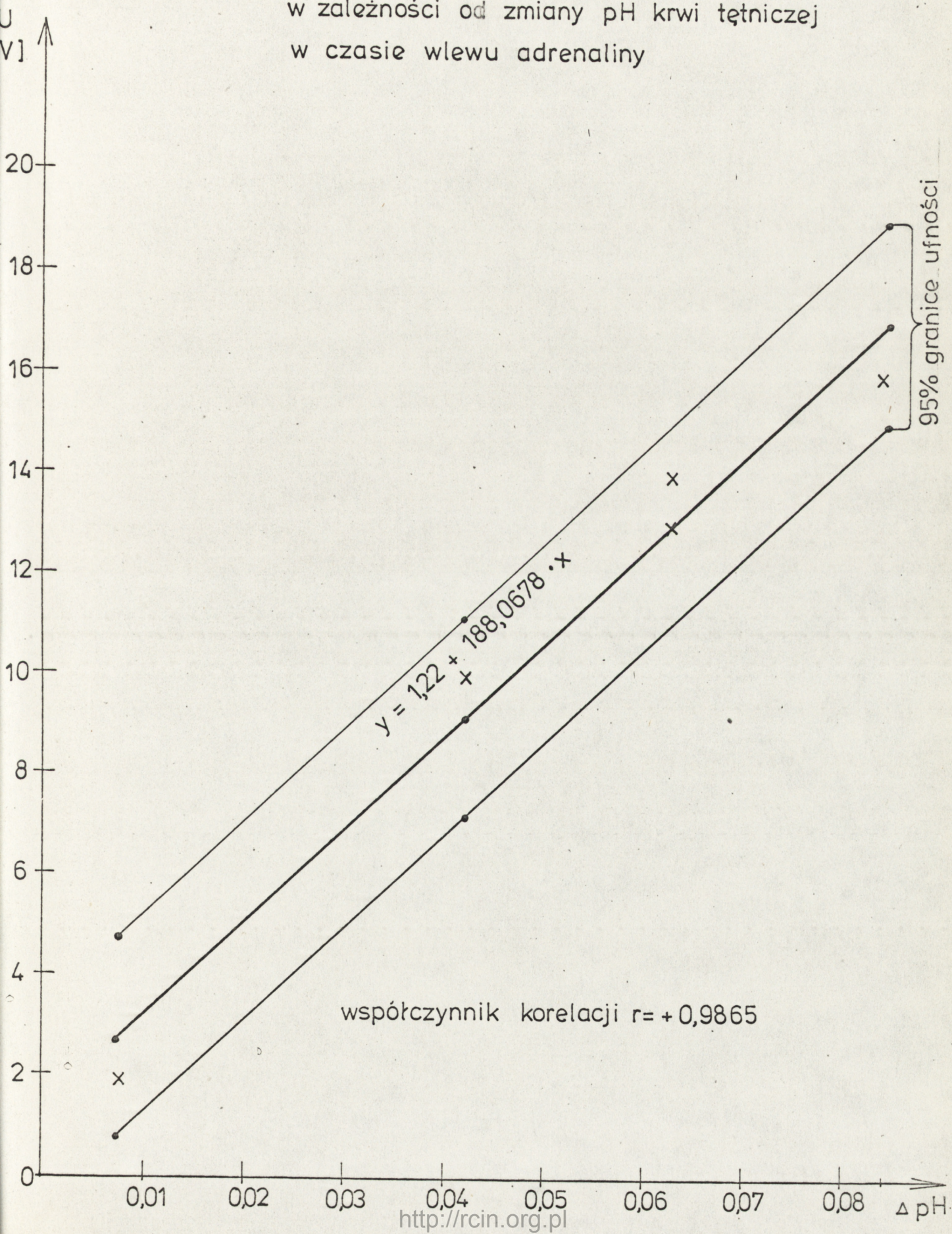


1 2 3 min

↑  
NaHCO<sub>3</sub>  
5ml



Ryc.20. Regresja zmiany potencjaku elektrody antymonowej w mięśniu sercowym w zależności od zmiany pH krwi tętniczej w czasie wlewu adrenaliny



#### IV.2.3. WPŁYW KWASU MLEKOWEGO I DWUWĘGLANU SODU NA WARTOŚĆ POTENCJAŁU ELEKTRODY ANTYMONOWEJ UMIESZCZONEJ W MIĘŚNIU SERCOWYM.

Wykonano 3 doświadczenia, w których rejestrowano zmiany potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym, występujące podczas wlewu roztworu kwasu mlekowego do żyły udowej. Wyniki gazometrii w warunkach kontrolnych były następujące:  $P_{O_2} = 100,83$  mm Hg,  $P_{CO_2} = 35,63$  mm Hg. We wszystkich przypadkach wartość bezwzględna potencjału elektrody pomiarowej w mięśniu sercowym obniżała się od 1 do 47 mV podczas wlewów kwasu mlekowego /podawanego w stężeniach od 0,062 do 0,97 M/. Prężność gazów we krwi tętniczej po zakończeniu wlewu wynosiła przeciętnie:  $P_{O_2} = 69,7$  mm Hg,  $P_{CO_2} = 45,9$  mm Hg. Ryc.21 ilustruje zachowanie się elektrod antymonowych w mięśniu sercowym i we krwi tętniczej w czasie wlewu kwasu mlekowego.

Celem zbadania, czy istnieje proporcjonalna zależność między wielkością dawki kwasu mlekowego, a stopniem obniżenia potencjału elektrody antymonowej w trakcie wlewu obliczono na podstawie danych zestawionych w tabeli XIV współczynnik korelacji  $r$ . Otrzymano wartość  $r = 0,9819$ , przewyższającą wartość tablicową  $r$  dla 8 stopni swobody i  $p = 0,001$  i równą 0,872, zatem obie wielkości: dawka kwasu mlekowego i stopień obniżenia potencjału elektrody, wywołanego podaniem takiej dawki, są wysoce istotnie skorelowane.

W jednym przypadku, w którym podawano kwas mlekowy o niższym stężeniu /0,062M/ zauważono, że wartość bezwzględna potencjału elektrody w mięśniu sercowym obniżała się, a następnie wzrastała w czasie trwania wlewu.

W większości przypadków w czasie trwania wlewu kwasu mlekowego odnotowano spadek ciśnienia tętniczego krwi.

W 2 następnych doświadczeniach podano dożylnie 1 ml kwasu mlekowego o stężeniu 1-M /trzykrotnie/ oraz 5, lub 10 ml dwuwęglanu sodu /8,4 g/100 ml, także trzykrotnie/. Podaniu kwasu mlekowego towarzyszyło gwałtowne obniżenie bezwzględnej wartości potencjału elektrody w mięśniu sercowym. W momencie podania kwasu występował krótkotrwały, gwałtowny spadek ciśnienia tętniczego krwi, które następnie wracało do wartości wyjściowej.

Podanie dwuwęglanu sodu wywołało wzrost bezwzględnej wartości potencjału elektrody w tkance i podobną do opisanej powyżej reakcję ciśnienia tętniczego krwi. Wielkość zmian potencjału elektrody nie była proporcjonalna do wielkości dawki.

Elektroda antymonowa omywana krwią tętniczną reagowała na podanie kwasu mlekowego obniżeniem, a na podanie dwuwęglanu sodu - podwyższeniem wartości bezwzględnej potencjału.

Ryc.21. Wpływ kwasu mlekowego na wartości potencjałów elektrod antymonowych: elektrody umieszczonej w mięśniu sercowym i elektrody omywanej krwią tętniczną.

Zapis górny - ciśnienie tętnicze krwi.

Zapis środkowy - zmiany potencjału elektrody antymonowej umieszczonej w mięśniu sercowym.

Zapis dolny - zmiany potencjału elektrody antymonowej omywanej krwią tętniczną.

Początek i koniec wlewu kwasu mlekowego /w dawce 14,91 mg/kg/min/ oznaczono strzałkami.

W trakcie wlewu kwasu mlekowego - postępujące spadki potencjałów obu elektrod, wskazujące na obniżanie się pH w mięśniu sercowym i we krwi tętnicznej.

Po zakończeniu wlewu - wyraźny wzrost potencjału elektrody w mięśniu sercowym do wartości wyjściowej.

Kropkami oznaczono momenty pobrań krwi tętnicznej do oznaczeń gazometrycznych. W wyniku wlewu kwasu mlekowego pH krwi tętnicznej obniża się.

KWAS MLEKOWY 14,91 mg/kg/min

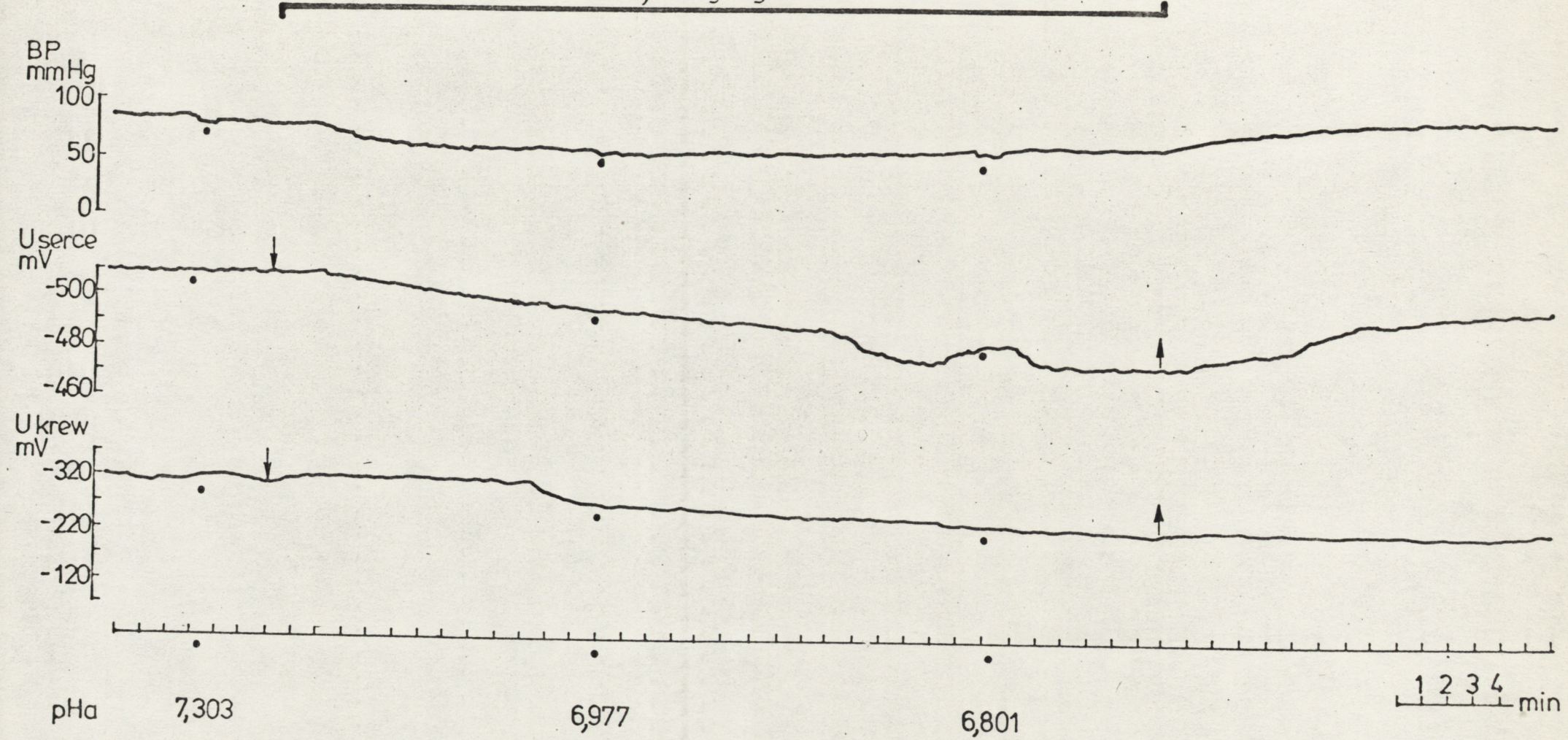




Tabela XIII. Zmiany pH krwi tętniczej i potencjału elektrody antymonowej w mięśniu sercowym w czasie wlewu adrenaliny.

Dawka adrenaliny [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	14,2	44,1	6,15	19,8	29,47
Zmiana pH krwi tętniczej	0,063	0,042	0,008	0,084	0,063
Obniżenie poten- cjału elektrody w mięśniu ser- cowym [mV]	13	10	2	16	14

Tabela XIV. Obniżenie wartości bezwzględnej potencjału elektrody antymonowej w mięśniu sercowym w czasie wlewu kwasu mlekowego.

Dawka kwasu mlekowego mg/kg	Obniżenie potencjału elektrody w mięśniu sercowym mV
109,25	4
60,9	2,7
121,8	6,7
22,4	1
66,96	6
208,8	23
11,2	1
26,76	2
83,52	4
522	47



Fot.4. Przekrój podłużny przez mięsień sercowy kota z ogniskowym uszkodzeniem o rozmiarach 0,38 x 0,14 mm /100-krotne powiększenie/, spowodowanym wprowadzeniem elektrody antymonowej. Kanał po wprowadzeniu elektrody oznaczony strzałkami. Parafina. Barwienie: hematoksylina - eozyna. Świeże ognisko martwicy tkanki z artefaktycznym ubytkiem mas martwiczych, z towarzyszącym krwinkotokiem. Czas przebywania elektrody w mięśniu sercowym - 5 godzin.

#### IV.2.1. PODSUMOWANIE WYNIKÓW UZYSKANYCH W DOŚWIADCZENIACH IN VIVO

1. Stwierdzono, że obniżenie wentylacji, podawanie adrenaliny oraz kwasu mlekowego prowadzi do obniżenia bezwzględnych wartości potencjałów elektrod antymonowych, znajdujących się w mięśniu sercowym i we krwi tętniczej, co wskazuje na obniżenie pH tkanki i krwi tętniczej.

2. Kierunek zmian pH krwi tętniczej, zmierzonych metodą Astrupa, był taki sam, jak kierunek zmian potencjałów elektrod we krwi tętniczej i w tkance.

3. Spadek wartości bezwzględnej potencjału elektrody w mięśniu sercowym w większości przypadków był silniej wyrażony podczas nasilonej hipowentylacji/ zmniejszenie objętości pompy oddechowej ponad 50%/, bądź podawania wyższej dawki adrenaliny, czy kwasu mlekowego.

4. Stwierdzono, że zmiany potencjału elektrody w mięśniu sercowym w czasie wlewu adrenaliny wykazują korelację z obserwowanymi równocześnie zmianami pH krwi tętniczej.

5. Obniżenie potencjału elektrody w mięśniu sercowym w wyniku wlewu kwasu mlekowego było proporcjonalne do całkowitej dawki tego kwasu.

6. Po zakończeniu hipowentylacji, bądź wlewu adrenaliny, czy kwasu mlekowego następował powrót wartości potencjału elektrody w mięśniu sercowym do wartości wyjściowej. Podobną tendencję wykazywały zmiany potencjału elektrody we krwi tętniczej i wartości pH oznaczone metodą Astrupa.

7. Zmiany ciśnienia tętniczego krwi w trakcie doświadczenia nie wpływały na zachowanie się elektrod antymonowych we krwi tętniczej i w mięśniu sercowym.

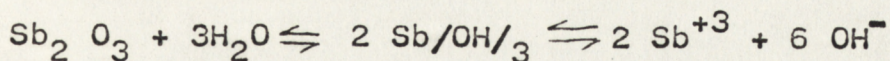
8. Zauważono, że w większości przypadków we wstępnym okresie doświadczenia wartości bezwzględne potencjałów elektrod antymonowych wzrastały stopniowo w ciągu 30 - 60 minut, po czym ustalały się.

W związku z powyższym wymagany jest okres czasu /około 1 godz/ do stabilizacji potencjału elektrody umieszczonej w tkance, lub we krwi przed rozpoczęciem pomiarów in vivo.

## V. OMÓWIENIE WYNIKÓW

### V.1. OMÓWIENIE WYNIKÓW IN VITRO

Równowagę, która ustala się na elektrodzie antymonowej, opisuje równanie:



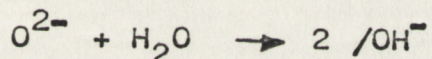
Potencjał takiej elektrody określić można zależnością:

$$E = E_0 + \frac{R \cdot T}{3F} \cdot \ln [a_{\text{Sb}^{3+}}], \text{ a ponieważ}$$

$$L_{\text{Sb/OH/}_3} = [a_{\text{Sb}^{3+}}] \cdot [a_{\text{OH}^-}]^3,$$

$$\text{otrzymujemy: } E = E_0 + \frac{RT}{3F} \ln \frac{L_{\text{Sb/OH/}_3}}{[a_{\text{OH}^-}]^3}$$

Można oczekiwać, że elektroda antymonowa będzie reagowała pośrednio na prężność tlenu nad roztworem elektrolitu:



Korzystając z zależności:  $K_w = [a_{\text{H}^+}] \cdot [\text{OH}^-]$  równanie opisujące potencjał przekształcamy dalej:

$$\begin{aligned} E &= E_{\text{Sb}} + \frac{RT}{3F} \ln \frac{L_{\text{Sb/OH/}_3} \cdot a_{\text{H}^+}^3}{(K_w)^3} = \\ &= E_{\text{Sb}} + \frac{RT}{3F} \ln \frac{L_{\text{Sb/OH/}_3}}{(K_w)^3} + \frac{RT}{3F} \ln a_{\text{H}^+}^3 = \\ &= E_{\text{Sb}_2\text{O}_3} + \frac{RT}{F} \ln a_{\text{H}^+} \end{aligned}$$

do formy opisującej zależność potencjału elektrody od stężenia jonów wodorowych.

$a_{\text{H}^+}$  - aktywność jonów wodorowych

Symbole oznaczają:

R - stała gazowa

T - temperatura bezwzględna

F<sub>a</sub> - stała Faradaya

H<sup>+</sup> - aktywność jonów wodorowych

Z danych literaturowych wiadomo, że także skład powierzchni elektrody antymonowej jest zmienny i zależny od prężności tlenu w roztworze /74/. Wiadomo także /34/, że potencjał elektrody tlenowej nie jest całkowicie stały. Wszystkie te czynniki stwarzają konieczność przy zastosowaniu elektrody antymonowej do pomiarów pH przeprowadzenia pomiarów porównawczych z użyciem roztworów buforowych o znanych wartościach pH /9,34,39,42,74,75,77/.

W pracy stosowane elektrody antymonowe kalibrowano w roztworach buforowych maleinianowych i fosforanowych. Wyniki, przedstawione w tabelach I - IX wskazują, że dla danej elektrody kolejne pomiary nie są w pełni powtarzalne. Zwraca uwagę fakt, że nachylenie poszczególnych odcinków charakterystyk elektrod /tzn. zmiana potencjału elektrody w funkcji zmiany pH roztworu buforowego/ w kolejnych pomiarach zmienia się nieznacznie i jest podobne dla wszystkich elektrod w tym samym rodzaju roztworu buforowego.

Określono wpływ ciśnienia parcjalnego tlenu na potencjał stosowanej elektrody. Wyniki zestawiono w tabeli X.

Wspomniane wyżej rozrzuty wartości potencjału elektrod antymonowych w roztworach buforowych o tej samej wartości pH,

lecz różnym składzie chemicznym nie stanowią odosobnionego przypadku. O podobnym zachowaniu elektrody antymonowej donoszą inni /6,18,42,50,54,74,77/.

Przyczyn tego zjawiska dopatrują się oni przede wszystkim w zakłóceniu równowagi przedstawionej powyżej reakcji  $\text{Sb-Sb}_2\text{O}_3$  w wyniku procesów mogących zachodzić w roztworach /24,39,77/, w istnieniu jonów antymonu o różnej wartościowości / $\text{Sb}^{3+}$ ,  $\text{Sb}^{5+}$ / /34,74/, a także w zanieczyszczeniu powierzchni antymonu osadzającymi się związkami ograniczonymi /39,50,66,77/.

Rozpatrując bieg krzywych i biorąc pod uwagę rozważania dotyczące układów redoks /74/, można przypuszczać o przebiegu takich reakcji na elektrodzie antymonowej w badanym układzie.

Szereg badaczy /39,42/ zwraca uwagę na fakt, że winiany, octany, fluorki skłonne są do tworzenia z antymonem wielordzeniowych kompleksów, nie rozpuszczalnych w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych, w związku z czym można oczekiwać, że ich obecność będzie powodować zmiany potencjału elektrody antymonowej. Sygnalizuje się także /6,34,39,42,50/ wpływ stężenia roztworów buforowych, stężenia dwuwęglanu sodu, obecności cytrynianów, siarczanów, szczawianów na zachowanie się elektrody antymonowej. Jak dotychczas - brak danych literaturowych dotyczących reakcji elektrody antymonowej na obecność mleczanów w roztworze buforowym. Wyniki własnych badań w tym zakresie zestawione w tabeli XII, wskazują, że reakcja taka istnieje. Zastosowano roztwory mleczanu litu o stężeniu 50 mM i 100 mM, a więc było ono nieco wyższe od spotykanych we krwi, lub mięśniach /27/.

Różnica odpowiedzi elektrod, uzyskana wskutek umieszczenia ich w roztworach buforowych zawierających mleczan, nie zmieniała się widocznie ze zmianą stężenia mleczanu i wynosiła 20 mV. Dwukrotny wzrost stężenia mleczanu w roztworze i w efekcie spadek pH o 0,1 jednostki powodował obniżenie bezwzględnej wartości potencjału elektrody o 6 mV.

Biorąc pod uwagę, że teoretyczne nachylenie charakterystyki w układzie "potencjał - pH" wynosi 59 mV/jednostkę pH można przypuszczać, że zaobserwowana zmiana potencjału wynika głównie ze zmiany pH, a nie ze zwiększenia stężenia mleczanu.

Kontrola wpływu adrenaliny na wskazania elektrod, przeprowadzona *in vitro*, podyktowana była perspektywą pomiarów pH *in vivo* w warunkach wlewu katecholamin. W dostępnej literaturze nie znaleziono prac dotyczących wpływu adrenaliny na zachowanie się elektrody antymonowej. Jak wykazały wyniki badań własnych, elektroda nie reaguje na adrenalinę, o ile stężenie adrenaliny w roztworze buforowym nie przekracza 0,3  $\mu\text{g}/\text{l}$ .

Wszystkie te fakty wskazują, że aczkolwiek teoretyczna zależność potencjału elektrody antymonowej od pH jest liniowa, w układach rzeczywistych zachowanie się elektrody jest bardzo złożone.

Jak wynika z równania Nernsta, temperatura jest jednym z czynników wpływających na potencjał elektrody. Dane literaturowe /6,24,77/ nie są w przypadku elektrody antymonowej jednoznaczne - podane wartości  $\Delta E/\Delta T$  wynoszą według /24/: 3,57 mV dla całego zakresu pH. Autor pracy /77/ podaje, że



$\Delta E / \Delta T$  jest funkcją pH i wynosi 0,7 mV, 1,8 mV, 2,9 mV dla pH=3, pH=7 i pH=9 odpowiednio. Przeprowadzone badania - /wyniki zebrano w tabeli XI/ - wykazują, że elektrody antymonowej o opisanej konstrukcji również reagują zmianą potencjału na zmianę temperatury roztworu buforowego.

Należy zwrócić uwagę, że własności elektrod antymonowych, otrzymywanych na drodze elektrolizy, w wysokim stopniu zależą od parametrów wydzielania i składu elektrolitu /24/. Fakt ten może stanowić istotę rozbieżności danych, przytaczanych przez różnych badaczy, uzyskanych w analogicznych układach pomiarowych.

Jeśli chodzi o własności dynamiczne elektrod, należy stwierdzić, że nadają się one do pomiaru szybkich zmian pH /tabele I - IX/. Czas odpowiedzi elektrod nie przekracza 3 minut. Różnice otrzymane dla niektórych egzemplarzy elektrod wynikać mogą z czystości powierzchni i jakości wykonania warstwy antymonu i warstwy izolacyjnej.

Z przeprowadzonych do chwili obecnej badań wynika, że przesunięcia potencjałów elektrod antymonowych dla określonej wartości pH są w kolejnych pomiarach coraz mniejsze, przy czym zmiany te następują w kierunku potencjałów wyższych. Wobec stosunkowo niewielkiej ilości prób <sup>niewłaściwe</sup> byłoby podawanie w tej chwili jakiegokolwiek zależności funkcyjnej. Niemniej jeśli ta tendencja zostałaby potwierdzona statystycznie, owe przesunięcia potencjału dałoby się w prosty sposób skompensować odpowiednim układem elektronicznym.

Wszystkie wyżej wspomniane czynniki mogą być przyczynami rozrzutów wyników pomiarów. Znając jednakże skład środowiska pomiarowego można próbować przewidzieć kierunki zmian potencjałów elektrod, wywołanych działaniem poszczególnych składników i odpowiednio uwzględnić te zmiany w analizie wyników. Wydaje się celowe i prostsze, jeśli to możliwe, przeprowadzanie kalibracji elektrod w warunkach najbardziej zbliżonych do warunków pomiaru. Ten pogląd pokrywa się z opinią licznych autorów /6,24,50,66,74,77/, którzy przywiązują szczególną wagę do kalibrowania elektrod antymonowych przeznaczonych do pomiarów *in vivo* w roztworach o składzie chemicznym jak najbardziej zbliżonym do rzeczywistych warunków pomiaru.

#### V.1.1. WNIOSKI Z POMIARÓW IN VITRO

1. Nachylenie charakterystyki elektrody uzyskane w kolejnych pomiarach w roztworach buforowych o tym samym składzie chemicznym i temperaturze jest podobne, jakkolwiek powtarzalność wyników uzyskanych tą samą elektrodą, bądź różnymi elektrodami dla jednakowego pH, jest mała.
2. Elektrody antymonowe stanowiące przedmiot badań niniejszej pracy nadawać się mogą bardziej do określania kierunku zmian pH, niż wartości liczbowej pH badanego środowiska.
3. Na wynik pomiaru ma wpływ temperatura, prężność gazów i skład chemiczny środowiska pomiarowego.
4. Elektrody należy więc kalibrować w roztworze buforowym o składzie chemicznym jak najbardziej zbliżonym do składu badanego środowiska i w analogicznych warunkach pomiaru.
5. Elektrody antymonowe charakteryzują się wysoką reaktywnością, nadają się przeto do uchwycenia szybkich zmian pH.
6. Konstrukcja elektrod jest prosta i łatwa do wykonania, a uzyskanie materiału wyjściowego nie następuje z trudności.
7. Koszty produkcji takich elektrod są niskie.
8. Dzięki zastosowanej konstrukcji, zapewniającej dużą wytrzymałość mechaniczną, elektrody te są trwałe i można je wielokrotnie stosować do pomiarów.

## V.2. OMÓWIENIE WYNIKÓW IN VIVO

Analiza wyników uzyskanych in vivo wskazuje na brak powtarzalności odpowiedzi elektrody na tę samą wartość pH krwi tętniczej. Takiego zachowania się elektrody we krwi spodziewano się jednak już po przeprowadzeniu pomiarów w roztworach buforowych, dla których także nie uzyskano powtarzalnych wyników kolejnych pomiarów. Poprawę powtarzalności wyników można osiągnąć przede wszystkim na drodze mechanicznego oczyszczenia powierzchni antymonu po każdym pomiarze /34,42/. Nie jest to oczywiście możliwe w długotrwałych pomiarach in vivo, gdy elektroda znajduje się w pracującym mięśniu sercowym.

Stwierdzono także brak zależności ilościowych między zmianami pH krwi tętniczej, zmierzonymi metodą Astrupa, a zmianami potencjału elektrody antymonowej omywanej krwią tętniczą. Wydaje się, że można to położyć na karb zanieczyszczenia powierzchni elektrody kompleksami antymonu ze składnikami krwi, jakości wykonania warstwy antymonu oraz ewentualnych zmian stężeń niektórych składników krwi, czy zmiany ciśnienia parcjalnego tlenu i dwutlenku węgla we krwi w trakcie pomiaru.

Stwierdzono, że stosowanie hipowentylacji spowodowało zgodne z przewidywaniami obniżenie pH krwi tętniczej oraz obniżenie bezwzględnych wartości potencjałów elektrod antymonowych w ścianie lewej komory pracującego mięśnia sercowego oraz we krwi tętniczej. Wskazuje to na obniżenie pH mięśnia sercowego oraz krwi tętniczej, co jest zgodne

z wynikami innych autorów /13,17,21,48,49,60/, którzy mierzyli pH wewnątrzkomórkowe, tkankowe /mięsień sercowy, szkieletowy, udowy/ lub pH krwi tętniczej i żyłnej przy pomocy mikroelektrody szklanej /13,17,21/, metodą DMO /49,60/, lub metodą Astrupa /48/.

Nasilenie hipowentylacji wywoływało większy spadek pH krwi tętniczej wraz ze zwiększeniem reakcji elektrody w mięśniu sercowym i elektrody omywanej krwią tętniczą. Odnotowany w dwóch przypadkach wzrost, po uprzednim obniżeniu, odpowiedzi elektrody w mięśniu sercowym nie powinien być tłumaczony zależnością potencjału elektrody antymonowej od ciśnienia parcjalnego tlenu i /lub dwutlenku węgla, ponieważ zmiany tych ciśnień były w obu przypadkach zbyt małe. To samoistne "wyrównywanie się" potencjału elektrody mogło być spowodowane zmianami środowiska tkankowego wokół elektrody, lub być wynikiem buforowania fizjologicznego /4/. Powstające w nadmiarze w przestrzeni pozakomórkowej jony  $H^+$  częściowo zobojętniają aniony buforowe pozakomórkowe. Część jonów  $H^+$  dyfunduje także do komórki, którą - dla zachowania równowagi elektrycznej - musi opuścić równoważna ilość kationów  $Na^+$ ,  $K^+$ , - jest to jednak proces dość powolny /4/. Autorzy pracy /17/ obserwowali alkalozę mięśnia sercowego w hipoksji, w czasie której ciśnienie parcjalne tlenu we krwi tętniczej obniżali do poziomu 20 - 25 mm Hg. Uważają oni, że alkalozę wynika m.in. z: powolnej produkcji  $CO_2$  w mięśniu sercowym, związanej ze

zmniejszonym dostarczaniem tlenu do mięśnia. Ponadto, nasila ją jednoczesne zwiększone wymywanie  $\text{CO}_2$  w warunkach podwyższonego przepływu krwi przez pracujący mięsień sercowy /mierzonego metodą termiczną/. Można zatem wyciągnąć wniosek, że alkalozia mięśnia sercowego nie stanowi jednak przyczyny samoistnego "wyrównywania się" potencjału elektrody antymonowej w moich doświadczeniach, m.in. dlatego, że w czasie hipowentylacji nie obserwowano tak dużych spadków ciśnienia parcjalnego tlenu, jakie otrzymali autorzy wymienionej pracy.

Nie stwierdzono zależności między zmianami potencjałów elektrod antymonowych, a zachowaniem się ciśnienia tętniczego krwi. Zmiany ciśnienia tętniczego rejestrowane w czasie stosowania hipowentylacji były zgodne z przewidywaniami i podobne do rejestrowanych w podobnych warunkach przez innych badaczy /17/.

Podawanie adrenaliny we wlewie do żyły udowej wywoływało obniżenie pH krwi tętniczej, zmierzone metodą Astrupa, z jednoczesnym obniżeniem potencjału elektrody antymonowej we krwi tętniczej i w mięśniu sercowym, wskazującym na spadek pH w obu badanych środowiskach. Podobną relację między wzrostem stężenia adrenaliny, a obniżeniem się pH sygnalizują liczne prace /28,29,51,57/. Zwiększenie dawki adrenaliny nasilało spadek potencjału elektrod. W 5 doświadczeniach stwierdzono wprost proporcjonalną zależność odpowiedzi elektrody w mięśniu sercowym

od dawki adrenaliny. Przeprowadzone obliczenia wskazały na bardzo dobrą korelację /współczynnik korelacji  $r = 0,9865$ / między towarzyszącymi podawaniu adrenaliny spadkami pH krwi tętniczej i zmianami potencjału elektrody antymonowej w mięśniu sercowym.

Ciśnienie tętnicze krwi wzrastało w czasie trwania wlewu, nie stwierdzono jednak, aby ten wzrost wywoływał zmiany zapisu sygnału elektrody w mięśniu sercowym.

Badacze japońscy /23/, którzy w wyniku jednorazowego podania adrenaliny i noradrenaliny w podobnych dawkach zarejestrowali wyłącznie wzrost pH mięśnia sercowego /pomiar elektrodą szklaną o średnicy czubka 1 mm/, uważają, że interpretacja takich zapisów jest trudna ze względu na możliwość interferencji gwałtownych skurczów serca, wywołanych podaniem katecholamin, z sygnałem zmiany pH. W moich doświadczeniach możliwości takiej interferencji nie wykluczam, aczkolwiek zastosowany układ elektroniczny ma na celu redukcję takiej interferencji.

Obniżanie potencjałów elektrod antymonowych w trakcie wlewu kwasu mlekowego wskazywało na zdolność elektrod do reagowania na spadek pH /stwierdzany równocześnie metodą Astrupa/. Zauważone w jednym przypadku narastanie potencjału elektrody antymonowej do wartości wyjściowej w czasie trwania wlewu, jakie nastąpiło po uprzednim obniżeniu się potencjału, mogło być artefaktem spowodowanym reakcją antymonu na wzrost stężenia mleczanów. Na tę możliwość wskazują wyniki badań in vitro, przedstawione w rozdziale

## IV.1.5.

Jednorazowe dożylnie podanie kwasu mlekowego, lub dwuwęglanu sodu wywołało natychmiastową reakcję elektrody w mięśniu sercowym. Kierunek zmiany potencjału elektrody dla każdego z tych przypadków był zgodny z oczekiwanym. Fakt ten wskazuje na zdolność reagowania elektrody antymonowej zarówno na wzrost, jak i na spadek pH in vivo.

Zarejestrowane zależności między zmianami: pH krwi tętniczej, potencjału elektrody omywanej krwią tętniczą i potencjału elektrody umieszczonej w mięśniu sercowym trudno jest w chwili obecnej opisać ilościowo. Dane literaturowe wskazują na dużą zbieżność zmian pH we krwi tętniczej i w mięśniu sercowym /choć nie zawsze są to zależności wprost proporcjonalne do siebie/ /8,20,21,72/.

Pomiary przeprowadzone przy pomocy elektrody antymonowej własnej konstrukcji w pracującym mięśniu sercowym wykazują zmiany pH płynu wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego, co wynika z wymiarów elektrody, przekraczających o przeszło rząd wielkości wymiary średnicy włókna mięśnia sercowego. Obecny stan techniki nie pozwala jednak na dalsze zmniejszanie średnicy igły elektrody przy zachowaniu jednocześnie jej dużej wytrzymałości mechanicznej.

Badania histologiczne obszaru mięśnia sercowego, będącego w kontakcie z elektrodą, wykazały niewielkie uszkodzenie komórek tkanki mięśniowej wokół elektrody, a czasem również i naczyń krwionośnych, które znalazły się na drodze elektrody.



Jednakże stosowanie elektrod igłowych, których średnice są nawet wielokrotnie mniejsze, również wywołuje uszkodzenie naczyń i pewne zmiany w komórkach wokół elektrody /55/.

W doświadczeniach stosowano elektrody różnej długości /grupa I: 5 mm, grupa II: 9 mm/. Nie stwierdzono różnic w zachowaniu się elektrod obu grup /elektrody nie wysuwały się z pracującego mięśnia sercowego, ich reakcje na zmiany pH tkanki były podobne/. Przeprowadzenie pomiarów zmian pH na różnych głębokościach mięśnia sercowego nie było jednak celem niniejszej pracy, przeto różne długości igieł elektrod nie były tu wykorzystywane.

Nie zdołano ustalić przyczyny długotrwałej, powolnej /30 - 60 min/ stabilizacji zapisu na początku doświadczenia. Jednakże stabilizacja zapisu elektrod antymonowych mimo wszystko jest lepsza od uzyskanej dla elektrod szklanych, dla których badacze japońscy potrzebują 50 - 60 min /23/. Rozwiązaniem problemu jest rozpoczynanie doświadczenia w 60 min od momentu, w którym elektroda znalazła się w tkance.

### V.2.I. WNIOSKI Z POMIARÓW IN VIVO

1. Elektrody antymonowe o konstrukcji przedstawionej w niniejszej pracy można stosować do określenia kierunku i nasilenia zmian pH in vivo. Większym zmianom pH odpowiadają większe, aczkolwiek nie zawsze do nich proporcjonalne, zmiany potencjałów elektrod.
2. Określenie liczbowej wartości pH, lub ilościowych zmian pH in vivo jest ograniczone ze względu na małą powtarzalność wyników pomiarów i wpływ czynników takich, jak: temperatura i zmiany środowiska tkankowego.
3. Kalibracja elektrod w warunkach jak najbardziej zbliżonych do warunków właściwego pomiaru pozwala na uzyskanie wyraźnie lepszej korelacji między zmianami pH i zmianami potencjału elektrody antymonowej.
4. Nie wydaje się, aby zmiany ciśnienia tętniczego krwi miały wpływ na wyniki pomiarów.
5. Elektrody są przystosowane do wielogodzinnej pracy w funkcjonującym mięśniu sercowym. Wytrzymałość mechaniczna elektrod jest znacznie wyższa, niż elektrod szklanych.
6. Uszkodzenia tkanki powodowane wprowadzeniem elektrody są niewielkie, a nawet mniejsze, niż w doświadczeniach innych badaczy, którzy stosowali elektrody szklane.
7. Ze względu na wymagany okres stabilizacji zaleca się umieszczać elektrody w badanej tkance na 30 - 60 minut przed rozpoczęciem pomiarów.

## VI. PODSUMOWANIE

### CECHY DODATNIE I UJEMNE ELEKTROD ANTYMONOWYCH O KONSTRUKCJI PRZEDSTAWIONEJ W NINIEJSZEJ PRACY.

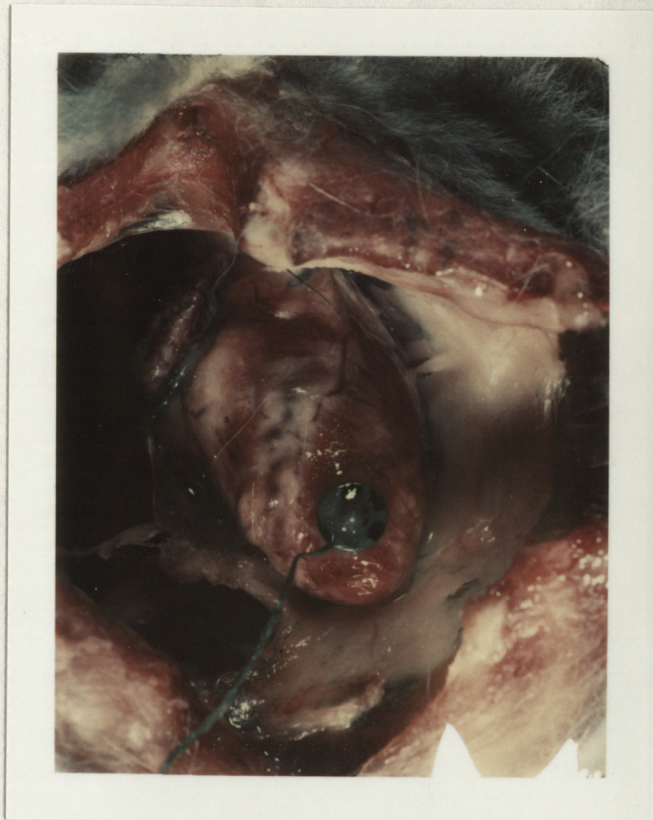
Do zalet elektrod antymonowych o opisanej konstrukcji można zaliczyć:

1. możliwość określania kierunku i nasilenia zmian pH *in vitro* i *in vivo*
2. pomiar bezpośredni i ciągły zmian pH
3. możliwość rejestracji szybkich zmian pH dzięki dużej reaktywności elektrod
4. dużą wytrzymałość mechaniczną i bardzo dobrą sprężystość, uzyskaną dzięki wykorzystaniu podłoża z drutu Pt - Ir, dzięki której elektrody pozostające w pracującym mięśniu sercowym podczas kilkugodzinnych doświadczeń nie ulegają złamaniu.
5. wysoką wytrzymałość zmęczeniową pozwalającą na wielokrotne stosowanie elektrod do pomiarów
6. możliwość dokonywania pomiaru na różnych głębokościach mięśnia sercowego
7. mały ciężar własny /400 - 500 mg/ i małe wymiary elektrod, korzystne z punktu widzenia prawidłowej pracy mięśnia sercowego
8. możliwość umieszczenia elektrody w pracującym mięśniu sercowym w sposób możliwie atraumatyczny, bez konieczności przyszywania, lub przyklejania jej na czas doświadczenia.

9. stosunkowo prostą i niezbyt kosztowną produkcję
10. prostą konstrukcję, łatwą do wykonania z dostępnych na rynku krajowym materiałów.

Jeśli chodzi o cechy ujemne, to elektrody opisanej konstrukcji wykazują:

1. ograniczoną możliwość uzyskania liczbowej, bezwzględnej wartości pH, co jednak można poprawić, stosując odpowiednią kalibrację elektrod
2. zależność uzyskiwanych wyników od temperatury i składu chemicznego środowiska pomiarowego, podobnie, jak i dla wielu innych elektrod stosowanych w elektrochemii
3. konieczność odnawiania powierzchni czynnej elektrody, co wymaga dodatkowego nakładu pracy.
4. ze względu na ograniczenia od strony mechanicznej niemożność pomiaru zmian pH wewnątrzkomórkowego. Miejmy nadzieję, że wobec postępu technologii materiałów i ich obróbki uda się skonstruować elektrodę antymonową na takim materiale nośnym, że jej średnicę będzie można wyraźnie zmniejszyć.



Fot.3 Elektroda antymonowa w trakcie pomiaru w pracującym mięśniu sercowym

VII. PIŚMIENNICTWO

1. Benzing H., Gebert G., Strohm M.: Extracellular Acid-Base Changes in the Dog Myocardium During Hypoxia and Local Ischemia, Measured by Means of Glass Micro-Electrodes, w "Metabolism of the Hypoxic and Ischaemic-Heart" - red. Moret P., Feifar Z., Genewa, 1972, 85.
2. Best Ch., Taylor N.B.: Regulacja stężenia jonów wodorowych w płynach ustrojowych, w: "Fizjologiczne podstawy postępowania lekarskiego", PZWL, Warszawa 1971, 698.
3. Bing R.J.: Disturbances in Myocardial Metabolism w "Advances in Cardiology", red.Hegglin R., St.Gallen, 1956, 52.
4. Boreyko-Chodkiewicz K.: Buforowanie biologiczne, w "Zaburzenia gospodarki wodnej i elektrolitowej", PZWL, Warszawa, 1971, 72.
5. Bühler H.U., Da Prada M., Haefely W., Picotti G.B.: Plasma adrenaline, noradrenaline and dopamine in man and different animal species, "J.Physiol." 1978, 276, 311.
6. Caflisch C.R., Pucacco L.R., Carter N.W.: Manufacture and utilization of antimony pH electrodes, "Kidney International" 1978, 14, 126.
7. Caldwell P.C.: An investigation of the intracellular pH of crab muscle fibres by means of micro-glass and micro-tungsten electrodes, "J.Physiol". 1954, 126, 169.
8. Carter N.W., Rector F.C., Campion D.S., Seldin D.W.: Measurement of Intracellular pH of Skeletal Muscle with pH - sensitive Glass Microelectrodes, "J.Clin.Invest." 1967, 46, 920.

9. "Chemia fizyczna" - praca zbiorowa, red. B. Kamieński, PWN, Warszawa 1966, 777.
10. Crowell J.W., Kaufmann B.N.: Changes in tissue pH after circulatory arrest, "Am.J.Physiol.", 1961, 200, 743.
11. Duling B.R.: Changes in Microvascular Diameter and Oxygen Tension Induced by Carbon Dioxide, "Circ.Res.", 1973, 32, 370.
12. Effros R.M., Haider B., Ettinger P.O., Ahmed S.S., Oldewurtel H.S., Marold K., Regan T.J.: In Vivo Myocardial Cell pH in the Dog, "J.Clin.Invest.", 1975, 55, 1100.
13. Ellis D., Thomas R.C.: Microelectrode measurement of the intracellular pH of mammalian heart cells, "Nature" 1976, 262, 224.
14. Ferrans V.J., Roberts W.C.: Myocardial Ultrastructure in Acute and Chronic Hypoxia, w "Metabolism of the Hypoxic and Ischaemic Heart", red. Moret P., Fejfar Z., Genewa, 1972, 144.
15. Filler R.M., Das J.B.: Muscle pH,  $PO_2$ ,  $PCO_2$  Monitoring: A Review of Laboratory and Clinical Evaluations, w: "Ion-selective microelectrodes", red. Berman H.J., Hebert N.C., 1974, 175.
16. Fiorica V., Iampietro P.F., Burr M.J., Moses R.: Influence of blood pH on adrenomedullary response to hemorrhage, "Am.J.Physiol." 1969, 217, 1211.
17. Gebert G., Benzing H., Strohm M.: Changes in the Interstitial pH of Dog Myocardium in Response to Local Ischemia, Hypoxia, Hyper- and Hypocapnia, Measured Continuously by Means of Glass Microelectrodes. "Pflug. Arch": 1971, 329, 72.

18. Green R., Giebisch G.: Some Problems with the Antimony Microelectrode, w "Ion-selective microelectrodes", red.Berman H.J., Hebert N.C., 1974, 43.
19. Gregg D.E.: Relationship Between Coronary Flow and Metabolic Changes, w: "Metabolism of the Hypoxic and Ischaemic Heart", red.Moret P., Fejfar Z., Genewa 1972,291.
20. Hermansen L., Osnes J.B.: Blood and muscle pH after maximal exercise in man, "J.Appl.Physiol.", 1972, 226, 39.
21. Hochberg H.M., Lauersen N.H., George M.E.D., van Poznak A.: A Study of the pH Monitor in Cats, "Arch.Gynecol", 1978, 226, 39.
22. Hochrein H., Hunsmann G., Stoepel K.: Changes of Intracellular Myocardial Electrolytes in Experimental Hypertension, w: "Metabolism of the Hypoxic and Ischaemic Heart", red. Moret P., Fejfar Z., Genewa, 1972, 96.
23. Ichihara K., Ichihara M., Abiko Y.: Involvement of Beta Adrenergic Receptors in Decrease of Myocardial pH during Ischaemia, "J.Pharmacol.Exp.Ther.", 1979, 209, 275.
24. Ives D.J.G.: The Antimony Electrode and its Congeners, w: "Reference Electrodes-Theory and Practice" - Ives D. J.G., Janz G.J., Ac. Press., 1961, 336.
25. Jacobus W.E., Taylor G.J., Hollis D.P., Nunnally R.L.: Phosphorus nuclear magnetic resonance of perfused working rat hearts, "Nature" 1977, 265, 756.
26. Januszewicz W., Chlebus H., Sznajderman M., Wocial B.: Własności fizjologiczne katecholamin, w:Katecholaminy", red.W.Januszewicz, PZWL, Warszawa, 1972, 18.



27. Karlsson J.: Lactate and phosphagen concentrations in working muscle of man, "Acta Physiol. Scand", 1971, Suppl. 358.
28. Kárpáti P., Preda I., Endrőczi E.: Norepinephrine concentration in heart muscle and hypothalamus during acidosis in the rat, "Acta Physiol. Acad. Sci. Hung", 1973, 43, 315.
29. Kárpáti P., Preda I., Endrőczi E.: Effect of Acidosis and Noradrenaline Infusion on <sup>14</sup>C-Noradrenaline Uptake by the Rat Myocardium, "Acta Physiol. Acad. Sc. Hung." 1974, 45, 109.
30. Kokot F.; Wpływ zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej na metabolizm i czynności niektórych narządów, "Pol. Arch. Med. Wewn.", 1974, 51, 531.
31. Ledingham I. Mc A., Mc Bride T. I., Parratt J. R., Vance J. P.: The effect of hypercapnia on myocardial blood flow and metabolism, "J. Physiol." 1970, 210, 87.
32. Lenzi F.: Electrolytic Balance and Myocardial Contraction, w: "Advances in Cardiology" red. Hegglin R., St. Gallen, 1956, 153.
33. Lingane J. J.: Pomiary pH, w "Elektroanaliza chemiczna" PWN, Warszawa, 1960, 86.
34. Łapiński M.: Elektroda antymonowa, w "Pomiary elektryczne i elektroniczne wielkości nieelektrycznych", WNT, Warszawa 1974, s. 214.

35. Malnic G., Mello Aires M., Giebisch G.,: Micropuncture study of renal tubular hydrogen ion transport in the rat, "Am.J.Physiol." 1972, 222, 147.
36. Malnic G., Mello Aires M., Cassola A.C.: Kinetic Analysis of Renal Tubular Acidification by Antimony Microelectrodes, w: "Ion-selective microelectrodes", red. Berman H.J., Hebert N.C., 1974, 89.
37. Mello Aires M., Malnic G.: Peritubular pH and  $PCO_2$  in renal tubular acidification, "Am.J.Physiol." 1975, 228, 1766.
38. Minczewski J., Marczenko Z.: Wskaźniki pH, w: "Chemia analityczna" PWN, Warszawa, 1965, 109.
39. Minczewski J., Marczenko Z.: Elektroda antymonowa, w:"Chemia analityczna" - PWN, Warszawa, 1965, 696.
40. Mioduszevska A.: Próba przedstawienia mikroelektrod antymonowych własnej konstrukcji do pomiaru pH w myocardium kota in situ, - materiały III Konferencji "Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna", Wrocław, 1979, s.96.
41. Mioduszevska A.: Przedstawienie metody ciągłego oznaczania zmian pH w pracującym mięśniu sercowym oraz związanych z nią problemów pomiarowych, - materiały IV Konferencji "Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna", Poznań, 1980, s.112.
42. Modrzejewski B.: Elektroda antymonowa, w:"Pomiary pH", red.WNT, Warszawa, 1971, 220.
43. Ng M.L., Levy M.N., Zieske H.A.: Effects of changes of pH and of carbon dioxide tension on left ventricular performance, "Am.J.Physiol." 1967, 213, 115.

44. Nahas G.G., Ligou J.C., Mehlman B.: Effects of pH changes on  $O_2$  uptake and plasma catecholamine levels in the dog, "Am.J.Physiol.", 1960, 198, 60.
45. Nash C.W., Heath C.: Vascular responses to catecholamines during respiratory changes in pH, "Am.J.Physiol." 1961,,200, 755.
46. Opie L.H.: Effect of extracellular pH on function and metabolism of isolated perfused rat heart, "Am.J.Physiol". 1965, 209, 1075.
47. Poole-Wilson P.A.: Measurement of Myocardial Intracellular pH in Pathological States, "J.Molecul.Cellul. Cardiol.", 1978, 10, 511.
48. Poole-Wilson P.A., Langer G.A.: Effect of pH on ionic exchange and function in rat and rabbit myocardium, "Am.J.Physiol.", 1975, 229, 570.
49. Poole-Wilson P.A., Cameron I.R.: Intracellular pH and  $K^+$  of cardiac and skeletal muscle in acidosis and alkalosis, "Am.J.Physiol.", 1975, 229, 1305.
50. Quehenberger P.: The Influence of Carbon Dioxide, Bicarbonate and Other Buffers on the Potential of Antimony Microelectrodes, "Pflug.Arch.", 1977, 368,141.
51. Raab W.: The Adrenergic-Cholinergic Control of Cardiac Metabolism and Function, w: "Advances in Cardiology", red.Hegglin R., St.Gallen, 1956, 65.
52. Rona G., Hüttner I., Boutet M.: Microcirculatory Changes in Myocardium with Particular Reference to Catecholamine - induced Cardiac Muscle Cell Injury, "Microcirculation" - red.Meessen H., Springer-Verlag, 1977, 791.

53. Salhany J.M., Pieper G.M., Wu S., Todd G.L., Clayton F.C., Eliot R.S.:  $^{31}\text{P}$  Nuclear Magnetic Resonance Measurement of Cardiac pH in Perfused Guinea - Pig Hearts, "J.Molecul. Cellul.Cardiol.", 1979, 11, 601.
54. Sanvordenker V., Wysocki C.; The antimony pH micro-electrode, "Probing... News from Transidyne General Corporation", 1971, v.3, N<sup>o</sup>1.
55. Schäfer D., Höper J.: Alterations in Rat Liver Cells and Tissue Caused by Needle Electrodes, w: "Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine", red. Urban, Schwarzenberg, 1976, 217.
56. Schuchhardt S.: The Intramyocardial Oxygen Pressure at Normoxia and Hypoxia. w: "Metabolism of the Hypoxic and Ischaemic Heart", ed. Moret P., Fejfar Z., Geneva, 1972, 125.
57. Semerau-Siemianowski Z., Borkowski M., Kaleta Z.: "Wpływ nor adrenaliny na metabolizm węglowodanów w mięśniu serca i krążenie wieńcowe", "Pol.Tyg.Lek.", 1962, 17, N<sup>o</sup> 3.
58. Semerau-Siemianowski Z.: O hipoksyjnym charakterze krzywej elektrokardiograficznej poadrenalinowej, - "Postępy Hig.i Med.Dośw." 1962, 16, 1071.
59. Semerau-Siemianowski Z.: The effect of catecholamines on the actual myocardial blood flow, "Pol. Med.J.", 1966, 5, 277.
60. Steenbergen Ch., DeLeeuw G., Rich T., Williamson J.R.: "Effects of Acidosis and Ischaemia on Contractility and Intracellular pH of Rat Heart," "Circ.Res." 1977, 41, 849.
61. Stone D.J., Keltz H., Sarkar T.K., Singzon J.: Ventila-

- tory response to alpha-adrenergic stimulation and inhibition, "J.Appl.Physiol.", 1973, 34, 619.
62. Szent-Györgyi A.: General Views on the Chemistry of Muscle Contraction, w: "Advances in Cardiology", red. Hegglin R., St.Gallen, 1956, 6.
63. Thomas R.C., Intracellular pH of Snail neurones measured with a new pH-sensitive glass micro-electrode, " J.Physiol.;" 1974, 238, 159.
64. Thomas R.C.: The effect of carbon dioxide on the intracellular pH and buffering power of snail neurones, "J.Physiol.;" 1976, 255, 715.
65. Trzebski A.: Koncepcja Claude-Bernarda stałości i regulacji środowiska wewnętrznego organizmu, historia i poglądy współczesne, "Kard. Pol.", 1979, 22, 601.
66. Vieira F.L., Malnic G.: Hydrogen ion secretion by rat renal cortical tubules as studied by an antimony microelectrode, "Am.J.Physiol.;" 1968. 214, 710.
67. Waddell W.J., Butler T.C.: Calculation of intracellular pH from the distribution of 5,5 - dimethyl -2,4 - -oxazolidinedione /DMO/. Application to skeletal muscle of the dog, "J.Clin. Invest.;" 1959, 38, 720.
68. Waddell W.J., Bates R.G.: Intracellular pH, "Physiol. Rev." 1969, 49, 285.
69. Walawski J.: "Fizjologia człowieka", PZWL, Warszawa, 1965, s. 32.
70. Walters F.J.M., Chir.B., Wilson G.J., Steward D.J., Dom nech R.J., MacGregor D.C.: Intramyocardial pH as an index of myocardial metabolism during cardiac surgery, "J.Thorac. Cardiovasc.Surg.;" 1979, 78, 319.

71. Wang H. , Katz R.L.: Effects of Changes in Coronary Blood pH on the Heart, "Circ.Res.;" 1965, 17, 114.
72. Wilson A.F., Simmons D.H.: Organ and Whole Body Cell pH, "Proc.Soc.Exp.Biol.Med.;" 1970, 134, 127.
73. Wrigh S.: "Physiologie appliqué a'la Médecine", red. Flammarion Med.Scienc., Paris, 1973, 99.
74. Brdiczka R.: "Podstawy chemii fizycznej", PWN, Warszawa 1970, s.788.
75. Laitnen H.A.: Hseu T.M.: Chemically Treated Tin Oxide Electrodes Responsive to pH and Sulfide, "Analytical Chemistry", 1979, 51, 1550,.
76. Parker R.E.: "Wprowadzenie do statystyki dla biologów", PWN, Warszawa, 1978,
77. Struszyński M.: "Elektrody antymonowe", w "Analiza ilościowa i techniczna", PWN, Warszawa, 1957, 387.

## VIII. STRESZCZENIE

Praca dotyczy metody ciągłego oznaczania zmian pH w pracującym mięśniu sercowym, polegającej na bezpośrednim pomiarze i ciągłej rejestracji zmian potencjału elektrody antymonowej w tkance mięśnia, odpowiadającym zmianom pH. Pomiarów dokonywano zbudowaną specjalnie do tego celu elektrodą antymonową. Mając na uwadze trudności techniczne budowy elektrody spełniającej wszystkie wymagania, stawiane w tego typu badaniach, zdecydowano się na zastosowanie pewnego kompromisu, polegającego na skonstruowaniu elektrody do pomiarów śródmiąższowych, a jednocześnie charakteryzującej się bardzo dużą wytrzymałością mechaniczną, dzięki czemu umożliwia ona pomiar zmian pH w pracującym mięśniu sercowym w czasie wielogodzinnego doświadczenia. Stosowano elektrodę antymonową o podłożu metalicznym i konstrukcji odmiennej od znanych i stosowanych dotychczas. Zbudowana jest ona w formie igły ze stopu platyny z irydem, co nadaje jej dużą wytrzymałość mechaniczną i odpowiednią twardość. Elektrodę wprowadzono do układu pomiarowego bądź przez zanurzenie, bądź w pomiarach in vivo specjalnie skonstruowanym przyrządem do ws trzeliwania jej w mięsień. Konstrukcja przyrządu dawała możliwość regulacji siły wstrzeliwania elektrody. Wstrzelenie elektrody tym przyrządem pozwalało zmniejszyć stopień uszkodzenia tkanki pracującego mięśnia w momencie umieszczania w nim elektrody. Igłę elektrody pokrywano antymonem na drodze elektrolizy, której warunki

ustalono doświadczalnie. Jakość powierzchni każdej elektrody oceniano pod mikroskopem. W badaniach z elektrodą antymonową współpracowała chlorosrebrowa elektroda odniesienia.

Zmiany potencjału elektrody antymonowej mierzono pehametrem N 5122 ELWRO produkcji krajowej i zapisywano przy pomocy rejestratora WTR - 281 WATANABE produkcji japońskiej. W celu uniknięcia interferencji mierzonego potencjału z potencjałem czynnościowym serca zastosowano filtr RC. Przed zastosowaniem elektrody antymonowej in vivo przeprowadzono szereg badań in vitro. Sporządzono charakterystyki elektrod /czyli wykresy zależności potencjałów elektrod od pH roztworów buforowych/ dla roztworów buforowych maleinianowych i /lub fosforanowych. Stwierdzono pewien rozrzut wyników uzyskanych w kolejnych pomiarach wykonanych tą samą elektrodą. Wyniki pomiarów uzyskane dla kolejnych egzemplarzy elektrod różniły się między sobą, jednakże nachylenia ich charakterystyk były podobne. Badano wpływ tlenu i temperatury na potencjał stosowanej elektrody antymonowej. Stwierdzono, że potencjał elektrody zmieniał się o 1-3 mV ze zmianą temperatury roztworu buforowego o 1°C, zaś wpływ tlenu uwidaczniał się spadkiem potencjału elektrody ze wzrostem stężenia tlenu w roztworze buforowym. Zależność ta była brana pod uwagę w analizie wyników doświadczeń przeprowadzonych in vivo, mimo, że mierzone metodą Astrupa zmiany ciśnienia parcjalnego tlenu we krwi tętniczej były na tyle małe, że nie powinny wywoływać zauważalnych zmian



potencjału.

Wpływ temperatury na potencjał elektrody *in vivo* pominięto w analizie wyników *in vivo*, ponieważ utrzymywano stałą temperaturę zwierzęcia przez cały czas trwania doświadczenia. Perspektywa pomiarów *in vivo* w warunkach wlewu katecholamin jak również brak danych dotyczących wpływu katecholamin na potencjał elektrody antymonowej były przyczynami, dla których autorka pracy przeprowadziła kontrolę *in vitro* wpływu domieszki adrenaliny w roztworze buforowym /w ilości do 0,3  $\mu\text{g}/\text{l}$  roztworu buforowego/, nie stwierdzając zmian potencjału elektrody wskaźnikowej. Podobna kontrola przeprowadzona dla domieszki mleczanu litu wskazała /w warunkach pomiaru/ na zależność potencjału elektrody antymonowej od jego obecności w roztworze buforowym. Wyniki te nie pozwalają jednak wnioskować o podobnej reakcji elektrod antymonowych *in vivo*, ponieważ stężenie mleczanu *in vitro* były wyższe od spotykanych w tkankach, a środowisko pomiarowe było odmienne od tkanki.

Badania *in vivo*, przeprowadzone na 19 kotach, wykazały, że kierunek zmiany potencjału elektrody antymonowej ze zmianą pH był zgodny z oczekiwanym. Stosowano następujące manipulacje: hipowentylację, wlewy adrenaliny, wlewy roztworu kwasu mlekowego, jednorazowe podanie dożylnie kwasu mlekowego oraz dwuwęglanu sodu. Jedna z elektrod antymonowych ws trzeliwana była w ścianę lewej komory serca, a druga - omywana krwią tętniczą, której pH było równocześnie mierzone metodą Astrupa i porównywane z rejestrowaną wartością potencjału elektrody antymonowej omywanej krwią tętniczą. Kierunek zmian pH krwi tętniczej

był zgodny z kierunkiem zmian potencjałów obu elektrod antymonowych, lecz najczęściej nie było zależności ilościowych między tymi zmianami. Reakcja elektrod zarówno na wzrost, jak i na spadek pH in vivo była zgodna z oczekiwaną. Nasilenie bodźca wywołującego zmianę pH wywoływało zwiększenie zmian potencjałów elektrod zarówno w sercu, jak i we krwi tętniczej. Po zakończeniu działania bodźca następował powrót wartości potencjałów obu elektrod oraz pH krwi tętniczej do wartości wyjściowych.

Stosowane elektrody charakteryzują się bardzo dobrą stabilnością i wytrzymałością mechaniczną w mięśniu sercowym podczas trwających kilku godzin doświadczeń i w stosowanym układzie pomiarowym nie wymagały one ekranowania.

Badania wykazały celowość /ze względu na stabilność potencjału elektrody/ rozpoczynania pomiarów po czasie 30 - 60 minut od umieszczenia elektrod in vivo. Stwierdzono, że ze względu na własności dynamiczne elektrody te mogą być z powodzeniem stosowane w opisanych badaniach.