

# ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. I.

SUBVENTIONNÉ PAR LE MINISTÈRE DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

ÉDITÉ PAR L'INSTITUT NENCKI  
(SOC. SCI. VARS.)  
8, RUE ŚNIADECKI  
VARSOVIE  
1928

## Acta Biologiae Experimentalis

Czasopismo, ogłaszające rozprawy naukowe z zakresu fizjologii i chemii fizjologicznej roślin i zwierząt, morfologii doświadczalnej, etologii oraz dziedzin pokrewnych. Ponadto—specjalny dział p. t.: „Bibliographia Polonica”.

Wydawnictwo to będzie ukazywało się w miarę napływania rękopisów, w liczbie około dwu tomów rocznie.

Wyszedł z druku:

Tom I, 1928 (pod redakcją K. Białaszewicza), zawierający następujące rozprawy:

E. GODLEWSKI I UN. (Kraków): Badania nad istotą podniety zjawisk regeneracyjnych i ich hamowaniem. — H. RYCHLEWSKA (Warszawa): O cieple spalania mięśni żywych. — J. K. PARNAS (Lwów): Badania nad powstawaniem amonjaku i zależnością tej sprawy od czynności mięśni. — S. KOPEĆ (Puławy): O wpływie głodzenia na długość życia formy dojrzałej *Drosophila melanogaster*. — WL. VORBRÖDT (Kraków): O związkach fosforowych grzybnik kropidlaka (*Aspergillus niger*). — ST. J. PRZYŁĘCKI (Warszawa): Wpływ struktury na kinetykę desmolaz. Część I. Układy: urikaza, kwas moczowy, węgiel czynny i nieczynny oraz białko. — E. MALINOWSKI (Skierniewice): Hipoteza powinowactwa chromosomów. — F. ROGOZIŃSKI i M. STARZEWSKA (Kraków): O trawieniu ligniny przez zwierzęta przeżuwające. — J. V. SUPNIEWSKI (Warszawa): Związek między budową chemiczną i własnościami farmakologicznymi w grupie związków imidazolowych. I. Badania nad pochodnymi metylimidazolu. — T. VIEWEGER (Warszawa): Skład chemiczny węgorzy głodzonych. — K. BIAŁASZEWICZ (Warszawa): Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. — BIBLIOGRAPHIA POLONICA za rok 1927.—Z 5-ma tablicami rysunków.

Tom II w druku, ukaże się we wrześniu r. b.

Cena pojedynczego tomu (20—25 arkuszy): w prenumeracie—20 zł., oddzielnie—25 zł. Współpracownicy czasopisma otrzymują 10% ustępstwa.

Zgłoszenie do prenumeraty przyjmuje:

Administracja Instytutu im. Nenckiego  
(Warszawa, ul. Śniadeckich 8, tel. 274-44).

Skład główny:

„Ekspedycja Kasy im. J. Mianowskiego”  
(Warszawa, Nowy-Świat 72, Pałac Staszica).

# ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. I.

SUBVENTIONNÉ PAR LE MINISTÈRE DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

ÉDITÉ PAR L'INSTITUT NENCKI  
(SOC SCI. VARS.)  
8, RUE ŚNIADECKI  
VARSOVIE  
1928

ACTA BIOLOGICA  
EXPERIMENTALIA

Redaktor:

K. BIAŁASZEWICZ.



P.180

## S o m m a i r e.

N<sup>o</sup> N<sup>o</sup>

pp.

1. **E. Godlewski iun.** Badania nad istotą podniety zjawisk regeneracyjnych i ich hamowaniem. *Recherches expérimentales sur la nature de la stimulation de la régénération et sur l'inhibition de ce phénomène.* [Institut d'Embryologie et de Biologie de l'Université Jagellonne à Cracovie]. . . . . 1—39
2. **H. Rychlewska.** O ciepłe spalania mięśni żywych. *De la chaleur de combustion des muscles vivants.* [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie]. . . . . 1—16
3. **J. K. Parnas.** Badania nad powstawaniem amonjaku i zależnośćią tej sprawy od czynności i stanu mięśni. *Untersuchungen über die Ammoniakbildung und über den Zusammenhang dieses Vorgangs mit Funktion und Zustandsänderungen des Muskels.* [Medizinisch-chemisches Institut der Universität Lwów] . . . . . 1—83
4. **S. Kopeć.** O wpływie przerywanego głodzenia na długość życia formy dojrzałej *Drosophila melanogaster*. *L'influence du jeûne intermittent sur la durée de la vie de la forme adulte de Drosophila melanogaster.* [„Animal Breeding Research Department“ de l'Université à Edinbourg]. . . . . 1—20
5. **Wł. Vorbrodł.** O związkach fosforowych grzybní kropi-dłaka (*Aspergillus niger*). *Sur les composés phosphorés du mycéllium de l'Aspergille (Aspergillus niger).* [Institut de Chimie Agricole de l'Université Jagellone à Cracovie]. . . . . 1—10
6. **St. J. Przyłęcki.** Wpływ struktury na kinetykę desmolaz. Część I. Układy: urikaza, kwas moczowy, węgiel czynny i nieczynny oraz białko. *L'influence de la structure sur la cinétique des desmolases 1-e partie. Systèmes: acide urique, uricase, charbon actif et inactif et protides.* [Institut de Chimie Physiologique de l'Université de Varsovie]. . . . . 1—26
7. **E. Malinowski.** Hipoteza powinowactwa chromosomów. *The hypothesis of chromosome affinity* [Institute of Genetics, College of Agriculture, Warsaw]. . . . . 1 12
8. **F. Rogoziński i M. Starzewska.** O trawieniu ligniny przez zwierzęta przeżuwające. *Sur la digestion de la lignine par les ruminants.* [Institut de Physiologie et d'Alimentation des Animaux de l'Université Jagellone à Cracovie]. . . . . 1— 9

9. **J. V. Supniewski.** Związek między budową chemiczną i własnościami farmakologicznymi w grupie związków imidazolowych. I. Badania nad pochodnymi metylimidazolu. *The chemical constitution and the pharmacological properties of the methylglioxaline compounds.* [The Pharmacological Laboratory, University of Warsaw]. . . . . 1—19
10. **T. Vieweger.** Skład chemiczny węgorzy głodzonych. *Sur la composition chimique des anguilles soumises à l'inanition.* [Laboratoire de Physiologie Générale de l'Université Libre à Varsovie]. . . . . 1—19
11. **K. Białaszewicz.** Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. *Études comparées sur la composition du liquide intermicellaire des oeufs.* [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie]. . . . . 1—52
12. **Bibliographia Polonica (1927)** . . . . . 1— 7

[Zakład Biologiczno-Embrjologiczny Uniwersytetu Jagiellońskiego]

E. Godlewski iun.

**Badania nad istotą podniety zjawisk regeneracyjnych i ich hamowaniem.**

*Recherches expérimentales sur la nature de la stimulation de la régénération et sur l'inhibition de ce phénomène.*

Rękopis nadesłany w dniu 26. II. 1928 r.

Les principaux résultats de ces recherches, exécutées sur des Axolotls, sont les suivants:

1°. Il est possible d'empêcher la régénération consécutive à l'amputation des organes, lorsqu'on couvre la plaie d'un morceau de peau fixée par des sutures, à condition toutefois de recouvrir la plaie immédiatement après l'amputation (fig. 2 et 4, v. l'explication des figures, p. 36).

2°. On peut prévenir la régénération aussi bien après une section transversale, qu'après des sections convergentes en forme de coin. Il est enfin possible de l'empêcher après avoir procédé à l'ablation d'une partie de la queue, en pratiquant des sections horizontales (fig. 2, 4, 5, 7 et 8).

3°. Lorsqu'on a soigneusement recouvert la plaie, on voit les processus régénératifs complètement arrêtés. Lorsque la plaie n'a été recouverte qu'en partie, on peut assister à la formation de fins bourgeons digitiformes de prolifération (fig. 9), qui ressemblent parfois à des queues en miniature.

4°. On réussit également à arrêter la régénération, en greffant sur la plaie, laissée par l'amputation, un morceau de peau d'un autre animal.

5°. La vitalité d'un morceau de peau, servant à recouvrir la plaie, laissée par l'amputation, est, d'après nos expériences, une condition indispensable de l'arrêt de la régénération. Lors-

que la peau dont nous avons couvert la plaie est mortifiée (n'importe qu'il s'agisse de la peau du même animal ou de la peau greffée d'un autre échantillon, fig. 19), les résultats que donnent les tentatives d'arrêter la régénération, sont toujours négatifs.

6°. L'action inhibitrice du morceau de peau cousu sur la plaie, ne saurait s'expliquer par la réaction de l'organisme à la pression mécanique que ce morceau exerce sur les cellules à la surface de la plaie. En effet, lorsqu'on couvre la plaie en fixant sur elle une petite feuille de placage en bois ou ce qui est préférable, un petit morceau de chamois, on ne voit pas se produire le phénomène de l'arrêt de la régénération. C'est par conséquent au contact du tissu vivant qu'il faut attribuer ce phénomène.

7°. Les recherches histologiques sur la marche normale de la régénération, confirment non seulement les faits nombreux, que cite la littérature, mais elles nous apprennent de plus que l'épiderme qui couvrait la plaie à titre provisoire, est remplacé par un épithélium nouveau. Ces matériaux proviennent de l'épithélium qu'on trouve dans les couches profondes de ce tissu sous forme d'accumulation de cellules formatrices (fig. 14). Les cellules que contiennent ces accumulations, quittent ces groupes organisés, pour pénétrer dans le parenchyme de la partie régénérée et pour former ce qu'on a appelé le blastème de régénération. Après avoir quitté les accumulations cellulaires que contient l'épiderme, ces éléments perdent leur aspect primitif de cellules épithéliales, pour prendre la forme d'éléments étoilés, pourvus de prolongements protoplasmiques. Pendant longtemps, on ne voit pas la couche de tissu conjonctif de la peau (cutis).

8°. Les recherches histologiques concernant l'arrêt de la régénération (fig. 15—18), révèlent une formation prématurée de ce substratum de la peau (cutis), composé de tissu conjonctif. Cette couche de tissu conjonctif, y compris la membrane basale, sépare du blastème de régénération, l'épiderme et les accumulations cellulaires de tissu formateur qu'il contient. On peut observer après quelques semaines, qu'en dessous de la couche de tissu conjonctif prématurément formé, une couche musculaire est en train de s'organiser. Ces fibres musculaires contribuent à séparer encore plus complètement les accumulations cellulaires du tissu formateur.

9°. Une fois la régénération commencée, le fait de couvrir



de peau la plaie, respectivement l'ébauche de la partie régénérée, n'exerce plus d'influence inhibitrice sur le phénomène de la régénération. Les parties régénérées peuvent percer la peau (fig. 20—28), soit sur une plus grande étendue, soit la perforer sur une aire strictement limitée. Elles s'étendent alors à l'extérieur et se développent comme autant de parties régénérées fragmentaires, ou bien elles prennent la forme de petites queues minuscules.

10°. Aussi bien ces parties régénérées fragmentaires que les petites queues en miniature (fig. 23—27), forment des ensembles organisés et renferment tous les organes réglementaires de la partie du corps qu'elles représentent. Ainsi toute la surface de la plaie, comme chaque petit secteur de cette surface, est composé d'un groupe de cellules qui, pour nous servir de la terminologie de DRIESCH, correspond à un système équipotentiel, harmonieux et déterminé.

11°. Lorsqu'on a empêché la régénération de se produire par l'application des procédés indiqués ci-dessus, et lorsque la plaie est cicatrisée, on peut déclancher de nouveau le processus régénératif dans un secteur de la partie terminale de la queue (fig. 30), en excisant une partie du bord périphérique du moignon. La régénération est alors purement locale, de sorte que les autres parties du moignon, où la régénération a été empêchée, continuent à être inactives.

12°. Ces parties inactives exercent une influence sur la longueur, sur la forme et sur la croissance de la partie, où la régénération vient d'être déclanchée (fig. 31).

13°. Les injections d'émulsions, préparées avec les tissus environnants la plaie (fig. 32), qu'on introduit dans le moignon de la queue, où la régénération a été empêchée, se montrent incapables d'activer encore une fois le processus régénératif. Des injections de ce genre ne sont également pas en état de déclancher des processus formateurs dans d'autres régions du corps.

### I. Wstęp i postawienie tematu.

Zdolności twórcze materji żywej ujawniają się w zjawiskach ontogenezy, regeneracji i tworzenia się nowotworów, przy których powstawaniu ulec mogą poważnym zaburzeniom równowaga i harmonja organizacyjna, a bieg życia schodzi na tory patologiczne. Niemniej jednak akcja twórcza materji żywej ujawnia szczególnie wielką energję przy powstawaniu i rozwoju.

Zgłębienie momentów przyczynowych, będących aktem wyzwolenia zdolności twórczych materji żywej, wchodzi w zakres mechaniki rozwoju, a badania podniet wyzwalania jej w czasie procesów rozwoju ontogenetycznego, powstawania nowotworów i regeneracji mają już obszerną literaturę. Epokowe prace J. LOEBA, potem — BATAILLONA, w dziale fizjologii zapłodnienia, posunęły niezmiernie naprzód problemat wyzwalania pracy rozwojowej.

W patologji ogólnej i anatomji patologicznej badanie zjawisk nowotworowych wysuwało się już od szeregu lat na naczelne miejsce, a zwłaszcza zagadnienie genezy nowotworów, czyli — przyczyn ich powstawania. Nie trzeba dodawać, że moment ewentualnego zahamowania rozwoju nowotworów stanowi niezmiernie nęcący temat patologji, mogący doprowadzić do rozwiązania sprawy leczenia nowotworów w organizmie ludzkim.

W pracy tej zajmować się będę zjawiskami regeneracji a mianowicie, doświadczenia moje zmierzają do wyjaśnienia momentów przyczynowych wyzwalania tego procesu, a zarazem do poznania czynników, znoszących podnietę regeneracyjną lub wstrzymujących już zapoczątkowany proces regeneracyjny.

Najlepszą analizę momentów przyczynowych regeneracji zawdzięczamy H. DRIESCHOWI, który w swem pięknem studjum „Regulacje organiczne“ dochodzi do następujących wniosków: „Der Gedanke liegt nahe, dass die Wundfläche an und für sich es sei, das freie Endigen vorher nicht freier Teile, also eine Widerstandsaufhebung welche die Regeneration in Gang setzte“.

Tylko doświadczenie, zestawione na podstawie dobrze zanalizowanego planu, jest w stanie rozstrzygnąć, czy rana sama przez się, pojęta więc — jako bodziec mechaniczny, może stać się czyn-

nikiem, wyzwalającym zjawisko regeneracji. Już DRIESCH w swoim studjum cytuje prace TORNIERA, KINGÓWNEJ, BARFURTHA i in., w których podane są doświadczenia o wynikach, rzekomo potwierdzających wyżej podaną tezę, w przeciwieństwie do hipotezy, w myśl której brak istniejącego sąsiedztwa może być przyczyną wyzwolenia zjawiska regeneracyjnego. Nie mniej jednak, oceniając krytycznie wyniki badań cytowanych autorów, dochodzi DRIESCH do wniosku, że przyjmowanie jedynie czynnika mechanicznego, jako bodźca do regeneracji, nie wyczerpuje całego problemu momentów przyczynowych podniety regeneracyjnej. Mojem zdaniem DRIESCH ma w tym względzie zupełną słuszość, co zresztą będę starał się poniżej udowodnić. Otóż tłumaczenie przez DRIESCHA pobudki regeneracyjnej stworzonym przez operację brakiem poprzednio istniejącego sąsiedztwa wydaje mi się interpretacją, która jest eksperymentalnie lepiej uzasadniona.

Od czasu ukazania się wspomnianej książki DRIESCHA minęło więcej niż 25 lat, a literatura tego ćwierćwiecza niewiele nam przyniosła nowych i w tym kierunku faktów rozstrzygających. Wprawdzie w jednej z nowszych swych prac SCHAXEL ('21) przemawia za tłumaczeniem podniety do regeneracji działaniem rany, jako takiej, ale zdaniem mojem tezy tej doświadczalnie nie udowodnił. To też po upływie szeregu lat powiemy razem z DRIESCHEM, że to, co dotąd wiemy o zagadnieniu podniety do regeneracji „jest hipotetyczne, ale co w tym dziale nie jest hipotezą“.

W nowszych czasach ujawniło się dążenie do wprowadzenia pojęcia hormonów w zakres analizy podniety regeneracyjnej.

Jeszcze przed scharakteryzowaniem wyników tych prac chciałbym przestrzec, że powinniśmy starać się o niemieszanie momentów, zapoczątkowujących bieg zjawiska regeneracji, t. j. czynników, wyzwalających ten proces twórczy, z czynnikami kształtowania regeneratu, t. j. z momentami, które powodują, że regenerat taką, a nie inną wybiera drogę rozwojową, od której zależy jego postać lub jego wewnętrzne zróżnicowanie. Jest to zupełnie to samo, co wyróżnianie pobudki rozwojowej, odgrywającej rolę np. w czasie, od tych czynników, które kierują kształtowaniem zarodka. Podnieta rozwojowa daje jaju pobudkę do ujawnienia jego mocy twórczej, druga zaś kategoria czynników kieruje kształtowaniem zarodka i jego wewnętrznym

różnicowaniem. Te ostatnie momenty mają, być może, wyraz materialny w substancjach twórczych, o których mówił BONNET i SACHS, a które potem przyswoili późniejszej literaturze botanicznej i zoologicznej — GOEBEL i J. LOEB. Czynniki te jednak wchodzą w rachubę dopiero w późniejszych okresach regeneracji.

Ale powróćmy do wyzwalania zjawisk twórczych. G. HABERLANDT już dawniej zaobserwował w tkankach roślinnych, że podziały komórkowe następują tylko w sąsiedztwie naczyń, przewodzących wodę, wzgl. rozpuszczone w niej substancje odżywcze, i przypuszczał stąd, że tamtędy też przesuwają się substancje, które chemicznie mogą pobudzać do akcji twórczych. W późniejszych pracach HABERLANDT stwierdza, że są też substancje w ustroju nie „preformowane“, ale tworzące się w tkankach w czasie uszkodzenia rośliny. Są to według niego produkty rozpadu w obrębie obumierających elementów przyrannych. Substancje te mają właściwości hormonów, których zadaniem w tym przypadku jest dostarczenie podniety do podziału komórek.

Doświadczenia późniejsze, przede wszystkim REICHEGO, dostarczyły poważnych argumentów, popierających zapatrywania HABERLANDTA. Stwierdził bowiem REICHE, że sok, wydobyty z młodych rozcieranych tkanek i wstrzykiwany w ustroje roślinne, pobudza elementy otaczające do energicznych podziałów. Także z prac BRIEGERA ('24) i NAKANA ('24) dały się wyciągnąć wnioski, potwierdzające hipotezę HABERLANDTA.

Ale nawet w botanice nie wszystkie wyniki prac z działu regeneracji popierają hipotezę hormonalną wyzwalania zjawisk twórczych. Są spostrzeżenia, osłabiające tę hipotezę lub wprost przemawiające przeciw niej. I tak ZIMMERMANN ('23), badając regenerację glonów, nie stwierdził, po uszkodzeniu ich tkanek, przyspieszenia podziałów komórkowych, ale raczej ich zwolnienie. SCHILLING ('24) wzmożenie ilości podziałów komórkowych wprowadza w związek z modyfikacjami w przemianie materji, asymilacji i oddechaniu, t. j. ze zjawiskami, które reagują na bodźce mechaniczne. LINSBAUER ('26) w swych doświadczeniach nad regeneracją przedrośli paproci dochodzi także do wniosku, że podziały komórkowe, ujawniane w czasie regeneracji, nie są następstwem działania hormonów, produkowanych poza dzielącymi się komórkami, mianowicie wśród uszkodzonych lub obumierających komórek, ale są raczej wynikiem nagromadzenia się wśród mających

się dzielić komórek substancyj, które nie są z zewnątrz doprowadzane, ale tworzą się w nich samych.

Według mojego przekonania, faktyczne stwierdzenie istnienia hormonów, powstających w obumierających komórkach przyrannych, nie rozwiązuje jeszcze zagadnienia podnięty regeneracyjnej. Produkcja hormonów w tym przypadku to tylko jedno ogniwo w łańcuchu czynników, które powodują regenerację, ale niewyjaśnionym pozostaje moment, pobudzający komórki do produkcji hormonów. Faktyczne zatem stwierdzenie powstawania hormonów byłoby pewnem pogłębieniem naszych wiadomości w tym dziale, ale nie rozwiązaniem problemu.

Na terenie zwierzęcej materji żywej robiono w tym dziale w ostatnich czasach nieporównanie mniej. Jedynie E. TAUBE ('23) w opisie przemian histologicznych, odbywających się w czasie regeneracji przy udziale skóry, przeszczepionej z innych okolic ciała, podaje obserwację rozluźniania się komórek nabłonkowych w okresie, poprzedzającym regenerację, i przypuszcza, że jest to wynikiem działania hormonów, które częściowo przenikają przez warstwy tkanek, częściowo zaś są przeprowadzane przez krwiobieg. Jednakże to zapatrywanie E. TAUBEGO nie jest poparte żadnym dowodem doświadczalnym.

W pracy niniejszej postawiłem sobie za zadanie przeprowadzenie szeregu doświadczeń, zmierzających do wyjaśnienia momentów przyczynowych wyzwiania zjawisk regeneracji.

Zdawało mi się, że dwie drogi mogą doprowadzić do uzyskania pożądaných w tym kierunku wyników:

1°. Jeśliby udało się metodą eksperymentalną wywołać stłumienie regeneracji u zwierząt, u których w zasadzie rozpoczyna się ona po uszkodzeniach, to analiza czynników, wstrzymujących rozpoczęcie regeneracji, pozwalałaby wnioskować o momentach, które ją wywołują.

2°. Druga droga—to wstrzykiwanie wyciągów lub zawiesin tkanek, uzyskanych bądź z okolic rany, bądź też z regeneratów, w okolice ciała zupełnie nieuszkodzone lub uszkodzone lekko w sąsiedztwie miejsca wstrzyknięcia. Gdyby we wstrzykiwanej zawieszynie znajdowały się istotnie substancje, dające podniecie do regeneracji, to, być może, udałoby się tą metodą ponownie uruchomić regenerację.

## II. Doświadczenia nad tłumieniem regeneracji u aksolotla.<sup>1)</sup>

Wiadomo, że po odcięciu kończyn aksolotla wnet rozpoczyna się ich regeneracja, oraz że po wycięciu kawałka skóry gdziekolwiek w organizmie aksolotla — obserwować można jej odtwarzanie. Jeśli jednak po dokonaniem wycięcia skóry przeszczepi się na powierzchnię rany skórę innego aksolotla i gdy ta transplantacja uda się, wtedy organizm na powierzchni rany już nie odtwarza wtórnej skóry. Wynika z tego, że udana transplantacja wyłącza regeneracyjne pokrycie rannej powierzchni skórą własną.

Już w r. 1921, gdy podawałem wyniki mojej pracy nad przeszczepianiem skóry białej na czarnego aksolotla i naodwrot, to analizując otrzymane wyniki postawiłem sobie pytanie, czy drogą transplantacji skóry na ranę, wytworzoną przez amputację odnóża lub ogona, możemy zahamować odtwarzanie się całego narządu. Doświadczenia, zestawione w celu wyjaśnienia tej sprawy, udało mi się ukończyć dopiero w ostatnim czasie.

W pracach TORNIERA, SCHAXLA i TAUBEGO zagadnienie to było już dyskutowane. TORNIER ('06) w doświadczeniach na traszkach, SCHAXEL ('21) przy regeneracji kończyn larwy *Siredon* wykazali możliwość zahamowania odtwarzania poprzednio amputowanych lub eksartykulowanych członków, drogą pokrywania rany skórą. TAUBE ('23) stwierdził przy regeneracji traszki, że zaszcycie skóry ponad kikutem odnóża osłabia regenerację, a w jednym przypadku nawet mógł obserwować zupełne jej zatrzymanie.

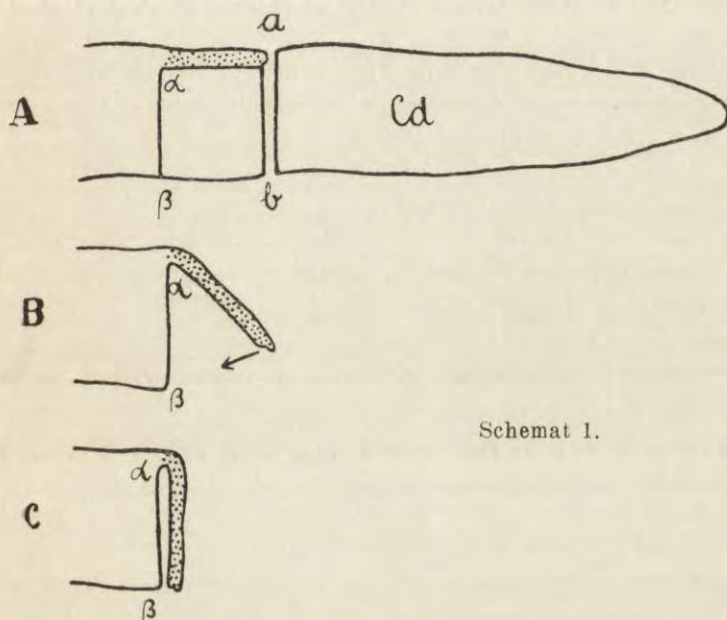
Ale doświadczenia wspomnianych autorów, wykonane wśród eksperymentów, poświęconych innym zagadnieniom, nie wyczerpywały problemu, ani też go nie zużytkowały dla zadań wyżej rozwiniętych.

Pierwszą serję moich doświadczeń zestawilem w następujący sposób. Jednorocznym aksolotlom odcinałem ogon (*Cd*) mniej więcej na 60 mm od wierzchołka, przez co powstawała rana, której płaszczyznę przekroju na schemacie 1-A oznaczyłem literami *a—b*. Wzdłuż jednej strony kikuta odpreparowywałem płat skóry

<sup>1)</sup> W technicznym wykonaniu doświadczeń i w nadzorze nad kulturami pomagała mi p. Irena Latinikówna, której za wielką sumienność i dokładność w tej pracy serdecznie składam podziękowanie.

kilkunastomilimetrowej długości (na schemacie 1-A zakropkowany), a u jego podstawy ponownie przeprowadzałem amputację kikuta. Powstawała więc w ten sposób nowa powierzchnia (schemat 1-A,  $\alpha - \beta$ ), którą przykrywałem odpreparowanym płatem skórnym (schem. 1-B), przyszywałem go jedwabiem kilku szwami do przeciwległego brzegu (1-C,  $\beta$ ) kikuta.

W doświadczeniach kontrolnych odcinałem równie długi kawał ogona, a ranę pozostawiałem niezastoniętą.



Schemat 1.

Rezultat tej pierwszej zasadniczej serii doświadczeń był następujący. W doświadczeniach kontrolnych, t. j. u zwierząt kurtyzowanych z pozostawieniem nagiej rany, rozpoczynała się regeneracja natychmiast i przebiegała zupełnie prawidłowo. U zwierząt z raną, pokrytą płatem skórnym, następuje wprawdzie przekrwienie, jak zwykle w pierwszych okresach regeneracji, i trwa przez kilka dni w obrębie skóry, pokrywającej ranę, znika jednak później, a zjawiska powstawania niezróżnicowanej tkanki twórczej, t. zw. proliferatu, nie widać już wcale. Po kilku tygodniach zaznacza się już bardzo wyraźnie różnica między zwierzęciem kontrolnym a osobnikiem z raną, pokrytą skórą. Zwierzęta kontrolne

wytwarzają regenerat długi na kilka milimetrów, zaś zwierzę eksperymentalne wcale nie regeneruje. Mam obecnie w zakładzie zwierzęta, które żyją w akwarjach przeszło rok z raną pokrytą skórą i które nie wytworzyły żadnego regeneratu, gdy tymczasem zwierzęta kontrolne odtworzyły ogony długości 70—80 mm. Rys. 1 (tablica I) wyobraża odcinek ogona zwierzęcia kontrolnego z 4-tygodniowym mocno unaczynionym regeneratem, zaś rys. 2—ogon zwierzęcia, któremu ranę amputacyjną zaszyto płatem skóry. Ogony tych zwierząt, rysowane w 1 i w 6 $\frac{1}{2}$  miesięcy po operacji, widzimy na rys. 2 i 4. Na rys. 3 (dośw. kontr.) widać już wytworzony długi regenerat, na rys. 4 widać, że w dalszym ciągu trwa zupełny zastój regeneracji. Powierzchnię kikuta pokrywa tu bardzo mocno zgrubiona skóra.

W doświadczeniach dotąd opisanych przeprowadzałem zupełne usunięcie całego narządu, t. j. kompletne odcięcie ogona. Nasuwa się teraz pytanie, czy po dokonaniu odcięcia części ogona, a więc np. jego grzbietowej połowy, da się przez pokrycie rany płatem wstrzymać odtwarzanie brakującej grzbietowej części ogona. Cięcie prowadziłem poziomo, odcinałem całą część grzbietową ponad kręgosłupem, ale tak, że pozostawiałem podłużną listwę skóry, którą kilku szwami przyszywałem jedwabiem do przeciwległego brzegu ogona. Płat skóry, mający zachowane własne krążenie krwi, przyjmował się na powierzchni rany zupełnie dobrze.

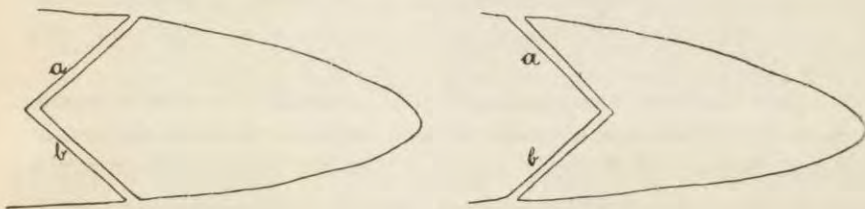
Doświadczenie kontrolne wykonane było w sposób podobny, ale bez pokrywania rany płatem skórnym.

Wynik doświadczenia: eksperyment kontrolny wykazał, że zwierzę uzupełnia, dzięki czynności regulacyjnej, organizację narządu tak, że odtwarza się całość harmonijna, a ogon odzyskuje postać pierwotną. U zwierząt z raną, pokrytą płatem skórnym, regeneracja była wstrzymana, a ogony pozostawały przez całe miesiące ułomne (rys. 5). Na krawędzi grzbietowej takiego ogona tworzy się podłużny grzebień; nie jest on jednak wynikiem istotnej czynności regeneracyjnej, lecz mamy tu do czynienia z listwowatym zgrubieniem samej skóry, jak zresztą widać z rys. 6. Rysunek ten daje obraz przekroju poprzecznego takiego ogona w jego odcinku grzbietowym. Na rysunku tym przez *A* oznaczona jest w przekroju poprzecznym dolna część ogona, przez *B*—przekrój poprzeczny, przeprowadzony przez zagięty grzebień listwowaty, który, jak widzimy, składa się tylko z nabłonka i tkanki łącznej.



W trzeciej i czwartej serii doświadczeń odcinałem ogony dwoma cięciami, prowadzonymi ukośnie pod kątem ostrym do siebie tak, że obwodowa część ogona była odcinana klinowato, i to albo według schematu 2, t.j. wierzchołek klina zwrócony był dogłowowo, albo według schematu 3, t.j. wierzchołek klina był zwrócony ku zewnątrz <sup>1)</sup>.

Rana składała się więc z ramienia grzbietowego (sch. 2, 3 *a*) i brzuszno (sch. 2, 3 *b*). Część grzbietową rany pokrywałem płatem skóry w sposób, opisany w doświadczeniach poprzednich. Jak zwykle w doświadczeniach kontrolnych, rany, zadawane w ten sposób, pozostawiano niepokryte skórą.



Schematy 2 i 3.

Rezultat doświadczeń kontrolnych wykazał regenerację ogonów w ich prawidłowej postaci. Zwierzęta eksperymentalne regenerują z płaszczyzny po stronie brzusznej (schem. 2 i 3 *b*), natomiast regeneracja z płaszczyzny, leżącej od strony grzbietowej (schem. 2 i 3 *a*), jest stłumiona. Rys. 7 wyobraża regenerat, który wyrósł z płaszczyzny, zwróconej ku brzusznej stronie, po upływie dwu miesięcy, u zwierzęcia, operowanego według schematu 2. Jakkolwiek tkankę twórczą regeneratu produkuje tylko dolna powierzchnia rany, to jednak zwolna dokonywa się też regulacja, w czasie której skóra, pokrywająca powierzchnię, leżącą od strony grzbietowej (schem. 2 *a*), unoszona jest w górę, najprawdopodobniej przez tkankę, produkowaną na dolnej płaszczyźnie rany. W każdym jednak razie ogon nawet w późnych okresach regeneracji utrzymuje kształt zmieniony. Rys. 8 wyobraża odcinek ogona, operowanego według

<sup>1)</sup> Podobną metodę cięcia stosował MORGAN (1900) w doświadczeniach nad regeneracją płetwy ogonowej u ryb kostnoszkieletowych.

schem. 3. I tu także tylko niezakryta część rany produkuje regenerat, zaś część z zakrytą raną nie regeneruje.

Tak więc, streszczając wyniki wszystkich dotychczas opisanych seryj moich doświadczeń, dochodzę do wniosku, że niezależnie od sposobu przeprowadzenia rany amputacyjnej, regenerację można stłumić, pokrywając ranę zaraz po operacji żywą skórą.

A teraz staje przed nami pytanie, czy to zahamowanie regeneracji odbywa się stale na całej płaszczyźnie rany, czy też można oczekiwać miejscowych pojawień się zawiązków regeneracyjnych, a dalej — czy to zahamowanie jest bezwzględnie trwałe, czy mamy tu do czynienia ze zjawiskiem nieodwracalnem, czy wreszcie tkanki, które przedtem posiadały zdolność regeneracji, tracą ją bezpowrotnie po pokryciu rany skórą.

Przeglądając po upływie kilku miesięcy zwierzęta operowane o zahamowanej akcji regeneracyjnej, mogłem stwierdzić, u nieznacznej wprawdzie liczby takich osobników, na końcu ogona niewielkie palcowatego kształtu pączki, wychodzące ze skóry, pokrywającej ranę. Pączki te, wprawdzie w tempie bardzo zwolnionem, mogą jednak rozwijać się i czasami dochodzić do dość znacznych rozmiarów. Rys. 9 przedstawia taki mocno unaczyniony pączek palcowaty, który do tych niewielkich rozmiarów doszedł po upływie 3 miesięcy po operacji. Na rys. 10 widzimy pączek tego samego zwierzęcia, wyrysowany w 5 miesięcy później, t. zn. w 8 miesięcy po operacji. Już z porównania tych dwóch rysunków widać, jak wolne tu jest tempo wzrostu i rozwoju.

Badania bliższe, prowadzone na znacznej ilości osobników, doprowadziły mnie jednak do wniosku, że takie pączki regeneracyjne w zasadzie wydobywają się ze szczelin, pozostawionych w czasie zaszywania rany i znajdujących się pomiędzy brzegiem płatu a brzegiem skóry przyrannej.

Gdy cięcie było poprowadzone poziomo i odcięto np. grzbietową połowę ogona, powstawała, jak wyżej była mowa, wzdłuż szwu dawnej rany podłużna listwa przerywana. Robi ona czasem wrażenie łańcucha pączków, ale jak wyżej już wspomniałem, opisując rysunek 6, nie jest to wyraz istotnej regeneracji, ale raczej zgrubienie listwovate skóry, czego w sposób przekonujący dowodzi budowa histologiczna, widoczna z rys. 6. Gdy

zaszycie rany płatem skóry przeprowadzi się starannie gęstemi szwami, można uniknąć nawet i takiej produkcji tkanki oraz otrzymać zupełnie gładką powierzchnię rany, zasłoniętej skórą.

Inna jest sprawa, jeśli rany nie zaszycie się bezpośrednio po operacji. Wtedy, gdy podnieta regeneracji zrealizowała się, chodzi o zatrzymanie regeneracji, będącej już w biegu; o zjawiskach, które wtedy odbywają się będzie mowa później.

Do wyjaśnienia opisanych tu zjawisk tłumienia regeneracji niezmiernie może dopomóc zbadanie budowy mikroskopowej płaszczyzny rany w różnych okresach zarówno rozwoju regeneratu, jak i zahamowania zjawiska odtwarzania narządów.

### III. Histologiczne badanie zjawiska tłumienia regeneracji.

Materiał do badań histologicznych przygotowywany był w następujący sposób: aksolotlom, przeznaczonym do doświadczeń, jak wynika z poprzedniego rozdziału, odcinano ogony, a następnie płatem skóry zaszywano ranę. Zwierzęta kontrolne miały rany, pozostawione bez zasłonięcia skórą. Wiadomo, że zakrycie rany znosi wyzwolenie regeneracji. Otóż badanie miało na celu śledzenie w budowie mikroskopowej postępów tych zmian, które towarzyszą wstrzymaniu regeneracji, oraz porównywanie ich z przebiegiem prawidłowego rozwoju regeneratu.

W odstępach czasu, które wskazywała obserwacja miejsc uszkodzonych, odcinałem końcowe części kikutów i utrwaliałem w płynie GILSONA, który okazał się w moim zakładzie najodpowiedniejszym dla tego materiału utrwalaczem. Po przeprowadzeniu materiału przez alkohole o wzrastającej koncentracji, następnie—przez mieszaninę alkoholu z ksylolem, ksyłol czysty, a wreszcie ksyłol, nasycony parafiną, zatapiano materiał w parafinie i krajano na mikrotomie, przygotowując serje skrawków grubości 7.5—10  $\mu$ . Skrawki barwione były hematoksyliną i bordeaux, co do tych celów zupełnie wystarczało.

Wszystkie preparaty histologiczne, na których opierają się histologiczne badania mej pracy, zawdzięczam wypróbowanej już w poprzednich moich pracach—pomocy mojej żony.

W badaniach, którym poddawałem następujące po sobie stadja regeneracji lub zjawiska jej zahamowania, chodziło w pierwszym rzędzie o porównanie z materiałem, pochodzącym od zwierząt

z zahamowaną regeneracją, ale oprócz tego są w dziale regeneracji prawidłowej pewne niejasne kwestje, niedostatecznie w literaturze opisane, których rozstrzygnięcie było nieodzowne dla zrozumienia mechanizmu hamowania regeneracji.

W głównych zarysach wyniki moich badań, z pewnemi jednak uzupełnieniami, potwierdzają to, co wiemy z literatury o przebiegu regeneracji prawidłowej. Sprawa tymczasowego pokrywania rany nabłonkiem dokonywa się, jak wiadomo, przez spłaszczenie nabłonka z okolicznych odcinków narządu, dzięki czemu zwiększa się powierzchnia, którą ta sama ilość komórek może pokryć. Stwierdziłem jednak, że już niedługo po przesunięciu się tych komórek na powierzchnię rany zachodzą w nich pewne przemiany, nadające im wygląd komórek chorych; jakoż niebawem komórki te grupami ulegają degeneracji, a na miejsce elementów obumarłych, jak niebawem mówić będziemy, wstępują inne komórki również pochodzenia nabłonkowego. Pokrycie prowizoryczne rany dokonywa się w 6—12 godzin po amputacji ogona.

W pokryciu rany łączno-tkankowa część skóry (cutis) udziału nie bierze tak, że nabłonek spoczywa bezpośrednio na rannej powierzchni narządów. Wśród nich są poprzecinane naczynia, z których się krew wylewa między tkanki i mocno podminowuje nabłonek, pokrywający ranę (rys. 13). Surowica tej krwi tworzy najpierw warstwę jednolitą, która potem organizuje się w masę włóknistą, przybierającą następnie charakter sieci o grubych splotach i początkowo niewielkich oczkach. Ta masa, utworzona z osocza, zawierająca tu i owdzie porozrzucone ciała krwi, styka się bezpośrednio z nabłonkiem. Nabłonek ten wygląda jednak inaczej, niż na powierzchni skóry prawidłowej. Wiadomo, że u płazów nabłonek zawiera bardzo liczne komórki śluzowe, których tutaj na powierzchni rany zupełnie już nie widać, a które zostały i w sąsiedztwie rany zastąpione przez elementy o plazmie zupełnie skondensowanej. W skórze płazów (rys. 11) w dolnej warstwie naskórka, już na pograniczu z tkanką łączną, stale występują nabłonkowe elementy komórkowe nie tworzące śluzu, porozrzucone grupami; mają one duże znaczenie twórcze. Te gniazda komórek, leżące w głębi naskórka, są materiałem, z którego pochodzą elementy, wchodzące na miejsce komórek zwyrodniałych tymczasowego pokrycia rany. Na rys. 11 widać skórę, zawierającą w całym pokryciu komórki śluzowe; rys.

12 wykazuje już znaczne zmniejszenie się ich liczby w nabłonku przyrannym. Natomiast zwiększa się ilość tych elementów, które leżały pogrupowane w gniazda w głębokich warstwach naskórka. Komórek tych jest coraz więcej, to też gniazda te stają się coraz większe, a nadto — coraz liczniejsze.

Pod względem morfologicznym mają one wciąż jeszcze postać nabłonkową, ale niektóre z nich wydłużają się już wyraźnie i przyjmują kształt prawie wrzecionowaty.

Według moich spostrzeżeń, te właśnie komórki biorą w znacznej mierze udział także w tworzeniu blastematu regeneracyjnego, t. j. tkanki o charakterze embrjonalnym i o właściwościach morfologicznych tkanki mezenchymatycznej niezróżnicowanej, stanowiącej w zjawiskach regeneracyjnych twórczy materiał budowlany ustroju. Geneza tego blastematu regeneracyjnego nie była dotąd dostatecznie wyjaśniona.

Zagadnienie genezy tej twórczej tkanki regeneracyjnej postawił już w r. 1885 FRAISSE w swej klasycznej pracy o regeneracji, ale nie rozstrzygnął jej pochodzenia. Tak samo nie dokonali tego i późniejsi autorowie, pracujący nad regeneracją. Analiza, przeprowadzona przez SCHAXLA ('21), wydaje mi się najracjonalniejsza. „Istnieją — mówi SCHAXEL — dwie możliwości pochodzenia komórek blastematycznych, obie wielokrotnie uznawane i bronię argumentami o różnej doniosłości. Komórki twórcze, albo wchodzi w skład organizacji, która już istniała przed zabiegiem operacyjnym, a po wewnętrznej przemianie gotowe są do wypełnienia swego przeznaczenia, albo też pochodzą one z niezróżnicowanych rezerwatów, które po dokonany zabiegu zdążają dopiero do zróżnicowania“ (SCHAXEL '21, str. 84). SCHAXEL uważa, że takie rezerваты istnieją w wielu narządach, a ewentualnie mogą być aktywowane w czynnościach regeneracyjnych. Nie podaje jednak SCHAXEL ostatecznego rozstrzygnięcia w tym kierunku, jakkolwiek zdaje się, że przechyla się on do przyjęcia możliwości aktywowania komórek niezróżnicowanych, mieszczących się wśród rezerwatów. Co do umiejscawiania rezerwatów dla stworzenia blastematu regeneracyjnego SCHAXEL nie wypowiada się.

KORSCHULT ('27) w swej szeroko ujętej monografii, dotyczącej regeneracji, mówiąc o blastemacie regeneracyjnym, stwierdza, że składają się nań „komórki dość jednolicie zbudowane, ale ich pochodzenie trudno ustalić“ (str. 132).

Fritsch ('11) w pracy nad regeneracją u płazów charakteryzuje te elementy twórcze jako komórki nieodróżnionowe, podobne do leukocytów, ale zastrzega się, że nie można ich z całą pewnością utożsamiać z leukocytami, a ich genezę trudno z całkowitą pewnością określić. W każdym razie, czytając tę pracę, odnosi się wrażenie, że Fritschowi wydaje się najprawdopodobniej związek genetyczny tych komórek z białymi ciałkami krwi.

Moje obserwacje wskazują na pochodzenie tych elementów blastematycznych z komórek nabłonka, mieszczących się w gniazdach komórkowych, porozrzucanych w naskórku. Są to rezerwy elementów twórczych, komórek nieodróżnionych, o których roli rozstrzyga zapotrzebowanie ustroju. Los prowadzi je w dwóch kierunkach: 1<sup>o</sup>, zastępować one będą elementy zużywającego się naskórka; w czasie regeneracji kończyn, jak wiemy, to zupełne odnawianie się nabłonka musi się dokonywać i dokonywa się stale; 2<sup>o</sup>, biorą one udział w tworzeniu tkanki twórczej, jako materiał proliferacyjny, organizujący blastemat regeneracyjny.

W jaki sposób dokonywa się ta organizacja blastematu? Rezerwy komórek o właściwościach twórczych, mieszczące się w naskórku ciała aksolotla, zaraz na początku regeneracji zwiększają swe rozmiary przez wzrost ilości komórek. Mimo bardzo starannego badania mikroskopowego, nie widziałem wśród nich (w pierwszych kilku dniach początkowej regeneracji) karjokinez, wobec czego uważam te zbiorowiska jako nagromadzenia elementów, wędrujących do tych większych ognisk komórkowych.

Gdy potworzą się w rezerwach naskórka duże zbiorowiska komórek (rys. 14, tabl. II), wtedy część tych elementów wywędrowuje do tkanki, leżącej pod naskórkiem. Zmieniają one swój pierwotnie typowo nabłonkowy wygląd, przyjmują postać wrzecionowatą, tworzą potem wypustki i wyodrębniają się z zespołu gniazda nabłonkowego, wsuwając się pojedynczo w obecny podkład nabłonka. Niema tam już warstwy tkanki łącznej, ograniczonej błoną podstawową od strony nabłonka i na dolnej granicy skórnej tkanki łącznej (cutis). Obecnie leży tam masa zorganizowana w postaci sieci, utworzona z przeorganizowanego osocza krwi, tu i owdzie zawierającego ciała krwi. W tę właśnie masę wędrowują te obecnie wrzecionowate lub gwiazdziste komórki. Część ich ulega zmianom, polegającym na zacieraniu wśród tam-

tej masy indywidualnych granic komórkowych, tak że odnosi się wrażenie, że wśród plazmy krwi są porozrzucane tylko jądra. Przypatrując się jednak dokładnie, pod dużymi powiększeniami, tym obrazom, można stwierdzić, zwłaszcza w stosunku do elementów, które dostały się w oka sieci, że jądra są otoczone warstwą protoplazmy, tworzącej niejednokrotnie wypustki o dosyć ostrych konturach.

Teraz nasuwa się pytanie, jaką w danym przypadku rolę pełni osocze krwi, ujawniające budowę gęstej sieci włóknistej? Moim zdaniem osocze stanowi oparcie, wzgl. pełni rolę środowiska odżywczego dla komórek w okresie ich przewędrowywania z rezerwatów do miejsca tworzenia blastematu regeneracyjnego.

Badania kultur „in vitro“ stwierdzają, że sieć ta jest najdogodniejszym torem dla ruchów komórek wędrujących. Taka podpora w wędrowce jest dla komórek niezmiernie pożyteczna. Stwierdził to HARRISON ('14): „The foregoing experiments lead to the conclusion that solid objects are an important and necessary factor in the movement of embryonic cells such as mesenchyme and epithelium“. Także A. FISCHER ('27) podaje: „Es war schon früher bekannt, dass die Gewebezellen unbedingt ein Material haben müssen, an dem sie auswandern und auf dem sie sich ausbreiten können.“ Tego więc podłoża, najlepiej ułatwiającego wędrowkę komórek in vitro (por. KRONTOWSKI '28) dostarcza zorganizowana masa osocza krwi także w regenerującym ustroju.

Częściowo w czasie tej wędrowki, częściowo zaś w okresie organizacji blastematu, komórki ztracają swoją indywidualność, łącząc się w syncytjum.

Mam wrażenie, że badania cytologiczne coraz wyraźniej prowadzą do pewnych ograniczeń teorii komórkowej w znaczeniu istnienia zupełnie wyodrębnionych terytorjów komórkowych. W czasie tworzenia się wielu narządów<sup>1)</sup>, i to w ich różnotkan-kowych składnikach, da się wykazać okres syncytialny.

Czy elementy komórkowe, pochodzące ze krwi, biorą istotnie udział w organizacji blastematu, dość trudno tę kwestję

<sup>1)</sup> Jako przykład, chcę zacytować histogenezę mięśnia sercowego, którego tkanek embrjonalnych używa się dziś tak często w kulturach „in vitro“, a którego charakter syncytialny w stadium embrjonalnem nie ulega wątpliwości (GODLEWSKI '01). Porówn. też dane z zakresu histogenezy: MALL, KEIBEL, SZAFFER i in. **BIN**

w chwili obecnej rozstrzygnąć. Nie chcę zaprzeczać przypuszczeniom FRAISSEGO i FRITSCHA, wypowiedzianym w tym kierunku, bo pewien udział ich w tym procesie jest zupełnie możliwy. Trudności wszelako, następczające się w ostatecznej decyzji, są duże z tego powodu, że zjawisko niszczenia dawnych tkanek, znajdujących się w okolicy przyrannej, jest udowodnione, zaś udział w tem leukocytów, zdaje się, nie ulega wątpliwości; dlatego też trudno jest odróżnić, czy dana grupa leukocytów ma do spełnienia zadania organizacji, czy też destrukcji.

W każdym jednak razie uważam, że główną rolę w organizacji blastematów regeneracyjnych odgrywają komórki, genetycznie związane z rezerwatami wśród naskórka.

Jeżeli tak jest, to powinien być utrzymany dostęp nabłonka do blastematu, t. zn. w czasie akcji twórczej rezerwatów nie może wytwarzać się przegroda pomiędzy rezerwatami a organizowaną częścią regeneratu (blastemat). Istotnie, tam gdzie odbywa się energiczna proliferacja w nabłonku, na znacznej przestrzeni nie ma podkładu z tkanki łącznej. Przypuszczam, że wytworzenie późniejsze tego podkładu z tkanki łącznej jest możliwe bez zatrzymywania regeneracji, ale dopiero wtedy, gdy przygotowana jest dostateczna ilość komórek blastematycznych, zdolnych do samodzielnego rozmnażania drogą karjokinezy.

W każdym razie mogę stwierdzić, że w trzy- a nawet w czterotygodniowych prawidłowych regeneratach nabłonek nie jest odcięty od blastematu regeneracyjnego przez warstwę z tkanki łącznej, zaopatrzonej w błony podstawowe.

Jak te stosunki układają się tam, gdzie regenerację zatrzymano na drodze eksperymentalnej przez pokrycie rany płatem skórnym? Rys. 15 wyobraża końcowy odcinek kikuta, któremu odcięto resztę ogona, a ranę niezwłocznie pokryto płatem skóry i bezpośrednio potem utrwalono. Na rysunku widać, że ranę pokrywa skóra kompletna, t. zn. warstwa tkanki łącznej (cutis) razem z wielowarstwowym naskórkiem. Preparaty, robione z materiału operacyjnego, utrwalonego w parę dni po całym zabiegu, wykazują jednak, że skóra, którą pokryto ranę, nie utrzymuje się długo w tym samym stanie; organizm przeorganizowuje ją w ten sposób, że wymienione zostają komórki nabłonka: komórki śluzowe ustępują miejsca elementom niezróżnicowanym, a równocześnie tkanka łączna, leżąca pod dawnym nabłonkiem,



ulega rozpadowi. Rys. 16 przedstawia końcowy odcinek kikuta, pokryty płatem skórnym i utrwalony w 3 dni po amputacji. Nabłonek leży tu już bezpośrednio na masie zorganizowanego osocza krwi, pokrywającej powierzchnię rany, t. zn. tkanka łączna naszytej skóry już się nie utrzymała. To samo widać na rys. 17, gdzie również wierzchołkowa część regeneratu nie wykazuje tkanki łącznej skóry. W naskórku natomiast są liczne ogniska komórek twórczych (rezerwaty), które głównie zasilają nabłonek, natomiast w nieznacznej tylko ilości wciskają się w obręb masy osocza krwi.

Regeneracja nie tworzy tu jednak blastematu proliferacyjnego, natomiast mniej więcej w ciągu dwóch tygodni dokonywa się zupełna reorganizacja skóry. Nabłonek jej odnawia się kosztem materiału, pochodzącego z rezerwatów, a część skóry, złożona z tkanki łącznej (t. zw. *cutis*), podrasta z dwóch stron pod nabłonek, kryjący ranę. Razem z tą tkanką łączną formuje się błona podstawowa, a przez to cały naskórek, łącznie z rezerwatami komórek twórczych w nim zawartymi, staje się wyizolowany, odcięty od leżącego w głębi podłoża. Na rys. 18 (p. tablica III) widać, jak równoległe do podścieliska łączno-tkankowego skóry (*cutis*) rozwija się łukiem ułożona warstwa mięsna, częściowo złożona z już ukształtowanych włókien, częściowo zaś z mioblastów (rys. 18 *mb*).

Zjawia się obecnie pytanie, czy przedwczesne wrastanie tkanki łącznej, niewątpliwie odcinające rezerwaty tkanki twórczej od warstw głębszych, w których miał powstać blastemat regeneracyjny, można uważać za przyczynę zahamowania regeneracji? Innymi słowy, czy rozrost tkanki łącznej jest istotnie momentem przyczynowym zastoju regeneracyjnego, czy też jest to tylko jeden etap, jedno ogniwo, w łańcuchu czynników, które hamują regenerację. Być może, iż cały ten łańcuch czynników zależy w instancji ostatecznej od tego, czy rana jest zakryta, t. j. od tego, że nie była ona wystawiona przez pewien czas na działanie czynników zewnętrznych. Ta druga hipoteza wydaje mi się trafniejsza, niemniej jednak odepchnięcie i odcięcie komórek twórczych od terenu, na którym mogłyby one rozwinąć swe działanie, ma nie tylko w przypadku zjawisk regeneracyjnych bardzo poważne znaczenie. Przypomnijmy sobie np., że nabłonek płciowy na powierzchni jajnika produkuje sznury komórek, wra-

stających w głąb mięszu jajnikowego, a razem z temi sznurami wchodzi również jaja. Do trzeciego roku życia pozamacicznego trwa produkcja tych komórek twórczych.

Pierwszą oznaką tego, że praca twórcza nabłonka płciowego kończy się, jest odcięcie go przez wrośnięcie pod nabłonek warstwy z tkanki łącznej (albuginea). Od tego czasu dalsza produkcja elementów płciowych jest na całą przyszłość zamknięta.

Czy to wrastanie tkanki łącznej jest przyczyną, czy tylko jednym z objawów, towarzyszących zahamowaniu akcji twórczej, są to kwestje, trudne do ostatecznego rozstrzygnięcia w chwili obecnej.

#### IV. Doświadczenia, w których powierzchnię amputacyjną rany pokrywałem skórą, transplantowaną z innego zwierzęcia.

W poprzednich rozdziałach była mowa o zahamowaniu regeneracji po odcięciu ogona wskutek pokrycia rany własną skórą zwierzęcia operowanego. Nasuwało się pytanie, czy ten sam cel da się osiągnąć, jeżeli ranę poamputacyjną pokryje się skórą, przeszczepioną z innego zwierzęcia.

Doświadczenia zestawilem w następujący sposób: czarnemu aksolotlowi odcinałem ogon na kilka milimetrów poza otworem odchodowym; prawie równocześnie wycinałem odpowiednio duży kawałek skóry z aksolotla białego, wypłókiwałem go w fizjologicznym roztworze soli kuchennej, dopasowywałem do powierzchni rany aksolotla czarnego i przyszywałem do brzegów rany. Jeżeli skóra transplantowana przyjęła się, to z ciała czarnego aksolotla wrastały naczynia krwionośne w przeszczepiony biały płat skóry. Jeżeli przeszczepienie nie powiodło się, to skóra, pozostawszy bez odżywiania krwią, stawała się coraz mniej przejrzystą, a następnie odpadała.

Zwierzęta, u których skóra, przeszczepiona na powierzchnię rany, przyjęła się, wykazywały zupełne zahamowanie regeneracji i to oczywiście nie tylko skóry, ale też całego narządu tak, że po upływie około roku od chwili operacji nie stwierdzono żadnego zgoła przyrostu.

Rys. 19 wyobraża końcowy odcinek ogona, którego powierzchnię ranną pokryłem skórą, wyciętą z ogona aksolotla białego. Rysunek zrobiono w 4½ miesiąca po operacji. Transplantowana

skóra nie tylko do chwili zrobienia rysunku, t.j. przez czas  $4\frac{1}{2}$  miesięcy, ale i w ciągu przeszło dziesięciu miesięcy utrzymała swą barwę pierwotną, t. zn., że chromatofory nie wrosły na terytorjum skóry transplantowanej. Z rysunku widzimy też odrazu, że regenerat zupełnie nie tworzy się.

Ale już na tem miejscu muszę zaznaczyć, że warunkiem zahamowania regeneracji jest zdrowy stan przeszczepionej skóry. Jeżeli skóra ta uległa zwyrodnieniu, to już nie jest ona w stanie zatrzymać regeneracji i wtedy proliferat regeneracyjny wyrasta natychmiast.

#### V. Bezskuteczność pokrycia rany irchą.

Z doświadczeń powyżej opisanych, z pokrywaniem powierzchni rannej skórą transplantowaną, wynika zależność efektu tego zabiegu od stanu żywotności skóry przeszczepionej. Stwierdziliśmy, że skóra degenerująca nie może wywołać akcji, hamującej regenerację.

Rozważając ten wynik, musimy zapytać się, czy istotnie chodzi tu o to, czy skóra jest żywa, czy też raczej rezultat ten da się sprowadzić do wpływu ucisku, który skóra naszyta wywiera na tkanki zranione? Możliwy mianowicie przypuszczać, że świeża i mocna skóra, po naszyciu jej na ranę, wywiera ucisk mechaniczny, który hamuje regenerację. Że tkanka obumarła albo skóra w okresie degeneracji nie działa hamująco, możnaby objaśnić mniejszą jej spoistością niż ją ma skóra zdrowa, to też ucisk przez nią wywierany jest słabszy; względnie, możnaby tłumaczyć to tem, że gdy zaczyna się regeneracja, martwa i zmacerowana skóra poddaje się uciskowi regeneratu i może być przezeń przebita. Ażeby sprawę tę rozstrzygnąć, zestawiłem następujące doświadczenie.

Odciąłem ogon aksolotlowi, a powierzchnię pokryłem kawałkiem mocnej irchy, poprzednio dopasowanej rozmiarami do powierzchni rany. Irchę przymocowałem do ogona szwami z jedwabiu. Po kilku dniach ircha była ciągle umocowana na miejscu, szwy mocno trzymały, ale pod irchą zaczynała się regeneracja, tkanka była mocno zaczerwieniona, przekrwiona, a po kilku dalszych dniach posuwający się regenerat powyrywał szwy i odchylił zupełnie irchę.

Z doświadczenia tego, zdaniem mojem bardzo ważnego dla całego naszego problematu, wynika, że zatrzymanie regeneracji nie jest następstwem mechanicznego ucisku, ale jest wynikiem stworzenia przez zasłonięcie rany skórą sąsiedztwa żywej tkanki z elementów komórkowych, leżących na powierzchni rany. Tem też możemy sobie objaśnić nieskuteczność dla zahamowania regeneracji pokrycia rany niedosć żywotną tkanką.

#### VI. Doświadczenia, w których ranę amputacyjną pokrywałem płatem skóry dopiero po rozpoczętej regeneracji.

We wszystkich moich dotychczas opisywanych doświadczeniach rana, wytworzona przez amputację, pokrywana była bezpośrednio po jej zadaniu płatem skóry. Stało się to więc jeszcze, zanim podnieta regeneracyjna mogła powstać, względnie — zanim reakcja na tę podniętę mogła objawić się jako zupełne wprowadzenie w bieg regeneracji blastematu. Pokrycie skórą restytuowało w stosunku do komórek przyrannych mniej więcej pierwotne warunki z okresu życia przedoperacyjnego. Nasuwa się dalsze pytanie, czy tą samą metodą da się zatrzymać w biegu już rozpoczętą regenerację: innymi słowy, czy te same czynniki, które przeszkadzają wytworzeniu istotnej podniety regeneracyjnej, względnie przeciwdziałają jej efektywności, mogą też hamować regenerację, będącą w biegu.

Przeprowadzenie tych doświadczeń jest metodycznie trudniejsze, niż eksperymentów dotąd omawianych. Główna trudność polega na tem, że nie łatwo jest zwieszający się płat skóry, którym ma się potem pokryć ranę (por. schem. 1), utrzymać w zdrowym stanie przez kilka dni, niezbędnych dla powstania zawiązka regeneratu. Bez zetknięcia się z resztą tkanek na większej powierzchni płat taki bardzo łatwo ulega degeneracji, a wiemy z poprzednich rozdziałów, że gdy w skórze rozpoczną się zjawiska degeneracji, nie nadaje się ona do wstrzymania regeneracji. Dla celowego zestawienia i doprowadzenia tych doświadczeń do końca, trzeba więc było poddać operacji większą liczbę zwierząt.

Postępowanie metodyczne przy zaszywaniu rany płatem skórnym było podobne do opisanego poprzednio, z tą jednak różnicą, że płat skórnym powinien być możliwie jaknajkrótszy i mieć zachowane krążenie. Płatem takim pokrywano

ranę początkowo po 6, 12, 24 godzinach, potem po 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 i 11 dniach. Jeżeli upłynęło już kilka dni od amputacji i przygotowania płatu, wtedy trzeba liczyć się z okolicznością, że i wewnętrzna powierzchnia płatu zaczyna tworzyć proliferat regeneracyjny, zwłaszcza, jeżeli mamy do czynienia z płatem nieco grubszym. Pewniejszą metodą jest pokrycie regeneratu płatem transplantowanym z innego zwierzęcia i wyciętym bezpośrednio przed przeszczepieniem.

Cała ta serja doświadczeń nie dała wyników tak jednolitych, żebym mógł zestawić je w szereg ciągły. Jako zasadę można podać, że gdy regeneracja już zaczęła się i gdy utworzył się zawiązek regeneratu, trudno jest zahamować bieg tego procesu. Ale niepodobna oznaczyć, np. w ilości dni, terminu, od którego regenerat nie da się zatrzymać w rozwoju, a to z powodu bardzo daleko posuniętej indywidualności osobników. Nawet u jednego i tego samego osobnika nie cała powierzchnia ranna zachowuje się pod tym względem jednakowo.

Jeśli regeneracja nie da się w rozwoju zatrzymać, to po pewnym czasie regenerat wydobywa się nazewnątrz przez skórę, pokrywającą ranę. Sam proces przedzierania się przez skórę daje się obserwować zwłaszcza na czarnych aksolotlach (rys. 28). Regenerat ma wtedy barwę cielisto-białą dzięki przeświecającym przezeń naczyniom krwionośnym. Przedzierając się nazewnątrz regenerat wyrwa nieraz kawałek skóry wraz z zawartym w niej czarnym barwikiem. Na rys. 20 *p* widać kawałek wyrwanej w ten sposób skóry wraz z barwikiem, który jest nagromadzony między pączkami.

Sposób przedzierania się zawiązków regeneratu przez skórę bywa dwojaki. Regenerat może wydobywać się (rys. 21) przede wszystkim jako prawie jednolita listwa grzebieniowata, która wysuwa się nazewnątrz masą niemal jednolitą, tworząc, jak na naszym rysunku (rys. 21), tylko kilka pączków. Drugi sposób (rys. 22) polega na przebijaniu się przez skórę całego łańcucha brodawkowatych pączków, z których część może być nawet oddzielona od reszty czarną powierzchnią skóry.

Miejsce, w którym regenerat wydobywa się nazewnątrz, zależy prawdopodobnie nie tylko od miejscowej odporności skóry, ale także od siły wzrostu danej części regeneratu. W rezultacie, część regeneratu może się zupełnie nie wydostać, przyczem reszta wydobywa się jako t. zw. regenerat cząstkowy. Widzimy

go np. na rys. 23, gdzie jest on umiejscowiony wyłącznie w dolnej części płaszczyzny rany: jest to regenerat, który w cztery dni po amputacji pokryto skórą. Przerwał on to pokrycie dość późno, a rysunek nasz przedstawia go w 2 miesiące po operacji. Regenerat, przedstawiony na rys. 24, pochodzi z tego samego zwierzęcia, ale jest rysowany w trzy miesiące później. Widać tu postęp w organizacji narządu, który przez ten czas uległ wybitnej regulacji.

Badanie histologiczne regeneratów, wydobywających się na zewnątrz, wykazuje intensywną akcję twórczą naskórka i przesuwanie się niektórych jego komórek włąb regeneratu. Na rys. 25 przedstawiono przekrój podłużny takiego pączka regeneracyjnego, którego zawiązek po 11 dniach od chwili amputacji pokryto skórą. Regenerat zużył dość dużo czasu na przebicie się przez skórę; utrwaliłem go wkrótce potem w celu zrobienia skrawków. Po lewej stronie widać na preparacie wpuklanie się nabłonka włąb (rys. 25, *i, e*) i oddzielanie się od tego wpuklonego pasma niektórych elementów, które biorą bezpośredni udział w tworzeniu się blastematu regeneracyjnego.

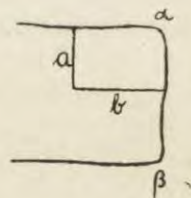
Zdarza się wreszcie, że prócz całkowitych i cząstkowych (parcjalnych) regeneratów, akcja regeneracyjna doprowadza do przebicia się jednego pączka regeneracyjnego na bardzo ograniczonym terenie. Uprzywilejowanym pod tym względem miejscem jest często okolica przeciętego układu nerwowego. Regenerat zwykle z trudnością przedostaje się przez płat skóry, ale czasem nawet po paru miesiącach wysuwa się palcowaty wyrostek regeneracyjny, nieraz obficie unaczyniony. Zwykle bywa on wąski (zaledwie parę milimetrów średnicy), początkowo okrągły, potem często z dwóch bocznych stron spłaszczony. Jest to minjaturowy regenerat ogona, który czasami wyrasta do znacznej długości. Rysunki 26 i 27 (p. tablica IV) dają obraz takich ogonów minjaturowych. Mogą one rosnąć prosto w osi długiej zwierzęcia (rys. 26), czasem znów zginają się pod kątem prostym (rys. 27). Charakterystyczną cechą jest płaskie rozszerzenie ich odcinka obwodowego, zwłaszcza, gdy nie mają one widoków rozszerzenia swojej podstawy.

Gdy przed laty badałem u traszek wpływ układu nerwowego na regenerację, opisałem (1914) ogony regeneracyjne, których produkcja była ześrodkowana nie w całej płaszczyźnie przekroju ogona, ale tylko w niewielkiej jej części. Wtedy już mogłem stwier-

dzić, że regeneraty te mogą kształtować się z biegiem rozwoju w całość harmonijną. Doszedłem do przekonania, że powierzchnia rany stanowi ekwipotencjalny układ determinowany (DRIESCH). Każda grupa komórek takiego przekroju, powołana do akcji regeneracyjnej, jest w stanie wytworzyć cały harmonijnie zorganizowany narząd; że tak jest, widzimy na rys. 29, na którym widzimy zawiązki wszystkich organów tej kończyny. W środku miniaturowego ogona układ nerwowy ( $n$ ) i zawiązek kręgu ( $v$ ), obok, wśród tkanki łącznej, liczne naczynia krwionośne ( $v. s.$ ) dalej wieńcem leżą wiązki tworzących się mięśni ( $m.$ ), a cała kończyna jest otoczona nabłonkiem, opartym o podkład, zbudowany z tkanki łącznej. Tak więc z tej małej płaszczyzny o paru milimetrach średnicy, stanowiącej niewielką tylko część płaszczyzny przekroju ogona, wytwarza się narząd, wprawdzie objętościowo rozmiarów miniaturowych, ale będący harmonijnie zorganizowaną całością.

#### VII. Powtórne wyzwolenie regeneracji przez ponownie zadaną ranę. Ewentualne zniekształcenie regeneratu.

Uzupełnienie straconego sąsiedztwa biologicznego pociąga za sobą utratę zdolności regeneracyjnych danej grupy elementów komórkowych. Czy ta utrata jest bezwzględnie trwała, czy też jest rzeczą możliwą na nowo wyzwolić regenerację, stosując nową podniętę regeneracyjną? Aby to pytanie rozstrzygnąć, przeprowadziłem następujące doświadczenie: w dniu 21-ym stycznia 1927 odciąłem ogon aksolotlowi i ranę zaszyłem płatem skórnym, hamując w ten sposób regenerację. Zwierzę kontrolne z ogonem odciętym, a niepokrytą raną, regenerowało prawidłowo. Po 2 miesiącach (t. j. 21 marca) wyciąłem zwierzęciu z zahamowaną regeneracją odcinek ogona dwoma pod kątem prostym poprowadzonymi cięciami (schem. 4, płaszczyzny ran  $a$ ,  $b$ ), tworząc dwie nowe powierzchnie ranne, mogące stanowić wyjście dla nowego procesu regeneracyjnego. Jakoż wytworzył się regenerat, który uzupełnił wycięty w kikutcie czworobok. Ale regeneracja na tem się nie skończyła, a sąsiedztwo o zahamowanym biegu regeneracji odbija się w kształ-



Schemat 4.

towaniu kierunku i postaci regeneratu. Nie przekroczył on mianowicie linii granicznej kikuta (schem. 4).

Po dalszych 2 miesiącach można było stwierdzić postępowanie w regeneracji (rys. 30); ponieważ jednak regenerat nie może przekroczyć linii  $\alpha-\beta$ , zwraca się ku stronie grzbietowej i wyrasta w górę ponad poziom grzbietowy zwierzęcia. Jeszcze wybitniej to widać na rys. 31, gdzie regenerat (w trzy miesiące od ostatniej operacji) wygląda, jak chorągiew w tyle ponad zwierzęciem wzniesiona. W każdym razie z doświadczenia tego wynika, że zahamowana w sąsiedztwie (brzuszną część ogona) regeneracja ma wpływ niewątpliwy na kierunek wzrostu regeneratu wtórnego.

Próbowałem jeszcze jednej metody pobudzania wstrzymanej poprzednio regeneracji. Kikut ogonowy, w którym przez pokrycie rany skórą wstrzymałem procesy twórcze, przyczem przez parę miesięcy nie było w nim żadnych objawów regeneracji, nakłówałem gęsto i głęboko bardzo ostrą szpilką; zabieg ten powtarzałem co drugi dzień w ciągu paru tygodni. Chodziło o pobudzenie tkanek o uspiionych zdolnościach regeneracyjnych do zreaktywowania swych zdolności twórczych. Jeżelibyśmy bowiem stanęli na stanowisku hormonalnej hipotezy regeneracji, przyjmującej, iż zjawiska nekrobiotyczne są momentem produkcji hormonów, można by oczekiwać, że zniszczenie grup komórkowych tym zabiegiem, stworzy warunki dla produkcji hormonów, które zreaktywują zdolności twórcze komórek.

Z dotychczasowych doświadczeń jednak okazało się, że w kikutach, traktowanych w sposób powyższy zdolność regeneracyjna nie ujawnia się, najprawdopodobniej bowiem dla wyzwolenia regeneracji niezbędnym jest stworzenie braku dawnego biologicznego sąsiedztwa.

Z opisanych powyżej doświadczeń dadzą się wysnuć wnioski następujące:

1°. Pokrycie rany skórą, zatrzymując regenerację, nie wywołuje jednak w komórkach zupełnej zatraty zdolności regeneracyjnych, które mogą być przez nową ranę zreaktywowane.

2°. Mechaniczne podniety, np. nakłówanie okolicy końcowej kikuta, przykrytego skórą, o ile nie usunięto części tkanek, nie jest w stanie reaktywować zdolności twórczych.

3°. Zatrzymanie akcji regeneracyjnej jest ściśle umiejscowione i nie przeszkadza do wyzwolenia tej akcji w bezpośrednim sąsiedztwie. Nie mniej jednak zatrzymana na pewnej linii



regeneracja ma pewien wpływ na kształtowanie się regeneratu, nie przepuszczając jego wzrostu poza wyżej wspomnianą linię. W rezultacie wzrost ogona kieruje ten narząd ku stronie innej, np. ku stronie grzbietowej (rys. 31).

4°. Regenerat, mimo zmienionego kierunku wzrostu, utrzymuje harmonijną organizację.

#### VIII. Bezskuteczność wstrzykiwań wyciągów i zawiesin z komórek przyranych na wyzwolenie regeneracji.

Wychodząc z założenia HABERLANDTA, że istotą podnięty regeneracyjnej są hormony, produkowane w obumierających komórkach rany, przeprowadziłem szereg doświadczeń na aksolotlach w celu sprawdzenia, czy hipoteza ta, zbudowana i sprawdzana dotąd jedynie na materiale botanicznym, ma zastosowanie w zjawiskach regeneracji u płazów. Metoda tych doświadczeń była nieco podobna do metody REICHEGO, który też posługiwał się wstrzykiwaniami treści, pochodzącej jednak z innych materiałów embrjonalnych.

Ponieważ hipoteza hormonalna przyjmuje, że hormony, pobudzające tkanki do regeneracji, powstają w czasie obumierania komórek przyranych, dlatego też materiał do tych wstrzykiwań przygotowywałem w następujący sposób: aksolotlom, którym przed kilku godzinami, albo kilku dniami odciąłem ogony i dałem czas na ewentualne wytworzenie hormonów, zeszkrobywałem warstwą powierzchniową rany, albo też zcinałem ją w formie cieniutkiej płytki, a po posiekaniu przecierałem w fizjologicznym roztworze soli kuchennej przez gęste sitko tak, że przechodziła przez nie miazga (rys. 32), w której komórki utrzymywały się mniej więcej nienaruszone w grupach, natomiast druga część elementów była zdruzgotana. Miałem więc do dyspozycji częściowo zawiesinę, częściowo wyciąg z komórek przyranych. Jeżeli do sporządzenia tego wyciągu używano komórek z powierzchni rany, zadanej przed kilku dniami, wtedy mieścił się tam materiał produkujący regenerat oraz składniki regeneratu. Zawiesiny takie wstrzykiwałem: 1°, do nieuszkodzonych zupełnie narządów, albo też pod skórę narządów bardzo nieznacznie uszkodzonych, i 2°, w obręb kikuta ogonowego, którego regenerację sztucznie przez pokrycie rany zatrzymano.

Stojąc na stanowisku hipotezy HABERLANDTA, należało oczekiwać, że wstrzykiwana zawiesina, sporządzona z tkanek, zawierających hormony, wywoła w okolicy wstrzyknięcia zjawiska twórcze, które, jak wiadomo, są podstawą regeneracji. W drugiej serji doświadczeń wstrzykiwania te robione były w okolicy, w której zjawiska regeneracyjne zostały wstrzymane; wstrzyknięcia takie mogłyby spowodować reaktywację wstrzymanej regeneracji. Wstrzyknięcia powtarzano kilkakrotnie, dzień po dniu lub raz na kilka dni.

Po wstrzyknięciu opisanej zawiesiny można było stwierdzić występowanie miejscowego obrzęku, który jednak po kilku dniach zniknął, lecz ani akcji nowotworowej, ani zreaktywowania zahamowanej regeneracji nigdy się nie dało stwierdzić.

Wynika więc z tego, że o ile istotnie wraz z wstrzykniętą zawiesiną wprowadziliśmy hormony w obręb nieuszkodzonej tkanki, to nie są one w stanie pobudzić tych tkanek do akcji twórczej. Dlatego próbowałem jeszcze wywoływać w okolicy wstrzyknięcia niewielką ranę, ale i ten zabieg pozostał bez rezultatu, to znaczy, że w miejscu tem nie udało się wywołać żadnych widocznych zjawisk regeneracyjnych. Nie udało się też przez wprowadzenie tych substancyj do kikuta, w którym poprzednio słumiono regenerację, reaktywować wstrzymanych procesów twórczych.

Wynika więc z powyższego, że wprowadzanie wyciągów lub zawiesin do ustroju nie daje mu dostatecznej podniety do zjawisk twórczych nawet wtedy, gdy w sąsiedztwie dokonano nieznacznego uszkodzenia tkanek.

W wynikach moich doświadczeń nie znajdują więc rezultatów, któreby przemawiały na korzyść hormonalnej hipotezy regeneracji.

#### IX. Zestawienie i omówienie wyników doświadczeń.

1°. Do zjawiska regeneracji po amputacji narządów można nie dopuścić, jeżeli ranę amputacyjną pokryje się płatem naszytej skóry, jednakże z zastrzeżeniem, że zabieg pokrycia rany następuje odrazu po amputacji (rys. 2, 4).

2°. Niedopuszczenie do regeneracji możliwe jest po amputacji, dokonanej zarówno cięciami poprzecznymi, jak też cięciami klinowymi, lub wreszcie, po odcięciu części ogona, cięciami horyzontalnymi lub klinowatymi (rys. 2, 4, 5, 7, 8).

3°. Jeśli pokrycie rany wykonano dokładnie, to czynności regeneracyjne są zawieszono w zupełności. Po niedokładnem zakryciu rany mogą wytwarzać się cienkie palcowate pączki proliferacyjne (rys. 9), które wyglądają czasem jak miniaturowe ogony.

4°. Słumienie regeneracji da się też przeprowadzić przez pokrycie rany amputacyjnej płatem skóry, przeszczepionym z innego zwierzęcia (rys. 19).

5°. Jako warunek pomyślnego wyniku słumienia regeneracji uznać musimy, na podstawie naszych doświadczeń, żywotność płatu skóry, którym pokryto ranę amputacyjną. Jeśli skóra, którą pokryto ranę, obumrze (wszystko jedno, czy to był płat skóry własnej, czy transplantowanej z innego osobnika), wtedy wynik słumienia regeneracji jest stale ujemny.

6°. Przytłumiającego działania płata skóry, naszytej na ranę, nie można objaśniać przez reakcję ustroju na ucisk mechaniczny, jaki ten płat wywiera na komórki przyranne. Pokrycie rany płytką drewnianego forniru albo lepiej — wycinkiem skóry irchowej, nie tłumi zjawiska regeneracyjnego. Chodzi tu więc o zetknięcie się rany z żywą tkanką.

7°. Histologiczne badania normalnego rozwoju regeneracji, prócz potwierdzenia wielu obrazów znanych już z literatury, stwierdzają, że naskórek, który tymczasowo pokrywa ranę, zostaje zastąpiony przez nabłonek świeży. Pochodzenie tego materiału wywodzi się z nabłonka, mieszczącego się w głębokich warstwach naskórka w postaci grup komórkowych, stanowiących rezerwaty tkanki twórczej (rys. 14). Komórki, mieszczące się w rezerwatach, wydobywając się z tych grup zorganizowanych, dostają się wgłąb mięszu regeneratu i tworzą tu t. zw. „blastemat regeneracyjny“. Po przewędrowaniu z rezerwatów, mieszczących się w naskórku, zatracają one pierwotną postać komórek nabłonkowych i przyjmują kształt elementów gwiazdzistych z wypustkami plazmatycznymi. Łączno-tkankowej warstwy skóry (cutis) długo nie widać w czasie rozwoju regeneratu.

8°. Histologiczne badanie słumienia zjawiska regeneracyjnego (rys. 15—18) wykazuje przedwczesne wytwarzanie się tego łączno-tkankowego pokładu skóry (cutis). Ta warstwa tkanki łącznej wraz z jej błoną podstawową odcina naskórek, oraz mieszczące się w nim rezerwaty tkanki twórczej, od blastematu regeneracyjnego.

Po upływie kilku tygodni można stwierdzić, że pod tkanką łączną przedwcześnie utworzoną organizuje się warstwa mięśni, które dopomagają, aby odcięcie się rezerwatów od tkanki twórczej było jeszcze wybitniejsze.

9°. Jeśli regeneracja weszła raz już w bieg, to pokrycie rany, wzgl. zawiązka regeneratu, skórą nie wywiera już hamującego wpływu na zjawiska regeneracji. Regeneraty mogą przebijać się przez skórę (rys. 20—28) na większej przestrzeni, albo tylko na ściśle ograniczonym jej odcinku. Wydobywają się one wtedy nazewnątrz i rosną, jako t. zw. regeneraty „cząstkowe“, albo zupełnie drobne minjaturowe ogony.

10°. Zarówno cząstkowe regeneraty (rys. 28), jak też ogony minjaturowe (rys. od 23 do 27), stanowią całość harmonijną i zawierają wszystkie normalne narządy danej części ciała. Zarówno więc cała powierzchnia rany, jak jej nawet mały odcinek, jest złożony z grupy komórek, stanowiących — jeśli użyć terminologii DRIESCHA—system ekwipotencyjny, harmonijny, determinowany.

11°. Gdy regenerację w sposób wyżej opisany stłumi się i gdy rana ulegnie zabliznieniu, można na pewnym odcinku końcowej części ogona uruchomić na nowo regenerację (rys. 30), wycinając część obwodowego brzegu kikuta. Regeneracja ma wtedy charakter ściśle miejscowy, a reszta kikuta, na której regeneracja była stłumiona, pozostaje nadal nieaktywna.

12°. Ta nieaktywna część wywiera wpływ na długość, kształt i kierunek wzrostu regeneratu świeżo utworzonego (rys. 31).

13°. Wstrzykiwanie zawiesin z tkanek przyrannych w obręb kikuta ogonowego (rys. 32), w którym stłumiono regenerację, nie jest w stanie jej zaktywować na nowo, jak również nie da się przez takie wstrzykiwanie pobudzić innych okolic ciała do akcyj twórczych.

Streszczone tu wyniki mojej pracy pozwalają na przeprowadzenie dokładniejszej nieco analizy niektórych problemów. Pierwszem jest zagadnienie podniety rozwoju regeneracyjnego.

Stwierdziłszy, że przez pokrycie rany można regenerację stłumić, jednakże pod dwoma warunkami: 1°, pokrycie rany powinno być dokonane przez własną tkankę żywą, albo przez tkankę pomyśl-

nie przetransplantowaną i 2<sup>o</sup>, pokrycie rany tą tkanką musi nastąpić bezpośrednio po amputacji, albo też możliwie najprędzej. Użyty do pokrycia rany materiał niedostatecznie żywotny nie jest w stanie regeneracji stłumić po przeniesieniu go na powierzchnię rany; z drugiej strony materiał ten, przeniesiony zapóźno, t. j. po rozpoczęciu regeneracji, ulega przebicciu przez regenerat, który rozwija się częściowo lub w całości. Najprawdopodobniej czynniki, dające podniętę do regeneracji, stworzone przez amputację, są niweczone przy wprowadzeniu powierzchni rannej w zetknięcie z żywym materiałem. Zabieg amputacyjny zmienia warunki życia elementów, leżących na powierzchni rany, gdyż pozbawia je dotychczasowego sąsiedztwa biologicznego. Wskutek tego komórki te wchodzą w zetknięcie bezpośrednie ze światłem zewnętrznym. Zmieniają się przez to warunki czynności fizjologicznych, a więc warunki przemiany materji, związane z odżywianiem, oddychaniem i krążeniem, warunki fizyczne zewnętrzne, a więc warunki wilgotności, osmozy, napięcia mechanicznego, część komórek zostaje zabita, część — uszkodzona. Cały ten łańcuch czynników wytwarza wśród przyrannych elementów komórkowych stan, aktywujący ich zdolności twórcze. Przyczyną istotną, która spowodowała te warunki życia, było usunięcie dawnego sąsiedztwa biologicznego.

W wynikach moich doświadczeń widzę dowód, potwierdzający moje zapatrywania, że jeśli, mianowicie, komórkom tym odtwarzam ich utracone sąsiedztwo biologiczne przez wprowadzenie ich w zetknięcie z innymi żywymi komórkami, wtedy znoszą podniętę, stworzoną przez amputację, wskutek czego czynności regeneracyjne nie ujawniają się.

Na podstawie tej analizy nie mogę podzielać zapatrywania tych autorów, którzy zjawisko regeneracji uznają jako konsekwencję rany jako takiej, innymi słowy — uważają, że uraz mechaniczny, którym jest zabieg operacyjny, jest zarazem momentem, wyzwalającym rozwój regeneracyjny. To pojmowanie wydaje mi się błędne: w doświadczeniach moich, w których stłumiono regenerację, istniał uraz mechaniczny i przecież podnięty tej nie usunęło pokrycie rany. Pokrycie rany zniosło jedynie brak sąsiedztwa biologicznego dla komórek przyrannych, wytworzony przez zabieg.

Nasuwa się pytanie, czy przez pokrycie rany skórą przeciwdziałamy podniecie regeneracyjnej, którą już wprowadziła amputacja, czy też zatrzymujemy proces, wprowadzony w bieg.

Na to pytanie trudno dać odpowiedź zupełnie definitywną. Opierając się na wynikach dotychczasowych badań, mam wrażenie, że chodzi tu o przeciwdziałanie podniecie, pod której wpływem zaczyna się regeneracja. Na to przeciwdziałanie potrzeba pewnego czasu, więc też jeszcze przez krótki okres po pokryciu rany regeneracja odbywa się; gdy jednak czynniki przeciwdziałające zanulują wpływ podniety regeneracyjnej, regeneracja ustaje całkiem.

Inwolucji regeneratu dotąd nie widziałem, a tylko wstrzymanie (przez wytworzenie warstwy z tkanki łącznej) dostarczania blastematowi materiału twórczego. To też o ile stadjum jest późniejsze, a w pączku regeneracyjnym jest tyle materiału twórczego, że regenerat może samoistnie mnożyć się, wtedy biegu regeneracji zatrzymać nie można. Regenerat wydobywa się na zewnątrz przez skórę i wzrost jego może się odbywać, jako wzrost regeneratu całego lub cząstkowego.

Ze wszystkich tych spostrzeżeń wynika też konieczność systematycznego odróżniania podniet regeneracyjnych od czynników kształtowania regeneratu. Widzieliśmy, między innymi, że regeneracja wyzwolona wtórnie może się rozwijać, pomimo że bezpośrednio sąsiadujące tkanki miały stłumioną regenerację. Takie stłumienie regeneracji na pewnym odcinku, nie znosząc jej objawów na terytorjum sąsiednim, wpływa na ukształtowanie regeneratu, który zmienia zarówno kierunek wzrostu, jak długość oraz kształt regeneratu.

Ani drogą stosowania wyciągów z komórek przyrannych, ani też drogą mechanicznego pobudzenia (nakłówanie kikuta) do produkcji przypuszczalnych hormonów nie dało się raz stłumionej regeneracji na nowo wyzwolić.

Hipoteza hormonalna nie znajduje więc potwierdzenia w tym cyklu doświadczeń nad regeneracją u aksolotla. Tak samo pozytywnych rezultatów nie dało pobudzenie kikutów ze stłumioną w nich regeneracją do podjęcia akcji regeneracyjnej po zadziałaniu bodźców mechanicznych, jak np. nakłówania skóry przyrannej.

## Piśmiennictwo.

Barfurth D. Zur Regeneration der Gewebe. Arch. mikr. Anat. 37. Bataillon E. 1910. L'embryogénèse complète provoquée chez les Amphibiens par piqûre de l'oeuf vierge, larves parthénogénétiques de *Rana fusca*. Compt. Rend. Acad. des Sc. Paris. 150. Bataillon E. 1910. Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie et la parthénogénèse traumatique. Arch. Zool. expér. Ser. 5, 6. Bataillon E. 1911. L'embryogénèse provoquée chez l'oeuf vierge d'Amphibiens par inoculation de sang ou de sperme de Mammifère. Parthénogénèse traumatique et l'imprégnation sans amphimixie. Compt. Rend. Acad. des Sc. Paris. 152. Bieger F. 1924. Untersuchungen über den Wundreiz. Ber. d. deut. bot. Ges. 42. Driesch H. 1901. Die organischen Regulationen. Leipzig, Engelmann. Driesch H. 1909. Philosophie des Organischen. Leipzig, Engelmann. Fischer A. 1927. Technik der Gewebezüchtung. Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, herausgeg. von Abderhalden. Abt. V., Teil 1, Heft 4. Fraisse P. 1885. Die Regeneration von Geweben und Organen bei den Wirbelthieren, besonders Amphibien und Reptilien. Cassel und Berlin, Fischer. Fritsch C. 1911. Experimentelle Studie über Regenerationsvorgänge des Gliedmassenskeletes der Amphibien. Zool. Jahrb. Abh. f. allg. Zool. und Phys. 30. Godlewski E. 1922. L'hérédité dans les cellules végétatives au cours de la régénération chez l'axolotl. Bull. de l'Acad. des Sc. Cracovie. Gebel K. 1905. Allgemeine Regenerationsprobleme. Flora 95. Haberlandt C. 1922. Zellteilungshormone und ihre Beziehung zur Wundheilung. Biol. Zentralbl. 42. Harisson Ross G. 1914. The reaction of embryonic cells to solid structures. Journ. exp. Zool. 17. Heitz E. 1925. Das Verhalten von Kern und Chloroplasten bei der Regeneration. Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Aant. 2. King H. D. 1898. Regeneration in *Asterias vulgaris*. Roux's Arch. f. Entw.-Mech. 7. King H. D. 1900. Further studies on regeneration in *Asterias vulgaris*. Roux's Arch. Arch. f. Entw.-Mech. 9. Korschelt K. 1927. Regeneration und Transplantation. Berlin. Bornträger. Linsbauer K. 1926. Über die Regeneration von Farnprothallen und die Frage der Theilungstoffe. Biol. Zentrbl. 46. Loeb J. 1901, 1902. Untersuchungen zur physiologischen Morphologie der Tiere. Würzburg. Loeb J. 1906. Untersuchungen über künstliche Parthenogenese und das Wesen des Befruchtungsvorgangs. Leipzig, Barth. Loeb J. 1909. Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Berlin. Morgan T. H. 1900. Regeneration in Teleosts. Roux's Arch. f. Entw.-Mech. 10. Nakano H. 1924. Kallusbildung und Wundheilung bei Keimpflanzen. Ber. d. deut. bot. Ges. 42. Reiche H. 1924. Auslösung von Zellteilungen durch Injektion von Gewebstoffen und Zelltrümmern. Zeitschr. f. Bot. 16. Schaxel J. 1921. Untersuchungen über die Formbildung der Tiere. Berlin. Schilling E. 1923. Zur Physiologie der Verholzung und des Wundreizes. Jahrb. f. wiss. Bot. 62. Taube E. 1921. Regeneration mit Beteiligung ortsfremder Haut bei Tritonen. Roux's Arch. f. Entw.-Mech. 49. Taube E. 1923. Über die histologischen Vorgänge bei der Regeneration von Tritonen mit Beteiligung ortsfremder Haut. Roux's Arch. f. Entw.-Mech. 98. Tornier G. 1906. Der Kampf der Ge-

web: im Regenerate bei Missverhalten des Unterhautbindegewebes. Arch. f. Entw.-Mech. 22. Zimmermann W. 1923. Entwicklungsphysiologie der Zelle von *Sphacelaria fusca* Ag. Zeitschr. f. Bot. 15.

### Objaśnienie rysunków.

Wszystkie rysunki ilustrują zjawiska regeneracji, doświadczalnie przeprowadzonej na aksolotlu. Rysunki wykonała z natury p. Stanisława Wojciechowska.

W rysunkach wprowadzone są następujące skrótory:

- bl.* — blastemat regeneracyjny,
- bl. d.* — blastemat w okresie różnicowania,
- c.* — tkanka łączna skóry (*cutis*),
- e.* — nabłonek skóry (*epidermis*),
- em.* — komórki śluzowe naskórka,
- er.* — nabłonek odtworzony,
- gl.* — gruczoly,
- i. e.* — nabłonek wpuklony,
- m.* — mięśnie,
- mb.* — błona podstawowa,
- mb.* — mioblasty,
- n.* — system nerwowy,
- nr.* — jądra, które wwędrowały w komórkach, pochodzących z rezerwatu,
- p.* — barwik,
- r.* — rezerwaty,
- s.* — krew,
- v.* — krąg,
- v. s.* — naczynia krwionośne,
- x.* — miejsce przyszycia płatu skórniego do brzegu rany.

### Tablica I.

Rys. 1. Doświadczenie kontrolne. Regenerat z rany, niepokrytej płatem skórniym. Rysowane w 4 tygodnie po operacji. Powiększenie 1.3 razy.

Rys. 2. Kikut ogona amputowanego przed 4 tygodniami. Zaraz po amputacji zaszyto ranę płatem skórniym. Powiększenie 1.3 razy.

Rys. 3. Doświadczenie kontrolne. Regenerat z rany, niezakrytej płatem skóry. Rysowane w 6½ miesiący po operacji. Wielkość naturalna.

Rys. 4. Kikut ogona amputowanego przed 11 miesiącami. Zaraz po amputacji zaszyto ranę płatem skóry. Wielkość naturalna.

Rys. 5. Odcięto cięciem poziomem część grzbietową ogona. Zaraz po operacji zaszyto płatem skóry operowanego zwierzęcia. Rysowano w 2 miesiące po operacji. Widać krawędź zgrubiałej skóry. Wielkość naturalna.

Rys. 6. Przekrój poprzeczny przez część ogona aksolotla, operowanego jak w opisie rys. 5. Na rysunku widać przekrój przez zgrubiałą skórę (B) na krawędzi grzbietowej ogona (A). Pow. 15 razy.



Rys. 7. Regenerat ogona odciętego klinem, zwróconym wierzchkiem dogłowowo. Grzbietowa część rany pokryta zaraz po amputacji płatem skóry. Regenerat utworzony z odcinka brzusznej rany. Kierunek wzrostu regeneratu—skośny ku górze. Rysowane w 3 miesiące po operacji. Wielkość naturalna.

Rys. 8. Regenerat ogona odciętego klinem, zwróconym wierzchołkiem nazewnątrz. Część rany grzbietowa pokryta zaraz po amputacji płatem skóry. Regenerat, utworzony z brzusznej odcinka rany. Rysowane w 2 miesiące po operacji. Powiększenie 1:5 razy.

Rys. 9. Kikut ogona zaraz po operacji, pokryty płatem skóry. W części osiowej, wyrostek regeneracyjny palcowaty. Rysowane w 3 miesiące po operacji. Wielkość naturalna.

Rys. 10. To samo, co w rys. 9, ale rysowane w 8½ miesiące po operacji. Wielkość naturalna.

Rys. 11. Naskórek aksolotla z licznymi komórkami śluzowymi. Pow. 80 razy.

Rys. 12. Naskórek aksolotla ze zmniejszoną ilością komórek śluzowych. Pow. 80 razy.

#### Tablica II.

Rys. 13. Przekrój czołowy przez końcową część kikuta zwierzęcia, któremu po odcięciu ogona zostawiono otwartą ranę. Utrw. w 4 dni po operacji. Pow. 15 razy.

Rys. 14. Rezerwat wśród naskórka, złożony z komórek twórczych. Wywędrowywanie komórek do blastematu. Pow. 160 razy.

Rys. 15. Przekrój czołowy przez końcową część kikuta zwierzęcia, któremu po odcięciu ogona ranę pokryto zaraz płatem skóry. Utrwalono natychmiast po operacji. Pow. 16 razy.

Rys. 16. Przekrój czołowy przez końcową część kikuta zwierzęcia, któremu odcięto ogon i przykryto ranę płatem skóry. Utrwalenie w 3 dni po operacji. Pow. 20 razy.

Rys. 17. To samo co rys. 16. Utrwalone w 6 dni po operacji. Pow. 16 razy.

#### Tablica III.

Rys. 18. To samo, co rys. 16. Utrwalone w 14 dni po operacji. Pow. 20 razy.

Rys. 19. Kikut ogona zwierzęcia, którego ranę po amputacji pokryto skórą, przeszczepioną z białego aksolotla. Regeneracja stłumiona. Rysowane w 4½ miesiące po operacji. Wielkość naturalna.

Rys. 20. Listwowy regenerat z grupą pączków, przerywający skórę, którą pokryto ranę w 40 godzin po amputacji. Rysowane w 2 tygodnie po amputacji. Pow. 2:5 razy.

Rys. 21. Pączkowaty regenerat w okresie przedostawania się przez skórę, którą pokryto ranę w 40 godzin po amputacji. Rysowane w 2½ tygodnie po amputacji. Pow. 3:5 razy.

--- Rys. 22. Pączkowaty regenerat, przebijający się pączkami regeneracyjnymi przez skórę, którą pokryto ranę w 5 dni po amputacji ogona. Rysowane w 2 tygodnie po amputacji. Pow. 25 razy.

Rys. 23. Regenerat, który wydobył się przez skórę, którą pokryto ranę w 4 dni po amputacji ogona. Rysowane w 2 miesiące po amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 24. Regenerat, opisany w rys. 23, rysowany w 5 miesięcy po amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 25. Przekrój czolowy przez końcową część ogona. Związek regeneratu wydobył się przez skórę, przeniesioną transplantacyjnie na powierzchnię rany 11 dni po amputacji. Utrwalono 1 miesiąc po amputacji. Pow. 12 razy.

#### Tablica IV.

Rys. 26. Listwowy wyrostek regeneracyjny, który wydobył się ze skóry, naszytej na ranę w 22 godziny po amputacji ogona. Końcowa część regeneratu rozszerzona płatowo. Rysowane w 7 miesięcy po amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 27. Wyrostek, który wydobył się ze skóry, naszytej w 14 godzin po amputacji ogona. Regenerat zgięty pod kątem prostym. Rysowane w 7 miesięcy po amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 28. Regenerat, który przedarł się przez skórę, transplantowaną na powierzchnię rany w 2 tygodnie po amputacji. Widać strzępy przerwanej skóry obok regeneratu. Rysowane w 1 miesiąc po amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 29. Przekrój poprzeczny przez wyrostek osiowy kształtu palcowatego. Pow. 50 razy

Rys. 30. Kikut ogona, którego ranę pokryto zaraz po amputacji skórą. Regeneracja została stłumiona. Po miesiącu odcięto fragment prostokątny (por. schem. 4). Na rysunku jest widoczny regenerat, rosnący ku stronie grzbietowej. Rysowano w 2 miesiące po powtórnej amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 31. Regenerat, opisany pod № 30, ale rysowany w 6½ miesiąca po powtórnej amputacji. Wielkość naturalna.

Rys. 32. Miazga, używana do wstrzykiwania. Pow. 16 razy.

#### Explication des figures.

*Toutes les figures sont en rapport avec la régénération expérimentale de l'Axolotl. Les dessins ont été exécutés d'après nature par Mlle Staniława Wojciehowska.*

*bl.* — blastème de régénération,

*c.* — tissu conjonctif de la peau (cutis),

*e.* — épiderme,

*em.* — cellules muqueuses de l'épiderme,

*er.* — épiderme régénéré,

- gl. — glande,  
 ie. — épiderme invaginé,  
 m. — muscles,  
 mb. — membrane basale,  
 mbl. — myoblastes.  
 n. — système nerveux,  
 nr. — noyaux immigrés dans des cellules, provenant du „réservate“,  
 p. — pigment,  
 r. — „réservates“,  
 s. — sang,  
 v. — vertèbres,  
 v. s. — vaisseaux sanguins,  
 x. — emplacement où la peau est fixée sur le bord de la plaie.

### Planche I.

Fig. 1. Expérience sur des animaux témoins. Partie régénérée provenant d'une plaie non couverte de peau. Dessiné quatre semaines après l'opération. Grossissement: 13 fois.

Fig. 2. Moignon de la queue amputée avant quatre semaines. La plaie a été couverte de peau immédiatement après l'amputation. Grossissement: 13 fois.

Fig. 3. Expérience sur des animaux témoins. Partie régénérée provenant d'une plaie non recouverte de peau. Dessiné 5 mois et demi après l'opération. Grandeur naturelle.

Fig. 4. Moignon d'une queue amputée avant 11 mois. La plaie a été couverte de peau, immédiatement après l'opération. Grandeur naturelle.

Fig. 5. La partie dorsale de la queue a été enlevée par une section horizontale. Immédiatement après l'opération, la plaie a été couverte de la peau de l'animal opéré. Dessiné deux mois après l'opération. On aperçoit le bord épaissi de la peau. Grandeur naturelle.

Fig. 6. Coupe transversale à travers une partie de la queue d'un animal opéré de la façon indiquée dans l'explication de la fig. 5. On aperçoit sur la figure, la coupe de la peau épaissie (B) de l'arête dorsale de la queue (A). Grossissement: 15 fois.

Fig. 7. Partie régénérée de la queue, dans laquelle on a pratiqué une incision cunéiforme, dont le sommet regarde la partie antérieure. Le sec'eur dorsal de la plaie a été couvert de peau immédiatement après l'amputation. La partie régénérée est formée par la région dorsale de la plaie. La croissance de la partie régénérée s'étend obliquement en sens dorsal. Dessiné trois mois après l'opération. Grandeur naturelle.

Fig. 8. Partie régénérée de la queue, dans laquelle on a pratiqué une incision cunéiforme, dont le sommet est tourné vers la partie terminale. La partie dorsale de la plaie a été couverte de peau immédiatement après l'amputation. La partie régénérée a été formée par la partie ventrale de la plaie. Dessiné deux mois après l'opération. Dimensions diminuées 1:5 fois.

Fig. 9. Moignon de la queue, couvert de peau, immédiatement après l'opération. Dans la partie axiale, le cône digitiforme de régénération. Dessiné 3 mois après l'opération. Grandeur naturelle.

Fig. 10. Explication comme celle de la fig. 9. Dessiné après huit mois et demi après l'opération. Grandeur naturelle.

Fig. 11. Épiderme de l'*Axolotl*, pourvu de nombreuses cellules muqueuses. Grossissement: 80 fois.

Fig. 12. Épiderme de l'*Axolotl* contenant les cellules muqueuses en nombre réduit. Grossissement: 80 fois.

#### Pl a n c h e II.

Fig. 13. Section frontale de la partie terminale du moignon se développant de la plaie laissée ouverte après l'ablation de la queue. Fixation 8 jours après l'opération. Grossissement: 15 fois.

Fig. 14. Accumulation de cellules formatrices au milieu de l'épiderme. Migration des cellules pénétrant dans le blastème. Grossissement: 160 fois.

Fig. 15. Coupe frontale de la partie terminale du moignon, se développant de la plaie recouverte immédiatement de peau après l'ablation de la queue. Fixation immédiatement après l'opération. Grossissement: 16 fois.

Fig. 16. Section frontale de la partie terminale du moignon de la queue amputée, dont la plaie a été recouverte de peau. Fixation 3 jours après l'opération. Grossissement: 20 fois.

Fig. 17. Explication comme celle de la fig. 16. Fixation 6 jours après l'opération. Grossissement: 16 fois.

#### Pl a n c h e III.

Fig. 18. Explication comme celle de la fig. 16. Fixation 14 jours après l'opération.

Fig. 19. Moignon de la queue, sur la plaie de laquelle on a greffé après l'amputation la peau d'un *Axolotl* albinotique. Régénération arrêtée. Dessiné 4 mois et demi après l'opération. Grandeur naturelle.

Fig. 20. Partie régénérée en forme de bande, avec un groupe de bourgeons. La partie régénérée au stade du percement de la peau, dont j'avais recouvert la plaie 40 h. après l'amputation. Dessiné 2 semaines après l'opération. Grossissement: 2·5 fois.

Fig. 21. Partie régénérée en forme de bourgeon au stade, où elle passe à travers la peau, dont j'ai couvert la plaie 40 h. après l'amputation. Dessiné 2 semaines et demi après l'amputation. Grossissement: 3·5 fois.

Fig. 22. Partie régénérée en forme de bourgeon. Les bourgeons régénératifs pénètrent à travers la peau dont on a couvert la plaie 5 jours après l'amputation de la queue. Dessiné 2 semaines après l'amputation. Grossissement: 2·5 fois.

Fig. 23. Partie régénérée qui a percé la peau dont j'avais couvert la plaie 4 jours après l'amputation de la queue. Dessiné 2 mois après l'amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 24. Partie régénérée décrite dans l'explication de la fig. 23 et dessinée 5 mois après l'amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 25. Section frontale de la partie terminale de la queue. L'ébauche de la partie régénérée s'est frayé une voie à travers la peau greffée sur la plaie 11 jours après l'amputation. Fixation 1 mois après la régénération. Grossissement: 12 fois.

#### Planche IV.

Fig. 26. Prolongement en bande de la partie régénérée ayant poussé à travers la peau cousue sur la plaie, 22 h. après l'amputation de la queue. Le bout de la partie régénérée est élargi en plaque. Dessiné 7 mois après l'amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 27. Prolongement qui a poussé à travers la peau comme sur la plaie, 14 h. après l'amputation de la queue. La partie régénérée innervée forme un angle droit avec l'axe de la queue. Dessiné 7 mois après l'amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 28. Partie régénérée qui s'est frayé un chemin à travers la peau greffée sur la plaie, 2 semaines après l'amputation. On aperçoit des lambeaux de peau déchirée, à côté de la partie régénérée. Dessiné 1 mois après l'amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 29. Coupe transversale du prolongement axiale digitiforme. Grossissement: 50 fois.

Fig. 30. Moignon de la queue, dont j'ai couvert la plaie de peau, immédiatement après l'amputation. La régénération a été arrêtée. Après un mois, j'ai enlevé un fragment rectangulaire (v. schème 4). On aperçoit sur la figure la partie régénérée qui se développe en sens dorsal. Dessiné 2 mois mais dessinée 6 mois après la seconde amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 31. La partie régénérée décrite dans l'explication de la fig. 30, mais dessinée 6 mois et demi après la seconde amputation. Grandeur naturelle.

Fig. 32. La substance dont on se servait pour faire des injections. Grandeur naturelle.



[„Prace Instytutu im. Nenckiego“ № 62\*].

H. Rychlewska.

### O ciepłe spalania mięśni żywych.

#### *De la chaleur de combustion des muscles vivants.*

Rękopis nadesłany w dniu 15. IX. 1927.

La chaleur de combustion des tissus desséchés, a jusqu'ici servi de point de départ à toutes les recherches physiologiques, exécutées par la méthode de calorimétrie indirecte. Nous manquons cependant de données expérimentales, qui nous autoriseraient à affirmer que la destruction de la structure des cellules et la dessiccation des tissus, n'exercent pas d'influence sur la valeur énergétique de leurs composants organiques.

Les présentes recherches ont pour but de déterminer les changements de la valeur énergétique des tissus, que provoque leur dessiccation. Après avoir surmonté les difficultés techniques qu'offre la combustion des tissus frais, on a en conséquence exécuté une série de combustions de ceux-ci, puis une autre parallèle de combustions de tissus desséchés et pulvérisés.

Les déterminations de la chaleur de combustion ont été exécutées d'après la méthode de BERTHELOT, dans la bombe calorimétrique de KROECKER et en se servant du calorimètre adiabatique de ŚWIĘTOŚLAWSKI ('21). Pour la détermination de la chaleur d'imbibition de la substance sèche du muscle, on a appliqué les méthodes usuelles en thermochimie (ŚWIĘTOŚLAWSKI '21).

On a exclusivement employé dans ces recherches, les muscles du mollet (musc. gastrocnemius) de la grenouille (*Rana esculenta*).

Après avoir soigneusement préparé les muscles symétriques du même animal et les avoir pesé séparément, on se servait immédiatement de l'un des deux muscles pour la détermination de

---

\*) Z Zakładu Fizjologii Instytutu im. Nenckiego.

la chaleur de combustion „in vivo”. L'autre muscle, destiné à la détermination de la chaleur de combustion à l'état de dessiccation, était desséché dans une étuve à vide jusqu'à poids constant.

Pour la détermination de la chaleur d'imbibition, on se servait de muscles desséchés de la même manière, qu'on broyait soigneusement et faisait passer ensuite par une gaze de meunier très fine (№ 15). Durant ces manipulations, la substance absorbait environ 5% d'eau.

La combustion des muscles desséchés, même non broyés, ne présente aucune difficulté, par contre la combustion des muscles frais qui contiennent environ 80% d'eau, nécessite des précautions spéciales. On a obtenu une combustion complète, en ajoutant aux muscles frais de l'acide oléique et de l'ouate.

Après de nombreux essais, on a choisi le procédé suivant: un peu de  $\text{SiO}_2$  chauffé, est introduit dans le fond d'un creuset de platine, puis on y verse de l'acide oléique (0.16 à 0.14 gr.). Le muscle frais, enveloppé d'un peu d'ouate (0.1 gr.), est ensuite placé dans le creuset. Un bout conique de ouate est fixé au fil de platine, qui réunit les deux électrodes de la bombe.

La combustion du muscle frais ou desséché terminée, le  $\text{CO}_2$  contenu dans la bombe était dosé, et on calculait la quantité totale de carbone. La quantité de carbone du muscle est égale à la différence entre la quantité totale de carbone et la quantité de carbone de la ouate et de l'acide oléique.

Les résultats détaillés de 12 séries de combustions ont été réunis dans le tableau IV. Dans chaque série, on avait incinéré deux muscles symétriques d'un même animal: l'un fraîchement préparé, tandis que l'autre après dessiccation. Dans les deux dernières colonnes du tableau, nous trouvons la chaleur de combustion des muscles, calculée par 1 gr. de poids frais des muscles et par 1 gr. de leur carbone. Pour faciliter la comparaison de la chaleur de combustion du muscle frais et desséché, ces mêmes chiffres sont reproduits dans les tableaux V et VI, et la chaleur de combustion du muscle desséché est exprimée en % de la chaleur de combustion du muscle frais.

Les moyennes de douze séries de combustions nous apprennent que la chaleur de combustion du muscle desséché s'élève à  $101.74 \pm 0,63\%$  de la chaleur de combustion du muscle frais, calculée par 1 gr. de substance fraîche, — et à  $101.77 \pm 0,57\%$



lorsqu'on la calcule par 1 gr. de carbone du muscle. La chaleur de combustion du muscle frais est donc inférieure à la chaleur de combustion du muscle desséché, et la différence dépasse 1%. Il s'ensuit, que les processus qui ont lieu pendant la dessiccation des muscles, sont des processus endothermiques.

Les résultats des déterminations de la chaleur d'imbibition de la substance sèche des muscles, sont réunis dans le tableau VII. La moyenne de six déterminations s'élève à 8.26 g. cal. pour 1 gr. de substance sèche, contenant 5% d'eau. Pour 1 gr. de substance sèche, la chaleur d'imbibition calculée, s'élève à 12.5 g. cal. Pour la quantité de substance sèche (0.203 gr.), que contient 1 gr. de poids frais de muscle, la chaleur d'imbibition n'atteint par conséquent que 2.54 g. cal. Cette valeur comparée à la chaleur de combustion du muscle est minime: elle s'élève à moins de  $\frac{1}{4}$  de la différence entre la chaleur de combustion du muscle frais et du muscle desséché.

Nous pouvons conclure, par conséquent que les processus de dessiccation du muscle, sont des processus endothermiques, qui absorbent de l'énergie calorique, même lorsqu'on les envisage indépendamment de la chaleur d'imbibition.

---

Zagadnienie wartości energetycznej tkanki żywej posiada znaczenie zasadnicze dla fizjologii przemiany energii. Dla dokładnego bowiem ustalenia efektu cieplnego reakcyj termochemicznych, zachodzących w organizmie, niezbędna jest znajomość wartości energetycznej substancyj wyjściowych w stanie, w jakim znajdują się one w komórce żywej.

W badaniach, prowadzonych przy pomocy kalorymetri pośredniej, za wartość wyjściową przyjmujemy ciepło spalania składników organicznych tkanek w stanie odwodnionym (FRANKLAND '66, DANILEWSKI '83, STOHMANN '84, RUBNER '85, BERTHELOT '93, ATWATER i BENEDICT '03, 07). Postępowanie to opiera się na przy

puszczeniu, że wartość cieplna tych substancji nie ulega zmianie pod wpływem zabiegów, stosowanych w czasie przygotowania tychże do spalania w bombie kalorymetrycznej. Tymczasem nie posiadamy podstaw doświadczalnych do twierdzenia, że zniszczenie struktury komórkowej oraz odwodnienie pozostaje bez wpływu na wartość energetyczną jej składników organicznych. Dotyczy to zwłaszcza głównych składników koloidalnych komórki, t. j. białek, ujawniających w organizmie znaczną zmienność stopnia rozdrobnienia i uwodnienia.

Wobec braku odnośnych danych w literaturze fizjologicznej, postawiłam sobie za zadanie niniejszych poszukiwań ustalenie sumarycznej wartości zmian energetycznych, jakie zachodzą w tkance żywej pod wpływem odwodnienia, oraz — wykrycie źródła tych przekształceń. W tym celu, po opracowaniu odpowiedniej techniki spalania tkanek w stanie świeżym, wykonałam szereg pomiarów ciepła spalania *in vivo*, porównyując je z rezultatami oznaczeń ciepła spalania i ciepła pęcznienia tychże tkanek w stanie odwodnionym.

Ze względu na znaczną zawartość białek, pomiary te przeprowadziłam na mięśniach żaby, w których, jak wynika z analiz chemicznych (RUBNER '22, PALAZZOLO '13, PARNAS '21), na związki niebiałkowe (tłuszcze i glikogen) przypada niespełna 6.59% ciepła spalania tkanki.

### 1. Metodyka i technika badania.

Jako materiału do badań używałam w pracy niniejszej wyłącznie mięśni łydkowych (*musc. gastrocnemius*) żaby jadalnej (*Rana esculenta* L.). Po starannem odpreparowaniu obu mięśni ważono je oddzielnie na zwykłej wadze analitycznej; jeden z nich używano natychmiast do oznaczania ciepła spalania w stanie świeżym, drugi natomiast symetryczny przeznaczony był do oznaczania ciepła spalania w stanie wysuszonym. W celu odwodnienia umieszczano mięśnie nad  $P_2O_5$  w suszarce próżniowej, ogrzanej do  $38^{\circ}C$  i pozostawiano tam na przeciąg 48 godzin, co zwykle wystarczało dla doprowadzenia mięśnia do wagi stałej.

Do oznaczania ciepła pęcznienia służyły w ten sam sposób suszone mięśnie, które następnie rozcierano na proszek w moździerzu i przesiewano przez gazę młynarską (Nr. 15). Wskutek tych zabiegów mięśnie pobierały pewną ilość wody (około 5%) i w tym stanie używane były do pomiarów. Procent wody był oznaczony przez doprowadzanie substancji do wagi stałej w próżni i w obecności  $P_2O_5$ .

Spalanie mięśni wysuszonych nawet w stanie niesproszkowanym

przebiega zupełnie dobrze. Natomiast oznaczanie ciepła spalania mięśnia świeżego, zawierającego około 80% wody, która utrudnia przebieg spalania substancji do końcowych produktów utlenienia, następuje, jak wspomniano, dosyć poważne trudności. Opanowanie techniki spalania tkanek w stanie świeżym postawiłam więc sobie jako pierwsze zadanie.

Trudności te próbowałam przezwyciężyć, dodając do mięśnia świeżego substancyj łatwo palnych. Pierwsze próby spalania tkanki żywej przeprowadziłam na larwach mącznika (*Tenebrio molitor*), zawierających, jak wiadomo (SZWAJSÓWNA '16), duże zapasy tłuszczu. Zwierzęta te umieszczałam w kolodjonowym woreczku z dodatkiem różnych łatwo palnych substancyj, jako to: kwasu benzoowego, naftaliny, cukru trzcinowego i t. d., lub też kładłam je bezpośrednio na warstwie zmieszanych z krzemionką substancyj, umieszonych na dnie tygielka platynowego.

Próby te jednak nie doprowadziły do pożądanego rezultatu, ponieważ zwierzęta nie uległy całkowitemu spaleniu. Z dalszych doświadczeń okazało się, że dodatek kwasu oleinowego, wkroplonego na krzemionkę, znajdującą się na dnie tygielka, posuwa proces spalania znacznie naprzód. W tych warunkach jednak wiele jeszcze węgla niespalonego rozpraszało się po tyglu bomby. Zastosowałam wobec tego, jako dodatkową substancję, watę, którą umieszczałam nad tygielkiem: części niespalone węgla osiadały wówczas na wacie i razem z nią spalały się całkowicie. W ten sposób udało mi się uzyskać rezultat pożądanym, t. j. całkowite spalanie się zwierząt wraz z dodawanymi substancjami. Postępowanie to zastosowałam z dobrym skutkiem również do świeżych mięśni.

W dalszym ciągu postawiłam sobie za zadanie zredukowanie do minimum ilości substancyj dodatkowych. Dotyczyło to przede wszystkim kwasu oleinowego, posiadającego duże w stosunku do mięśnia ciepło spalania.

Efekt dodatni otrzymałam jeszcze przy użyciu 0.14 g oliwy (1327.83 g. kal) i 0.1 g waty (404.62 g kal) przy spalaniu 0.5 g mięśnia.

W tych warunkach stosunek ciepła spalania dodatkowych substancyj, wraz z ciepłem tworzenia się  $\text{HNO}_3$ , do ciepła spalania mięśnia żywego wynosi 3.6 : 1, t. j. ciepło spalania mięśnia wynosi około 28% całkowitej ilości ciepła, otrzymanej podczas procesu spalania.

W pomiarach ciepła spalania substancyj badanych posługiwałam się metodą wypracowaną od czasów BERTHELOTA, używając do tego celu bomby KROEKERA (w wykonaniu firmy PETERSA w Berlinie). Bomba ta, pokryta wewnątrz platyną, posiadała pojemność około 80  $\text{cm}^3$ . Pierwsze pomiary ciepła spalania były przeprowadzone w kalorymetrze zwykłym. Główne zaś i najważniejsze moje doświadczenia zostały przeprowadzone w kalorymetrze adjabatycznym ŚWIĘTOSŁAWSKIEGO ('21).

Kalorymetr adjabatyczny był zastosowany w tym celu, aby można było ustalać dowolnie temperaturę płaszczu i wykonywać pomiary w warunkach izotermicznych, t. z. w ciągu czasu trwania okresu początkowego, głównego i końcowego spalania utrzymywać w płaszczu końcową temperaturę  $t_n$  (ŚWIĘTOSŁAWSKI i BŁASZKOWSKIE ('21).

Stałą  $K$  kalorymetru adjabatycznego, t. j. wartość cieplną układu kalorymetrycznego, oznaczałam przez spalanie w bombie wzorcowego kwasu

benzoesowego<sup>1)</sup>. Wartość cieplna części stałych ( $K'$ ) kalorymetru, t. j. bomby, mieszała i części zanurzonej termometru, wynosi 190.06; ilość wody w kalorymetrze we wszystkich pomiarach była niezmienna i równa 840 g; stąd stała  $K$  była równa 1030.06. Wyniki oznaczania stałej  $K$  podają w tabeli I.

Tabela I.

Pomiary stałej  $K$  kalorymetru adyabatycznego.  
*Etalonnage de la constante  $K$  du calorimètre adiabatique.*

№ pomiaru № de la détermination	Ciężar kwasu benzoesowego <i>Poids de l'acide benzoïque</i>		$\Delta t$	Ciepło spalania nitki <i>Chaleur de la combustion du fil</i>		Ciepło tworzenia się $\text{HNO}_3$ <i>Chaleur de la formation du <math>\text{HNO}_3</math></i>		Ciepło wyzwolone w czasie pomiaru <i>Chaleur totale dégagée pendant la combustion</i>		Ilość wody w kalorymetrze <i>Quantité d'eau dans le calorimètre</i>		Wartość cieplna stałych części kalorymetru <i>Valeur en eau des éléments solides du calorimètre</i>		Stała <i>Constante</i>  $K$
	g	g. kal		°C	g. kal	g. kal	g. kal	g	$K'$	$K$				
1	0.2829	1789.05	1.7490	10.50	2.33	1801.93	840	190.26	1030.26					
2	0.3784	2394.01	2.3445	10.50	3.39	2407.90	840	187.47	1027.47					
3	0.3491	2207.83	2.1702	10.50	8.29	2226.62	840	185.99	1025.99					
4	0.3726	2354.32	2.2870	10.50	2.71	2369.53	840	196.08	1036.08					
5	0.4111	2599.98	2.5390	10.50	6.00	2616.48	840	190.52	1030.52					
Wartość przeciętna <i>Moyenne</i>									190.06	1030.06				

Spalanie substancyj badanych przeprowadzałam w sposób następujący: na dno tygielka platynowego wsypywałam nieco wyżarzonej krzemionki (krzemionka była wyprażana w piecu elektrycznym w 1700°), wkraplałam na nią kwas oleinowy w ilości mniej więcej od 0.16—0.14 g, który odważałam na wadze Kuhlmanowskiej z dokładnością do 0.00005 g. Mięsień, przeznaczony do spalań, owijałam zawsze jednakową ilością waty, a mianowicie 0.1 g i kładłam go do tygielka. Część waty, wystającej z tygielka w kształcie stożka, owijałam około cienkiego (0.1 mm) platynowego drucika, łączącego wewnętrzne końce elektrod pokrywy bomby. Do naczynia kalorymetrycznego wlewałam stale 840 g wody o temperaturze niższej od temperatury wody w płaszczu zewnętrznym o 2.1° do 2.4°. Mieszadło wykonywało około 75 wahań na minutę. Temperaturę wody w płaszczu i w kalorymetrze odczytywałam co 30 sekund. Temperatura całego układu ustalała się zwykle po 25 minutach. Okres główny zaczynał się od temperatury około 18.76°. Okres początkowy trwał 5 minut, okres główny trwał od 3.0 do 3.5 minut, okres końcowy — 5 minut.

Ciepło spalania substancyj badanych było obliczone według wzoru:

$$aQ = (K\Delta t - \Sigma v) - \Sigma p,$$

<sup>1)</sup> Preparat kwasu benzoesowego otrzymałam od prof. W. ŚWIĘTO-SŁAWSKIEGO, któremu na tem miejscu składam wyrazy podziękowania.

gdzie  $a$  wyraża ilość gramów substancji wziętej do pomiaru,  $Q$  poszukiwane ciepło spalania,  $K$  — stałą kalorymetru,  $\Sigma v$  — poprawkę na promieniowanie,  $\Sigma p$  — wartość liczbową poprawek na poboczne procesy cieplne i  $\Delta t$  — przyrost temperatury w czasie pomiaru.

Wartość liczbową pobocznych procesów cieplnych, jak ciepło spalania waty i oliwy, oznaczałam w osobnych pomiarach kalorymetrycznych. Z pięciu oznaczeń ciepła spalania waty (p. tab. II) otrzymałam przeciętną 4046.22 g. kal.

Tabela II.

Pomiary ciepła spalania waty. Stała  $K$  kalorymetru adiabatyicznego = 1030.06.

*Détermination de la chaleur de combustion de l'ouate. Constante K du calorimètre adiabatique = 1030.06.*

№ pomiaru N° de la détermination	Ciepło spalania <i>Chaleur de combustion</i>					Analiza gazowa <i>Analyse des gaz</i>		
	Ilość waty <i>Poids de l'ouate</i>	$\Delta t$	Całkowite ciepło reakcji <i>Chaleur totale dégagée pendant la combustion</i>	Ciepło tworzenia się $\text{HNO}_3$ <i>Chaleur de la formation du <math>\text{HNO}_3</math></i>	Ciepło spalania 1 g waty <i>Chaleur de la combustion de 1 gr. de ouate</i>	Ilość waty <i>Poids de la ouate</i>	Ilość $\text{CO}_2$ <i>Poids du <math>\text{CO}_2</math></i>	Zawartość węgla w substancji <i>Teneur de la substance en C</i>
			g. kal	g. kal	g. kal			
1	0.5369	2.1150	2178.70	6.00	4046.74	0.4650	0.7564	44.32
2	0.5460	2.1531	2217.95	7.72	4048.00	0.4650	0.7568	44.35
3	0.5434	2.1414	2205.90	8.15	4045.37	0.4650	0.7558	44.32
4	0.5382	2.1208	2186.67	8.86	4046.47	—	—	—
5	0.5405	2.1293	2193.43	8.15	4044.56	—	—	—
			Wartość przeciętna <i>Moyenne</i>		4046.22			44.33

Ponieważ w mięśniu oznaczałam zawartość węgla, więc musiałam oznaczyć ją i w substancjach dodawanych. W tym celu przeprowadzałam gazy, znajdujące się w bombie po spaleniu substancyj, przez rurki z kwasem siarkowym i wapnem sodowanym, które absorbowało  $\text{CO}_2$ . Z ilości otrzymanego  $\text{CO}_2$  obliczałam zawartość C w wadze. Przeciętna zawartość węgla, obliczona z trzech analiz gazów spalinowych, wyniosła 44.33% (p. tab. II).

Do pomiarów ciepła spalania kwasu oleinowego brałam około 0.2 g wkraplałam go do tygielka wprost na krzemionkę i ważyłam na wadze Kuhlmanowskiej. Do odważonej ilości kwasu oleinowego dodawałam, jako zapalnika, 0.05 g waty. Przeciętna z pięciu oznaczeń ciepła spalania kwasu wyniosła 9484.56 g. kal.

Przeprowadziwszy również w sposób powyżej opisany analizę  $\text{CO}_2$  w gazach spalinowych, obliczyłam ilość C przypadającą na kwas oleinowy; przeciętna z czterech oznaczeń wyniosła 76.24% (p. tab. III).

Błędy w oznaczaniu wielkości, zawartych we wzorze ostatecznym, były obliczone według reguły kwadratów. Obliczenia dokładności pomiarów dały wyniki następujące: stała  $K$  kalorymetru adyabatycznego była oznaczona z dokładnością do 0.03%. Do mierzenia temperatury używano termometrów, sprawdzonych przez niemieckie biuro miar (Physikalisch-technische Reichsanstalt): wielkość  $\Delta t \pm \Sigma v$ , wynoszącą około 2.3, oznaczano z dokładnością do 0.001, czyli błąd możliwy 0.043%. Ciepło spalania kwasu oleinowego i waty było oznaczone z błędem 0.03%.  $\text{HNO}_3$ <sup>1)</sup> zawarty w roztworze wodnym, otrzymanym po parokrotnym splókaniu wszystkich części wewnętrznych bomby wodą destylowaną, miareczkowano  $\frac{1}{10}$  NaOH z czerwoną kongo jako wskaźnikiem: z ilości zużytego ługu obliczano utworzony  $\text{HNO}_3$  z błędem 0.003%.

Tabela III.

Pomiary ciepła spalania kwasu oleinowego. Stała  $K$  kalorymetru adyabatycznego = 1030.06.

*Détermination de la chaleur de combustion de l'acide oléique. Constante K du calorimètre adiabatique = 1030.06.*

№ pomiaru N° de la détermination	Ilość kwasu oleinowego Poids de l'acide oléique	$\Delta t$	Ciepło wyzwolone w czasie reakcji Chaleur totale dégagée pendant la combustion	Ciepło spalania waty	Ciepło tworzenia się $\text{HNO}_3$ Chaleur de la formation de $\text{HNO}_3$	Ciepło spalania 1 g kwasu oleinowego Chaleur de la combustion de 1 gr. d'acide oléique	Zawartość węgla w oliwie Teneur de l'acide oléique en C
			g. kal	g. kal	g. kal	g. kal	%
1	0.19886	2.0316	2092.66	202.29	4.57	9483.05	76.05
2	0.20946	2.2251	2191.84	202.29	3.75	9481.23	76.22
3	0.20889	2.1262	2190.11	202.29	6.00	9488.29	—
4	0.20893	2.1266	2190.42	202.29	6.00	9485.68	76.34
5	0.19964	2.0416	2102.47	202.29	6.72	9484.37	76.37
Wartość przeciętna Moyenne						9484.56	76.24

Po zsumowaniu tych wielkości otrzymamy jako teoretyczne maximum błędu systematycznego 0.136%.

W oznaczaniu ciepła spalania mięśni w stanie wysuszonym zachowałam ten sam sposób postępowania: dodawałam i tutaj kwasu oleinowego w celu ujednostajnienia pomiarów ciepła obu rodzajów mięśni.

Po skończeniu pomiaru ciepła spalania mięśnia żywego lub też wysuszonego przystępowałam do analizowania gazów spalinowych na  $\text{CO}_2$  w sposób powyżej opisany. Z ilości otrzymanego  $\text{CO}_2$  obliczałam całkowitą ilość węgla, od której odejmowałam ilość węgla, zawartą w dodawanych substancjach. Różnica odpowiadała zawartości węgla w mięśniu.

<sup>1)</sup> Ciepło tworzenia się m/mol  $\text{HNO}_3$  = 14.30 (p. LANDOLT, str. 1496, rok 1925).

Do pomiarów ciepła pęcznienia substancji suchej mięśnia zastosowałam zwykłą metodę kalorymetryczną, używaną w termochemji <sup>1)</sup>. Efekt cieplny obliczałam wprost z pomiaru kalorymetrycznego według wzoru:

$$Q = \frac{K(\Delta t + \Sigma v)}{a}$$

gdzie  $a$  oznacza ilość gramów substancji, wziętej do doświadczenia,  $Q$ —badane ciepło pęcznienia,  $K$ —wartość cieplną kalorymetru,  $\Delta t$ —przyrost temperatury i  $\Sigma v$ —poprawkę na promieniowanie. Pomiarzy wykonywałam metodą adyabatyczną, wskutek czego poprawka na promieniowanie  $\Sigma v = 0$ . Do pomiarów brałam około 2.4 g substancji, zawierającej około 5% wody. Sproszkowaną substancję ważyłam w probówce z cienkiego szkła, którą zamykałam korkiem, owiniętym w cyjfolję. Pomiarzy wykonywałam w ciemni, izolowanej od wpływów temperatury zewnętrznej. Przez korek, tkwiący w probówce, przeprowadzona była pałeczka szklana, sięgająca aż do dna. Probówkę umieszczano w wewnętrznym szklanym naczyniu kalorymetrycznym, zawierającym odważoną ilość wody (150 g) i zaopatrzonem w mieszało. Po trzech—czterech godzinach, gdy cały układ przyjął jednakową temperaturę, przystępowano do pomiarów. W okresie początkowym, który trwał 5 minut, notowano temperaturę co 30'', poczem probówkę rozbijano pałeczką: substancja dostawała się do wody i była natychmiastowo i dokładnie z nią zmieszana. Od momentu rozbicia probówki zaczynał się okres główny pomiaru, który trwał od 4 do 5 minut. Okres końcowy trwał 5 minut. Błąd pomiaru wynosił około 0.05%.

## 2. Wyniki pomiarów.

### A. Ciepło spalania.

Celem oznaczenia ciepła spalania mięśnia świeżego i wysuszonego przeprowadzono 12 seryj spalań. W każdej serji spalano 2 symetryczne mięśnie (łydkowe) jednego osobnika żaby: jeden w stanie wysuszonym, drugi w stanie świeżym. Żaby brane były do doświadczeń w różnych porach roku. Szczegółowe dane, dotyczące tych pomiarów, znajdują się w tabeli IV. W kolumnie 2 literą  $a$  oznaczony jest mięsień wysuszony, literą  $b$  — symetryczny mięsień świeży. W następnych kolumnach zostały umieszczone dane, dotyczące ciężaru mięśni w stanie świeżym i wysuszonym, oraz — zawartości węgla w mięśniach. Kolumny 6, 7, 8, 9 i 10 przedstawiają dane liczbowe, dotyczące spalań: a więc  $\Delta t$  oznacza przyrost temperatury w czasie pomiaru,  $Q$  — całkowite ciepło, wydzielone w czasie spalania,  $q_1$  — ciepło tworzenia się  $HNO_3$ ,

<sup>1)</sup> M. CENTNERSZWER i W. ŚWIĘTOSŁAWSKI ('21).

Tabela IV.

Pomiary ciepła spalania mięsni żywych i wysuszonych. Stata  $K$  kalorymetru = 1030.06.  
*Determination de chaleur de combustion de muscles frais et desséchés. Constante K du calorimètre adiabatique = 1030.06.*

1	2	3		4		5	6	7	8	9	10	11	12	13
		g	g	g	g									
I.	a	0.1039	0.5044	0.0540	2.2486	2316.19	11.72	404.62	1340.83	559.05	10353	1108.3	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.5000	0.0536	2.3072	2376.55	10.15	404.62	1397.45	564.36	10604	1128.7		
II.	a	0.1284	0.6208	0.0627	2.1004	2163.53	17.73	404.62	1081.14	660.07	10527	1063.3	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.5192	0.0526	2.2680	2336.18	11.72	404.62	1382.65	537.22	10213	1034.7		
III.	a	0.1116	0.5500	0.0556	2.2017	2267.88	10.72	404.62	1278.32	574.25	10328	1044.1	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.5424	0.0549	2.3037	2372.94	4.29	404.62	1398.97	565.09	10291	1041.8		
IV.	a	0.0918	0.4330	0.0460	1.9195	1977.20	10.72	404.62	1036.75	525.14	11416	1212.8	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.4774	0.0520	2.3813	2432.88	7.29	404.62	1444.27	596.73	11476	1250.0		
V.	a	0.0879	0.4384	0.0440	2.0059	2066.19	25.74	404.62	1164.51	471.35	10713	1075.2	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.4390	0.0443	2.1361	2200.31	9.72	404.62	1329.35	456.65	10308	1040.2		
VI.	a	0.0970	0.4836	0.0485	2.0570	2118.83	21.45	404.62	1179.49	513.30	10584	1061.4	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.4876	0.0483	2.2594	2327.31	10.43	404.62	1403.71	508.58	10530	1043.0		
VII.	a	0.0880	0.4384	0.0437	2.0583	2120.17	12.78	404.62	1245.10	457.70	10473	1044.0	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.4342	0.0435	2.1025	2165.70	12.15	404.62	1310.19	438.77	10087	1010.5		
VIII.	a	0.0998	0.4968	0.0500	2.0901	2152.92	21.45	404.62	1167.26	559.62	11192	1126.4	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.4958	0.0498	2.3170	2386.64	8.86	404.62	1432.07	541.12	10866	1091.4		
IX.	a	0.0981	0.4890	0.0495	2.0523	2113.99	13.58	404.62	1176.46	519.36	10492	1062.1	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.4856	0.0492	2.3099	2379.33	18.86	404.62	1346.04	509.84	10363	1049.9		
X.	a	0.1008	0.5022	0.0507	2.0577	2119.55	11.15	404.62	1138.06	565.75	11159	1126.5	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.5132	0.0517	2.2100	2276.43	10.29	404.62	1304.31	557.24	10778	1087.9		
XI.	a	0.1120	0.5594	0.0568	2.1856	2251.29	10.29	404.62	1245.06	591.35	10411	1057.1	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.5718	0.0577	2.4770	2551.45	12.15	404.62	1545.98	588.73	10203	1029.6		
XII.	a	0.0810	0.4014	0.0406	1.9184	1976.07	10.72	404.62	1098.19	462.57	11294	1152.4	Ciepło spalania obliczone na 1 gram <i>Chaleur de combustion calculée par 1 gr.</i>	
	b	—	0.3990	0.0403	2.1558	2220.60	7.72	404.62	1365.01	443.28	10999	1110.9		



$q_2$  i  $q_3$ —ciepło spalania dodawanych substancji, t. j. waty i oliwy; na podstawie tych danych zostało obliczone:  $Q$  (kolumna 11), t. j. ciepło, przypadające w pomiarze na mięsień spalony, oraz ciepło spalania mięśnia, odniesione do jednego grama węgla, zawartego w mięśniu (kolumna 12) i do jednego grama tkanki świeżej (kolumna 13).

Jak wynika z odpowiednich przeliczeń danych omawianej tabeli, zawartość substancji suchej w mięśniach badanych wahała się w dosyć nieznacznych granicach, mianowicie od 20.00 do 21.36%, przeciętna wyniosła  $20.3 \pm 0.11\%$ . Zawartość węgla w tychże mięśniach wynosiła od 9.47 do 10.85% w stosunku do masy świeżej; przeciętnie na 1 gram mięśnia świeżego przypada  $10.13\% \pm 0.09\%$  węgla, stąd w stosunku do substancji suchej mięśnia wypada przeciętnie 49.9% tego składnika.

Z danych tabeli powyższej wynika również, że wartości ciepła spalania żywych mięśni zwierząt badanych, przeliczone na 1 g tkanki świeżej, różnią się od siebie dosyć znacznie: najniższa liczba wynosi 1010.5 g. kal, zaś najwyższa 1250.0 g. kal; wartość przeciętna wynosi  $1076.5 \pm 1.8\%$ .

Dla mięśni, spalonych w stanie wysuszonym, najniższa liczba wynosi odpowiednio 1044.1 g. kal, zaś najwyższa — 1212.8 g. kal, w obliczeniu na 1 g tkanki świeżej; wartość przeciętna równa się  $1094.4 \pm 1.4\%$  g. kal.

W celu porównania wyników moich pomiarów z danymi, otrzymanymi przez wyżej wspomnianych autorów, obliczyłam ciepło spalania mięśnia wysuszonego w odniesieniu do masy suchej. Przeciętna wyniosła na jeden gram substancji suchej mięśnia żaby 5395.5 g. kal. STOHMANN otrzymał dla 1 g wysuszonego i odtłuszczonego mięsa wołu 5321 g. kal, RUBNER zaś dla wysuszonego i odtłuszczonego mięsa psa 5345 g. kal. Jak widać z powyższych zestawień, wartości ciepła spalania mięśni u różnych gatunków zwierząt są bardzo zbliżone.

Wobec jednak znacznych różnic indywidualnych wartości ciepła spalania mięśni żaby, należało ustalić, co jest lepszą wspólną miarą wartości energetycznej mięśni świeżych i wysuszonych: masa świeża, czy też węgiel w niej zawarty.

Ciepło spalania mięśni, obliczone w stosunku do zawartości węgla, wykazuje mniejsze różnice, a mianowicie dla mięśnia żywego najniższa wartość wynosi 10203 g. kal, najwyższa—11476

g. kal; przeciętna zatem  $10559 \pm 1.0\%$  na 1 gram węgla. Dla mięśnia zaś wysuszonego najniższa wartość przedstawia 10328 g. kal, najwyższa—11416 g. kal.; przeciętna stąd  $10745 \pm 1.0\%$ . Z tych danych widać, że węgiel jest lepszą wspólną miarą wartości energetycznej tkanki, bowiem przy obliczaniu ciepła spalania na jednostkę wagi mięśnia świeżego różnice indywidualne dają błąd, wynoszący dla mięśnia spalanego w stanie żywym 1.8%, a w stanie wysuszonym 1.4%, wówczas, gdy w odniesieniu do 1 g węgla zawartego w tkance błąd ten w obu przypadkach wynosi za ledwie 1.0%.

Tabela V.

№ serji № de la série de détermination	Ciepło spalania mięśnia obliczone na 1 g mięśnia świeżego <i>Chaleur de combustion du muscle, calculée par 1 gr. de poids frais</i>		Stosunek ciepła spalania mięśnia wysuszonego do ciepła spalania mięśnia żywego
	po wysuszeniu mięśnia <i>muscle desséché</i>	w stanie żywym <i>muscle frais</i>	<i>Chaleur de combustion du muscle desséché en % de la chaleur de combustion du muscle frais</i>
	g. kal	g. kal	%
I.	1108.3	1128.7	98.19
II.	1063.3	1034.7	102.76
III.	1044.1	1041.8	100.32
IV.	1212.8	1250.0	96.95
V.	1075.2	1040.2	103.36
VI.	1061.4	1043.0	101.76
VII.	1044.0	1010.5	103.31
VIII.	1126.4	1091.4	103.20
IX.	1062.1	1049.9	101.16
X.	1126.5	1087.9	103.55
XI.	1057.1	1029.6	102.67
XII.	1152.4	1110.9	103.73
Przeciętna: <i>Moyenne</i>	1094.4	1076.5	101.74 $\pm$ 0.63

W celu przejrzystego przedstawienia wyników zestawiałam w tabelach V i VI wartości ciepła spalania mięśni świeżych i wysuszonych, obliczone w odniesieniu do 1 g tkanki i do 1 g węgla. W kolumnie 4 obu tabel podałam ciepło spalania mięśnia wysuszonego w  $\%$  ciepła spalania mięśnia żywego.

Porównywując ciepło spalania mięśni żywych i wysuszonych, przypadające na jednostkę masy świeżej (tabela V), konstatujemy różnice dwukierunkowe: w 10-ciu serjach różnica zawarta jest w granicach od 0.32% do 3.73% na korzyść mięśnia wysuszonego,

w 2-ch natomiast serjach różnica ta wyniosła 1.81% (serja I-sza) i 3.05% (serja IV-ta) na korzyść mięśnia żywego. Ciepło spalania mięśni odniesione do węgla wykazuje w podanych doświadczeniach ten sam kierunek różnic (p. tabela VI). Przeciętna ogółu doświadczeń. t. j. 12 seryj, wyniosła dla ciepła spalania mięśni w odniesieniu do tkanki świeżej  $101.74 \pm 0.63\%$ , natomiast w odniesieniu do węgla, zawartego w tkance, —  $101.77 \pm 0.57\%$ . Ponieważ pod-

Tabela VI.

№ serji	Ciepło spalania obliczone na 1 g węgla <i>Chaleur de combustion du muscle calculée par 1 g de carbone</i>		Stosunek ciepła spalania mięśnia wysuszonego do ciepła spalania mięśnia żywego (w odniesieniu do zawartości węgla)  <i>Chaleur de combustion du muscle desséché en % de la chaleur de combustion du muscle frais (calculée par rapport à la teneur en carbone)</i>
	mięśnia wysuszonego <i>muscle desséché</i>	mięśnia żywego <i>muscle frais</i>	
№ de la série de détermination	g. kal	g. kal	%
I.	10353	10604	97.63
II.	10527	10213	103.07
III.	10328	10291	100.36
IV.	11416	11476	99.47
V.	10713	10308	103.92
VI.	10584	10530	100.54
VII.	10473	10087	103.82
VIII.	11192	10866	103.00
IX.	10492	10363	101.24
X.	11158	10778	103.53
XI.	10411	10203	102.03
XII	11294	10999	102.68
Przeciętna: <i>Moyenne</i>	10745	10559	$101.77 \pm 0.57$

wojony błąd średni serji ( $\pm 0.57\%$ ) jest mniejszy od przeciętnej ogółu doświadczeń, wynoszącej 1.77, możemy więc przyjąć, że ciepło spalania mięśnia wysuszonego jest rzeczywiście wyższe od ciepła spalania w stanie świeżym o ca. 1%.

Powyższe wyniki częściowo potwierdzają przypuszczenie RUBNERA ('85), według którego ciepło spalania ciał pęczniących w wodzie powinno być mniejsze od ciepła spalania tychże w stanie wysuszonym. Według słów tego autora: „Die Verbrennungswärme eines im Wasser gequollenen Körpers muss... kleiner sein, wie jene des trockenen Körpers“.

## B. Ciepło pęczenia.

W celu bliższego zbadania liczbowych podstaw tego przypuszczenia oznaczyłam wielkość ciepła pęczenia mięśnia wysuszonego. Sposób postępowania został podany w części metodycznej. Tabela VII przedstawia wyniki. Przeciętna z 6-ciu oznaczeń przy wilgotności 5% wyniosła 8.26 g. kal na 1 g substancji suchej mięśnia. Otrzymana wartość dla 1 g substancji suchej mięśnia przy wilgotności 5% była odniesiona do substancji absolutnie pozbawionej wody.

Tabela VII.

Oznaczenie ciepła pęczenia substancji suchej mięśnia.  
*Détermination de la chaleur d'imbibition de la substance sèche du muscle.*

№ pomiaru <i>N° de la détermination</i>	Ciężar substancji suchej	Wartość cieplna układu kalorymetrycznego	Przyrost temperatury w czasie pomiaru	Ciepło pęczenia na 1 g. badanej substancji suchej	Ciepło pęczenia w odniesieniu do substancji absolutnie suchej
	<i>Poids de la substance sèche</i>	<i>Capacité calorifique du calorimètre</i>	<i>Élévation du thermomètre</i>	<i>Chaleur d'imbibition de 1 gr. de la substance sèche</i>	<i>Chaleur d'imbibition de 1 gr. de la substance absolument sèche</i>
	g	K	Δt	g. kal	g. kal
I.	2.7716	175.00	0.132	8.33	12.58
II.	2.2932	175.22	0.108	8.25	12.50
III.	2.3992	175.02	0.114	8.31	12.56
IV.	2.3321	175.09	0.110	8.28	12.53
V.	2.3215	175.22	0.109	8.22	12.47
VI.	2.3080	175.07	0.108	8.19	12.44
		Wartość przeciętna: <i>Moyenne</i>		8.26	12.51

Wartość ta obliczona została podług wzoru podanego przez RODEWALDA ('97):

$$-\frac{dQ}{Q} = dw \cdot k.$$

gdzie  $Q$  oznacza ciepło pęczenia,  $dw$  — zmiany wilgotności substancji badanej,  $k$  — stałą. Tę ostatnią wartość oznaczył KRUMMACHER ('09), stwierdzając, że wartość cieplna pęczniejących substancji obniża się stale o 0.85 g. kal na 1 gram substancji przy wzroście zawartości wody o 1%, a zatem stała równa jest 0.85. Ciepło pęczenia 1 g substancji absolutnie pozbawionej wody wyniosło w moich oznaczeniach 12.5 g. kal. Stąd wynika, że ciepło pęczenia, przypadające na substancję suchą, zawartą

w jednym gramie mięśnia (0.203), jest równe 2.54 g. kal, co stanowi zaledwie 0.25% ciepła spalania mięśnia świeżego.

Fakt, że liczba ta nie pokrywa stwierdzonej powyżej różnicy (1%), skłania do przypuszczenia, że proces suszenia jest zjawiskiem endotermicznym, wiążącym energję cieplną nie tylko w postaci ciepła pęcznienia.

### Streszczenie.

Główne wyniki pracy niniejszej dadzą streścić się w sposób następujący:

1°. Ciepło spalania mięśni symetrycznych żaby w stanie świeżym i wysuszonym nie jest jednakowe. Ciepło spalania mięśnia wysuszonego jest większe od ciepła spalania mięśnia świeżego o ca. 1%.

2°. Stąd wynika, że procesy cieplne, zachodzące w czasie suszenia tkanki mięśniowej, posiadają charakter procesów endotermicznych.

3°. Ciepło pęcznienia pokrywa zaledwie około 1/4 różnicy, jaka zachodzi między wartością energetyczną mięśni badanych w dwu stanach powyższych.

### Piśmiennictwo.

Atwater W. O. and F. Benedict. 1903. Experiments on the metabolism of matter and energy in the human body. Washington. (Depart. of Agriculture, Office of Experiment Stations. Bulletin № 136). — Benedict F. 1907. The influence of inanition on metabolism. Washington. Berthelot M. 1893. Chaleur animale. Paris. — Centnerszwer M. i W. Świętosławski. 1921. Podręcznik do ćwiczeń z chemji fizycznej i elektrochemji. Warszawa. — Danilewski B. 1883. Über die Verbrennungswärme der Nahrungsmittel. Biol. Centralbl. 2. (370). — Frankland. 1886. Kalorimetrische Untersuchungen. Philosophical Mag. 32 (182). Cyt. według Rubnera ('85). — Krummacher O. 1909. Über die Quellungswärme des Muskelfleisches. Zeitschr. f. Biol. 52 (251). — Palazzolo G. 1913. Ricerche sul consumo del grasso muscolare durante la contrazione. Arch. di Fisiol. 11 (558). — Parnas J. K. 1921. Über den Kohlenhydratstoffwechsel der isolierten Amphibienmuskeln. II. Bioch. Zeitschr. 116 (77). — Rodewald H. 1897. Thermodynamik der Quellung mit spezieller Anwendung auf die Stärke und deren Molekulargewichtsbestimmung. Zeitschr. f. physikal. Chemie. 24

(193). — **Rubner M.** 1885. Kalorimetriscne Untersuchungen. Zeitschr. f. Biol. **21** (251). — **Rubner M.** 1922. Über die Wasserbindung in Kolloiden mit besonderer Berücksichtigung des quergestreiften Muskels. Abh. d. preuss. Akad. d. Wiss. — **Stohmann F.** 1884. Kalorimetriscne Untersuchungen. Landwirt. Jahrb. **13** (575). **Świętosławski W.** 1921. Studja nad uzgodnieniem danych liczbowych w termochemji związków organicznych. (Études sur la nécessité de faire concorder les données numériques des composés organiques). Roczniki Chemji. **1** (59). — **Świętosławski W. i H. i Z. Błaszkwskie.** 1921. O rozbieżności pomiarów adjabatycznych i nieadjabatycznych. (Sur la discordance des mesures adiabatiques et ordinaires). Roczniki Chemji. **1** (166). **Szwajsówna P.** 1916. O przemianie materji u larw mącznika. Spraw. Tow. Nauk. Warsz. **9**. (Le métabolisme physiologique chez les larves du *Tenebrio molitor*. Comptes Rend. de la Société des Sciences de Varsovie. **9**).

(Instytut Chemji Lekarskiej Uniwersytetu Lwowskiego).

J. K. PARNAS.

**Badania nad powstawaniem amonjaku i zależnością tej sprawy  
od czynności i stanu mięśni.**

*Untersuchungen über die Ammoniakbildung und über den Zusammenhang dieses Vorgangs mit Funktion und Zustandsänderungen des Muskels.*

Rękopis nadesłany w dniu 10. I. 1928.

Diese Arbeit enthält eine zusammenfassende Darstellung der Untersuchungen über Blutammoniak und über die Ammoniakbildung in Geweben, die in den Jahren 1924 bis 1927 gemeinsam mit J. HELLER, M. TAUBENHAUS, A. KLISIECKI, Wł. MOZOŁOWSKI, W. LEWIŃSKI und St. CHRZĄSZCZEWSKI ausgeführt worden sind, und deren Resultate bereits z. Th. veröffentlicht worden sind (PARNAS und HELLER '24; PARNAS '25; PARNAS und TAUBENHAUS '25; PARNAS und KLISIECKI '26,I; PARNAS und KLISIECKI '26,II; KLISIECKI '26; KLISIECKI, MOZOŁOWSKI und TAUBENHAUS '26; MOZOŁOWSKI und TAUBENHAUS '26; PARNAS '27,I; PARNAS und MOZOŁOWSKI '27,I; PARNAS und MOZOŁOWSKI '27,II; PARNAS, MOZOŁOWSKI und LEWIŃSKI '27,I; PARNAS, MOZOŁOWSKI und LEWIŃSKI '27,II; MOZOŁOWSKI und LEWIŃSKI '27<sup>1</sup>).

Mit Hilfe einer neuen Methode zur Bestimmung des Blutammoniaks, die auf Wasserdampfdestillation im Vacuum beruht, wurden niedrige, in Hundertsteln von Miligramen pro 100 ccm Blut liegende Werte für den Ammoniakgehalt im frischen Blut festgestellt, wie sie schon früher von FOLIN und DENIS, BARNETS, sowie NASH und BENEDICT im Gegensatz zu den meisten anderen Autoren angegeben wurden. Es wurde dabei die Erscheinung der Ammoniakbildung im isolierten Blut festgestellt, ihre Bedin-

<sup>1</sup>) Vgl. auch RONA'S Berichte über die gesamte Physiologie: 29 (901); 31 (407); 32 (580); 33 (411); 38 (557); 36 (393); 40 (550); 41 (097); 42 (559); 41 (81).

gungen genau studiert, ihre methodische Beherrschung angegeben. Die Ammoniakbildung im Blut findet in den Erythrocyten statt, sie beruht auf der Zersetzung einer nichtkolloiden Stickstoffverbindungen, die weder Harnstoff, noch Aminosäure, auch nicht Cyanat ist, die sich aber im enteweissten Blut konzentrieren und durch frische Blut zersetzen lässt. Der Ammoniakgehalt des frischen Blutes wurde für mehrere Thierarten bestimmt, insbesondere auch für den Menschen, und gegen die Ammoniakbildung im isolierten Blute abgegrenzt. Die Ammoniakbildung ist bei verschiedenen Thierarten nach Geschwindigkeit und Grösse sehr verschieden: bedeutend bei Kaninchen, Mensch, Ente, Huhn, Schwein, sehr gering bei Hund, Pferd, Rind, Hammel. Die Realität des im frisch entnommenen Blut gefundenen Ammoniaks, sowie der Ammoniakbildung im fließenden Blut der Gefässe wurde durch besondere Versuche erwiesen.

Bei Versuchen, eine erhöhte Ammonaemie in denjenigen Zuständen des Organismus zu finden, in welchen Ammoniak ausgeschieden wird, konnte keine erhöhte Ammonaemie bei Säurevergiftung gefunden werden, dagegen wurde beim Kaninchen festgestellt, dass während des Sterbens des Thieres ein starkes Anwachsen des Blutammoniaks stattfindet. Diese *agonale Hyperammonaemie* konnte darauf zurückgeführt werden, dass im Zustand der Hypoxaemie immer ein Anwachsen des Blutammoniaks stattfindet: ein sauerstoffarme Gasgemische athmendes, oder mit CO vergiftetes Kaninchen weist einen um mehrere Hundert Procente erhöhten Ammoniakgehalt auf. Der Mechanismus dieser Erscheinung konnte auch aufgeklärt werden: er beruht darauf, dass die mit Sauerstoff ungenügend versorgte Leber das von der Pfortader herangebrachte Ammoniak nicht in Harnstoff zu verwandeln vermag. Der Ammoniakgehalt im Blute der Pfortaderzweige wurde neu bestimmt, und in der Vena mesenterica coeci ein Ammoniakgehalt gefunden, der etwa 50 mal so hoch ist, wie in der Arterie. Ausser dem Blinddarm und — in geringerem Masse — den anderen Darmabschnitten — konnte noch im graviden Uterus eine Quelle des ins Blut gelangenden Ammoniaks festgestellt werden. Jedoch kann keine dieser Quellen als bedeutend — unter normalen Bedingungen der Sauerstoffversorgung — angesehen werden, und keine liefert eine Erklärung für die Herkunft des renalen Ammoniaks.



Als gelegentlich der Untersuchungen über die Herkunft des Ammoniaks Bestimmungen des Ammoniakgehaltes im Muskel versucht wurden, wurde die Erscheinung der Ammoniakbildung im Muskel gefunden: wenn man einen Froschmuskel mit Wasser und Quarzsand fein zerreibt, nach 2 Minuten mit gesättigter kalter Boraxlösung alkalisiert und das Ammoniak abdestilliert, so findet man etwa 5 mg (Winter) bis 9 mg (Sommer) Ammoniakstickstoff in 100 g Muskel. Zerreibt man jedoch den Muskeln mit Boraxlösung direct, so findet man etwa 0,5 mg %: folglich hat das Zerreiben mit Wasser eine bedeutende Ammoniakbildung ausgelöst, die durch Zerreiben mit Borax verhindert werden kann. Die Entdeckung dieser traumatischen Ammoniakbildung und der Möglichkeit ihrer Hemmung ergab die Möglichkeit, den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel auf ganz neuer Grundlage zu studieren.

Die Erscheinung der traumatischen Ammoniakbildung wurde in Skellettmuskeln von Wirbelthieren ganz allgemein gefunden, wenn auch der Grösse nach verschieden. In Drüsen (Leber, Niere, Hoden) ist sie nicht zu beobachten. In glatten Muskeln (Magen) ist sie viel geringer, als in Skelettmuskeln, in Herzen ebenfalls meistens gering: nur in Taubenherzen und Schildkrötenmagen wurde eine bedeutende traumatische Ammoniakbildung beobachtet.

Die traumatische Ammoniakbildung im Froschmuskel erfolgt durch Einwirkung eines Fermentes, das in den alkalischen Boratauszug übergeht und durch Neutralisation desselben wieder activiert werden kann, auf einen ebenfalls löslichen Stoff; Harnstoff wird dabei nicht zersetzt. Die Entdeckung der Adenylsäure im frischen Kaninchenmuskel durch EMBDEN und ZIMERMANN ('27) lässt, wie es diese Autoren auch ausgesprochen haben, die Desaminierung der Adenylsäure zu Inosinsäure als den wesentlichen Vorgang der Ammoniakbildung im Muskel erscheinen. Bestimmungen von Adenin im Muskelgewebe, in welchem die Ammoniakbildung verhindert worden ist, und in solchem, in welchem sie abgelaufen ist, zeigte in Froschmuskeln und in Kaninchenmuskeln eine bedeutende Abnahme des Adeningehaltes, jedoch ist noch keine quantitative Übereinstimmung des Adeninschwundes und der Ammoniakbildung erreicht worden.

Die irreversiblen Starren des Muskels sind stets mit einer Ammoniakbildung verknüpft, die quantitativ sich der traumati-

schen Ammoniakbildung nähert, wenn die Starre vollständig ist (so bei Wärmestarre und bei Coffeinstarre). Im überlebenden Muskel geht eine Ammoniakbildung vor sich, die in Fischmuskeln einfach das ammoniakbildende System, das auf traumatische Reize reagiert, aufzehrt, in Froschmuskeln bei niederer Temperatur (12°) dieses System zum Theil intact lässt, in Muskeln von Warmblütern das ammoniakbildende reizbare System schnell aufzehrt und darüber hinaus auch noch desaminiert.

Die Thätigkeit des Muskels ist stets mit Ammoniakbildung verknüpft, sowohl im isolierten Froschmuskel, als auch im in situ belassenen; bei künstlicher Reizung wie auch in Strychninkrämpfen lässt sich stets ein starkes Anwachsen des Ammoniakgehaltes bei der Thätigkeit nachweisen. Die Ammoniakbildung ist der Grösse des Energieumsatzes streng proportional, das Verhältniss des gebildeten Ammoniaks zum Product der entwickelten Spannung und Länge des Muskels höchst konstant (vgl. Tabelle IX) und von Sauerstoffzufuhr unabhängig. Die Anhäufung des Ammoniaks im isolierten Muskel ist irreversibel, das einmal angehäuften Ammoniak verschwindet nicht, soweit es sich nicht verflüchtigt oder nicht herausdiffundiert. Diese Feststellungen stehen im Gegensatz zu den Befunden der Schule von EMBDEN, in deren Mittheilungen angegeben wird, dass im isolierten Muskel bei schwerer Arbeit Ammoniak entsteht, bei leichter und schonender dagegen nicht, und von der die Ammoniakabspaltung im thätigen Muskel als ein reversibler Vorgang angesehen wird.

Die Ammoniakbildung im thätigen normalen menschlichen Muskel wird in der Weise nachgewiesen, dass eine bedeutende Erhöhung des Ammoniakgehaltes im Blut gefunden wird, welches vom thätigen Unterarm in den Ellebogenvenen abströmt.

Der Zusammenhang der Ammoniakbildung mit der Milchsäurebildung im thätigen Muskel ergiebt ein Verhältniss Ammoniak: Milchsäure wie 1 : 14 bis 1 : 10. Eine Neubestimmung der Milchsäurebildung bei der mechanischen Zerstörung des Muskelgewebes hat gezeigt, dass — im Gegensatz zu den Angaben früherer Autoren, die mit zerschnittenem Muskelgewebe gearbeitet haben, — unter den Bedingungen, unter welchen wir die traumatische Ammoniakbildung studieren, eine Milchsäurebildung von 250 mg% innerhalb von 2 Minuten stattfindet. Das Zerreiben mit Borat, das wir zur Hemmung der Ammoniakbildung verwenden,

hemmt die Milchsäurebildung ebenfalls, Zerreiben mit 1/10 n Säure hemmt beide Prozesse. Indessen sind die beiden Vorgänge, Milchsäurebildung und Ammoniakbildung, nicht notwendig mit einander verknüpft: Zerreiben mit Fluorid hemmt die Milchsäurebildung, nicht aber die Ammoniakbildung, Einlegen des Muskels in Fluorid-Ringerlösung hemmt beim Eintreten der Starre die Milchsäurebildung, löst dagegen die maximale Ammoniakbildung aus.

Die möglichen Funktionen der Ammoniakbildung im Muskelprocess werden erörtert. Die Ammoniakbildung ist mit der Muskelcontraction streng verknüpft, und keine Theorie wird vollständig sein, die diesen Vorgang nicht mitberücksichtigt. Als energetischer Factor stellt indessen die Ammoniakbildung einen ganz unerheblichen Posten dar, und es scheint auch unwahrscheinlich, dass sie für die Basen-Säuregleichgewichte im Muskel Bedeutung hätte. Wahrscheinlich sind wir noch von einer Theorie der Muskelcontraction, in welcher der Vorgang der Ammoniakbildung seine richtige Stelle zugewiesen bekommen könnte, noch weit entfernt.

---

#### I.

Badania, których całość zamierzam w pracy niniejszej przedstawić, wyłoniły się z poszukiwań nad amonjakiem krwi, które przez lat kilka stanowiły główny przedmiot pracy naukowej naszej pracowni. Ogłaszając je, pragnę przedewszystkiem wymienić tych, którzy w badaniach nad tym przedmiotem brali czynny udział i do wyników osiągniętych znakomicie się przyczynili. Praca nasza nad amonjakiem we krwi wzięła początek z metody do oznaczania amonjaku na drodze destylacji próżniowej z prądem pary, opracowanej w r. 1924 wspólnie z p. J. Hellerem, asystentem naszego zakładu. Prowadziłem ją po części sam, po części z p. M. Taubenhausem. W roku 1925 przyłączył się do nas p. A. Klisiecki, asystent Instytutu fizjologii, którego świetna technika eksperymentalna umożliwiła opracowanie kilku trudnych zagadnień,

zaś w roku 1926 — p. Wł. Mozołowski, asystent naszego zakładu, który odtąd w pracach tych bierze najżywszy udział. W tymże roku współpracowali z nami pp. M. Taubenhauz i A. Klisiecki.

W początku r. 1927 udało się, wspólnie z p. Wł. Mozołowskim, odkryć powstawanie amonjaku w związku z czynnością i zmianami mięśni; stąd rozwinęły się badania, stanowiące główną treść niniejszej pracy. W pracy nad tym przedmiotem towarzyszył nam w lecie 1927 p. W. Lewiński, asystent Uniwersytetu w Wilnie, a następnie p. St. Chrzęszczewski, asystent naszego zakładu.

W ciężkich dla pracowni naukowych warunkach trudnem byłoby wykonanie prac eksperymentalnych w tak dużym zakresie, gdyby nie pomoc materialna, której nam z kilku stron udzielono. Dziękuję Ministerstwu W. R. i O. P., a szczególnie p. Dyrektorowi Departamentu Nauki, St. Michalskiemu, za przyznanie zasiłku na kontynuowanie tych prac; Fundacji im. Elli Sachs-Plotz w Nowym Yorku, a szczególnie jej stałemu sekretarzowi, prof. F. W. Peabody, za bardzo hojny zasiłek, który był naszą główną pomocą materialną. Fabryce tlenu „Gaz“ w Persenkówce dziękuję za zaopatrywanie nas — bezinteresowne — w ciekłe powietrze.

Wyniki badań, zebrane w niniejszej pracy, podawałem, w miarę ich postępu, najpierw na posiedzeniach Towarzystwa Naukowego we Lwowie<sup>1)</sup>, a następnie, obszerniej, w *Biochemische Zeitschrift*, *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, w *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, oraz w *Klinische Wochenschrift*. Były one ponadto przedmiotem komunikatów na XII Zjeździe Przyrodników i Lekarzy Polskich ('25) w Warszawie<sup>2)</sup>, na XII Zjeździe międzynarodowym Fizjologów w Sztokholmie (sierpień '26)<sup>3)</sup>, w Towarzystwie Biologicznem w Wiedniu (4 marca '27<sup>4)</sup>), oraz na Zjeździe Fizjologów we Frankfurcie (wrzesień '27<sup>5)</sup>); w Sztokholmie i we Frankfurcie demonstrowałem także zasadnicze doświadczenia i metody.

<sup>1)</sup> Drukowane w Sprawozdaniach Towarzystwa Naukowego w latach 1924 — 1928.

<sup>2)</sup> Księga pamiątkowa XII Zjazdu (1926), str. 272.

<sup>3)</sup> Abstracts of Communications to the XII-th International Physiolog. Congress w *Skandinavisches Archiv. f. Physiol.* **46** (199), 1926.

<sup>4)</sup> *Klinische Wochenschrift.* **6** (1118), 1927.

<sup>5)</sup> *Berichte über die ges. Physiologie.* **42** (559), 1927.

## II. Badania nad zawartością amonjaku i nad powstawaniem amonjaku we krwi.

Doniosłość zjawiska powstawania i wydalania amonjaku w ustroju zwierzęcym wynika ze związku tej sprawy z przemianami kwasów aminowych i aminopuryn z jednej strony, z drugiej zaś — ze związku z równowagą kwasów i zasad i regulacją tej równowagi w ustroju zwierzęcym. Odszczepienie pierwotne amonjaku z tych części składowych, których ustrój nie zużywa na odbudowę białek tkankowych, wynikało jasno z doświadczeń, w których wykazano u zwierzęcia (w cukrzycy eksperymentalnej, albo pod działaniem floryzyny) przemianę białka i aminokwasów w cukier. Wynikało ono ponadto z badań nad przemianą aminokwasów rodzimych i sztucznych o rdzeniu aromatycznym; dawało się stwierdzić w doświadczeniach nad wątrobą izolowaną, a nawet w miążdże wątrobowej. Cóż się dzieje z odszczepionymi grupami aminowymi? Czy przetwarzają się odrazu w mocznik, czy też krążą z krwią jako amonjak i przekształcają się dopiero wtórnie w mocznik? Zupełnie dokładnie znane sprawy dezaminacji zasad aminopurynowych rodzimych (adeniny i gwaniny) oraz ich związków nukleozydowych i nukleotydowych prowadziły do podobnego zagadnienia: szczegóły i piśmiennictwo o dezaminacjach zwierzęcych znajdzie czytelnik w znanej monografji DAKINA ('12).

Zdawało się, że możnaby amonjakowi, odpadającemu w sprawach dezaminacyjnych, przypisać rolę zupełnie jasną. Stwierdzono przez prace kliniczne i eksperymentalne (WALTER) fakt, że każdy zalew ustroju zwierzęcego (a szczególnie u zwierząt, zaprawionych do spożywania obfitego w białko pożywienia) przez kwasy w ustroju niepalne, endogeniczne czy egzogeniczne, prowadzi do wzmózonego wydalania amonjaku w moczu, i że amonjak, jako zasada endogeniczna, odgrywa w zobojętnianiu kwasów wydalanych, więc w zaoszczędzeniu zasad mineralnych, rolę nader ważną; ustalenie tych faktów pozwala, zdawałoby się, zrozumieć udział amonjaku dezaminacyjnego w gospodarstwie ustrojowym, a szczególnie w zachowaniu równowagi kwasowo-zasadowej i utrzymaniu obojętnego oddziaływania płynów i tkanek. W tej sprawie odsyłam do referatu mojego (PARNAS '27, str. 450) i referatu OSZACKIEGO ('27), oraz monografji WĘGIERKI ('27).

Stąd wynikło zajęcie się amonjakiem krwi i liczny poczet badań eksperymentalnych, zapoczątkowanych przez NENCKIEGO i ZALESKIEGO ('01). Jeżeli amonjak jest przetworem pośrednim dezaminacji tkankowych, pochodzącym czy to z kwasów aminowych, czy białek jako takich, czy wreszcie z ciał purynowych, to należałoby się spodziewać, że uda się go wykryć we krwi. NENCKI i ZALESKI pierwsi opracowali metodę, zapomocą której można było oznaczać zawartość amonjaku we krwi; polegała ona na destylacji próżniowej krwi rozcieńczonej, zalkalizowanej wapnem, z łaźni 45 stopniowej, później, po wykryciu związanych z alkalizowaniem wapniowym błędów, krwi zalkalizowanej magnezją. W pracy HORODYŃSKIEGO,

SALASKINA i ZALESKIEGO ('02), posługujących się tą metodą, znajdowano we krwi krążenia ogólnego około 0,3 mg amonjaku w 100 g krwi, a we krwi żyły wrotnej około 1 mg na sto g. Na tych liezbach, odpowiadających dawniejszym oznaczeniom NENCKIEGO i ZALESKIEGO, oparła się nauka o dezaminacjach jelitowych, i przetwarzaniu przez wątrobę w mocznik amonjaku, pochodzącego z tych dezaminacyj. Pomijamy w tym przeglądzie wiele prac, które posługiwały się *optima fide* metodami wątpliwymi i wyników nowych nie dały: są one podane w pracy PARNASA i HELLERA ('24, str. 2—4). Zwrot w poglądach na sprawę amonjaku krwi wywołała dopiero w roku 1912 praca FOLINA i DENISA ('12), którzy podali metodę oznaczania amonjaku, dającą większe rękojmie, że amonjak wypędzony ze krwi nie jest przetworem rękoczynów pracownianych, lecz częścią składową i rodzimą krwi.

Krew alkalizuje się przytem mieszaniną sody i szczawianu, amonjak wypędza się w niskiej temperaturze przez prąd powietrza, w ciągu 20 do 30 minut. FOLIN i DENIS znajdowali we krwi krążenia wielkiego tylko około dziesiątej części tej zawartości amonjaku, jaką oznaczali autorowie dawniejsi: stwierdzili ponadto, że amonjak płynie do wątroby tylko w tych gałęziach żyły wrotnej, które prowadzą krew z kiszki grubej. Wynikało stąd, że amonjak krwi wrotnej nie pochodzi, prawdopodobnie, z dezaminacyj ustrojowych w nabłonku jelitowym, jak to przypuszczano, lecz z dezaminacyj gnilnych w świetle kiszki.

Niskie zawartości amonjaku krwi — 0.03 do 0.05 mg na sto  $\text{cm}^3$  — pozostały długo wynikiem, nie powtórzonym przez innych autorów; w latach 1912 do 1917 większość badaczy stwierdzała raczej zawartości podobne do tych, które podała szkoła NENCKIEGO, aniżeli podobne do danych FOLINA. W roku 1917 dopiero potwierdził BARNETT ('17), a w roku 1919 NASH i BENEDICT ('19) spostrzeżenia FOLINA i DENISA. BARNETT zauważył przytem, że amonjak wykazywany w analizach krwi powstaje w dużej części podczas samej analizy. NASH i BENEDICT nie potwierdzili tego; znajdując jednak we krwi ilości amonjaku, wynoszące często mniej niż 1 mg na sto  $\text{cm}^3$  krwi, wykazali przy pomocy prostego obliczenia, że tak drobne stężenia amonjaku nie mogą być źródłem dużych stężeń amonjaku moczowego, i wypowiedzieli ważną hipotezę, że jeżeli amonjak moczowy nie pochodzi z tych drobnych ilości, które krew do nerki doprowadza, to pochodzi oczywiście z nerki samej i jest jej przetworem chemicznym.

Stan, w jakim znajdowała się w roku 1922 metodyka oznaczania amonjaku we krwi charakteryzuje FOLIN w następujących słowach: „Z powodu nadzwyczajnych trudności oznaczania amonjaku we krwi większa część piśmiennictwa jest zajęta dyskusją nad właściwymi sposobami analitycznymi, i po 20 letnich wysiłkach niema wciąż jeszcze uznanej ogólnej metody. Niejasne punkty, jak zanieczyszczenia amonowe w każdym preparacie szczawianu potasowego, praktyczna niemożliwość usunięcia tego zanieczyszczenia przez wielokrotne krystalizowanie, uporeczywe trzymanie się zawartości amonjaku w każdej produkcji alkoholu metylowego i etylo-

wego, powstawanie amonjaku podczas stania krwi i ogrzewania jej: wszystko złożyło się na to, że podawano zawartości amonjaku we krwi, różniące się o setki procentów. Właściwe zawartości amonjaku we krwi są i nadal niepewne“.

Taki stan rzeczy zachęcił nas do zajęcia się sprawami amonjaku krwi, kiedy w roku 1924 wypracowaliśmy, wspólnie z HELLEREM, metodę, o której przypuszczaliśmy, że będzie miała pod wieloma względami wyższość nad sposobami dotychczasowymi oznaczania amonjaku. Ponieważ metodą tą posługiwaliśmy się we wszystkich badaniach — w naszej pracowni — nad krwią i nad mięśniami, które są przedmiotem niniejszej rozprawy, przeto poświęcimy jej nieco więcej miejsca. Opiszemy ją przytem w formie ostatecznej, podanej przez PARNASA i KLISIECKIEGO w r. 1926, w której nadal ją stosujemy.

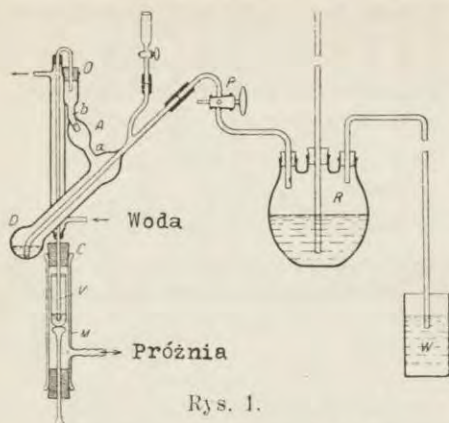
Istota tej metody polega na tem, że dodanie do krwi boranu sodowego nadaje cieczy oddziaływanie słabo zasadowe ( $\text{pH} = 9.3$ ), które ruguje amonjak z soli amonowych i umożliwia wypędzenie go przez strumień gazu, a zarazem, jak się w badaniach naszych okazało, wstrzymuje zupełnie amonjogenezę we krwi. Z krwi w ten sposób utrwalonej — ze względu na sprawy powstawania amonjaku — wypędza się następnie amonjak w próżni zapomocą strumienia pary wodnej.

Odkrycie, że zasadowy roztwór boranu sodowego wstrzymuje amonjogenezę we krwi, było przypadkowe. Boranu sodowego jako zasady rugującej amonjak używał już GAD ANDERSEN (21), ale nie znał zjawisk amonjogenezy we krwi i operując metodą, skądinąd niewłaściwą, znajdował we krwi, mimo użycia boranu, błędne liczby dla zawartości amonjaku.

Destylację próżniową w strumieniu pary wodnej zastosowaliśmy na podstawie następującego rozważania: jeżeli wypędza się amonjak ze krwi przez prąd gazu, to trzeba przepuścić przez płyn dużą jego objętość, ażeby zabrać całość amonjaku. Nie można gazu przepuszczać zbyt szybko, gdyż w takim razie trudno byłoby w odbieralniku, zawierającym niedużą objętość płynu kwaśnego, uwolnić ten prąd gazu od amonjaku i amonjak całkowicie zatrzymać. Jeżeli natomiast przepędzać — pod ciśnieniem 25 mm Hg — prąd pary wodnej, wpadający pod ciśnieniem jednej atmosfery, przez płyn zalkalizowany, i prąd ten przed odbieralnikiem skraplać przez ochłodzenie, to możnaby skutecznie połączyć zalety destylacji próżniowej, destylacji z parą wodną i przewietrzania. Jeżeli, jak to zwykle czynimy, przepędzimy przez płyn badany objętość pary, odpowiadającą 10 cm<sup>3</sup> wody płynnej, to pod ciśnieniem 25 mm odpowiada to przewietrzeniu 380 litrami gazu. Przy wietrzeniu płynów nie można przez płyn przepuszczać prądu szybszego, aniżeli 4 l na minucie, gdyż z prądu bardziej wartkiego odbieralnik nie zatrzymuje całego amonjaku: ażeby przepuścić w takim tempie 380 l, trzeba by wietrzyć przez 96 minut. W naszej metodzie predestylowanie takiej objętości trwa kilka minut.

Przyrząd, którym się posługujemy, był w pierwszej swej formie modyfikacją przyrządu do destylacji Kjeldahlowskiej PARNASA i WAGNERA (21). W modyfikacji nowszej przedstawia go rys. 1.

W kolbie ze szkła „Pyrex” wywiązuje się z rozcieńczonego kwasu fosforowego para wodna, której nadmiar uchodzi przez wentyl wodny (W),



Rys. 1.

Naczynko *D*—stosowane do destylowania amonjaku na gorąco w metodach PARNASA i WAGNERA—jest opatrzone między *P* i *a* rozgałęzieniem rurki doprowadzającej parę wodną; odgałęzienie to dźwiga kurek i lejek, przez który wprowadza się krew do przyrządu. Dolne rozszerzenie kuliste zawiera materiał, z którego ma się amonjak oddestylować. Prąd pary, który unosi amonjak, podąża następnie długimi, szerokimi rurami, *a*—*A* *b*—*O* zmieniając kierunek, ku chłodnicy o srebrnej rurce wewnętrznej. Część przyrządu od górnej kulki *a* do wylotu *O*, w którym osadzona jest chłodnica, ma 200 mm długości, koło *a*—10 mm, koło *b*—12 mm w świetle. Rurka srebrna chłodnicy ma 3 do 4 mm w świetle, przebiega conajmniej na przestrzeni 250 mm w płaszczu chłodnicy i zwisa z płaszcza jeszcze conajmniej na 150 mm (*v*). U dolnego końca płaszcza chłodnicy jest na rurce srebrnej osadzony, w korku gumowym *C*, płaszcz odbiornika *M*. Jest to rura grubościenna, 20 do 22 mm w świetle, z wtopionym wylotem bocznym, t. j. wąską rurką, na którą zakładamy wąż, prowadzący do próżni. W dolnym wylocie płaszcza *M* osadzamy w korku gumowym pręt szklany ruchomy (*u*), zapomocą którego możemy wznosić lub obniżać odbieralnik właściwy: probówkę grubościenną o świetle 16 mm do 18 mm i długości 160 mm.

Do badań nad zawartością amonjaku w mięśniach albo innych narządach używamy odmiany naczynka *D*, w której kulka dolna nie jest połączona na stałe z długą swą szyją, lecz jest do niej doszlifowana.<sup>1)</sup>

Przebieg analizy przedstawia się w sposób następujący:

Woda w *R* wrze intensywnie, kurek *P* jest ustawiony tak, że zamyka zarówno *R* jak i *D*. Kurek lejka jest zamknięty, lejek zawiera kilka cm<sup>3</sup>

<sup>1)</sup> Przyrząd wykonywa doskonale firma R. GOETZE w Lipsku, Nürnbergerstrasse 56. Nowsze modele różnią się od dawniejszych tem, że podpórka odbieralnika jest osadzona w doszlifowanym zamknięciu płaszcza *M*, i główka dolna tej podpórki jest opatrzona szeroką, dokitowaną rękojeścią.



parafiny płynnej i 5 do 10 cm<sup>3</sup> roztworu boranowego, sporządzonego w sposób następujący: czysty boraks rozpuszcza się w wodzie gorącej, gotuje przez godzinę, ochładza do 15° i zlewa roztwór po wykrystalizowaniu się boraksu. Kurek między płaszczem odbieralnika a pompką próżniową, z włączonym manometrem, jest zamknięty. W rurce odbieralnika znajduje się 5 kropeł kwasu solnego 0,1 n, rurka srebrna chłodnicy zanurza się w tym płynie.

Otwieramy kurek prowadzący do próżni i wypróżniamy przyrząd destylacyjny tak, ażeby manometr wskazywał co najmniej 25 mm Hg. Spuszczamy z lejka boran i parafinę do kulki *D* i zamykamy lejek, który winien jeszcze zawierać kilka cm<sup>3</sup> parafiny. Przystawiamy kurek *P* ostrożnie tak, ażeby para wodna wpływała do kolbki *D*; obserwując manometr i wyczuwając ręką temperaturę kolbki *D*, regulujemy przytem kurek *P*, i ustawiamy odbieralnik, obniżając go ciągle tak, ażeby wylot rurki srebrnej—w chłodnicy krąży żywy prąd wody chłodzącej—zaledwie zanurzał się w płynie pochłaniającym amonjak. Prowadzimy destylację tak (jest to rzecz wprawy), aby w ciągu 3 do 6 minut w odbieralniku zebrało się 5 do 10 cm<sup>3</sup> płynu, a przytem płyn destylowany nie ogrzewał się powyżej 35° i ciśnienie nie wzrosło powyżej 30 mm Hg.

Skręcamy kurek *P*, zamykając *D* i *R*, poczem kolbka ochładza się prędko do temperatury pokojowej; wtedy obniżamy rurkę odbieralnika tak, ażeby chłodnica już nie zanurzała się, zamykamy kurek od strony próżni, a następnie otwieramy kurek *P* tak, ażeby powietrze powoli wpłynęło do wnętrza przyrządu. Zdejmujemy korek z wylotu płaszcza odbieralnika i wyjmujemy rurkę. Po dodaniu odczynnika NESSLERA oznaczamy ilość przedestylowanego amonjaku w kolorymetrze WOLFFA, porównując z odpowiednio dobranym,—według zabarwienia w płynie badanym—plynem wzorcowym; plyn ten sporządzamy z roztworów siarczanu amonowego.

To była „próbą ślepa“: wykaże ona z a w s z e pewną zawartość amonjaku. Powtarzamy destylację zawartych w przyrządzie chemikaljów (do wymienionych odbieralników) dopóty, dopóki plyn przedestylowany będzie się barwił po dodaniu odczynnika nesslerowskiego. Jeżeli destylat nie da już odczynu na amonjak, to przedestylujemy raz jeszcze i odstawimy destylat, bez dodania odczynnika Nesslerowskiego.

Przekonaliśmy się w ten sposób, że przyrząd i użyte chemikalja są wolne od amonjaku, albo też uwolniliśmy je od amonjaku. Jeżeli mamy analizować krew, to przed pierwszą próbą dodamy do boranu nieco szczawianu sodowego, który przez destylacje kontrolujące uwolnimy zupełnie od zanieczyszczeń amonjakowych.

Możemy przejść do analizy samej. Przyrząd jest wypróżniony, kocioł *R*—pod parą. Pod parafiną w lejku wpuszczamy 2 cm<sup>3</sup> krwi z ostwaldowskiej pipety, albo wprost ze strzykawki, i otwierając stosownie kurek, pozwalamy jej wpłynąć powoli do kolbki: przytem kurek *P* jest tak ustawiony, że do kolbki wpływa minimalny prąd pary. Krew pod parafiną daje się wpuścić do kolbki bez straty, gdyż nie zwilża ona natłuszczonych ścian: w razie potrzeby można spłókać ją parafiną, albo też czystą wodą wodociągową, wolną od amonjaku. Kiedy krew spłynęła, wtedy zwią-

kszamy prąd pary i rozpoczynamy destylację szybszą, podobnie jak przy próbie ślepej, uważając jednak na możliwość pienienia krwi. Parafina tłumi pianę: istnieją jednak rodzaje krwi, jak np. krew barania, bardzo z powodu pienienia przykre. Krew ludzka, królicza i psia nie sprawiają trudności.

Po zakończeniu destylacji odstawiamy destylat i zmieniamy odbieralnik, poczem wykonywamy destylację kontrolującą dla sprawdzenia, czy całość amonjaku przeszła do odbieralnika. Jeżeli destylat drugi nie jest wolny od amonjaku, to dodajemy go do pierwszego i destylujemy po raz trzeci, aż do osiągnięcia destylatu czystego. Jeżeli destylowano  $\geq 2$  cm<sup>3</sup> krwi, a krew nie zawierała więcej aniżeli 2 mg azotu amonjakowego w 100 cm<sup>3</sup>, to zazwyczaj destylat drugi jest już czysty.

Początkujący albo pracujący nad przedmiotem jeszcze niezbadanym, może zastosować jeszcze kontrolę trzecią, a mianowicie doda do zawartości kolbki (po destylacji krwi) oznaczoną ilość wzorca amonjakowego, np. zawierającą 0.02 mg azotu; wykona następnie destylację, i przekona się, że całość dodanego amonjaku odnajdzie w płynie przedestylowanym.

Podany tu system kontrol wyklucza zarówno zanieczyszczenie przez amonjak zawleczony z zewnątrz, jako też i możliwość niezupełnego wypędzenia amonjaku z materiału badanego. Kontrola trzecia sprawdza, czy warunki podczas destylacji były takie, że sole amonowe, zawarte w materiale badanym, musiały oddać całość amonjaku.

Jeżeli analizujemy nie ciecze ciała, lecz tkankę, to używamy naczynka destylacyjnego, wspomnianego powyżej, z kulką odłączalną; przygotowujemy wszystko do destylacji, jak opisano, odejmujemy kulkę, spłukujemy do niej materiał badany, dołączamy ją do aparatu i destylujemy.

Lejek zawiera wtedy tylko nieco parafiny płynnej, ażeby móc stłumić, w razie potrzeby, pianę.

Porównywamy kolorymetrycznie w kolorymetrze WOLFFA, w którym całość amonjaku analizowanego wywołuje barwę, a rozcieńczanie do określonych objętości jest zbyt ciężkie. Stary instrument Kruessowski, dopelniony pryzmatami oświetlającymi obydwie połowy pola widzenia równomiernie z jednego punktu, oraz nowymi doskonałymi cylindrami Hehnerowskimi o średnicy 125 i wysokości 150 mm oddaje nam jaknajlepsze usługi; wolimy go od nowoczesnych, bardziej złożonych instrumentów. W sprawach amonjogenezy chodzi zresztą o wychylenia na setki i tysiące odsetek, i można przeprowadzić kolorymetrię przy użyciu serji jednakowych próbek, bez specjalnego instrumentu optycznego.

Co do dokładności metody, odsyłamy do pracy PARNASA i TAUBENHAUSA ('25, str. 300).

Zastosowanie metody, jak ją tu opisałem, do krwi — pierwsze badania odnosiły się do krwi króliczej — wykazały, że oznacza się rzeczywiście amonjak, zawarty we krwi w stanie wolnym, albo jako sole amonowe, i że sama procedura nie powoduje powstawania amonjaku z jakichkolwiek ciał, zawartych we krwi. Najpoważniejszym na to dowodem jest fakt, że można w badanych próbach krwi króliczej znaleźć 0.02 mg azotu amonjakowego w 100 cm<sup>3</sup> krwi, jeżeli

krew jest pobrana bezpośrednio z żyły, albo sto razy więcej — 2 mg % — jeżeli stała przez dobę; przy czem ponowna destylacja, powtórzona po upływie kilkunastu minut lub godziny, nie wykazuje już amonjaku, któryby po pierwszej powstał. Odczynniki i destylacja nie powodują zatem tworzenia się amonjaku we krwi, lecz ujawniają tylko amonjak we krwi istniejący, amonjak gotowy.

Pierwsza praca (PARNAS i HELLER '24) zajmowała się wyłącznie krwią królika. Wynikiem jej głównym było stwierdzenie, że krew świeżo dobytą zawiera u normalnych samców lub samiczek dorosłych ilości około 0.05 mg azotu amonjakowego w 100 cm<sup>3</sup> krwi; ale że we krwi, wypuszczonej z naczynia, powstanie o wiele więcej amonjaku z szybkością, zależną od temperatury; po upływie 24 godzin krew, trzymana w temperaturze 20°, zawiera już blisko 1.8 do 2 mg w stu cm<sup>3</sup> krwi. A monjogenezę tę we krwi izolowanej wstrzymuje podczas analizy oddziaływanie zasadowe roztworu boranowego.

Amonjogeneza we krwi zatrzymuje się, kiedy zawartość amonjaku dojdzie do około 2.2 mg %. Zatrzymanie reakcji nie polega na zahamowaniu jej przez przetwory reakcji, lecz na wyczerpaniu ciała macierzystego, dodanie bowiem soli amonowych do krwi nie wpływa na przebieg amonjogenezy. Reakcja tworząca amonjak jest sprawą beztlenową, przebiega jednakowo w atmosferze tlenowej i we krwi, znajdującej się, po usunięciu tlenu, w azocie. Amonjak powstaje przeważnie w krwinkach, w osoczu odbywa się tylko drobna część amonjogenezy. Nie wpływa na szybkość powstawania amonjaku ani hemoliza, ani dodanie fluorku, wstrzymującego tak skutecznie glikolizę we krwi. Szybkość reakcji zależy od oddziaływania krwi; wpływając na oddziaływanie przez zmienianie ciśnienia dwutlenku węgla mogliśmy stwierdzić, że zwiększenie stężenia jonów wodorowych zmniejsza szybkość amonjogenezy, w stosunku do świeżej krwi żyłnej, a zmniejszenie eH zwiększa ją tak, że optimum reakcji leży w oddziaływaniu krwi uwolnionej od gazów. Dalsze alkalizowanie hamuje i wstrzymuje wreszcie, przy pH = 9.3, zupełnie amonjogenezę.

Co do źródła amonjaku krwi, to stwierdziliśmy tyle, że należy go szukać w ciałach, należących do związków azotowych niebiałkowych krwi. Zawartość azotu niebiałkowego, zawartość mocznika, zawartość kwasów aminowych nie ulega zupełnie zmianie wskutek amonjogenezy we krwi izolowanej (PARNAS i HELLER '24, PARNAS i TAUBENHAUS '25, PARNAS '25). We krwi odbiałzonej znajduje się ciało, z którego po dodaniu do krwi świeżej odszczepia się amonjak (PARNAS i TAUBENHAUS '25). W świetle faktów, ustalonych później przez innych badaczy, wydaje się prawdopodobnem, że ciała macierzystego amonjaku, powstającego w krwi, należy szukać w grupie nukleozydów albo nukleotydów aminopurynowych, a w szczególności — adeninowych <sup>1)</sup>. Ze nie może być źródłem amonjaku kwas cja-

<sup>1)</sup> Por. uwagi w dyskusji JOSTA na zjeździe fizjologów we Frankfurcie (wrzesień 1927), streszczone w *Berichte über die ges. Physiologie.* 42, str. 561 (7. XII. 1927).

nowy, któremu rolę tę w latach ostatnich przypisywano, udowodnili to MOZOŁOWSKI i TAUBENHAUS w osobnej pracy ('26). Porównanie krwi różnych gatunków zwierząt wykazało, że zarówno ze względu na zawartość amonjaku jak i na amonjogenezę istnieją różnice bardzo znaczne (PARNAS '25). We krwi ludzkiej spotykamy stosunki bardzo podobne, jak w króliczej: bardzo małą zawartość amonjaku i bardzo szybką amonjogenezę. Podobnie zachowuje się krew wieprzowa, kurza, gołębia. We krwi psiej, końskiej, bydłowej znajdujemy więcej amonjaku, i bardzo powolne jego powstawanie (PARNAS '25, PARNAS i KLISIECKI '26, I i II). Wartości normalne dla krwi ludzkiej oznaczył KLISIECKI ('26) w pracy, w której analizował 39 prób krwi zupełnie świeżej osób młodych i zdrowych: analizy były wykonane tak, że między wkluciem igły do żyły a zakończeniem destylacji nie upływało więcej jak 5 minut, a niekiedy tylko 3 minuty. KLISIECKI znajdował około 0.025 mg azotu amonjakowego w stu  $\text{cm}^3$  krwi, z wahaniami od 0.011 do 0.032 mg %.

Epizod w ciągu tych prac stanowiła dyskusja z G. FONTÉS'EM ('26) nad kwestją, czy należy uważać za rzeczywiste te zawartości amonjaku, które we krwi znajdujemy. FONTÉS skłania się do poglądu na podstawie pracy, w której podał Nieliczne oznaczenia amonjaku we krwi (FONTÉS i JOWANOWICZ '25), że drobne zawartości, które można stwierdzić po zastosowaniu dobrych metod, są jednak tylko wytworem amonjogenezy pośmiertnej i że krew rodzima amonjaku zupełnie nie zawiera. W przeciwstawieniu do tego poglądu utrzymuję, że oznaczone za pomocą naszej metody zawartości amonjaku we krwi są wyrazem rzeczywistego składu krwi, zmiennego zależnie od warunków fizjologicznych, zależnego od gry czynników doprowadzających amonjak do krwi, tworzących go we krwi i usuwających go z krwi. Wynikiem gry tych czynników jest drobna zawartość amonjaku we krwi, która może jednak wzrosnąć znacznie, jeżeli działanie czynników usuwających amonjak z krwi będzie upośledzone. W sprawie dyskusji nad tym przedmiotem odsyłam do mojej publikacji (PARNAS '27, I).

Zastosowanie nowej metody wykryło i ustaliło tyle nowego o amonjaku krwi, że mogło rokować nadzieje wyjaśnienia bilansu amonjakowego ustroju oraz pochodzenia amonjaku moczowego. Wspólnie z KLISIECKIM próbowaliśmy wykryć wahania zawartości amonjaku we krwi, zależnie od czynników takich, jak zatrucie kwasowe, głód, duszność; jednocześnie z nami prowadzili podobne badania, eksperymentalne i kliniczne, ADLERSBERG i TAUBENHAUS. Szukaliśmy pozatem źródła amonjaku we krwi krążącej. Udało się wykazać, że ten sam proces amonjogenezy, który tworzy amonjak we krwi wypuszczonej, odbywa się także we krwi, pozostającej w naczyniach, np. w sercu i dużych żyłach (PARNAS i KLISIECKI '26, II). W inny sposób wykazali tę amonjogenezę śródnaczyniową KLISIECKI, MOZOŁOWSKI i TAUBENHAUS ('26): badając zawartość amonjaku we krwi psa, wyrzuconej przez śledzionę wskutek drażnienia nerwu trzewnego—a zatem krwi, która pozostawała długo w zastoinie fizjologicznej—stwierdzili, że krew śledziony zawiera więcej amonjaku, aniżeli krew płynąca w żyłach lub tętnicach krążenia dużego. Jeżeli krew pozostawała tylko krótko

w śledzienie — drażnionej wkrótce po wypróżnieniu narządu i ponownem wypełnieniu krwią — to zawartość w niej amonjaku nie różniła się od zawartości we krwi innych naczyń.

Podawanie dożylnie kwasów (fosforanu jednosodowego) oraz wywoływanie stanu kwasicy gazowej przez oddychanie powietrzem, zawierającym dużo CO<sub>2</sub>, nie powodowało znacniejszego zwiększenia zawartości amonjaku we krwi: wahania nie były regularne i mieliśmy wrażenie, jakgdyby zależały one od czynników innych, aniżeli podany kwas. W doświadczeniach tych natrafiliśmy na czynnik nowy.

W krwi królika, któremu podano dożylnie fosforan jednosodowy i mocznik, znaleziono podczas agonji dużo amonjaku. Poszukiwanie czynników, które wywołały tę amonemję, stwierdziło, że amonjak gromadzi się we krwi w ilościach bardzo dużych podczas samej agonji, i że w ciągu kilku minut amonemja dochodzi do 1 mg %, wartości daleko wyższej, niż jakakolwiek spotkana w analizach naszych świeżej krwi rodzimej. Po śmierci zwierzęcia sumuje się z amonemją agonialną amonjogeneza dalsza śródnaczyniowa. Amonemja agonialna nie zależy od rodzaju śmierci zwierzęcia.

Dalsza analiza amonemji agonialnej, uwzględniała trzy czynniki; brak tlenu (anoksemję), nadmiar dwutlenku węgla i zastoinę tkankową krwi. Okazało się, że anoksemja jest czynnikiem, wywołującym hipera-  
monemję: jeżeli królik oddycha powietrzem ubogiem w tlen, to zawartość amonjaku we krwi wzrasta wielokrotnie w stosunku do wartości prawidłowych i powraca do zawartości pierwotnej po ponownem zastosowaniu oddychania powietrzem zwykłym, albo tlenem. To samo zjawisko stwierdzono po zatruciu tlenkiem węglowym i również — odwracalnie.

Zródłem amonemji niedotlenowej (hipoksemicznej) okazał się amonjak kiszkowy. Powtarzając klasyczne doświadczenia NENCKIEGO, FOLINA i DENISA, HENRIQUEZA i CHRISTIANSENSA, stwierdziliśmy, że różnica między zawartością amonjaku we krwi żył wrotnych a krążenia ogólnego jest raczej większa, aniżeli się to zaznaczało w analizach dawniejszych badaczy. Krew z żyły kręzkowej kiszki ślepej królika zawiera 50 razy więcej amonjaku, aniżeli krew tętnicy kręzkowej tegoż odcinka przewodu pokarmowego. Jelito czeze, kręte, grube<sup>1)</sup> oddają również do krwi amonjak, ale różnica między zawartością amonjaku w żyłach wrotnych i tętnicznych tych części jest znacznie mniejsza. Krew wrotna mieszana może jednak zawierać 30 do 40 razy więcej amonjaku, aniżeli krew tętnicza.

Wątroba usuwa z krwi wrotnej amonjak tak dokładnie, że krew żyły wątrobowej zawiera tylko tyle amonjaku, co krew tętnicza. Ale sprawność tej funkcji wątrobowej zależy od zaopatrzenia wątroby w tlen. Jeżeli zwierzę oddycha powietrzem ubogiem w tlen, lub jeżeli jest zatrute tlenkiem węgla, to w żyłę wątrobowej płynie krew, zawierająca np. 0.36 mg % azotu amonjakowego. Wystarczy nawet ograniczyć za-

1) Najmniejszą nadwyżkę znajdujemy we krwi wrotnej kiszki prostej.

opatrzenie wątroby w tlen przez przewiązanie tętnicy wątrobowej, ażeby wywołać hiperamonemję. Wkrótce po tem wykryciu hiperamonemji eksperymentalnej opisali ADLERSBERG i TAUBENHAUS hiperamonemję nie dotlenową u osób z rozedmą płuc i z wyraźnem niedotlenieniem krwi.

Hiperamonemja agonalna jest zatem szczególnym przypadkiem hiperamonemji anoksemicznej, amonjak pochodzi z kiszki ślepej i z jelita, a do krążenia dostaje się on wskutek uwarunkowanej przez brak tlenu, odwracalnej niedomogi wątrobowej.

Oprócz spraw gnilnych przewodu pokarmowego wystąpiło w doświadczeniach PARNASA i KLISIECKIEGO jeszcze jedno źródło amonjaku: u samiec ciężarnych krew żylna macicy zawiera zawsze więcej amonjaku, aniżeli krew żylna innych narządów.

Rzecz dziwna, że w doświadczeniach nad zastoiną tkankową (w których, na przykład, pozostawiano krew w nodze tylnej królika, zaciskając najpierw żyłę udową, następnie — tętnicę) nie mogliśmy zupełnie dostrzec zwiększenia amonjaku we krwi, wypuszczonej po kilkudziesięciminutowej zastoinie. Krew taka zawiera mniej amonjaku, aniżeli krew, która przez taki sam przeciąg czasu zalegała w żyłę głównej dolnej albo w sercu. Zjawiska tego nie umieliśmy i nie umiemy wytłumaczyć. Możliwość wnioskować, że amonjogeneza odbywająca się we krwi, ujawniająca się we krwi izolowanej albo w dużych naczyniach, prowadzi w prawidłowej przemianie do przetworów innych, aniżeli amonjak, i to przez wymianę azotu — z ciała macierzystego amonjaku — z ciałami, których siedliskiem są tkanki.

Badania, które streściliśmy, ujawniły zatem wiele szczegółów, ale nie wyjaśniły ani pochodzenia amonjaku moczowego, ani też drogi, przez którą on dostaje się do nerki i moczu. Ujawnione źródła amonjaku normalnie zubożniają wątrobę, jak to już stwierdzili NENCKI i ZALESKI, przekwaszenie ustroju nie paraliżuje tego „wiernego strażnika ustroju“. Nowe zjawisko hiperamonemji anoksemicznej nie ma wyraźnego związku z amonurją kwasową. Doświadczenia<sup>1)</sup> MOZOŁOWSKIEGO i CHWALIBOGOWSKIEGO, w których starano się ustalić bilans źródeł amonjaku i czynników, usuwających amonjak ze krwi, wykazały nader szybkie znikanie wprowadzonego do krwi amonjaku, tak jak gdyby pierwszy akt wychwytywania amonjaku ze krwi odbywał się w ogóle tkanek (nietylko w wątrobie), a potem dopiero wątroba przerabiała powoli amonjak w mocznik, odbierany krwi, utrzymującej się na miernym stopniu hiperamonemji. Prace, ogłoszone w latach ostatnich przez inne grupy badaczy, nie wyjaśniły również pochodzenia amonjaku moczowego. Piękna praca CHOŁOPOWA ('26) z pracowni LONDONA, w której badano amonjak we krwi psów z angjostomją londonowską, doprowadziła do wyników podobnych, jak praca PARNASA i KLISIECKIEGO ('26, II). Prace FONTÉSA nie przysporzyły nowego materiału eksperymentalnego: mówiliśmy o nich już powyżej. Praca obszerna S. BLISSA ('26) z pra-

<sup>1)</sup> Nieogłoszone.

cowni FOLINA dowodzi, że krew unosi amonjak z każdej tkanki, a szczególnie z gruczołów trawiennych; pod względem eksperymentalnym praca ta nie wydaje się ścisłą (BENEDICT i NASH '27) dlatego, że autor zupełnie nie bierze pod uwagę amonjogenezy we krwi samej. Doświadczenia BORNSTEINA i KEITELA ('26), w których autorowie przetaczali przez tylne odnóża psa krew bardzo bogatą w amonjak i znajdowali nieznaczny jego ubytek, nie są pod względem eksperymentalnym zupełnie jasne; wyniki ich są trudne do interpretowania. Istotę amonurji tłumaczy dzisiaj zawsze jeszcze najlepiej teoria NASHA i BENEDICTA, oddzielająca zupełnie amonurję od amonemji i przyjmująca pochodzenie nerkowe amonjaku moczowego.

Dalsze poszukiwania źródeł amonjaku w ustroju naprowadziło nas na wykrycie amonjogenezy mięśniowej i rozszerzyło znacznie pojęcia o amonjogenezie tkankowej, wykazując przytem łączność tego procesu z funkcją mechaniczno-chemiczną tkanki. Z tych badań zdamy obszernie sprawę w dalszym ciągu niniejszej publikacji.

### III. O powstawaniu amonjaku (amonjogenezie) w mięśniach.

Gdy rozpoczęliśmy pierwsze doświadczenia nad zawartością amonjaku w mięśniach, piśmiennictwo fizjologiczne zawierało tylko nieliczne i przeważnie niepewne dane. Przemiana węglowodanowa była przedmiotem licznych i wybitnych badań, zwłaszcza w okresie po roku 1906; natomiast na przemianę azotową tkanki mięśniowej zwracano mało uwagi. Obszerne sprawozdania referatowe z ostatnich czasów, traktujące na setkach stron o przemianie węglowodanowej i związanych z nią przemianach kwasu fosforowego i mlekowego, poświęcają przemianie azotowej, poza kreatyną, tylko po kilka wierszy (EMBDEN '25, str. 459, FÜRTH '25, CAHN '26). Podamy pokrótce treść ważniejszych prac.

GAD ANDERSEN określił w r. 1919 zawartość amonjaku i mocznika w mięśniach psów, szczurów i żab z pomocą metody, która utrzymywała stan chemiczny mięśni przez roztarcie w alkoholu, ochłodzonym do  $-20^{\circ}$ . W wyciągu oznaczono następnie zawartość amonjaku po odpędzeniu go w próżni, a mocznik — po uprzednim rozłożeniu zapomocą ureazy.

Analizy GAD ANDERSENA wykazywały, że we wszystkich rodzajach badanych mięśni odbywa się w przeciągu kilku godzin po śmierci zwierzęcia rozkład mocznika, rozpadającego się na amonjak, przyzem suma azotu mocznikowego i amonjakowego pozostaje stałą i równą zawartości mocznika we krwi danego zwierzęcia.

Wyniki te były w sprzeczności z danymi innych autorów. W r. 1913/14 MARSHALL zastosował metodę ureazową do oznaczania mocznika w mięśniach, a wkrótce potem SUMNER ('16) oznaczył zawartość amonjaku oraz mocznika w mięśniach kotów i świnek morskich. W posiekanych mięśniach kota zawartość amonjaku (liczonego jako azot) wynosi 10 do 15 mg na sto gramów, suma amonjaku i mocznika 24 do 32.7 mg %.

Na szczególną uwagę zasługują analizy HOAGLANDA z MANSFIELDDEM ('17) i z MC BRYDE oraz POWICKEM ('17). Stwierdzono na całych ćwiartkach bydłęcych, trzymanyh jałowu w temperaturze 37°, że zawartość amonjaku wzrosła w ciągu 101 dni z 8.7 mg % na 62.9 mg %; natomiast zawartość mocznika, jak przekonano się w doświadczeniu podobnem, trwającem 47 dni, nie ulega zmianie.

W ciągu prac nad sprawami chemicznemi i energetyką mięśniową zajmowali się MEYERHOFF, LOHMANN i MEIER ('25) powstawaniem amonjaku w mięśniach. Badacze ci nie mogli znaleźć zmian zawartości amonjaku w mięśniach żabich: ani w czasie czynności tych mięśni, ani też w wypoczynku, w czasie przechowywania beztlenowego oraz w stanie sężenia. Wyniki te były zgodne z dawniejszemi pracami PARNASA i WAGNERA ('14), którzy nie mogli wykryć zmian zawartości azotu aminowego w podobnych zmianach mięśni. Natomiast wytwarzały amonjak mięśnie przepony szczura, przechowywane w zmoderowanym płynie RINGERA przy dostatecznym dostępie tlenu i w temperaturze 37°, szczególnie, jeżeli mięśnie pochodziły ze zwierząt głodzonych i zawierały niewiele glikogenu. Jeżeli płyn RINGERA zawiera cukier gronowy, kwas mlekowy lub pyrogronowy, to mięśnie tworzą mniej amonjaku; także warunki beztlenowe wstrzymują powstawanie amonjaku. Zawartość początkowa amonjaku w mięśniach, użytych do doświadczeń przez MEYERHOFFA, LOHMANNA i MEIERA, wynosiła 2.75 do 5 mg %, a podczas doświadczeń, trwających od dwu i pół do sześciu godzin, powstawało od 0.6 do 1.94 mg % azotu amonjakowego na godzinę.

Wyniki doświadczeń MEYERHOFFA, LOHMANNA i MEIERA można było interpretować w ten sposób, że w braku węglowodanów w mięśnie czerpią materiał palny z aminokwasów białkowych, odszczepiając z nich amonjak w procesie tlenowym. Podobne procesy dezaminacyjne, zależne od podaży węglowodanów i tlenu, stwierdzili przedtem WARBURG, NEGELEIN i POSENER na skrawkach tkanek gruczołowych oraz nowotworowych, i na siatkówce ('24).

Wypada przytoczyć także pracę LEE i TASHIRO (22), którzy badali przenikanie amonjaku z mięśni żabich do umieszczonej w tej samej zamkniętej przestrzeni kropli kwasu. Autorowie ci stwierdzili m. i., że z mięśni spoczywających dobywa się amonjak, natomiast nie dobywa się on ani z mięśni pracujących tężcowo, ani z miazgi mięśniowej. Metoda LEE i TASHIRO nie dowodzi, należy to z naciskiem zauważyć, powstawania amonjaku w mięśniu, lecz tylko ulatniania się tego ciała z mięśnia.

Nie przytaczamy tu prac, których metodyka wydaje się zgóry wątpliwą, szczególnie zaś tych, które zajmują się zjawiskami autolizy, występującemi późno po wycięciu tkanki. Trudno, oczywiście, w wielu przypadkach rozgraniczyć pojęciowo sprawy autolityczne od spraw przeżywania. W poszczególnych przypadkach jednak można te procesy odróżnić: tak np. można uznać zjawiska, opisane przez MEYERHOFFA, LOHMANNA i MEIERA, za sprawę przeżywania, gdyż występują one w pełni natężenia bezpośrednio po odosobnieniu tkanki i zależą od obecności tlenu:



natomiast za sprawę autolityczną można uważać powstawanie amonjaku w mięśniach posiekanych, które zaczyna się dopiero w kilka godzin po zmiżdżeniu tkanki, jak podaje POPOVICIU ('26), albo w trzymanyh mięsiami ćwiartkach wołowiny, jak w badaniach HOAGLANDA ('17).

Prace nasze nad powstawaniem amonjaku w mięśniach rozwinęły się nie w związku z pracami podanemi w powyższem zestawieniu piśmiennictwa, lecz wyszły ze spostrzeżenia przypadkowego. Szukając źródła amonjaku, leżącego poza łożyskiem krwi, chcieliśmy oznaczyć zawartość amonjaku w poszczególnych tkankach. Mięsień łydkowy żaby, roztarty z piaskiem kwarcowym i wodą, zaalkalizowany następnie boranem sodowym i poddany destylacji z parą wodną w próżni, zawierał, jak się okazało, 6 mg azotu amonjakowego na 100 g tkanki. Drugi, symetryczny mięsień tej samej żaby, roztarty odrazu z roztworem boranu, dał tylko 0.5 mg  $\text{NH}_3\text{—N}$  na sto g. Powtórzenie doświadczenia potwierdziło wyniki pierwotne: tkanka roztarta w przeciągu 2 minut z wodą i z kwarcem dawała 4 do 6 mg % azotu amonjakowego, roztarta zaś z boranem i kwarcem — 0.4 do 0.6 mg %.

Wynika stąd, że roztarcie na miazgę mięśni z piaskiem kwarcowym i wodą powoduje utworzenie amonjaku, którego w tkance pierwotnie nie było: a zarazem, że przez roztarcie z roztworem nasyconym boranu sodowego można proces powstawania amonjaku stłumić.

Stwierdzenie faktu, że tkanka mięsna zawiera układ, w którym bodziec urazowy — mechaniczne uszkodzenie struktury — powoduje w czasie bardzo krótkim wytworzenie kilku miligramów amonjaku na sto gramów mięśnia, otworzyło nam oczywiście nowe perspektywy: układ taki może mieć znaczenie fizjologiczne; należało więc szukać zmian, jakim on ulega, a w szczególności wywiązywania amonjaku w zależności od czynności oraz od stanów mięśnia. Wstrzymanie rozpadu układu amonjakerodnego przez działanie boranu dawało możność oznaczania zawartości amonjaku w różnych stanach mięśnia: jeżeli roztarcie świeżego mięśnia z boranem pozwala utrwalić i udostępnić analizie chemicznej zawartość pierwotną (zapewne minimalną) amonjaku, to roztarcie z boranem mięśnia znużonego, znużonego i wypoczętego, stężełego po śmierci, pod wpływem ciepła, ko-

feiny lub chloroformu, pozwoli oznaczyć zawartość amonjaku w danych stanach. Mieliśmy przed sobą dziedzinę zupełnie nową: dopóki nie znano zjawiska amonjogenezy urazowej, to zjawisko takie musiało zakryć wszelkie wahania zawartości amonjaku w mięśniach badanych. Sytuacja była podobna—*si parva magnis comparare licet*—do tej, w jakiej znajdowali się FLETCHER i HOPKINS ('06), którzy, poznawszy przebieg urazowego powstawania kwasu mlekowego w mięśniach, zdołali wyświetlić sprawę powstawania i znikania tego kwasu w mięśniach czynnych.

### V. Metody.

Dla utrwalenia stanu mięśnia służyło roztarcie tkanki—około 1 g lub mniej—z kwarcem i boranem. Rozcieramy w moździerz szklannym szorstkim, zapomocą tłuczka dużego, umożliwiającego przy energicznym miazdzeniu niemal natychmiastowe rozdarcie tkanki i wymieszanie jej z roztworem utralającym: w przeciągu 15 sekund mięsień zamienia się w luźną miazgę. Roztarcie takiemu pomaga użycie kwarcu: preparat drobnoziarnisty (pro analysi de Haena), wyżarzony poprzednio, oddawał nam najlepsze usługi.

Roztwór boranu sporządza się przez rozpuszczenie czystego boraksu na gorąco i wykrystalizowanie nadmiaru w temperaturze 15°; zlany płyn gotuje się przez godzinę celem uwolnienia od amonjaku, dopełnia wodą do pierwotnej objętości i przechowuje w szczelnem naczyniu. Roztwór taki ma  $\text{pH} = 9.3$ .

Mięsień preparuje się oczywiście jaknajstaranniej i odważa się szybko na wadze skrętowej, pozwalającej ważyć do 2000 mg, a w której jedna działka oznacza 5 mg.

Niekiedy utralaliśmy stan mięśnia przez zamrożenie go w ciekłym powietrzu. Sposób ten jest bardzo wygodny, gdyż pozwala przechowywać mięśnie godzinami i analizować je następnie, pozwala wreszcie w niektórych doświadczeniach utrwalić mięsień szybciej, aniżeli przy stosowaniu innych zabiegów. Mięso zamrożone do  $-180^{\circ}$  dochodzi do temperatury kilkudziesięciu stopni niżej zera po kilkunastu minutach; preparat taki, po dobyciu go z ciekłego powietrza, można wygodnie łupać na mniejsze kawałki, odważyć na wadze skrętowej, a następnie utwalić ostatecznie przez stłuczenie w moździerz i roztarcie z boranem.

Przekonaliśmy się później, że można utrwalić stan chemiczny mięśnia także przez roztarcie w kwasie solnym lub siarkowym 1/10 n lub bardziej stężonym, albo w kwasie trójchlorooctowym 4 %-owym; zależnie od celu badania, stosowaliśmy te różne metody. Jeżeli chodzi o oznaczanie amonjaku, to boran ma tę zaletę, że najłatwiej otrzymać go i utrzymywać w stanie wolnym od amonjaku, który w atmosferze pracowni tak łatwo do roztworów przenika.

Nasuwa się pewien zarzut przeciw utrwalaniu mięśnia zapomocą boranu: można bowiem przypuszczać, że z miazgi o oddziaływaniu zasadowem uchodzi przy rozcieraniu nieco amonjaku. Zajmowaliśmy się krytycznie tą sprawą i przekonaliśmy się, że z tak rozcieńczonego roztworu (setne miligramna amonjaku w około 5 cm<sup>3</sup> wody) w warunkach naszych doświadczeń nie uchodzą ilości uchwytnie amonjaku. Przykład takiej kontroli znaleźć można w poprzedniej pracy naszej (PARNAS i MOZOŁOWSKI '27, I, str. 403, notatka).

Amonjak oznaczaliśmy w miazdze boranowej zapomocą metody PARNASA i HELLERA ('24) przez destylację z parą wodną w próżni, posługując się przytem odmianą kolbki destylacyjnej, której dolna kulka doszlifowana daje się zdejmować: miazgę mięśniową spłókuje się do tej kulki i dołącza następnie do szyjki. Podczas dołączania należy baczyć, ażeby kurek, doprowadzający parę wodną, był w stronę kolbki zamknięty, gdyż w przeciwnym razie piasek kwarcowy łatwo zatkać może zwężone ujście rureczki, przez którą dopływa para.

Destylacja trwa około 5 minut; zbieramy 6 do 10 cm<sup>3</sup> płynu i oznaczamy następnie amonjak w nim zawarty w kolorymetrze WOLFA, wywoławszy barwę zapomocą odczynnika NESSLERA.

## VI. Urazowe powstawanie amonjaku.

Opiszemy dokładniej doświadczenie zasadnicze. Preparujemy odnóża żaby świeżo zabitej, pochwyconej tak, ażeby przed zabiciem nie mogła wykonywać żywszych ruchów, i zabitej przez przecięcie kręgosłupa powyżej miejsca, w którym występuje splot kulszowy: w ten mianowicie sposób, aby natychmiast ubezwładnić odnóża tylne.

Jeden z dwu mięśni łydkowych rozcieramy z 3 cm<sup>3</sup> wody, z dodatkiem kilku gramów piasku kwarcowego: rozcieranie trwa 15 sek., poczem pozostawiamy miazgę w ciągu 2 minut, spłókujejmy ją do kulki przyrządu destylacyjnego, zawierającego już 10 cm<sup>3</sup> roztworu nasyconego boraksu. Jeżeli doświadczenie wykonano w lecie, to w płynie przekroplonym znajdzie się 7 do 8 mg azotu amonjakowego na 100 g mięśnia. Drugi symetryczny mięsień łydkowy rozcieramy podobnie, ale nie z wodą, lecz z 5 cm<sup>3</sup> nasyconego na zimno roztworu boraksu. Stężenie jonów wodorowych w miazdze wynosi wtedy pH = 9.35<sup>1)</sup>. Po destylacji miazgi znajdziemy tylko 0.4 do 0.7 mg azotu amonjakowego na 100 g mięśnia, jeżeli zwierzę przez

<sup>1)</sup> W miazdze, otrzymanej przez roztarcie z wodą, stężenie jonów wodorowych wynosi pH 7.3 (zmierzone przy pomocy elektrody chinhydronowej).

Tabela I.

1	2	3	4	5	6	7
Data Datum	Mięsień Muskel	Waga mg Gewicht mg	Spoczynkowa zawar- tość $\text{NH}_3 - \text{N}$ mg% $\text{NH}_3 - \text{N}$ mg% nach Ver- reiben mit Borax	Urazowa zawartość mg% $\text{NH}_3 - \text{N}$ po roztaeniu z $\text{H}_2\text{O}$ $\text{NH}_3 - \text{N}$ mg% nach Ver- reiben mit Wasser	Urazowo utworzony $\text{NH}_3 - \text{N}$ mg% Traumatische $\text{NH}_3 - \text{N}$ Bildung mg%	U w a g i
23.IV	Tibialis	340	1:17			<i>Rana esculenta</i>
	Gastrocnemius	475	1:47			" "
25.IV	"	670	0:68			" "
	Adductor longus	670		6:34	5:66	" "
	"	535	0:75			" "
	"	615		5:93	5:18	" "
	Vastus externus	500	0:96			" "
	Sartorius i Add lon.	540	0:97			" "
	Gastrocnemius	667	0:90			" "
27.IV	"	610	0:94			" "
	Adductor	462	1:08			" "
	"	615		5:95	4:87	" "
	Gastrocnemius	640		5:74		" "
6.V	Rectus major	468	0:98			" "
	Gastrocnemius	575	0:76			" "
24.V	"	463	1:1			" "
25.V	"	512	0:70			" "
26.V	"	418	1:82			" "
	"	468	0:81			" "
27.V	"	494	1:17			" "
28.V	"	580	0:69			" "
	"	682	1:1			" "
30.V	"	402	1:46			" "
31.V	"	420	1:01			" "
1.VI	"	464	0:86			" "
3.VI	"	436	1:23			" "
	"	422	1:00			" "
25.VI	Tibialis	265		7:54		" " świeżego połowu
	"	292		7:61		" "
	Gastrocnemius	620		7:59		" "
	"	620		7:33		" "
	Tibialis	270		7:78		" "
7.VII	Adductor	466	1:02			" "
	Gastrocnemius	540		7:70		" "
8.VII	"	650	0:51			" " świeżego połowu
	"	650		7:99	6:48	" "
	Tibialis	325	1:22			" "
	"	310		7:16	5:94	" "
	Gastrocnemius	665	0:65			" "
	"	488	0:82			" "
26.VIII	"	585	1:19			" "
	"	585		7:87	6:68	" "
8.IX	"	955	0:70			" " roz tarto z 4% HCl
9.IX	"	555		6:84		" " z 1 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O
	"	555		6:20		" " z 10 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O
14.I	"	220	0:63			<i>Rana esculenta</i>
	"	282		4:75		" "
	"	240		4:16	3:53	" "
	"	225		5:32		" "
15.I	Tibialis	174	0:65			" "
	"	160		4:37	3:62	" "
	"	234	0:94			" "
	"	298		5:66	4:72	" "
	Adductor	227		4:73		" "
17.I	Tibialis	255	1:0	5:4	4:4	" "
18.I	Gastrocnemius	238		5:66		" "
	"	242		5:40		" "
19.I	Tibialis	236	0:92			Roz tarto z 0:6% Na Cl
24.I	Gastrocnemius	519	0:80			<i>Rana esculenta</i>
	"	520	0:48			" " Mięsień oziębiony
25.I	"	344	0:67			" " [do - 180°

1	2	3	4	5	6	7
Data Datum	Mięsień Muskel	Waga mg Gewicht mg	Spoczynkowa zawartość $\text{NH}_3$ — N mg% $\text{NH}_3$ — N mg% nach Verreiben mit Borax	Urządowa zawartość mg% $\text{NH}_3$ — N po rozrztarciu z $\text{H}_2\text{O}$ $\text{NH}_3$ — N mg% nach Verreiben mit Wasser	Urządowo utworzony $\text{NH}_3$ — N mg% Traumatische $\text{NH}_3$ — N Bildung mg%	U w a g i
25.I	Adductor	311	0.84			<i>Rana esculenta</i>
	"	390	0.82			" " Mięsień oziębiony
	Gastrocnemius	432	0.39			" " " [do -180°
	"	540	0.55			" " " " "
26.I	"	540	0.51			" " " " "
	"	438	0.43			" " " " "
	"	430	0.43			" " " " "
	Adductor	439		4.0	3.57	" " " Trzymane w +1°C
	Gastrocnemius	433	0.44			" " " Mięśnie oziębione
	"	433				" " " pł. pow. do -180°C
	"	376	0.52			" " " Trzym. w +12°C
	"	375				" " " M. ozięb. do -180°C
	"	375				" " " Trzym. w +20°C
1.II	Adductor	394	0.76			" " " Mięsień oziębiony
	"	385				" " " [do -180°C
	Gastrocnemius	394	0.59	5.91	5.1	
	"	522	0.77	6.3	5.7	
3.II	"	400		5.00	4.23	<i>Rana temporaria</i>
8.II	Gastrocnemius	431	0.68			<i>Rana esculenta</i>
	Tibialis	335		4.84	4.16	
	Adductor	419	0.95			
	"	319		6.95	6.0	
	Gastrocnemius	394	0.96			
	Tibialis	198		5.54	4.58	
9.II	Gastrocnemius	548	1.10			
	Tibialis	371		5.09	4.0	<i>Rana temporaria</i> . Oznaczenie
10.II	Gastrocnemius	778	0.6			wykonano na amput. podudztu
	Tibialis	414		6.5	5.9	<i>Rana esculenta</i>
	Semimembranosus	810	0.78			
	"	600		7.5	6.7	
9.IX	Adductor	920		6.20		" " roztar. z 1 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O
	Gastrocnemius	965	0.35			" " roz tarto z HCl 4%
	Adductor	1180		7.53		" " po 2 <sup>o</sup> dod. HCl 4%
10.IX	Tibialis	500	0.56			" " roz tarto z HCl 4%
11.X	Gastrocnemius	745		7.05		<i>Rana temporaria</i> ; roz tarto z
	"					plyn. Ringera, który zawierał w
	"					100 cm <sup>3</sup> — 3 cm <sup>3</sup> NaHCO <sub>3</sub> , 1%
	"					<i>Rana temporaria</i> ; roz tarto z
	"					wodą
3.XI	Sartorius	210		6.62		<i>Rana esculenta</i>
12.XI	Tibialis	280		5.85		<i>Rana temporaria</i>
15.XI	Gastrocnemius	600		5.75		" "
	Tibialis	400		5.85		" "
23.VI	Gastrocnemius	600	0.86			<i>Rana esculenta</i>
	"	600	0.74			" " roz tarto 4% kwas
	"					trójchloroocetowym

kilkanaście minut przed zabiciem nie wykonywało ruchów i jeżeli zabicie oraz preparowanie wykonano szybko i starannie.

Powtórzmy destylację miazgi mięśnia, rozrztartego z wodą, a zadanego następnie boranem, oraz mięśnia rozrztartego odrazu z boranem: w jednym i drugim przypadku nie znajdziemy już więcej amonjaku, albowiem boran zupełnie wstrzymuje amonjogenezę i kon-

trola analiz przez ponowną destylację wykazuje to dowodnie w każdym doświadczeniu.

Z podobnych doświadczeń zebrano w tabeli I<sup>1)</sup> zawartości amonjaku w mięśniach żaby. Podajemy jako wartości spoczynkowe te, które stwierdzono w mięśniach żab, uważanych bona fide za spoczywające, a roztartych z boranem albo z kwasem solnym rozcieńczonym. Kolumna wartości urazowych podaje zawartości azotu amonjakowego, oznaczone w mięśniach, pochodzących z żab spoczywających, ale roztartych z wodą i pozostawionych przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.

Z danych tabeli I wynika, że spoczynkowe zawartości azotu amonjakowego wahają się u żaby w granicach między 0.4 a 1.2 mg na sto gramów mięśnia, bez wyraźnej zależności od pory roku. Wykażemy później, po przedstawieniu zależności amonjaku mięśniowego od czynności mięśnia, że zawartość spoczynkowa zależy od dziejów zwierzęcia przed zabiciem, i że ruchy wpływają przez kilkanaście do kilkudziesięciu minut na jej wielkość: stąd zawartość spoczynkowa ma charakter poniekąd przypadkowy.

Urazowa zawartość amonjaku wykazuje natomiast bardzo wyraźną zależność od pory roku. W miesiącach zimowych zawartość przeciętna wynosiła u żab wodnych, trzymany od jesieni w niewoli, 5.36 mg %, zaś od czerwca do sierpnia — 7.55 mg %.

Musimy jednak zaznaczyć, że wartości urazowe mają charakter stałych tylko wtedy, jeżeli, jak opisaliśmy, rozdarto tkankę przez bardzo energiczne rozcieranie z wodą i pyłem kwarcowym na bardzo drobne cząstki, pozostawione conajmniej przez 2 minuty. Jeżeli tkankę rozgnieciono tylko, albo zgrubsza rozszarpano, lub wreszcie rozcięto nożyczkami, to amonjak powstaje o wiele powolniej. Powróćmy do tej sprawy przy omawianiu związku, jaki zachodzi między zjawianiem się amonjaku a urazem powstawaniem kwasu mlekowego.

Zjawisko amonjogenezy urazowej jest zjawiskiem ogólnem w mięśniach prążkowanych kręgowców: stwierdziliśmy je nie tylko

---

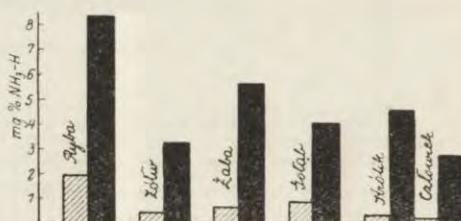
<sup>1)</sup> Liczby, zawarte w tej tabeli są zebrane z publikacyj PARNASA i MOZOŁOWSKIEGO ('27 I i II), PARNASA, MOZOŁOWSKIEGO i LEWIŃSKIEGO ('27 I i II), MOZOŁOWSKIEGO i LEWIŃSKIEGO ('27) oraz z nieogłoszonych dotąd danych MOZOŁOWSKIEGO i CHRZĄSZCZEWSKIEGO.

Tabela II.

1	2	3	4	5	6	7
Data Datum	Mięsień Muskel	Waga mg Gewicht mg	Spoczynkowa zawar- tość $\text{NH}_3$ — N mg% $\text{NH}_3$ — N mg% nach Ver- reiben mit Borax	Urazowa zawartość $\text{NH}_3$ — N po rozstarciu z $\text{H}_2\text{O}$ mg% $\text{NH}_3$ — N mg% nach Ver- reiben mit Wasser	Urazowe tworzenie $\text{NH}_3$ — N mg% Traumatische $\text{NH}_3$ — N Bildung mg%	U w a g i
Robaki: Dżdżownica ( <i>Lumbricus terrestris</i> )						
28.VI		660 512	0.91	1.46	0.55	Użyto całego rob. do oznaczenia " " " "
Skorupiaki: Rak rzeczny ( <i>Astacus fluviatilis</i> )						
2.V	Mięśnie kleszczy	560 512 570 570	2.98 2.33	3.08 2.63	0.10 0.30	
Ryby: Różanki ( <i>Scardinius erythrophthalmus</i> )						
18.II	Mięśnie grzbietu	488 540 420 460 500	1.92 1.96 1.74	8.32	6.40	Trzymane w dobrze przewietrzanym akwarjum Zabite przez zniszczenie mózgu, oskrobane; mięśnie poczęto szybko wzdłuż mjomerów. } Oziębione w płyn. powietrzu.
	" "	741 657	1.43 1.58	8.15	6.21	
0.II	" "					
	" "					
Gady: Żółw błotny ( <i>Emys europaea</i> )						
14.II	Mięśnie barkowe	512 520 503	0.78	3.4 2.8	2.6 2.0	Duży żółw, od dwu lat w pracowni, w lecie obficie żywności; śmierć przez obcięcie głowy.
	Mięśnie tylnej nogi	240	0.44			
Ptaki: Gołąb domowy ( <i>Columba livia domestica</i> )						
25.II	Mięśnie uda	508 463	0.8	3.97	3.1	Oznaczenie wykonano w 6 minut po obcięciu głowy.
Ssaki: Mysz ( <i>Mus musculus</i> )						
14.II	Mięśnie tylnej nogi	314 340 312 216 550 450 490	1.26 1.1	5.3 3.9	4.0 2.8	Uduszono w $\text{CO}_2$ ; skrawiono, oziębiono; oznaczenie wykonywano w 6 minut po włożeniu do $\text{CO}_2$ .
16.II	" " "	384 320 354 388	1.07 1.03	4.87 4.5	3.80 3.42	
17.II	" " "	317 274	0.97 0.73			
18.II	" " "					
22.II	Mięśnie łydkowe	472 550 204 320	0.3 0.46	4.82 4.18	4.5 3.9	
Kot ( <i>Felis catus</i> )						
1.III	Mięśnie przedniej nogi	494 486	0.92	3.18	* 2.26	○ Stężenie po wymóżdżeniu; 5 wzgl. 12 min. po wycięciu mięśnia wykonano oznaczenie.
Człowiek ( <i>Homo</i> )						
25.II	M. iliocostalis lumborum	503 500	0.2	2.64	2.4	Mężczyzna; pobrano przy operacji; w 11 minut po pobraniu wykonano oznaczenie.
24.II	Rectus abdominis	402 510	0.25	1.4	1.15	Mężczyzna; Ca. ventriculi; wykonano oznaczenie w 6 minut po pobraniu.

u płazów, lecz także u ryb (różanka krasnopiórka), gadów (żółw błotny), ptaków (gołąb) i ssaków (mysz, królik, kot, człowiek). U stałocięplnych mięśnie zamrażano w płynnym powietrzu przeważnie przed roztarciem. Tabela II zawiera wartości spoczynkowe i urazowe, a wykres 2 uzmysławia je.

Przy porównaniu liczb, znalezionych dla spoczynkowej zawartości amonjaku w mięśniach poszczególnych gatunków, zwraca uwagę wysoka zawartość w mięśniach rybich: ponieważ ryby zginęły bez wykonania żywszych ruchów, a mięśnie natychmiast



Rys. 2. Zawartość azotu amonjakowego w mięśniach szkieletowych różnych gatunków zwierząt. Pola kreskowane: zawartość po roztarciu z boranem, czyli zawartość istotna. Pola czarne: zawartość po roztarciu z wodą i kwarcem, po 2 minutach, a więc suma zawartości istotnej i utworzonego wskutek urazu amonjaku.

*Schraffierte Felder: aktueller, nach Zerreiben mit Borat bestimmter NH<sub>3</sub>-N Gehalt. Schwarze Felder: Summe des vorgebildeten und des traumatischen Ammoniak.*  
 Von Links nach Rechts: Fisch, Sumpfschildkröte, Wasserfrosch, Taube, Kaninchen, Mensch.

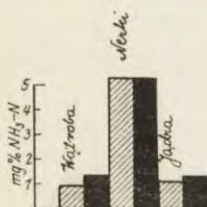
zamrożono w ciekłym powietrzu, przeto uważamy te liczby za odpowiadające zawartości amonjaku w mięśniach żywych. Zawartości urazowe w mięśniach ryb są duże, odpowiadają w zimie zawartościom letnim u żab. Wartości znalezione u myszy i u gołębia są może skażone przez pośmiertne powstawanie amonjaku. Ciekawym jest to, że w mięśniach króliczych i ludzkich znajdujemy najniższe wartości spoczynkowe.

Dalej należy zauważyć, że znalezione w naszych doświadczeniach zawartości spoczynkowe są zgodne z temi, które GAD ANDERSEN ('19) wykrywał w mięśniach psów, szczurów i żab: że natomiast nie są zgodne z zawartościami, stwierdzonemi dla przepony szczura w pracy MEYERHOFFA, LOHMANN i MEIERA ('25). W doświadczeniach tych użyto widocznie mięśni, w których pośmiertne powstawanie amonjaku, powolne u zmiennocięplnych a szybkie



u stałocielnych, musiało posunąć się już dość daleko. Liczby SUMNERA ('16) nie dadzą się wytłumaczyć ani na podstawie sprawy urazowej, wynikającej z rozdrobnienia mięśni, ani — sprawy pośmiertnej: może wpłynęła na nie zastosowana metoda.

Tabela II wykazuje, że proces amonjogenezy urazowej jest zjawiskiem ogólnym w mięśniach wszystkich kręgowców: zawartości urazowe leżą daleko poza wahaniami zawartości spoczynkowej, odbiegając od nich o 450% u ryby, od 400 do 1600% u żaby i o 1000% u królika. U dwu zbadanych bezkręgowców, mianowicie u raka i u dżdżownicy, nie mogliśmy stwierdzić zjawiska urazowego.



Rys. 3. Pola kreskowane: zawartość azotu amonjakowego istotna. Pola czarne: zawartość istotna z urazową.

Schraffierte Felder: aktueller  $\text{NH}_3\text{-N}$  Gehalt. Schwarze Felder: Summe des aktuellen und des traumatischen  $\text{NH}_3\text{-N}$ . Von Links nach Rechts: Froschleber, Froschniere, Froschhoden.



Rys. 4. Zawartość azotu amonjakowego istotna (pola kreskowane) oraz istotna z urazową (pola czarne) w sercach i w żołądkach.

Aktueller (schraffierte Felder) und traumatischer (schwarze Felder) Amoniakgehalt in glattmuskelligen Organen und in Herzen. Von Links nach Rechts: Sumpfschildkrötenherz, Kaninchenherz, Taubenherz, Froschmagen, Schildkrötenmagen, Taubenmagen.

Zjawisko urazowego powstawania amonjaku występuje w natężeniu bardzo znacznym w mięśniach prążkowanych, a w stopniu o wiele słabszym w mięśniach gładkich i sercowych. Nie mogliśmy go stwierdzić w podobnych rozmiarach ani w narządach gruczołowych, ani w nerwach. Tabela III zawiera liczby, zebrane z prac PARNASA i MOZOŁOWSKIEGO ('27, I) oraz MOZOŁOWSKIEGO i LEWIŃSKIEGO ('27).

Rysunek 3 i 4 uzmysławiają dane tabeli III.

Widzimy z danych, zawartych w tej tabeli, że zawartości  $\text{NH}_3$  w świeżych tkankach narządów żabich są bardzo rozmaite, że np. nerka albo jądro zawiera stosunkowo dużo amonjaku. Nie zaznacza się natomiast w narządach gruczołowych zupełnie zjawisko urazowe, przyrostów o 20 do 25 na sto nie uważamy za pewne. Natomiast w narządach o mięśniach gładkich występuje zjawisko urazowe zupełnie wyraźnie, szczególnie w żołądku żółwia

ślótnego, u którego przybiera rozmiary, zbliżające się do amonjogenezy urazowej w mięśniach prądkowanych.

Tabela III.

Data Datum	Gatunek zwierzęcia <i>Tierart</i>	Narząd <i>Organ</i>	Waga mg Gewicht mg	Zawartość NH <sub>3</sub> -N po roztrączeniu z boranem mg%	NH <sub>3</sub> -N mg% nach Ver- reiben mit Borat	Urazowa zawartość NH <sub>3</sub> -N mg% NH <sub>3</sub> -N mg% nach Ver- reiben mit Wasser	U w a g i
11.II	<i>Rana temporaria</i>	Żołądek (Magen) Wątroba (Leber)	249 250 398 370	1·53		2·0 2·4	
27.II	<i>Rana esculenta</i>	Wątroba (Leber) " " Nerka (Niere) Jądro (Hoden)	296 292 259 223 144 44	0·86 1·01 5·92 3·7		1·27 1·52	niedojrzałe
3.II	<i>Rana temporaria</i>	" " Nerka (Niere)	235 235 90 90	0·99 5·2		1·22 5·2	dojrzałe dojrzałe
27.II	<i>Rana temporaria</i>	Żołądek (Magen)	230	0·97			
4.II	<i>Rana esculenta</i>	"	260			1·5	
14.II	<i>Emys europaea</i>	"	1574 1870	0·94		2·6	Fundus. 13 wzgl. 16 minut po śmierci
25.II	<i>Columba livia</i>	" "	481 487	0·71		1·35	
14.II	<i>Emys europaea</i>	Serce (komora) (Herz) "	1050 1575	0·4		0·6	
25.II	<i>Columba livia</i>	" "	515 473	1·36		4·20	25' 33'
22.II	<i>Lepus cuniculus</i>	" "	477 468	1·38		1·67	5' 9'
4.VII	<i>Rana esculenta</i>	Nervus ischiiadicus "	66 66	3·78		3·03	

W sercu żółwia i królika amonjogeneza urazowa ujawnia się bardzo słabo, może nawet niepewnie. Natomiast wydaje się bardzo wyraźną u gołębia, o ile można to twierdzić na podstawie jednego doświadczenia. Doświadczenia te będą powtórzone.

## VII. Przebieg amonjogenezy urazowej.

We wszystkich doświadczeniach, których wyniki podano powyżej, oznaczano amonjak w mięśniach po upływie 2 minut od roztarcia. Postępowanie to wynikało z doświadczeń, po-

Tabela IV.

Mięsień	Waga mg	Czas od początku rozcierania do zahamowania tworzenia się amonjaku w sekundach	Zawartość $\text{NH}_3 - \text{N}$ mg%	U w a g i
<i>Muskel</i>	<i>Gewicht</i> mg	<i>Zeit von Beginn der Verreiben bis zur Stilllegung der <math>\text{NH}_3</math> Bildung durch Boratzusatz: Sekunden</i>	<i><math>\text{NH}_3 - \text{N}</math> Gehalt</i> mg%	
Tibialis	550	0	0.72	<i>Rana esculenta</i>
Gastrocnemius	448	16	1.54	
"	450	30	2.38	
Udowy "	500	45	2.88	
"	520	60	4.23	
"	383	90	5.23	
"	494	120	4.6	
"				
"				
"				

danych w tabeli IV. Mięśnie świeżo zabitej żaby wodnej rozcierano szybko w ciągu 15 sekund, a następnie po dalszych 16, 30, 45, 60, 90 i 120 sekundach zadawano boranem, wstrzymującym dalsze powstawanie amonjaku.

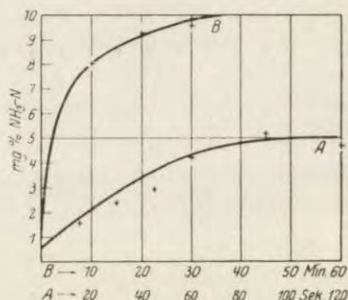
Liczyby tabeli IV oraz rys. 5 wykazują, że urazowe powstawanie amonjaku dobiega do końca po upływie 90 sekund, później proces ten odbywa się o wiele powolniej.

W mięśniach różanki sprawa urazowa przebiega podobnie szybko i zupełnie, jak w mięśniach żaby.

Natomiast w mięśniach stałocięplnych, jak wynika z następujących doświadczeń, zjawisko to odbywa się odmiennie:

17. II. Mięsień udowy białej myszy, roztarty w 21 minut po zabiciu i pozostawiony przez 5' po roztarciu, zawiera 4.83 mg % azotu amonjakowego.

Mięsień symetryczny, roztarty w 15' po zabiciu i pozostawiony przez 80', zawiera 9.8 mg %.



Rys. 5. Krzywa A. Powstawanie urazowe amonjaku w mięśniach żaby, roztartych z wodą. Czas w sekundach. Krzywa B: powstawanie urazowe pośmiertne amonjaku w mięśniach królika. Czas w minutach.

*Kurve A: traumatische Ammoniakbildung in mit Wasser zerriebenen Froschmuskeln. Zeit in Sekunden. Kurve B: Traumatisch postmortale Ammoniakbildung in zerriebenen Kaninchenmuskeln. Zeit im Minuten.*

Inny mięsień udowy zawiera natychmiast po śmierci i po roztarciu z boranem 10.7 mg %.

22. II. Mięśnie łydkowe królika skrwawionego wycięto już w 3' po przecięciu tętnicy szyjnej i wrzucono do ciepłego powietrza. Część mięśni udowych pozostałych umieszczono w temperaturze 16°, część zaś w temperaturze 0°.

Mięśnie wyjęte z ciepłego powietrza rozcierano z boranem albo z wodą. Roztarte z boranem wykazywały zawartość 0.46 i 0.65 mg %  $\text{NH}_3$ —N, a roztarte z wodą zawierały po

10	20	30	72 minutach
8.0	9.3	9.5	12.1 mg % $\text{NH}_3$ —N.

Zawartość krańcową 12.1 mg % stwierdzamy w mięśniach roztartych w temperaturze 16° po dwu godzinach: w mięśniach całych po 24 godzinach, zaś w temperaturze 0° po 72 godzinach.

Amonjogeneza urazowa sumuje się zatem w mięśniach zwierząt stałocieplnych z amonjogenezą pośmiertną, która w mięśniach rozdrobnionych przebiega szybciej, aniżeli w mięśniach nietkniętych.

#### VIII. Wahania zawartości amonjaku towarzyszące zmianom stanu mięśnia.

Podobieństwo zjawiska amonjogenezy urazowej z powstawaniem kwasu mlekowego, wytworzonego przez uszkodzenie mechaniczne tkanki mięsnej, poprowadziło do doświadczeń, w których oznaczyliśmy zawartość amonjaku w mięśniach poddanych takim nieodwracalnym zmianom stanu, które określa się po prostu jako stężenia: a więc — stężeniu cieplnemu, wodnemu, kofeinowemu i chloroformowemu. Poza to badaliśmy wpływ warunków beztlenowych oraz temperatur niskich na zawartość amonjaku i na jej narastanie.

Stężenie cieplne. Trzymano świeżo wycięte mięśnie żaby wodnej oraz żółwia błotnego w temperaturze 45° przez godzinę, następnie roztarto je z boranem i oznaczono zawartość amonjaku, jednocześnie także zawartość amonjaku w symetrycznym mięśniu — świadku. Wyniki doświadczenia zawiera tabela V.

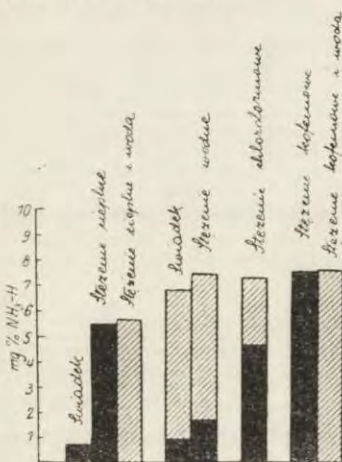
Stężenie cieplne wytwarza podobne ilości amonjaku, jak roztarcie mięśni z wodą. Roztarcie mięśni stężonych nie zwiększa już zawartości amonjaku: stężenie cieplne wyczerpuje zatem zupełnie układ amonjakerodny mięśnia.

Ta sama tabela zawiera szereg danych dla mięśni żab (żaba wodna) oraz żółwi, poddanych stężeniu przez zanurzenie mięśnia

Tabela V.

Data Datum	Temperatura Temperatur	Gatunek zwierzęcia  <i>Tierart</i>	Rodzaj stężenia  <i>Art der Starre</i>	Masa mięśnia mg <i>Gewicht der Muskel mg</i>	Rodzaj mięśnia  <i>Art der Muskel</i>	Zawartość amonjaku w mg% NH <sub>3</sub> — N	
						po roztarciu z boraciu z wodą <i>NH<sub>3</sub> — N Gehalt in mg% nach Verreiben mit Borax</i>	po roztarciu z wodą <i>Gehalt in mg% nach Verreiben mit Wasser</i>
18.II	17°	<i>Rana esculenta</i> ♂	st. ciepne	248	Tibialis	5.32	—
			świadek normalny	235	Tibialis	0.70	—
			st. ciepne	238	Gastrocnemius	5.9	—
			świadek normalny	238	"	—	5.66
			"	242	Adductor	—	5.40 (0.6% NaCl)
8.II	12°	2h. w płynie Ringera pół nasyconym chloroformem <i>Rana esculenta</i> ♂	st. chloroformowe	376	Gastrocnemius	4.6	—
			"	360	"	—	7.25
			świadek normalny	394	Semimembranosus	0.96	—
			"	198	Tibialis	—	6.90
8.II	12°	<i>Rana esculenta</i> ♂	st. wodne (3 godz.)	321	Adductor	1.9	—
			"	368	"	—	7.7
			świadek normalny	394	Gastrocnemius	0.96	—
"	"	"	198	"	—	6.9	
10.II	12°	<i>Rana esculenta</i> ♂	st. wodne (3 godz.)	862	Gastrocnemius	3.1	—
			"	647	Semimembranosus	—	7.6
			świadek normalny	748	Gastrocnemius	0.6	—
			"	414	Tibialis	—	6.5
7.II	12°	<i>Rana esculenta</i> ♂	st. kofeinowe	365	Gastrocnemius	2.52	—
			po wstrzyknięciu	368	Adductor	3.86	—
			2 cm <sup>3</sup> 1% roztworu	365	Gastrocnemius	2.74	—
			"	365	Tibialis	—	6.26
			"	346	Adductor	—	4.37
8.II	12°	<i>Rana esculenta</i> ♂	Jak wyżej	431	Gastrocnemius	0.68	—
			św. odcięty norm.	435	Peroneus	—	4.84
			st. kofeinowe	430	Tibialis peroneus	4.4	—
			"	360	Gastrocnemius	4.0	—
			"	464	Adductor	6.15	—
			"	242	"	—	6.27
			"	338	Gastrocnemius	—	6.2
			"	450	Adductor	—	6.1
8.II	12°	<i>Rana esculenta</i> ♂ mięśnie wycięte w roztw. kofeiny 1/2%, 2 godziny	świadek	394	Gastrocnemius	0.96	—
			stężenie	319	Udowy	—	6.96
			"	494	Gastrocnemius	7.6	—
			"	210	Tibialis	—	7.4
10.II	12°	świadek normalny w płynie Ringera	świadek	778	Gastrocnemius	0.6	—
			stężenie	414	Udowy	—	6.5
			"	797	Gastrocnemius	7.4	—
			"	429	Tibialis	—	7.1
18.II	5°	<i>Emys europaea</i>  20 h. po zabiciu	świadek	434	Barkowy	1.8	—
			"	562	"	—	5.56
			st. ciepne	500	"	5.7	—
			st. chloroformowe	320	Udowy	5.88	—
			świadek	460	"	1.6	—
			st. kofeinowe	480	"	5.12	—
			"	387	"	5.94	—
6.VII	10°	<i>Rana esculenta</i>	st. fluork. 22 godz.		Gastrocnemius	8.80	—
			świadek		"	1.56	11.0 7.84

w roztworze kofeiny, albo przez wstrzyknięcie tegoż roztworu w worki limfatyczne; ponadto zawiera także dane doświadczeń nad stężeniem chloroformowym oraz wodnym. Wykres 6 uzmysławia dane tabeli V.



Rys. 6. Powstawanie amonjaku w stężeniach mięśniowych. Pola czarne: zawartość amonjaku istotna w danym stanie. Pola kreskowane: zawartość po rozrztarciu z wodą i kwarcem, zatem suma zawartości istotnej i urazowej.

*Ammoniakbildung in Muskelstarren. Schwarze Felder: aktueller NH<sub>3</sub> — N Gehalt. Schraffierte Felder: nach Zerreiben mit Wasser. Von Links nach Rechts: Muskel normal mit Borat; wärmestarr mit Borat; wärmestarr mit Wasser; normal mit Borat und mit Wasser; wasserstarr mit Borat und mit Wasser; chloroformstarr mit Borat und mit Wasser; koffeinstarr mit Borat; koffeinstarr mit Wasser.*

далиśmy mięśnie analizie w stanie zamrożonym, spodziewając się szczególnie niskich zawartości amonjaku. Stwierdziliśmy, przeciwnie:

w mięśniu łydkowym	3.33 mg % NH <sub>3</sub> — N
w „ piszczelowym	4.4 „ „ „ „
w mięśniach udowych	4.9 „ „ „ „

Mięśnie udowe zawierały po rozrztarciu z wodą 6.8 mg % NH<sub>3</sub> — N.

Udo królika świeże trzymano podczas silnego mrozu na dworze. Zawartość amonjaku wzrosła po 48 godzinach do 9 mg % azotu, po 72 godzinach — do 11.8 mg %.

Widocznie powolne zamarzanie, podczas którego igły lodowe przenikają do tkanki i niszczą ją mechanicznie, wywołuje

Dane te pozwalają odróżnić zachowanie się amonjogenezy w różnych rodzajach stężenia mięśniowego. Stężenie ciepłe i zupełne stężenie kofeiny sprawiają całkowity rozkład układu amonjodorodnego i dają maksymalne ilości amonjaku. W mięśniach pozornie zupełnie stężałych w wodzie destylowanej albo w parach chloroformowych, lub niezupełnie jeszcze stężałych pod wpływem kofeiny (sztywne, ale jeszcze nie mętne) następuje rozkład częściowy układu amonjodorodnego, część jeszcze nierozłożona rozpada się dopiero pod wpływem rozrztarcia z wodą.

**Temperatura niska.** Żaba wodna, pozostawiona przez noc 8/9. II na dworze, zamarzła zupełnie.

Temperatura zwierzęcia wynosiła o godzinie 20 minut 24: — 2.2°, o godzinie 6 minut 24 rano — 4.8°. Pod-

zjawisko urazowe, jeżeli temperatura bliska zera nie wstrzymuje dość wydatnie działania czynnego w strukturze zaczynu.

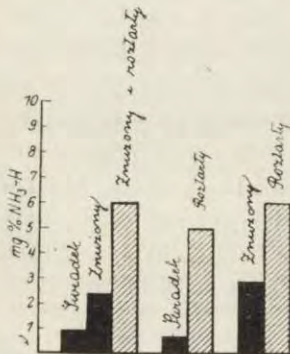
Warunki beztlenowe. 6. II. umieszczono dwie żaby w naczyniu wypełnionem azotem i trzymano je, przepuszczając powolny prąd azotu, przez 6 godzin w temperaturze 12°. Po upływie tego czasu, gdy odruchy zupełnie ustały, ucięto każdej z nich po jednym podudziu. Zawartość amonjaku odpowiadała 1.1 wzgl. 0.6 mg % azotu. Żaby uduszone umieszczono w wodzie przewietrzanej; powróciły one po 2 godzinach do stanu normalnego.

Warunki beztlenowe nie wywołują zatem same przez się ani wzmózonej amonjogenezy, ani nagromadzenia się amonjaku w tkance. Zaznacza się tu wybitna różnica w porównaniu z zachowaniem się kwasu mlekowego (FLETCHER i HOPKINS '06, MEYERHOFF '22), który zarówno w mięśniu wyciętym, jak w mięśniu zwierzęcia znajdującego się w atmosferze beztlenowej, wskutek braku warunków dla t. zw. reakcji Meyerhofowskiej gromadzi się z szybkością wzmózoną.

#### IX. Amonjogeneza w mięśniach pracujących.

Odkrycie w tkance mięśnia prążkowanego układu ciał, zdolnych do odszczepienia, wskutek działania bodźców urazowych, w bardzo krótkim czasie stosunkowo dużych ilości amonjaku, można było rozumieć tylko w ten sposób, że p o b u d l i w y u k ł a d a m o n j a k o r o d n y stanowi pogotowie fizjologiczne ważnej w sprawie mięśniowej przemiany chemicznej. Szukaliśmy zatem zmian zawartości amonjaku podczas czynności mięśniowej: już pierwsze doświadczenia wykazały jasno, że czynności mięśni szkieletowych towarzyszy zawsze powstawanie amonjaku (PARNAS i MOZOŁOWSKI, '27 I i II). Pierwsze doświadczenia (19.I) wykonano w taki sposób, że drażniono jeden mięsień łydkowy żaby wodnej od nerwu tężcami trwającymi po 0.1 sekundy, co sekundę, przez godzinę. Mięsień znużony zawierał 2.3 mg%  $\text{NH}_3$  — N, mięsień symetryczny niedrażniony — 0.7 mg%. W tym samym czasie wykonaliśmy także doświadczenia in vivo, wstrzykując żabom płowym strychninę do worków limfatycznych. Jeżeli przed wystąpieniem kurczów mięśnie (odciętych podudzi) zawierały 0.77 wzgl. 0.9% azotu amonjakowego, to na wysokości kurczów znajdowaliśmy 2.45, 2.4, 2.43, 2.64, 3.11, 2.05, 2.65, 3.0 mg%. Że nie było tu

działania strychniny na mięśnie, lecz tylko skutek samych kurczów, wynikało z doświadczeń, w których mięśnie wycięte, zanurzone w zawierającym strychninę płynie RINGERA, miały po 3 godzinach 0.78 mg%  $\text{NH}_3 - \text{N}$ , gdy mięśnie-świadki, trzymane w płynie czystym RINGERA, zawierały 0.9 mg%. Ważnym dowodem tego, że działania bezpośredniego strychniny na



Rys. 7. Powstawanie amonjaku w mięśniach czynnych. Pola czarne: zawartość istotna. Pola kreskowane: suma zawartości istotnej i urazowej.

*Ammoniakbildung in tätigen Muskeln. Schwarze Felder: aktueller Ammoniakgehalt. Schraffierte Felder: Summe des aktuellen und des traumatischen Ammoniakgehalts. Von Links nach Rechts: Muskel normal mit Borat, ermüdet mit Borat, ermüdet mit Wasser, normal mit Borat, normal mit Wasser, ermüdet mit Borat, ermüdet mit Wasser.*

amoniaku utworzony w sprawach pośmiertnych, w których nigdy nie spostrzegliśmy zmniejszenia się zawartości raz nagromadzonego amoniaku.

W tej fazie znajdowały się nasze doświadczenia — wyniki podane powyżej były już wraz z temi, które odnoszą się do pośmiertnych zjawisk amonjogenezy, opisane w obszernej publikacji <sup>1)</sup> i oddane do druku — kiedy ukazał się artykuł EMBDENA ('27) <sup>2)</sup>, w którym autor ten opisywał wyniki po części podobne do naszych, po części zupełnie z nimi niezgodne: do wyników tych EMBDEN i jego współpracownicy doszli na drodze zupełnie innej, aniżeli nasza pracownia. W chwili kiedy piszę tę pracę, nie ukazała się jeszcze obszerna, zawierająca opisy doświadczeń i analiz publi-

<sup>1)</sup> 19 marca 1927, Biochemische Zeitschrift.

<sup>2)</sup> 2 kwietnia 1927, Klinische Wochenschrift, № 14.





w mięśniu łydkowym żaby, zamrożonym podczas tężca zapomocą plynego powietrza, okazała się wielokrotnie większą, aniżeli zawartość w drugim mięśniu tego samego preparatu, drażnionym w tym samym obwodzie prądu, a zamrożonym w 10 do 60 sekund później. W uwagach dyskusyjnych ze zjazdu Edynburskiego EMBDEN wyraża się w tej sprawie oględniej i podaje, że całkowite znikanie amonjaku po skureczu nie zawsze daje się stwierdzić, albowiem żaby letnie i takie, które długo przebywały w pracowni, zachowują się pod tym względem inaczej, aniżeli żaby zimowe i świeżo złowione; utrzymuje jednak twierdzenie, że utworzony w skureczu mięśniowym amonjak znika po skureczu, i to czasami bardzo szybko. Pogląd ten uzasadniał on także podczas zjazdu fizjologów we Frankfurcie<sup>1)</sup>.

Wartości spoczynkowe i znużeniowe dla amonjaku mięśniowego, podawane przez EMBDENA, są po części znacznie wyższe od naszych.

W czerwcu r. u. prowadziliśmy dalej badania nad powstawaniem czynnościowym amonjaku mięśniowego. Zależało przede wszystkim na stwierdzeniu, czy powstawanie amonjaku jest istotnie związane z czynnością mięśniową, czy też przypadkowo jej towarzyszy; czy da się wykryć proporcjonalność tej sprawy względem któregoś z czynników pracy mięśniowej, i zwią-

---

<sup>1)</sup> W szczegółowym sprawozdaniu z tego zjazdu, które właśnie ogłoszono w „Berichte über die gesammte Physiologie“ (t. 52, str. 559 do 563) znajdujemy uzasadnienie poglądów EMBDENA wraz z zaznaczeniem, że w wyniku dyskusji z MEYERHOFEM i PARNASEM utrzymuje on poprzedni punkt widzenia. Streścimy te wywody, celem przeciwstawienia ich naszym wynikom.

EMBDEN podaje, że zawartość amonjaku w mięśniach żab, trzymanyh w ciemności, długo nieruchomych, wynosi około 1 mg %, natomiast u żab wodnych, majowych, które silnie poruszały się przed śmiercią, wznosi się do 10 mg%. W mięśniu izolowanym ma powstawać tem więcej amonjaku wskutek jednakowego drażnienia, im więcej mięsień zawierał go przed pracą. Tak np. zawartość amonjaku w mięśniu łydkowym żaby wodnej wznosi się z 7 mg % na 14 mg %, jeżeli mięsień wykona, przy drażnieniu bodźcami pojedynczymi, maksymalnymi, 100 skureczów. Podobne drażnienie ma natomiast wywoływać u żab wypoczętych tylko znikomą amonjogenezę („geringfügige Ammoniakbildung“). U żab płowych drażnienie takie, jakie u wodnych prowadzi do utworzenia dużych ilości amonjaku, wywołuje tylko nieznaczną amonjogenezę. Ubytek amonjaku znużeniowego zaznacza się już w minutę po skureczu: nawet w wyciętym mięśniu żaby, która przed śmiercią skakała, ubywa w ciągu godziny wiele amonjaku.

Trudno o większe sprzeczności, aniżeli między podanemi tu przez EMBDENA a stwierdzonemi w naszej pracowni danemi o amonjogenezie mięśniowej. Wobec tego, że obydwie strony badają sprawę eksperymentalnie, uda się niewątpliwie sprzeczności wyjaśnić.

zek z pracą podobny, jak np. powstawanie kwasu mlekowego z wytworzeniem przez mięsień energii napięcia. Należało ponadto ustalić, czy istnieje zależność gromadzenia się amonjaku od warunków tlenowych, gdyż w pośmiertnym powstawaniu amonjaku nie mogliśmy takiej zależności stwierdzić; wreszcie czy istotnie powstający amonjak gromadzi się w mięśniu, jak wynikało z naszych doświadczeń poprzednich, czy też istnieje w mięśniach proces, przetwarzający wytworzony amonjak w ciało inne, jak to sądzi EMBDEN i jego szkoła.

Pierwsza grupa doświadczeń, wykonanych wspólnie z MOZOLOWSKIM<sup>1)</sup>, miała na celu zorientowanie się w sprawie znikania wzgl. pozostawiania amonjaku w mięśniu żywym znużonym. Podajemy przykład takich doświadczeń. Wynika z nich, że amonjak raz powstały w mięśniu nie znika tak prędko.

*Rana temporaria*, ♂ 4.XI drażniono krótkimi tęzcami (36 razy w 1 minucie) przez 30 minut. W 5 minut po ukończeniu drażnienia żabę zabito.

Mięsień	Waga mg	Zawartość NH <sub>3</sub> — N mg%	Urazowa zawartość NH <sub>3</sub> — N mg%
Gastrocnemius	906	4.41	
Gastrocnemius	930	4.30	
Semimembranosus	1000		6.85

Następnie drażniliśmy tylne odnóża żabie (w skórkach, więc w warunkach beztlenowych) prądami indukcyjnymi od splotu nerwowego, i to albo prądem zamknięcia, albo krótkimi, trwającymi około 0.1 sekundy, tęzcami. Wyniki tych doświadczeń zawiera tabela VI i VII. Podobne doświadczenia, w których drażniono mięśnie również przez nerwy, z dużymi odstępami bodźców, i przy wydatnem zaopatrzeniu w tlen tak, ażeby nie występowało znużenie, zawiera tabela VIII.

Z doświadczeń tych wynika, że przyrost zawartości amonjaku jest proporcjonalny do liczby skurczów, jeżeli skurcze nie doprowadzają do znużenia, i jeżeli mięsień nie był już w początku doświadczenia znużony. W doświadczeniach z 25. IV i 27. IV zawartość amonjaku po wykonaniu 2000 skurczów wraża od 1.98 do 2.72 mg % NH<sub>3</sub> — N. W doświadczeniach z 27. IV porównywano symetryczne mięśnie po wykonaniu 1000 i po 2000

<sup>1)</sup> Nieogłoszone.

skureczów; w mięśniach łydkowych, które po 1000 skureczów zawierały 1.78 mg  $\frac{\%}{0}$ , przybył w czasie dalszych 1000 skureczów 1 mg  $\frac{\%}{0}$   $\text{NH}_3\text{—N}$ , więc tyle, co w poprzednich doświadczeniach: natomiast w adduktorach, które po 1000 skureczów zawierały 3 mg  $\frac{\%}{0}$ , wzrosła zawartość amonjaku już tylko nieznacznie. To samo odnosi się do doświadczenia z 23. IV. W doświadczeniu z 6. V już 300 skureczów mięśnia bardzo świeżego spowodowało przyrost o 1 mg  $\frac{\%}{0}$ , a w doświadczeniach, w których wywoływano skurcze nieczęste, w warunkach tlenowych (tabl. VIII) przypada

Tabela VI.

*Ranae esculentae*. Pojedyncze skurcze. Preparaty w skórach (warunki prawie beztlenowe).  
Reizung durch Einzelchliessungsschläge. Beine ungehäutet.

Data Datum	Płeć Geschlecht	Temperatura Temperatur	Mięśnie niedrażnione Ungereizte Muskeln					Mięśnie drażnione Gereizte Muskeln				
			Mięsień Muskel	Waga mg Gewicht mg	Zawartość $\text{NH}_3\text{—N}$ mg $\frac{\%}{0}$ $\text{NH}_3\text{—N}$ Gehalt mg $\frac{\%}{0}$	Zawartość urazowa mg $\frac{\%}{0}$ Traumatischer $\text{NH}_3\text{—N}$ Gehalt mg $\frac{\%}{0}$	Częstość skurczów w 1' Reize in 1'	Liczba skurczów Zahl der Zuckungen	Mięsień Muskel	Waga mg Gewicht mg	Zawartość $\text{NH}_3\text{—N}$ mg $\frac{\%}{0}$ $\text{NH}_3\text{—N}$ Gehalt mg $\frac{\%}{0}$	Zawartość urazowa mg $\frac{\%}{0}$ Traumatischer $\text{NH}_3\text{—N}$ Gehalt mg $\frac{\%}{0}$
23.IV	♀	16°C	Gastrocnemius	475	1.47	—	60	3600	Gastrocnemius	520	4.3	—
25.IV	♀		Vastus exter.	500	0.96	—	60	2000	Vastus exter.	492	3.37	—
			Adductor	540	0.97	—	60	2000	Adductor	455	2.95	—
			Gastrocnemius	667	0.90	—	60	2000	Gastrocnemius	667	3.19	—
27.IV	♀	21°C	Gastrocnemius	610	0.94	—	60	2000	Gastrocnemius	610	3.66	—
			Adductor	615	—	5.95	60	2000	Adductor	614	—	6.19
27.IV	♀	21°C	Adductor	462	1.03	—	60	2000	Adductor	536	3.60	—
26.IV	♀		19°C	Gastrocnemius	640	—	5.75	60	4000	Gastrocnemius	640	—
							30	1000	Gastrocnemius	410	1.78	—
							60	2000	Gastrocnemius	410	2.77	—
							30	1000	Adductor	635	3.00	—
							60	2000	Adductor	640	3.24	—
6.V			Gastrocnemius	575	0.75	—	60	3000	Gastrocnemius	575	1.72	—

szczególnie wielki przyrost amonjaku na 1000 skureczów: jest on podobnie wielki i proporcjonalny do liczby skureczów, jak w doświadczeniu z 6. V, w którym mięsień wykonał tylko 300 skureczów. Wyjątek stanowi doświadczenie z 30. IV, w którym mięsień już w początku był znużony i zawierał 2.3 mg  $\frac{\%}{0}$  azotu amonjakowego.

Doświadczenia, w których drażniono tężcowo, a nie oznaczono wartości początkowych, wykazują, jak np. doświadczenie z 4. V ♀, (albo następne doświadczenie na samcu z 5. V) proporcjonalność między liczbą skureczów i przyrostem

zawartości amonjaku, liczonej od przypuszczalnej zawartości procentowej 0.5 do 1 mg %  $\text{NH}_3 - \text{N}$ . Przy większem znużeniu (doświadczenie z 4. V ♂) przyrost powyżej 3.6 mg % staje się nikły.

Wynikało stąd, że istnieje zapewne proporcjonalność między przyrostem zawartości amonjaku a tym czynnikiem skurczu mięsni-

Tabela VII.

*Rana esculenta*. Krótkie tęcze. Preparaty w skórach (warunki prawie beztlenowe).

*Reizung durch kurze Tetani. Praeparate ungehäuter.*

Data Datum	Pieć Geschlecht	Częstość skurczów w 1 min Reizfrequenz in der Minute	Liczba skurczów Zahl der Zuckungen	Mięsień Muskel	Waga mg Masse in mg	Zawartość $\text{NH}_3 - \text{N}$ mg % $\text{NH}_3 - \text{N}$ Gehalt nach Arbeit mg %
4.V	♂	12	150	Gastrocnemius	700	3'53
		12	300	Gastrocnemius	700	3'91
4.V	♀	12	50	Gastrocnemius	546	3'03
		12	100	Gastrocnemius	546	4'64
	♂	12	60	Gastrocnemius	632	1'95
		12	60	Adductor	545	1'43
		12	120	Gastrocnemius	630	3'37
		12	120	Adductor	434	3'10
5.V	♂	12	31	Gastrocnemius	423	1'06
		12	31	Rectus int. major	365	1'12
		12	62	Gastrocnemius	423	2'20
		12	62	Rectus int. maior	472	2'43
5.V	♂	12	50	Gastrocnemius	520	1'25
		12	50	Adductor	533	1'24
		12	50	Tibialis	288	1'25
		12	150	Gastrocnemius	520	3'77
		12	150	Adductor	540	3'52
		12	150	Tibialis	273	3'42
6.V	♂	0	0	Gastrocnemius	420	0'48
		0	0	Rectus maior	468	0'93
		12	100	Gastrocnemius	420	2'54
		12	100	Rectus major	476	2'46

wego, który w miarę znużenia ulega zmniejszeniu: a zatem wywiązaniem energii i przemianą chemiczną. W żadnym razie nie mogło być mowy o tem, że amonjak w mięśniach świeżych znika, a dopiero w bardzo znużonych gromadzi się, jak sądzi EMBDEN: raczej jest przeciwnie, bo drażnienie mięśni świeżych powodowało, na równą liczbę skurczów, po-

wstawanie większych ilości amonjaku, aniżeli drażnienie mięśni znudzonych. Nie mogło też być mowy o tem ażeby oględne, nie nużące drażnienie nie powodowało gromadzenia się amonjaku w mięśni: przeciwnie, maksimum nagromadzenia amonjaku na setkę skurczów widzimy przy szczególnie oględnem, nienużącym drażnieniu<sup>1)</sup>.

Zmieniliśmy wtedy — wspólnie z MOZOŁOWSKIM i LEWIŃSKIM — sposób eksperymentowania, mianowicie — oznaczaliśmy (wyłącznie w mięśniach łydkowych), prócz przyrostu zawartości amonjaku

Tabela VIII.

Praca w warunkach tlenowych.  
*Arbeit unter oxybiotischen Bedingungen.*

Data Datum	Płeć Geschlecht	Temperatura Temperatur	Mięśnie niedrażnione <i>Ungereizte Muskeln</i>				Mięśnie drażnione <i>Gereizte Muskeln</i>					
			Mięsień <i>Muskel</i>	Waga mg <i>Gewicht mg</i>	Zawartość NH <sub>3</sub> — N mg% NH <sub>3</sub> — N Gehalt mg%	Zawartość urazowa mg% Traumatischer NH <sub>3</sub> — N Gehalt mg%	Częstość skurczów w 1' <i>Reizfrequenz</i>	Liczba skurczów <i>Zahl der Zuckungen</i>	Mięsień <i>Muskel</i>	Waga mg <i>Gewicht mg</i>	Zawartość NH <sub>3</sub> — N mg% NH <sub>3</sub> — N Gehalt mg%	Zawartość urazowa mg% Traumatischer Gehalt mg% NH <sub>3</sub> — N
28.IV	♂	18°C	Gastrocnemius	516	1'22		12	1000	Gastrocnemius	516	4'52	
29.IV	♂	18°C	Semimembranosus	533	1'69		6	1000	Semimembranosus	347	4'76	
30.IV	♂	18°C	Semimembranosus (część)	494	2'29		6	1000	Semimembranosus (część)	526	3'89	
			Semimembranosus (część)	554		6'6	6	1000	Semimembranosus (część)	565		6'64

i liczby skurczów, także napięcia skurczów. Mięśnie napinano w miografie izometrycznym BÜRKERA i zapisywano skurcze izometryczne: po wykonaniu 200 do 550 skurczów oznaczano zawartość amonjaku w mięśniu badanym i w świadku symetrycznym, trzymanym w tej samej temperaturze. Podudzia nie były

<sup>1)</sup> Należy tu zwrócić uwagę na moment uchodzenia amonjaku do powietrza. LEE i TASHIRO ('22) stwierdzili to zjawisko, mierzyli przecieź szybkość przenikania amonjaku z mięśni do kwasu, zawartego obok mięśni w komorze wilgotnej. W dłuższych doświadczeniach, w których zachodził wypoczynek tlenowy mięśni, trzymano mięśnie w płynie RINGERA i płyn ten analizowano razem z mięśniami.

obnażone ze skóry. Drażniono nerwy kulszowe elektrodami płynnymi, zapomocą prądów indukcyjnych zamknięcia, bodźcami maksymalnymi.

W innych doświadczeniach mięśnie огоłocone ze skóry znajdowały się w płynie Ringerowskim, nasyconym i zasilałym tlenem, który wpływał słabym prądem w jaknajmniejszych pęcherzykach. Temperatura była niska (10°), drażniono co 20 sekund; doświadczenie przerwano, kiedy skurcze były jeszcze bardzo wydatne. Symetryczny świadek znajdował się w tej samej komorze, również w utlenionym płynie RINGERA.

Na podstawie otrzymanych danych obliczano stosunek wywiązanej energii (w kg napięcia razy długość mięśnia) do powstałej ilości amonjaku (w miligramach azotu); stosunek ten nazywamy „współczynnikiem izometrycznym amonjogenezy mięśniowej“, na wzór Meyerhofowskiego „współczynnika izometrycznego kwasu mlekowego“ (MEYERHOFF '21). Współczynnik nasz określa równanie

$$K_{\text{NH}_3-\text{N}} = \frac{\text{Długość mięśnia w cm} \times \text{suma napięcia w kg}}{\text{mg NH}_3 - \text{N}}$$

Pozatem obliczamy „współczynnik cząsteczkowy izometryczny amonjogenezy mięśniowej“, określony przez równanie:

$$K_{\text{mol. NH}_3} = \frac{\text{Długość mięśnia} \times \text{suma napięcia w kg}}{\text{milimole NH}_3}$$

Współczynniki te, wraz z innymi danymi, zawiera tabela IX.

Wyniki doświadczeń tych są zupełnie jasne: podobnie jak ilość kwasu mlekowego, nagromadzona podczas pracy mięśnia w warunkach beztlenowych jest ściśle proporcjonalna do wywiązanej energii napięcia, tak ilości amonjaku, w warunkach zarówno beztlenowych jak i tlenowych, jest ściśle proporcjonalna do wielkości energii wywiązanego napięcia. Niezależnie od tego, czy mięsień często drażniony nuży się w skurczach beztlenowych i wykonywa niedużo pracy, czy też drażniony w większych odstępach czasu i zaopatrywany obficie w tlen, w niskiej temperaturze, wykona dużo pracy: stosunek energii napięcia do wytworzonego amonjaku waha się w ciasnych

granicach, od  $8.85 \cdot 10^3$  do  $10 \cdot 10^3$ . Ilość amonjaku, wytworzonego na jednostkę energii wywiązanej, nie zależy tu już zupełnie od stopnia znużenia.

Stałość stosunku między iloczynem (napięcie razy długość) a wytworzonymi jednocześnie ilościami amonjaku dowodzi, że reakcja, w której powstaje amonjak, stoi w ścisłym stosunku

Tabela IX.

	Plec Geschlecht	Data Datum	Temperatura Temperatur	Odstęp bodźców w sekundach Abstand der Reize in Sekunden	Liczba skurczów Zahl der Zuckungen	Masa mięśnia w mg Gewicht des Muskels mg	Zawartość amonjaku w świadku niedrażnionym mg $\text{NH}_3$ → N	Zawartość amonjaku w mięśniu drażnionym mg $\text{NH}_3$ → N	Przyrost zawartości amonjaku podczas doświad. w mg $\text{NH}_3$ → N	Amoniakobildung während der Tätigkeit des Muskels mg	Długość mięśnia w cm Länge des Muskels cm	Iloczyn napięcia wywiązanego razy długość mięśni $\text{kg} \times \text{cm}$ Entwickelte Spannung $\text{kg} \times \text{cm}$	Ilość amonjaku w mg $\text{NH}_3$ → N wywiązana na $100 \text{ kg/cm}$ Amoniakobildung für $100 \text{ kg} \times \text{cm}$ Spannung mg	Współczynnik izometrycznej amonjogenezy mięśniowej Isometrischer Koeffizient der Ammoniakbildung $\text{kg} \times \text{cm}$	Współczynnik cząsteczkowy izometrycznej amonjogenezy mięśniowej Isometrischer Molar-koeffizient der Ammoniakbildung $\text{kg} \times \text{cm}$	Milimol ( $\text{NH}_3$ )
Beztlenowo Anaerob	♀	24.V	17°	1	324	463		0,015		0,0099	2,75	94,5	0,0105	$9,5 \cdot 10^3$	$1,33 \cdot 10^5$	
	♂	26.V	18°	2	414	455	0,0051	0,016		0,0037	2,50	83,1	0,0104	$9,6 \cdot 10^3$	$1,34 \cdot 10^5$	
	♀	27.V	19°	2	297	418	0,0076	0,015								
	♀	27.V	17°	2	321	472		0,015		0,0112	2,6	99,8	0,0112	$8,85 \cdot 10^3$	$1,26 \cdot 10^5$	
	♂	28.V	16°	1	226	463	0,0033	0,015		0,0110	2,9	79,0	0,0112	$8,85 \cdot 10^3$	$1,26 \cdot 10^5$	
	♂	28.V	16°	1	226	508	0,0053	0,015		0,0110	2,95	97,7	0,0112	$8,85 \cdot 10^3$	$1,26 \cdot 10^5$	
	♂	23.V	15,5°	2	549	580	0,0075	0,015		0,0125	3,21	42,5	0,0100	$10,0 \cdot 10^3$	$1,40 \cdot 10^5$	
Tlenowo Aerob	♂	30.V	10°	20	321	402		0,015		0,0091	3,0	84,6	0,0103	$9,6 \cdot 10^3$	$1,34 \cdot 10^5$	
	♂	31.V	12°	20	257	400	0,0059	0,0132		0,0090	2,6	85,8	0,0104	$9,6 \cdot 10^3$	$1,34 \cdot 10^5$	
	♂			20	420	420	0,0042	0,022		0,018	2,7	180,0	0,0100	$10,0 \cdot 10^3$	$1,40 \cdot 10^5$	
	♂	1.VI	10°	20	527	464	0,0040									

ilościowym do przemiany energetycznej i przemiany węglowodanowej. Różnica w charakterze przemiany azotowej a przemiany węglowodanowej i kwaso-mlekowej polega na tem, że w przemianie azotowej brak okresowości kataboliczno-anabolicznej oraz zależnej od dopływu tlenu gry rozkładu i odbudowy, właściwej przemianie węglowodanowej. Amonjak utworzony w mięśniu wyciętym nie znika, nie przetwarza się w ob-



wębie tej tkanki ani w swe ciało macierzyste, ani w przetwór wydalinowy, może conajwyżej ująć z mięśnia drogą dyfuzji gazowej lub do płynu.

### X. Sprawa odwracalności amonjogenezy mięśniowej.

Powtarzając doświadczenia EMBDENA próbowaliśmy sprawdzić jego twierdzenie, jakoby zamrożenie mięśnia żabiego na wysokości tęcza utrwalalo w nim zawartość amonjaku, większą od tej, którą się znajdzie w mięśniu symetrycznym, utrwalonym w kilkadziesiąt sekund później.

Tabela X.

*Rana temporaria.* Preparat nerowo-mięśniowy (m. gastrocnemii) obu symetrycznych mięśni z płytką rdzeniową Drażnienie: krótkie (około 1 sek.) tęcze.

Data Datum	Płeć Geschlecht	Mięsień zamrożony w czasie skurczu w płynnym powietrzu <i>Während der Kontraktion mit. fl. Luft eingefroren</i>		Mięsień utrwalony później <i>1 Minute nach der Kontraktion mit fl. Luft eingefroren</i>	
		Waga mg Masse mg	Zawartość NH <sub>3</sub> — N mg% NH <sub>3</sub> — N Ge- halt mg%	Waga mg Masse mg	Zawartość NH <sub>3</sub> — N mg% NH <sub>3</sub> — N Ge- halt mg%
26.X	♂	800	1.96	800	1.46
		560	2.22	560	2.63
		770	1.53	770	1.30
14.XI	♀	840	1.83	845	1.84
		705	1.61	705	1.67

Preparat podwójny mięśniowo-nerwowy z żaby płowej rozpinano na stosownej podstawie z pręta szklanego tak, że prąd drażniący szedł od nerwu jednego odnoża przez skrawek rdzenia i do nerwu drugiego odnoża: mięśnie umieszczono w ten sposób, że jeden z nich można było zanurzyć naraz w ciekłym powietrzu, przez podniesienie dewarowskiego płytkiego kielicha. W doświadczeniu z 26.X przerywano prąd drażniący z chwilą zanurzenia jednego mięśnia w kielichu z ciekłym powietrzem, w doświadczeniu z 14. XI natomiast płynne powietrze otaczało odrazu skrawek rdzenia, obydwa nerwy i jeden z mięśni, i kończyło przez to drażnienie tęczowe obydwu. W doświadczeniu pierwszym rozcierano mięsień-świadek zaraz z boranem, w drugim przecinano natychmiast po zanurzeniu w płynnym powietrzu nerw części niezanurzonej, a po minucie wrzucano mięsień-świadek również do ciekłego powietrza.

Wyniki doświadczeń tych zawiera tabela X.

Nie wynika z niej bynajmniej, ażeby w tężcu istniało jakieś wyraźne gromadzenie się amonjaku, przemijające w chwili zwiótczenia lub wkrótce potem: mięsień zamrożony w skurczu zawiera tyle amonjaku, z wahaniami w obydwie strony, w granicach błędów analitycznych, co mięsień utrwalony później<sup>1)</sup>.

Jestem zdania, że przecenia się metodę utrwalania stanu chemicznego przez zanurzenie w ciekłym powietrzu. Łatwo przekonać się zapomocą najprostszego doświadczenia, że mięsień zanurzony w ciekłym powietrzu ochładza się powoli, a to wskutek gwałtownego zjawiska leidenfrostowskiego. Zanurzywszy np. mięsień łydkowy żabi, o temperaturze pokojowej, do ciekłego powietrza, wydobywa się go po 3 sekundach bez śladu zamrożenia powierzchni: po 6 sekundach powierzchnia jest zamrożona do głębokości 1 mm. Dopiero po ustaniu zjawiska leidenfrostowskiego, — poznaje się ten moment po gwałtowniejszem zakipieniu cieczy, — mięsień zamarza szybko do głębi. Wsunąwszy do środka mięśnia łydkowego spojenie miedziowo-konstantanowe, a drugie do wody w temperaturze pokojowej, przekonałem się, że wychylenie igły galwanometru (1 działka oznaczała 12 stopni) zaczęło się po 7 sekundach, a w środku uda średniej żaby płowej dopiero po 15 sekundach, jeżeli odnoże wrzucono do ciekłego powietrza. Zamrożenie mięśnia w ciekłym powietrzu trwa zapewne dłużej, aniżeli roztarcie go z boranem w stanie niezamrożonym.

Pozatem należy zwrócić uwagę na to, że zamarzanie nerwu ruchowego drażni mięsień i powoduje nieregularne kurcze tężcowe. Stan mięśnia utrwalonego w ciekłym powietrzu nie jest bynajmniej tak ściśle zdefiniowany, jak to przypuszczają autorowie posługujący się tą metodą.

#### XI. Losy amonjaku mięśniowego u żaby.

W doświadczeniach nad skurczami strychninowemi stwierdziliśmy, że w mięśniu pozostającym w zespole ustroju, przepłukiwanym prawidłowo krwią i zaopatrywanym w tlen zawartość

<sup>1)</sup> Na zjeździe fizjologów we Frankfurcie (wrzesień 1927) podczas dyskusji nad kwestją odwracalności amonjogenezy oświadczył O. MEYERHOFF, że sprawdził doświadczenia odnośne i że może potwierdzić wyniki w sprawie odwracalności amonjogenezy mięśniowej, pracowni Lwowskiej, a nie Frankfurckiej. (Berichte über die gesammte Physiologie 42,561 ('27).

amonjaku może wzrosnąć i dać się stwierdzić po upływie wielu minut. W związku z temi spostrzeżeniami nasuwało się przypuszczenie, że wahania zawartości amonjaku w mięśniach „świeżych” — normalnie od 0.4 do 1.1 mg % u żaby — mogą (podobnie jak wahania zawartości kwasu mlekowego), zależeć od poprzednich ruchów, których wpływ zaznaczać się może dość długo. MOZOŁOWSKI i LEWIŃSKI wykonali doświadczenia nad tem zagadnieniem z następującymi wynikami.

Żaby wodne świeżego połowu nużono w ciągu dwu minut bodźcami tężcowymi przerywanemi, drażniąc zapomocą elektrod przyłożonych do grzbietu. Po 15 minutach wypoczynku (w wodzie) analizowano mięśnie łydkowe, które zawierały jeszcze 2.3 mg % azotu amonjakowego. W dalszych doświadczeniach nużono żaby podobnie, odcinano jedno podudzie i analizowano jego mięśnie, a żabę wkładano do wody. Ażeby wykluczyć wpływ ruchów podczas wypoczynku usypiano żaby przed doświadczeniem zapomocą nasyczonego wodnego roztworu chloretonu (alkoholu trójchlorobutyłowego trzeciorzędowego), do którego wkładano je na 70 sekund, potem przenoszono do wody czystej. Wessany przez skórę narkotyk powoduje po kilku minutach głębokie uspianie. Tabela XI zawiera wyniki doświadczeń na żabach nieuspionych i uspionych.

Liczby zebrane w tabeli XI dowodzą, że wpływ znużenia zaznacza się na zawartości amonjaku w mięśniach żaby bardzo długo: po silnem znużeniu (5.1 mg % amonjaku) znajdujemy jeszcze po 55 minutach, w temperaturze 14°, zawartość przeszło 2 mg %  $\text{NH}_3\text{—N}$ .

Wobec tego faktu trudno istotnie spodziewać się zbyt wielkiej stałości zawartości amonjaku w mięśniach świeżych. Gra powstawania i — zapewne — wypłókiwania amonjaku przez prąd krwi, odprowadzającej go do wątroby, prowadzi do równowagi dynamicznej, przesuwałej się w czasie czynności, zależnie od jej natężenia, w kierunku zwiększonej zawartości amonjaku w mięśniu, a dopiero przy dłuższym wypoczynku i spoczynku — ku wartościom najniższym. Ubytek wypoczynkowy amonjaku zależy zapewne od ukrwienia mięśni i od poziomu zawartości amonjaku we krwi: rzecz jasna, dlaczego tak wysokie wartości stwierdzamy w mięśniach zwierząt zmiennoocieplnych, a tak niskie w mięśniach królika i człowieka.

Stwierdzenie tak powolnego ubytku amonjaku w mięśniach znużonych jest bądź co bądź ważkim argumentem przeciwko teorji, która w procesie mięśniowym przyjmuje znikanie amonjaku w tej samej tkance.

Powolne znikanie amonjaku z mięśni żabich znużonych mogło zależeć od nagromadzenia kwasu mlekowego i przesunięcia oddziaływania w kierunku zwiększonego stężenia jonów wodoro-

Tabela XI.

	Data <i>Datum</i>	Zawartość amonjaku w mięśniach odnoży znużo- nych zaraz po drażnieniu $NH_3-N$ Gehalt im ampul- tierten Beine sofort nach der Reizung	Druga analiza po uply- wie minut <i>Die zweite Bestimmung nach Minuten</i>	Zawartość amonjaku w mięśniach drugiego, wy- poczętego odnoża $NH_3-N$ Gehalt des zwei- ten Beines	Temperatura wypoczyn- kowa <i>Temperatur des Wassers</i>
		$mg\% NH_3-N$		$mg\% NH_3-N$	$^{\circ}C$
Żaby nieuśpione	3.VI	3,73	60	2,62	24
	3.VI	3,00	60	1,64	17
	4.VI	4,25	120	1,58	14
	4.VI	2,42	90	0,94	14
	4.VI	5,09	55	2,08	14
	4.VI	3,64	30	3,13	14
	7.VI	3,19	40	2,00	18
	7.VI	1,80	150	0,60	18
	8.VI	2,16	60	0,98	16
8.VI	2,85	60	2,40	16	
Żaby uśpione	9.VI	4,54	35	3,69	16
	9.VI	3,27	90	1,75	16
	9.VI	1,93	85	1,11	16
	9.VI	3,05	50	1,30	16
	9.VI	2,04	60	0,87	16
	9.VI	3,35	30	1,72	16
	9.VI	3,21	60	2,07	16
	9.VI	2,74	30	1,41	16

wych. MOZOŁOWSKI i LEWIŃSKI ('27) sprawdzili to przypuszczenie, badając przenikanie amonjaku znużeniowego z dwu mięśni symetrycznych, jednakowo i jednocześnie znużonych, do płynu Ringerskiego beztlenowego i do płynu nasyconego tlenem. Nie było różnicy między ubytkiem amonjaku z mięśnia, w którym dokonywały się sprawy wypoczynkowe tlenowe, a ubytkiem z mięśnia, w którym kwas mlekowy nie ulegał utlenieniu ani syntezie powrotnej na glikogen: w jednych i drugich warunkach przepuszczalność mięśni dla amonjaku była jednakowa.

Amonjak znużeniowy zachowuje się w ustroju żaby zupełnie podobnie, jak amonjak wprowadzony z zewnątrz. MOZOŁOWSKI

i LEWIŃSKI badali przyrost i znikanie amonjaku w mięśniach żaby, której do piersiowego worka limfatycznego wstrzyknięto roztwór chlorku amonowego, zawierającego na mol  $\text{NH}_4\text{Cl}$  jeden mol  $\text{NaHCO}_3$  <sup>1)</sup>. Żabom uśpionym chloretonem (jak wyżej) wstrzyknięto na 100 g wagi ciała 10 mg azotu amonjakowego i trzymano następnie w wodzie o temperaturze 16°. Tabela XII podaje zawartości amonjaku — w mg  $\text{NH}_3\text{-N}$  na 100 g — po upływie różnych czasów. W drugiej serji badano zmiany zawartości amonjaku w okresach dłuższych po wstrzyknięciu, a żaby trzymano w wilgotnej komorze w temperaturze 24°.

Tabela XII.

		$\text{NH}_3\text{-N}$ mg-%. (24.VI)			
		1	2*)	3	4
Po 15 min.		1,66	—	—	—
" 30 "		—	2,03	—	—
" 45 "		—	—	4,58	—
" 58 "		—	—	—	6,10
" 75 "		5,29	—	—	—
" 90 "		—	6,08	—	—
" 110 "		—	—	5,75	—
" 123 "		—	—	—	6,10

\*) W 45 minut po wstrzyknięciu — kurcze.

Tabela XIII.

		$\text{NH}_3\text{-N}$ mh-%. (13.VII)			
		1	2	3	4
Po 1 h.		7,65	—	—	—
" 2 "		—	6,40*)	—	—
" 3 "		—	—	4,09	—
" 4 "		—	—	—	3,04
" 5 "		2,78	—	—	—
" 6 "		—	5,22*)	—	—
" 7 "		—	—	1,86	—
" 8 "		—	—	—	1,24

\*) Po zabiciu żaby 2 znaleziono w wątrobie 17,5 mg% amonjaku (jako azot).

Z doświadczeń wynika, że nagromadzenie się wstrzykniętego amonjaku w mięśniach i znikanie z mięśni odbywa się u żaby powoli, podobnie, jak ubywanie amonjaku znużeniowego z mięśni.

O zachowaniu się kwasu mlekowego w ustroju żaby żywej wiemy niewiele: ogłoszono dopiero niedawno nieliczne i fragmentaryczne doświadczenie WOODROWA i WIGGLESWORTH (27). W doświadczeniach tych umieszczano żaby na krótki czas w wodzie o temperaturze 38°: zawartość kwasu mlekowego wznosiła się do 111 mg  $\frac{\%}{100}$ . Jeżeli żaby przeniesiono następnie do wody chłodnej, w warunkach tlenowych, to powrót do normalnej zawartości kwasu mlekowego trwał jednak około pół godziny. A zatem także wypochnikowe znikanie kwasu mlekowego trwa u żaby bardzo długo, zwłaszcza w porównaniu z szybkością tej sprawy u człowieka. Czynnikiem decydującym, zarówno ze względu na znikanie kwasu mlekowego, jak i amonjaku, jest zapewne, liczba naczyń włoskowatych i przepływający przez mięsień prąd krwi.

<sup>1)</sup> Ażeby nie wprowadzać czynnika kwasowego.

## XII. Losy amonjaku podczas pracy mięśni ludzkich.

Powróciliśmy do zagadnień, z których wyszła praca nad amonjogenezą mięśniową.

Czy mięśnie, spoczywające albo pracujące, oddają do krwi amonjak i czy wpływają w ten sposób na zawartość amonjaku w krwi krążącej? Czy uda się z jednej strony stwierdzić przez wykazanie przechodzenia amonjaku z mięśni do krwi, że w mięśniach pracujących prawidłowo *in vivo*, powstaje amonjak, z drugiej zaś wyświecić ostatecznie sprawę rzeczywistości amonjaku krwi, a zarazem kwestji stosunku zawartości amonjaku we krwi żyłnej i tętniczej, dyskutowaną przez FONTÈS'A ('26) i PARNASA ('27).

W pracy, wykonanej wspólnie z MOZOŁOWSKIM i LEWIŃSKIM ('27) zastosowaliśmy najprostszą formę eksperymentu: analizowaliśmy zawartość amonjaku w próbce krwi, dobytej z żył łokciowych człowieka, w spoczynku, oraz w czasie pracy mięśniowej.

Osoby badane siedziały wygodnie, ramiona były oparte na poduszce. Krew brano z żyły łokciowej skośnej możliwie wysoko, bez zastoiny, za pomocą zwilżonej płynną parafiną strzykawki, oraz igieł Nr. 2. Niekiedy tylko, i to w doświadczeniach spoczynkowych, naciskano palcem żyłę w chwili przed wbiciem igły. Amonjak w krwi oznaczano sposobem, podanym w pracy PARNASA i KLISIECKIEGO ('26/II). Do krwi nie dodawano środka wstrzymującego krzepnięcie, natomiast boran w naczyniu destylacyjnym zawierał nieco szczawianu sodowego. Polecamy ten sposób badania krwi na amonjak w tych wszystkich przypadkach, kiedy poddaje się analizie krew zupełnie świeżą, natychmiast po pobraniu z naczynia, i kiedy chodzi o uchwycenie subtelnych różnic w zawartości amonjaku. Ponieważ w poprzedzających analizę kontrolach pozbawiono nietylko zasadę (boran), lecz także szczawian ewentualnych zanieczyszczeń amonjakowych, przeto unika się wprowadzenia do analizy chemikaljów „wątpliwych”.

W doświadczeniach nad krwią mięśni pracujących, dawano osobie badanej duży kawał plasteliny, którą z natężeniem całej siły ugniatała w dłoni. W tym rodzaju pracy wprowadza się w czynność wszystkie mięśnie przedramienia, dłoni i palców. Po kilku minutach pracy, na znak dany, osoba badana zaciskała kureczowo pięść, i w tej chwili pobierano krew.

Tabela XIV zawiera sprawozdanie z doświadczeń.

Wyniki doświadczeń wypadają szczególnie poglądowo, jeżeli porównywano destylaty, zadane odczynnikiem NESSLERA: zawsze, bez wyjątku, destylat z krwi ramienia pracującego był zabarwiony o wiele mocniej.

Krew z ramienia pracującego zawierała przeważnie trzykroć tyle amonjaku, co krew z ramienia spoczywającego, w niektórych przypadkach jednak—osiem do dziesięciu razy więcej. Szukaliśmy wytłumaczenia dla tych różnic jednostkowych. Nie mogły ich wytłumaczyć różnice w natężeniu pracy: osoby I, II i III, silni mężczyźni, pracowały podczas doświadczenia bardzo energicznie. Uwzględniono różnice konstytucji: osoby I, II i III przedstawiały typy (według KRETSCHMERA) asteniczno-atletyczne, o skórze cienkiej i bladej, i sieci żyłnej wyraźnej, nabrzmiałej od krwi podczas pracy. Osoby IV, VI, VIII były typami piknicznymi, o żyłach cieńszych, ukrytych w podściółce i nie występujących podczas pracy. Sądziliśmy pierwotnie, że u typów asteniczno-atletycznych przepływa przez mięśnie pracujące żywszy strumień krwi, aniżeli u osób o typie pikniczym, a oznaczenie ubytku tlenowego we krwi żyłnej przemawiało za tem przypuszczeniem: u osoby I krew żylna była podczas pracy prawie tak samo nasycona tlenem, jak w spoczynku, już po barwie można było to poznać: może amonjak, wypłokany z mięśni, był wskutek tego bardziej rozcieńczony. Ale ta hipoteza nie sprawdziła się: osoba XI, dziewczyna silna, wytrenowana, o cienkiej skórze i o sieci żyłnej niezbyt wyraźnej, wykazywała najwyższe wartości spoczynkowe amonjaku we krwi, zawartości te nie wzrastały przy przekrwieniu wskutek zanurzenia ramienia w wodzie 45 stopniowej; podczas pracy stwierdzaliśmy u niej najmniejszy ubytek tlenu i najwyższe zawartości amonjaku.

Różnice jednostkowe zawartości amonjaku we krwi żyły łokciowej wyjaśniły mi się dopiero przy oglądaniu starych preparatów naczyń ramienia i ręki, wykonanych przez prof. KADYIA i znajdujących się w muzeum Instytutu Anatomji Opisowej we Lwowie. Preparaty te wykazywały jasno, jak rozmaicie przebiegają anastomozy żył głębszych i żył skórnych w okolicy łokcia, jak rozmaicie mieszaną z mięśniowej i skórnej próbę krwi można otrzymać u różnych jednostek, jeżeli się ją pobiera z *vena cubitalis obliqua*. Taka próba krwi jest, zależnie od przebiegu anastomoz między żyłami głębszemi (niosącemi krew spływającą z mięśni) a żyłami skórnymi, w rozmaitym stopniu rozcieńczona, ze względu na przetwory przemiany mięśniowej; i ta okoliczność tłumaczy wielkie różnice w zawartości amonjaku, przy stałe jednak występującej nadwyżce amonjaku we krwi, pochodzącej z mięśni pracują-

cych. U osoby XI układ anastomoz sprawiał, jak przypuszczamy, że krew pobierana z żyły łokciowej skośnej dawała wierniejszy obraz krwi mięśniowej, aniżeli u wszystkich innych badanych osobników.

Jedno z oznaczeń doświadczenia 3-go wykazuje, że praca ramienia nie powoduje podwyższenia zawartości amonjaku we krwi z ramienia drugiego, spoczywającego. Osobne doświadczenia wykazały, że praca nawet bardzo natężona nie powoduje u człowieka wyraźnej podwyżki zawartości amonjaku we krwi krążącej ogólnego:

E. HAAK, student, lat 20, przebiega 100 m w 12 sekundach. Doświadczenie z 12 maja. W spoczynku: krew żyły łokciowej zawiera 0.022 mg % azotu amonjakowego. Po 65 sekundach gwałtownego biegu na miejscu („standing running“): 0.027 %.

ST. GWYNAR, student, lat 20, rekord, jak poprzednio. Zawartość amonjaku spoczynkowa: 0.025 mg %. Po 65 sekundowym biegu na miejscu, wyraźnie bardziej wyczerpującym, aniżeli w doświadczeniu poprzednim: 0.05 mg %.

Doświadczenia te wykazują, że gwałtowny krótki wysiłek nie powoduje hiperamonemji ogólnej: u jednostek wytrenowanych rzecz ma się tu inaczej, aniżeli z kwasem mlekowym, który przy podobnych wysiłkach przenika w dużych ilościach do krwi krążącej. Widocznie wątroba lub inne jeszcze narządy opanowują i usuwają bardzo sprawnie drobne ilości amonjaku pochodzenia mięśniowego.

Spostrzeżenia powyższe, co do których ścisłości eksperymentalnej nie mamy zastrzeżeń, są w sprzeczności, albo trudne do pogodzenia, z niektórymi faktami. U przeżywającego królika wytrzewionego (więc w preparacie mięśniowo-sercowo-płucnonerkowym) ADLERSBERG i TAUBENHAUS nie mogli stwierdzić przyrostu zawartości amonjaku we krwi, aczkolwiek wzrastała zawartość substancji amoniakorodnej. We krwi psów pozbawionych wątroby MANN i MAGATH (MANN '27) również nie mogli stwierdzić narastania zawartości amonjaku (wiadomość tę zawdzięczam prof. TH. NASH z Memphis, Tenn.). Trudność pogodzenia tych faktów z narastaniem amonjaku we krwi, płynącej z mięśni pracujących, i z faktem powstawania amonjaku w mięśniach w czasie pracy, możnaby może złagodzić, biorąc pod uwagę, że preparat ADLERSBERGA i TAUBENHAUSA oraz pozbawiony wątroby pies MANNA może



nie był bardzo ruchliwy, lecz przeciwnie, raczej osłabiony, i że dlatego nadwyżka amonjaku, proporcjonalna do pracy mięśni, była zbyt małą, ażeby móc ją stwierdzić. Pozostaje wtedy jednak trudność z samorzutnym spoczynkowym powstawaniem amonjaku w mięśniach, które opisujemy poniżej jako „amonjogenezę pośmiertną“, przypuszczając, że odbywa się — choć nie mamy

Tabela XIV.

№	Data <i>Datum</i>	Nazwisko <i>Versuchsperson</i>	Wiek <i>Alter</i>	Zawartość azotu amonjakowego we krwi przed pracą	Czas pracy w minutach <i>Dauer der Arbeit</i>	Zawartość azotu amonjakowego we krwi po pracy	Pojemność krwi dla tienu: cm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> na 100 cm <sup>3</sup> krwi <i>Sauerstoffkapazität des Blutes</i>	Ubytek tienu we krwi żywej: cm <sup>3</sup> O <sub>2</sub> na 100 cm <sup>3</sup> krwi <i>Sauerstoffdefizit des Blutes</i>
				mg% NH <sub>3</sub> -N		mg% NH <sub>3</sub> -N		
1	7.V	W. Mozołowski	32	0,025-	6	0,11		
					3	0,09	20,1	10,7
2	9.V	W. Lewiński	29	0,038	4	0,09		
				0,032	6	0,082	19,5	13,5
3	10.V	J. Nuckowski	35	0,03	6	0,096		
					6	0,025 <sup>1)</sup>		
					6	0,081		
4	10.V	A. Hellerowa	32	0,021	6	0,194		
	18.V				6	0,12 <sup>2)</sup>		
5	10.V	Z. Mokłowska	53	0,020	3	0,04 <sup>3)</sup>		
6	11.V	M. Złakiewicz	21	0,032	5	0,17	19,5	15,5
	23.V				5	0,184		
7	11.V	Petryński	18	0,021	5	0,057		
8	11.V	C. Lutwakówna	17	0,029	5	0,18		
					5	0,096	22,4	18,5
9	11.V	M. Leszczyjówna	19	0,021	5	0,085		
10	23.V	F. Vogel	20	0,015	5	0,072		
11	13.V	St. Lesserówna	20	0,04	5	0,254	21,7	12,7
	19.V				4	0,22		
	13.V			0,04 <sup>4)</sup>				

1) Krew z ramienia lewego: pracuje prawe.

2) Bardzo gorąco: praca słabsza niż 10.V.

3) Praca bardzo słaba.

4) Ramię przez 2' zanurzone w wodzie 45°.

na to dowodów — także za życia w mięśniach spoczywających. Może wchodzi tu w grę czynniki dotąd nieznanne, aczkolwiek trudno przypuścić na podstawie eksperymentów MANNA i jego współpracowników (<sup>27</sup>), ażeby w preparacie pozbawionym wątroby istniał jakiś czynnik przetwarzający amonjak w mocznik, jeżeli ściśłem jest, że stężenie mocznika nie wzrasta: ale i tu nie znamy całkowitego bilansu mocznika.

### XIII. Zachowanie się mięśni kuraryzowanych.

Amonjogeneza mięśniowa mogła się wydawać sprawą czynnościową tkanki mięsnej, ale mogła także pozostawać w związku z bodźcem, a nie ze skurczem. Stwierdzenie, że w nerwie kulszowym niema zjawiska amonjogenezy urazowej, wykluczało wprawdzie przypuszczenie, ażeby amonjogeneza mięśniowa była zjawiskiem związanem z czynnością tkanki nerwowej, mogła jednak pozostawać w pewnym stosunku do czynności zakończeń ruchowych w mięśniu. MOZOŁOWSKI i LEWIŃSKI badali amonjogenezę w mięśniach żab kuraryzowanych i stwierdzili, że drażnienie nerwu nie wpływa na zawartość amonjaku w mięśniu, że natomiast bezpośrednie drażnienie takich mięśni powoduje zupełnie podobną amonjogenezę, jak znużenie mięśni normalnych. Zauważyć należy, że mięśnie żab kuraryzowanych zawierały przeważnie więcej amonjaku, aniżeli zwykle: ale doświadczenia te wykonano w lipcu, kiedy zawartość spoczynkowa u żab pracownianych jest zwykle dość wysoka.

Doświadczenia nad mięśniami kuraryzowanymi dowodzą w każdym razie tyle, że sprawa amonjogenezy jest umiejscowiona po stronie mięśniowej zakończenia ruchowego nerwowo — mięśniowego.

### XIV. Próba analizy amonjogenezy mięśniowej.

Wobec wstrzymania urazowej amonjogenezy mięśniowej przez działanie boranu sodowego wydawało się możliwem wyodrębnienie z tkanki mięsnej układu amonjakerodnego i badanie warunków, w których układ ten odszczepia amonjak. Stwierdziliśmy istotnie (PARNAS i MOZOŁOWSKI '27), że w płynie, otrzymanym przez roz-tarcie mięśni żabich z boranem — w którym, jak już powiedziano, amonjak nie powstaje — można wywołać powstawanie amonjaku, jeżeli płyn ten zobojętnimy fosforanem jednopotasowym. Odważone ilości starannie preparowanych mięśni rozcierano z boranem w taki sam sposób, jak przy oznaczaniu amonjaku. Stwierdzono osobno, wiele fosforanu jednopotasowego trzeba dodać do 1 cm<sup>3</sup> wyciągu, ażeby sprowadzić pH do wartości 7.3. W doświadczeniach właściwych zobojętniano po upływie określonego czasu wyciąg boranowy zapomocą odmierzonej ilości fosforanu.

Dwie serje doświadczeń na samcach żaby wodnej (I.II) zestawiono w tabeli XV.

Doświadczenia te wykazują, że zobojętnienie zasadowej miazgi wyzwała amonjogenezę mięśniową, wstrzymaną przez boran zasadowy.

W dalszych doświadczeniach oddzielano wyciąg od pozostałości nierozpuszczalnej tkanki mięsnej.

Tabela XV.

I. II. *Rana csculenta*.

Mięsień	Waga mg	Zawartość $\text{NH}_3\text{-N}$ po roz- tarcu z boranem: $\text{mg}\%$ $\text{NH}_3\text{-N Gehalt in mg}\%$ nach Verreiben mit Borat	Zawartość $\text{NH}_3\text{-N}$ po zo- bojętnieniu miazgi bora- nowej przez $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , do $\text{pH} = 7,4$ ; $\text{mg}\%$ $\text{NH}_3\text{-N Gehalt nach Neu-}$ $\text{tralisation des alkalischen}$ $\text{Breis auf pH} = 7,4$ ; $\text{mg}\%$	Zawartość $\text{NH}_3\text{-N}$ po roz- tarcu z wodą; $\text{mg}\%$ $\text{NH}_3\text{-N Gehalt nach Zer-}$ $\text{reiben mit Wasser mg}\%$	Czas od zobojętnienia do powrotnego dodania bora- nu w minutach <i>Zeitdauer von Neutralisa-</i> <i>tion bis zur wiederholten</i> <i>Alkalisierung.</i>
Łydkowy	402	—	3.5	—	3'
Udowy	281	—	2.6	—	3'
Łydkowy	394	0.76	—	—	—
Udowy	385	—	—	5.9	—
Łydkowy	520	0.6	—	—	—
Udowy	520	—	2.5	—	2'
2 Piszczelowe	476	—	2.64	6.3	5'

12. II. Roztarto 1500 mg mięśni żaby wodnej z 10  $\text{cm}^3$  boranu i destylowano: miazga zawierała 1.09 mg azotu amonjakowego na 100 g mięśni. Dodano do płynu jeszcze 5  $\text{cm}^3$  boranu: 1  $\text{cm}^3$  płynu odpowiada zatem około 100 mg mięśnia. Do zobojętnienia 2  $\text{cm}^3$  wyciągu na  $\text{pH} = 7.3$  potrzeba 4  $\text{cm}^3$  fosforanu jednopotasowego, mięśnie zaś zawierają tyle amonjaku, że wynikający stąd błąd odpowiada zawartości 0.5  $\text{mg}\%$  azotu amonjakowego. Miazga mięsna zawiera w końcu doświadczenia tyle amonjaku, ile odpowiada, ze względu na zawartość pierwotną mięśnia, 0.25  $\text{mg}\%$   $\text{NH}_3\text{-N}$ .

Zobojętniano po 2  $\text{cm}^3$  miazgi do  $\text{pH} = 7.3$ , następnie znowu alkalizowano boranem i destylowano. Po upływie 12' w temperaturze 9.4° miazga zawierała — uwzględniono błąd i przeliczono na świeżą tkankę mięsną — 1.8  $\text{mg}\%$   $\text{NH}_3\text{-N}$ .

Następnie miazgę wirowano: plyn zobojętniony zawiera po 44 minutach: 2.25  $\text{mg}\%$  (przeliczone na tkankę świeżą)  $\text{NH}_3\text{-N}$ . Po 55': 2.5  $\text{mg}\%$ .

Podobne doświadczenie, w którym 1550 mg mięsa roztarto z 5  $\text{cm}^3$  boranu dało przed zobojętnieniem 0.82  $\text{mg}\%$ , po zobojętnieniu na przeciąg 12': 3.4  $\text{mg}\%$   $\text{NH}_3\text{-N}$ , obliczonych na tkankę świeżą.

W tem samym doświadczeniu przekonaliśmy się, że trzymanie wyciągu boranowego przez 30' w temperaturze 36° nie zmienia układu amo-

njakorodnego. 4 cm<sup>3</sup> wyciągu, zobojętnione fosforanem pierwszorzędowym na przeciąg 10' w temperaturze 9,4°, dały po ponownym zalkalizowaniu boranem 0.0241 mg azotu, gdy przed pobytem w cieplarni dawały 0.0247 mg.

Doświadczenie główne wykonano w sposób następujący:

4 g mięśni żaby wodnej preparowano i natychmiast rozcierano z drobnymi ilościami boranu: objętość cieczy 20 cm<sup>3</sup>, temperatura 19,2°. Miazgę zlano z warstwy kwarcu, wymieszano dokładnie i rozdzielono na trzy próbówki od wirownicy; dwie poddano wirowaniu. Płyn zlany wirowano ponownie, pozostałość wymywano dwukrotnie na wirownicy zapomocą 10 cm<sup>3</sup> boranu, następnie wymieszano pozostałość nierozpuszczalną z tym samym roztworem boraksu. Otrzymano zatem:

a) Płyn zawierający w 2 cm<sup>3</sup> wyciąg boranowy z 400 mg świeżych mięśni.

b) Zawiesinę pozostałości nierozpuszczalnej w tym samym roztworze boranu, odpowiadającą temu samemu rozcieńczeniu tkanki. }

c) Miazgę pierwotną, zawierającą pozostałość b w płynie a.

Do 2 cm<sup>3</sup> poszczególnych prób dodawano po 1.2 cm<sup>3</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (5%), nadając przez to oddziaływanie pH = 7.4 i trzymano przez określony czas w temperaturze 14,3°. Takie same ilości fosforanu wypadają na 2 cm<sup>3</sup> pierwotnej zawiesiny c, albo zawiesiny b. Płyn a zawiera przed zobojętnieniem tyle amonjaku, ile odpowiada 0.74 mg % NH<sub>3</sub>-N tkanki świeżej. Następujące zestawienie zawiera wyniki doświadczenia; wyniki przeliczono na zawartość NH<sub>3</sub>-N w tkance pierwotnej.

Pozostałość	Pozostałość	
	I. Po 20' : 0,3 mg%	II. (Złożony z a i b) Po 30' : 3,5 mg%
Wyciąg	III. (Pierwotny) Po 10' : 2,4 mg% " 20' : 4,82 mg%	IV. Po 12' : 1,1 mg% " 20' : 1,65 mg% " 30' : 2,36 mg% " 16 h. : 3,25 mg%

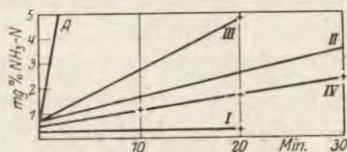
Pola w powyższej tabelce oznaczają pozostałość nierozpuszczalną tkanki mięsnej (I); wyciąg boranowy (IV); mieszaninę wyciągu i pozostałość pierwotną (III) i mieszaninę złożoną z a i b (II). Rys. 8 zawiera wykresy powstawania amonjaku w tych czterech układach, tudzież w tkance świeżej, rozcieranej z wodą.

Liczby nasze wykazują, że pozostałość nierozpuszczalna tkanki mięsnej nie zawiera ciała macierzystego amonjaku: ciało to jest zawarte wyłącznie w wyciągu boranowym. Wyciąg ten zawiera także czynnik, który możemy określić, jako zaczyn właściwy, powodujący wobec oddziaływania obojętnego odszczepienie amonjaku z ciała macierzystego: amonjogeneza postępuje bowiem szybciej, jeżeli wyciąg styka się z pozostałością nierozpuszczalną,

aniżeli w wyciągu izolowanym. Widocznie pozostałość zawiera jakiś czynnik—może sam zaczyn w stężeniu wyższym lub jakąś substancję, wpływającą na działanie zaczynu, — która przyspiesza rozpad ciała amonjakerodnego.

Zwracamy jednak uwagę na to, że przy rozcieraniu tkanki mięsnej amonjak powstaje z szybkością conajmniej dziesięciokrotnie większą, aniżeli w miazdze boranowej, reaktywowanej przez zobojętnienie boranu.

Ponieważ zaczyn, odszczepiający amonjak w tkance mięsnej, można zapomocą boranu wyciągnąć wraz z podłożem, bez zmian nieodwracalnych, przeto mamy w wyciągu boranowym preparat, który do studjów nad zaczynem i nad podłożem doskonale się nadaje: podane tu doświadczenia stanowią tylko początek badań w tym kierunku.



Rys. 8. Powstawanie amonjaku w miazdze mięsnej i jej częściach, t. j. w wyciągu i pozostałości nierozpuszczalnej. I: w pozostałości wymytej. II: w mieszaninie pozostałości i wyciągu. III: miazdze pierwotnej. IV: w wyciągu. A: w mięśniu rozartym z wodą.

*Ammoniakbildung im Muskelbrei und seinen Theilen. I: In dem ausgewaschenen Rückstand. II: Im Gemisch aus Extract und Rückstand. III: Im ursprünglichen Brei. IV: Im Extract. A: Im mit Wasser zerriebenen Muskel.*

#### XV. Próby określenia źródła amonjaku mięśniowego.

Odkrycie kwasu adenilowego w wyciągu z mięśni (EMBDEN i ZIMMERMANN '27) wpłynęło, oczywiście, na nasze przypuszczenia co do możliwych źródeł amonjaku mięśniowego. Jeżeli w wyciągu rodzimym z mięśni znajduje się kwas adenilowy, zaś w wyciągu LIEBIGA (otrzymanym przez poddanie mięśni stężeniu cieplnemu w wodzie) kwas inozynowy, to „dedukcja chemiczna“ (por. PARNAS '22 str. 21) wskazuje na dezaminację związanej w kwasie adenilowym adeniny, jako na prawdopodobne źródło amonjaku mięśniowego. EMBDEN nadmienia ('27 I i II), że po dodaniu do miazgi mięsnej kwasu adenilowego zwiększa się w miazdze ilość odszczepionego amonjaku, i to w stosunku jednej cząsteczki amonjaku na 5 atomów dodanego azotu adeninowego: należy jednak zaznaczyć, że oznaczenia amonjaku, pochodzące ze szkoły frankfurckiej przyjmujemy nie bez pewnego zastrzeżenia. W każdym razie należało zbadać, czy w mięśniach żabich lub króliczych, w których powstaje amonjak, ubywa adeniny i wiele jej ubywa, pozatem,

czy ilości adeniny zawarte w mięśniach mogą wystarczyć na utworzenie amonjaku w takiej ilości, jaka istotnie powstaje. Jeżeli letnie mięśnie żabie odszczepiają w procesie urazowym 7 mg azotu na 100 g, to odpowiadający amonjogenezie ubytek adeniny musiałyby wynosić 70 mg na 100 g mięśni. Taki ubytek nietrudno byłoby stwierdzić.

Wiadomości o ciałach purynowych, zawartych w mięśniach, są bardzo szczupłe i niejasne. Nie znajdujemy w piśmiennictwie ani jednej zupełnej analizy zasad purynowych, odnoszącej się do tkanki w jako tako zdefiniowanym stanie. Trudno z istniejących analiz wnioskować o zmianach zasad purynowych—można jednak odróżnić, co z zawartości purynowej należy do ciał wyciągowych, a co do jąder komórkowych<sup>1)</sup>.

G. EMBDEN i M. ZIMMERMANN ('27) nie podają w swojej publikacji zawartości kwasu adenilowego w mięśniach królika. Z dawniejszych prac (por. FÜRTH '25, str. 327—8) dowiadujemy się, że kwas inozynowy, jako główny związek purynowy mięśni, daje wyciągnąć się zapomocą wody zimnej i nie jest zatem związany w jądrach: „drobne ilości adeniny i gwaniny, które w mięśniach można wykryć, pochodzą prawdopodobnie z kwasu typu grasicowego“.

<sup>1)</sup> Oznaczenia sumaryczne azotu purynowego prowadzą często do wniosków zupełnie mylnych. Niedawno ogłosił TRUSZKOWSKI ('27) pracę, w której na podstawie oznaczeń azotu całkowitego i purynowego wnioskuje o stosunku „jądrowo—plazmatycznym“, który identyfikuje ze stosunkiem

$$\frac{\text{azot purynowy}}{\text{azot całkowity} - \text{azot purynowy}}$$

Analizy takie autor wykonał na tkance mięsnej i wątrobowej, jak już przed nim wykonywali podobne oznaczenia SCHAEFFER i LE BRETON ('21) na całych zarodkach wzgl. ustrojach. O ile chodzi o tkankę mięsną, to przeważająca część azotu purynowego należy do nukleotydów wyciągowych (kwasu adenilowego i kwasu inozynowego), a zaledwie kilka odsetek całości zasad purynowych—do kwasów nukleinowych. W mięśniu świeżym, rozartym z kwasem, (z wstrzymaniem zatem amonjogenezy), adenina stanowi przeszło dziewięćdziesiąt na sto zasad purynowych, gwanina, — należąca może do kwasów nukleinowych jądrowych — zaledwie kilka procentów. Stosunek azotu purynowego do białkowego nie ma w tkance mięsnej, ani w całości ustroju, nic wspólnego ze stosunkiem azotu jąder komórkowych do azotu cytoplazmy, a identyfikowanie obydwu relacyj polega na niedokładnej znajomości rozdziału zasad purynowych między kwasy nukleinowe a nukleotydy i nukleozydy wyciągowe.

Podaję poniżej kilka doświadczeń, w których starałem się oznaczyć całkowitą zawartość adeniny i gwaniny w mięśniach świeżych i w mięśniach, w których odszczepił się amonjak: a więc w mięśniach zamrożonych w ciekłym powietrzu i utrwalonych następnie przez roztarcie z kwasem siarkowym (1%-owym), oraz w mięśniach rozcieranych z wodą aż do osiągnięcia pełnego efektu urazowego, a następnie utrwalonych w kwasie. W doświadczeniach tych starano się zatem uniknąć niejasności, wynikających z nieokreślonego stanu mięśni.

Do oznaczania zasad purynowych służyła metoda, podana przez STEUDELA (THIERFELDER '25 str. 875), z niektórymi zmianami. Zupełnie rozdrobioną tkankę ogrzewano w autoklawie, do 115° z kwasem siarkowym (1%-owym) przez 4 godziny, następnie dodawano tyle kwasu siarkowego, ażeby płyn zabarwił papierek kongo na niebiesko, i ogrzewano jeszcze przez 2 godziny do 115°. Strącenie związków miedziawych, rozłożenie siarkowodorem, strącenie srebrem, rozłożenie soli srebrowych kwasem solnym, wykonano podług przepisu powyżej przytoczonego. Roztwór chlorków purynowych zagęszczano na łaźni, osuszano ciepłym prądem powietrza przy pomocy wentylatora i usuwano nadmiar chlorowodoru w suszarce próżniowej. Z roztworu chlorków wytrącano amonjakiem znikome ilości gwaniny, przesącz uwalniano od amonjaku, i zamieniano, jak wyżej, w chlorki, wolne od nadmiaru chlorowodoru: z tego roztworu strącano pikrynjan adeninowy, przez dodanie nasyconego pikrynjanu sodowego. Odsączony i osuszony pikrynjan rozpuszczano w wodorotlenku sodowym normalnym i strącano przez dodanie takiej samej ilości kwasu solnego normalnego. Pikrynjan odsączano wtedy na tygielku porcelanowym o dnie porowatym, osuszano i ważono; następnie sprawdzano temperaturę topliwości.

Wyniki doświadczeń podaję z tem zastrzeżeniem, że jako początkujący w dziedzinie analiz ciał purynowych nie przypisuję swoim analizom tego stopnia ścisłości, co podanym w tej pracy oznaczeniom amonjaku.

29.VIII. Żaby wodne świeżego połowu. Z 15 żab jedne odnóża zamrożono w ciekłym powietrzu, następnie rozcierano z kwasem i przerabiano według podanego powyżej sposobu; drugie odnóża rozcierano małemi porcjami z wodą, zostawiano przez 5 minut każdą porcję i utrwalano ją następnie kwasem siarkowym.

Porcja A (w której wstrzymano amonjogenezę) zawierała 103.3 g mięśni.

Porcja B (w której odbyła się amonjogeneza urazowa)—101.0 g.

W analizach zaznacza się, jak we wszystkich późniejszych doświadczeniach, odmienny wygląd osadu srebrowego z porcji A, który jest zawsze galaretowaty, z porcji B — mętny, ziarnisty.

Z porcji A otrzymano 0.1872 g pikrynjanu adeninowego.

Z porcji B otrzymano 0.1280 g pikrynjanu adeninowego.

Odpowiada to dla A. 85 mg% adeniny, dla B 58 mg% adeniny.

Różnica 27 mg% adeniny odpowiada odszczepieniu 2.3 mg% azotu amonjakowego.

12.IX. Doświadczenie jak poprzednie.

A: 80.1 g zawiera 0.1756 g pikrynyjanu adeninowego.

B: 78.6 g zawiera 0.1249 g " " "

A zawiera zatem na sto g mięśni 0.220 g pikrynyjanu, czyli 100 mg% adeniny.

B zawiera na 100 g mięśni 0.159 g pikrynyjanu, czyli 72 mg% adeniny

Różnica wynosi 28 mg% adeniny i odpowiada utworzeniu 2.8 mg% azotu amonjakowego.

7.XI. Żaby wodne i płowe.

A: 54.5 g zawiera 0.134 g pikrynyjanu, czyli 112.5 mg% adeniny.

B: 56.3 g zawiera 0.064 g pikrynyjanu, czyli 52 mg% adeniny.

Różnica odpowiada utworzeniu 6 mg% azotu amonjakowego.

15.XI. Królik świeżo skrwawiony, mięśnie jednego odnóża traktowano płynnem powietrzem i utrwalano kwasem, mięśnie drugiego roz tarto z wodą.

Porcja A: 144 g: zawiera 0.3718 g pikrynyjanu.

Porcja B: 109 g; zawiera 0.1002 g pikrynyjanu.

A: zawiera 117 mg% adeniny.

B: zawiera 43 mg% adeniny.

Różnica odpowiada utworzeniu 7.4 mg% azotu amonjakowego.

Wyniki, jakie dotąd osiągnęliśmy, dowodzą jednak niewątpliwie, że stan rzeczy w mięśniu świeżym odpowiada zupełnie temu, co można było przypuszczać na podstawie odkrycia kwasu adeninowego, a nie temu, co podawały doświadczenia dotychczasowe. W mięśniach, utrwalonych bez amonjogenezy, przeważającą część zasad purynowych stanowi istotnie adenina, a nie hipoksantyna. Jeżeli w mięśniach w przeciągu kilku minut odszczepia się amonjak, to zawartość adeniny zmniejsza się: ubytek jest podobnego rzędu, jaki odpowiada amonjogenezie, ale nie możemy jeszcze stwierdzić dokładnie stosunku stechiometrycznego. W mięśniach, które leżały przez czas dłuższy, i w których odbyła się amonjogeneza pośmiertna, nie można zupełnie stwierdzić adeniny: tak np. w analizach kupnego mięsa zwierząt rzeźnych <sup>1)</sup>.

Ksantyny nie znaleźliśmy ani w mięśniach świeżych żaby i królika, ani po powstaniu amonjaku. Obecność hipoksantyny stwierdziliśmy, ale nie oznaczyliśmy jej ilościowo.

Możemy na podstawie dotychczasowych, orjentujących badań stwierdzić, że urazowa amonjogeneza zamienia jednocześnie dużą

<sup>1)</sup> Takie analizy wykonał w naszej pracowni p. M. LIEBESMANN.



część adeniny (metoda zastosowana nie odróżnia adeniny wolnej i związanej) w inną zasadę purynową; że utworzona zasada jest hipoksantyną, to można przyjąć z bardzo dużym stopniem pewności. Wynik ten potwierdza przypuszczenia EMBDENA.

Czy jednak przekształcenie kwasu adenilowego w inozynowy jest jedynym źródłem amonjaku mięśniowego, na to odpowiadzi dać nie umiemy. Może dalsze doświadczenia, z udoskonaloną metodą oznaczania adeniny, wykażą równoważność amonjaku utworzonego i adeniny rozłożonej. Być może, że pierwsze doświadczenia są obciążone błędami, wynikającymi stąd, że w czasie przerabiania wielkich ilości materiału amonjogeneza jednak częściowo wystąpiła tam, gdzie staraliśmy się ją wykluczyć, i że w doświadczeniach urazowych nie była zupełną. Bardzo pożądanym byłoby, ażeby móc oznaczać zasady purynowe (albo przynajmniej adeninę) w mniejszych ilościach tkanki mięsnej, aniżeli w metodach dotychczasowych: STEUDEL każe używać po 500 g tkanki, my używaliśmy po 100 g. Podane tu fakty wpłyną ponadto na poglądy na skład purynowy mięśni: rewizja analiz jest niezbędna. Jeżeli porównujemy wyniki naszych oznaczeń adeniny z dawniejszemi oznaczeniami „zasad purynowych“ albo „azotu purynowego“ w mięsie <sup>1)</sup>, to okazuje się, że całość zasad purynowych można identyfikować z adeniną podobnie, jak całość ciał purynowych w moczu z—kwasem moczowym.

MOZOŁOWSKI wziął pod uwagę także inne możliwości pochodzenia amonjaku mięśniowego i próbował je eksperymentalnie sprawdzić albo wykluczyć. Związek między ilością amonjaku i kwasu mlekowego, powstających w czynności i zmianach stanu mięśnia, nasuwał hipotezę, że między ohydwiema sprawami mogłaby istnieć łączność chemiczna bezpośrednia, aczkolwiek wyrażająca się w stosunku stechiometrycznym niezwykłym, jak 1 : 10. Teorja NEUBAUERA o dezaminacji aminokwasów lub wogóle amin pierwszorzędowych, przyjmująca możliwość dezaminacji wyłącznie przez utlenienie, dającej z aminokwasów kwasy ketonowe, została ostatnio przełamana, albo może tylko rozszerzona, przez prace NEUBERGA i KOEBEL ('27). Badacze ci odkryli odszczepianie amonjaku z kwasów aminowych przez metyloglioksal, i objaśnili przez ten mechanizm dezaminacje, odbywające się w przemianie ustrojów

<sup>1)</sup> Np. według zestawienia w książce O. NOORDENA i SALOMONA, Handbuch der Ernährungslehre (1920), str. 163, albo u KOENIGA.

beztlenowych, a w szczególności także—i w fermentacji drożdżowej. Czyż amonjak mięśniowy nie mógłby również być przetworem sprawy chemicznej, wplecionej w przemianę węglowodanową mięśnia i zahaczonej w tę przemianę przez jakiś przetwór pośredni ketonoaldehydowy, aldehydowy albo ketonowy? Hipoteza ta straciła nieco ze swego prawdopodobieństwa, kiedy udało się CHRZĄSZCZEWSKIEMU i MOZOŁOWSKIEMU oddzielić amonjogenezę mięśniową od powstawania kwasu mlekowego przez dodanie do mięśnia fluorku sodowego, który wstrzymuje zupełnie powstawanie kwasu mlekowego w warunkach, w których powstawanie amonjaku jest tylko nieznacznie zwolnione.

#### XVI. Stosunek amonjogenezy mięśniowej do przemiany węglowodanów i kwasu mlekowego.

Poruszyłem powyżej pokrótce tę sprawę. Doświadczenia nasze nad powstawaniem amonjaku podczas czynności mięśniowej (PARNAS, MOZOŁOWSKI i LEWIŃSKI '27) wykazały równoległość między amonjogenezą a wywiązywaniem napięcia w skurczach izometrycznych: otóż między napięciem wywiązanem a ilością kwasu mlekowego wywiązanego — względnie nagromadzonego w warunkach beztlenowych — istnieje również ścisła zależność, ustalona przez MEYERHOFA ('21 i '26). Jeżeli obliczymy według liczb podanych przez MEYERHOFA — analogicznie do naszego „współczynnika cząsteczkowego izometrycznej amonjogenezy mięśniowej“ — „współczynnika cząsteczkowego powstawania izometrycznego kwasu mlekowego“, to otrzymujemy wartości między 8140 a 12740, średnia wartość wynosi 9200. Współczynnik cząsteczkowy amonjogenezy wynosi 126000 do 140000, a zatem stosunek utworzonego w skurczu amonjaku do kwasu mlekowego — o ile panują warunki beztlenowe — wynosi 1 : 14. Prof. MEYERHOF poinformował mnie, że według nowszych, ściślejszych oznaczeń, otrzymuje on współczynnik powstawania kwasu mlekowego niższy, aniżeli podany powyżej, i że posługując się nowszymi danymi oblicza stosunek cząsteczkowy amonjaku do kwasu mlekowego, jak 1 : 10. Wynika stąd stosunek cząsteczkowy amonjaku powstałego do równoważników cukru gronowego rozłożonego pośrednio, jak 1 : 5, do cukru znikającego w cyklu znużeniowo-wypoczynkowym — jak 1 : 2.

Jeżeli zatem na podstawie danych naszych i obcych, stosunek amonjogenezy do powstawania kwasu mlekowego w sprawie czynnościowej przedstawia się jasno, to stan wiadomości o sprawach urazowych nie wystarczał na wyrobienie sobie jasnego obrazu. Tworzenie się kwasu mlekowego urazowe miało, według ścisłych badań MEYERHOFA ('20, '21), odbywać się w mięśniach pokrajanych bynajmniej nie tak szybko, jak się mogło zdawać na podstawie ujęcia tej sprawy przez FLETCHERA i HOPKINSA, i jak to PARNAS i WAGNER ('14) przyjmowali. W mięśniach żaby pokrajanych przy pomocy nożyczek, zgrubsza lub drobno, kwas mlekowy powstaje raczej powoli, i w ciągu godzin, aż do osiągnięcia maksimum, zupełnie prostolinijnie. Na okres dwuminutowy, w którym przebiega amonjogeneza urazowa, przypada według MEYERHOFA zupełnie nieuchwytna ilość kwasu mlekowego: badacz ten mówi wyraźnie, że „w średniej temperaturze wskutek samego rozdrobnienia tkanki powstaje tylko niewiele kwasu mlekowego, około 0.02%, którą to ilość można łatwo objaśnić przez połączenie z krajaniem drażnienie. Nigdy nie występuje przytem 0.16% kwasu mlekowego albo więcej”. (MEYERHOF '21, str. 120). Gdyby liczby podane przez MEYERHOFA zastosować do oznaczonej w naszych doświadczeniach amonjogenezy, to stosunek cząsteczkowy amonjaku urazowego do kwasu mlekowego wynosiłby w mięśniach żabich  $\frac{1}{2}$  milimola  $\text{NH}_3$ :  $\frac{2}{3}$  milimola kwasu mlekowego, czyli 4.5 do 2.

CHRZĄSZCZEWSKI i MOZOŁOWSKI zbadali tę sprawę, oznaczając powstający w mięśniach równocześnie z amonjakiem kwas mlekowy. Ponieważ praca ich będzie wkrótce przedstawiona niniejszym „Actom“ do druku, przeto podam tu tylko krótki z niej wyciąg. Okazało się przedewszystkiem, że w warunkach naszych doświadczeń urazowych zupełnie nie można stosować liczb MEYERHOFA. Roztarcie z piaskiem kwarcowym i wodą stwarza zupełnie inne warunki dla powstawania kwasu mlekowego, aniżeli pokrajanie, grubsze czy też drobniejsze, jakiemu poddawał mięśnie MEYERHOF. Jeżeli mięśnie rozetrzemy (w drobnych oczywiście ilościach) tak energicznie i szybko z piaskiem kwarcowym i wodą, że w przeciągu kilkunastu sekund zamienimy tkankę w delikatną miazgę, to w przeciągu 2 minut powstanie z mięśnia, zawierającego pierwotnie 20 mg  $\frac{0}{0}$  kwasu mlekowego, 180 do 200 mg  $\frac{0}{0}$  kwasu mlekowego. Takie ilości kwasu mlekowego odpo-

wiadają amonjogenezie urazowej: stosunek, który CHRZĄSZCZEWSKI i MOZOŁOWSKI obliczają z doświadczeń pięciominutowych, wynosi 9 cząsteczek kwasu mlekowego na 1 cząsteczkę amonjaku i w doświadczeniach dwuminutowych jest może mniejszy, jak-gdyby powstawanie kwasu mlekowego podążało zwolna za amonjogenezą.

Doświadczenia MOZOŁOWSKIEGO i CHRZĄSZCZEWSKIEGO wykazały zatem, że w sprawie urazowej niema wyraźnej dysocjacji między amonjogenezą a powstawaniem kwasu mlekowego; wykazały w dalszym ciągu, że roztarcie tkanki mięsnej z boranem zasadowym wstrzymuje powstawanie kwasu mlekowego zupełnie podobnie, jak amonjogenezę urazową. Ponieważ, w związku z poruszoną powyżej sprawą pochodzenia amonjaku mięśniowego, zależało na stwierdzeniu, czy można amonjogenezę oddzielić eksperymentalnie od powstawania kwasu mlekowego, przeto należało poszukiwać sposobu rozdzielenia obydwu procesów.

MOZOŁOWSKI i LEWIŃSKI stwierdzili ('27), że fluorek sodowy wywiera wpływ na amonjogenezę mięśniową, przyczem wpływ ten jest inny, jeżeli mięsień z fluorkiem rozetrzeć, niż jeżeli mięsień nietknięty włożyć do zawierającego fluorek płynu RINGERA. W pierwszym przypadku fluorek opóźnia amonjogenezę wyraźnie, ale nie wstrzymuje jej w stopniu takim, jak boran albo kwas. W drugim przypadku działa tak, jak czynniki wywołujące stężenia: mięśnie trzymane w płynie Ringera i temperaturze  $10^{\circ}$  zawierały (w czerwcu) po 22 godzinach 1.56 mg  $\text{NH}_3$ —N, zaś w płynie Ringera z fluorkiem sodowym — 8.8 mg  $\frac{0}{0}$ .

Powtórzenie przez CHRZĄSZCZEWSKIEGO i MOZOŁOWSKIEGO tych samych doświadczeń z tą zmianą, że oznaczano zarazem i kwas mlekowy, wykazało, że jon fluorowy istotnie wstrzymuje, jak już przedtem stwierdzili EMBDEN i jego współpracownicy, powstawanie kwasu mlekowego, zarówno przy działaniu na cały mięsień od strony powierzchni, jak i po roztarciu mięśnia z roztworem fluorku. Udało się im zatem rozdzielić sprawę amonjogenezy od powstania kwasu mlekowego: w nader oględnej interpretacji tych wyników zwracają jednak uwagę na możliwość taką, że sprawa amonjogenezy i rozkładu cukru nie rozłączyły się tutaj od siebie, a tylko rozkład cukru odchylił się od drogi, prowadzącej do kwasu mlekowego. I ten punkt rozstrzygną dopiero dalsze doświadczenia.

Ze względu na to, co podał przed ośmiu laty GAD ANDERSEN ('19) i co po nim utrzymało się w piśmiennictwie, należy poruszyć jeszcze sprawę rozkładu mocznika, który, według tego autora, ma się odbywać w mięśniach izolowanych. GAD ANDERSEN opisał kilka doświadczeń, z których wynika, że w wyciętych mięśniach psów, szczurów i żab powstaje amonjak kosztem mocznika. Mięsień świeży ma zawierać tyle amonjaku, co krew danego zwierzęcia, i iednakowe stężenie mocznika we krwi i mięśniach: o ile chodzi o zawartość amonjaku we krwi, to oznaczenia GAD ANDERSENA podają ją o 500 do 100 % zbyt wysoko. Po wycięciu ma w mięśniach powstawać amonjak, a znikać mocznik: suma azotu mocznikowego i amonjakowego pozostaje stała. Rozkład mocznika na amonjak w mięśniach żaby jest rzekomo ukończony w temperaturze pokojowej już po kilku godzinach.

Nie możemy potwierdzić wyników GAD ANDERSENA, poza faktem, że w mięśniach odbywa się amonjogeneza pośmiertna. Oznaczając mocznik bądź metodą ureazową MARSCHALL'A ('13, '14) bądź ksanthydrolową podług BOIVIN'A ('26),<sup>1)</sup> zmienioną w zastosowaniu do mięśni, nie mogliśmy w mięśniach żaby i królika stwierdzić ubytku mocznika zarówno w sprawach pośmiertnych, jak też urazowych.

Możemy w pełni potwierdzić pogląd HOAGLANDA i MANSFIELDA ('17), którzy w swoich analizach jałowych ćwiartek bydłych nie mogli, po kilkumiesięcznym trzymaniu w temperaturze 37°, stwierdzić ubytku mocznika, i utrzymujemy nadal pogląd PARNASA i HELLERA ('24), którzy stwierdzili zupełną trwałość i niezmiennność zawartości mocznika we krwi, pogląd, poparty doświadczeniami z innych dziedzin przez PRZYŁĘCKIEGO ('24, '25, '25, II'27). Rozkład w ustroju zwierzęcym mocznika na amonjak należy do nieuzasadnionych przypuszczeń (u NASHA i BENEDICTA '21, jako hipoteza, u AMBARDA i SCHMIDTA '22, — w formie stanowczej), które nie będą miały wartości dopóty, dopóki ich zwolennicy nie zdolają oprzeć swych twierdzeń na podstawach mocniejszych, aniżeli to dotąd czynili.

<sup>1)</sup> Mięśnie rozcierano z boranem, dodawano lodowatego kwasu octowego tyle, ażeby miazga zawierała 50% kwasu octowego; odbiałczano zaraz odczynnikiem TANRETA, strącano mocznik ksanthydrole: odwirowany i wymyty dwuksantylomocznik spalano i oznaczano zawartość azotu, równą pierwotnej zawartości mocznika.

Jako przykład doświadczenia podamy następujące:

Mięśnie udowe królika natychmiast po skrwawieniu ochłodzono w lodzie i po 20 minutach wykonano pierwsze oznaczenie amonjaku i mocznika. Mięśnie te umieszczono następnie w ciepłarce (37°) i oznaczano NH<sub>3</sub> i mocznik w podanych poniżej odstępach czasu:

Temperatura	0°		37°	
Czas w minutach od chwili zabicia	20	50	300	340
NH <sub>3</sub> —N w mg na sto po roztarciu z boranem	0.7	4.3	9.25	
" " " " z wodą		8.2		9.9
Azot mocznikowy w mg na sto	10.3	11.4	10.5	11.7

### XVII. Amonjogeneza pośmiertna.

Poruszyliśmy powyżej kilkakrotnie sprawę amonjogenezy, odbywającej się w mięśniach wyciętych. Analogia między zachowaniem się amonjogenezy a powstawaniem kwasu mlekowego i obecność w tkance mięsnej układu nietrwałego, a raczej trwałego pod pewnym szczególnym warunkiem („metastabil“ w znaczeniu tego pojęcia u Ostwalda), wszystko to czyniło wielce prawdopodobnym, że w tkance izolowanej powstaje amonjak podobnie, jak powstaje w niej kwas mlekowy i ulega rozkładowi glikogen.

Badaliśmy amonjogenezę pośmiertną w mięśniach wszystkich tych gatunków zwierząt kręgowych, u których badaliśmy również amonjogenezę urazową. Najdokładniej oczywiście u żaby, u której badano także warunki amonjogenezy pośmiertnej, szczególnie zaś wpływ warunków zaopatrzenia w tlen (PARNAS i MOZOŁOWSKI '27, I).

Amonjogenezę w mięśniach grzbietowych ryby (różanki krasnopiórki, *Scardinius erythrophthalmus*) w temperaturze 12°, w lutym (18. II) podaje tabela XVI, zawierająca oprócz zawartości istotnych także zawartości urazowe azotu amonjakowego. Rys. 9 uzmysławia zawartość azotu amonjakowego rzeczywistego i znajdującego się w układzie amonjakerodnym, oddziaływującym na bodźce urazowe.

Z danych tabeli i z wykresów wynika jasno, że amonjogeneza pośmiertna odbywa się kosztem tego układu, który po roztarciu tkanki z wodą rozkłada się na amonjak. Suma azotu amonjakowego, zawartego w tkance i powstającego po zniszczeniu

Tabela XVI.

Amonjogeneza pośmiertna u ryby różnki krasnopiórki (18.II, t = 12°).

Postmortale Ammoniakbildung bei *Scardinius erythrophthalmus*.

Ciężar mięśnia Muskelgewicht	Czas od śmierci Zeit nach Tötung	Zawartość azotu amonjako- wego po roztarciu z bo- ranem; mg $\frac{1}{10}$ $NH_3-N$ Gehalt mg Proz. nach Zerreiben mit Borax	Zawartość azotu amonjako- wego po roztarciu z wo- dą; mg $\frac{1}{10}$ $NH_3-N$ Gehalt mg Proz. nach Zerreiben mit Wasser
mg	Minut		
498	6	1,92	
540	8		8,37
433	60	2,1	
455	275	4,4	
440	300	3,9	
520	285		9,1
750	1440	9,0	
188	1450		9,9
169	1470	9,0	
175	1480		9,5
154	2880	9,4	
222	2885		9,5

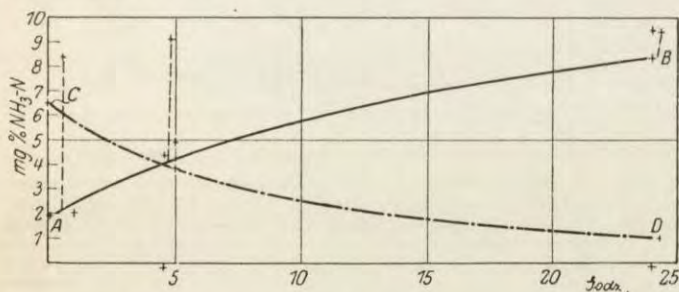
Tabela XVII.

Amonjogeneza w mięśniach żółwia błotnego (14.II) (t = 12°).

Postmortale Ammoniakbildung in Muskeln der Sumpfschildkröte.

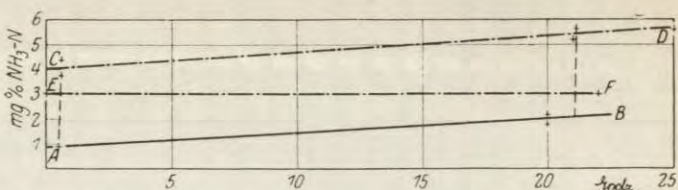
Masa mięśnia Muskelgewicht	Czas od zabicia Zeit nach Tötung	Zawartość azotu amonjako- wego w mg $\frac{1}{10}$ po roz- tarciu z boranem $NH_3-N$ Gehalt mg Proz. nach Zerreiben mit Borax	Zawartość azotu amonjako- wego w mg $\frac{1}{10}$ po roz- tarciu z wodą $NH_3-N$ Gehalt mg Proz. nach Zerreiben mit Wasser
mg	Minut		
512	30	0,78	
520	35		3,4
503	37		2,8
500	1230	1,84	
273	1236	1,59	
735	1240	2,08	
562	1260		5,18
546	1260		5,56
500	1500		5,58

mechanicznym tkanki, nie zmienia się, jedynie azot amonjodorodny przetwarza się w ciągu doby niemal zupełnie w amonjak; sprawa pośmiertnego powstawania amonjaku wyczerpuje zasób ciała macierzystego w tkance.



Rys. 9. Powstawanie amonjaku pośmiertne i urazowe w mięśniach różnki krasnopiórki. A—B. Zawartość amonjaku jako funkcja czasu. ---- Powstawanie urazowe amonjaku w różnych czasach po śmierci. C—...—D. Zawartość układu amonjodorodnego (mg%  $NH_3-N$ ) w różnych czasach od śmierci.

Ammoniakbildung postmortale und traumatische bei *Scardinius erythrophthalmus*. A—B Ammoniak-N-Gehalt als Funktion der Zeit nach der Tötung. ---- Traumatische Ammoniakbildung zu verschiedenen Überlebenszeiten. C—...—D Das ammoniakbildende System als mg%  $NH_3-N$  in verschiedenen Überlebenszeiten.

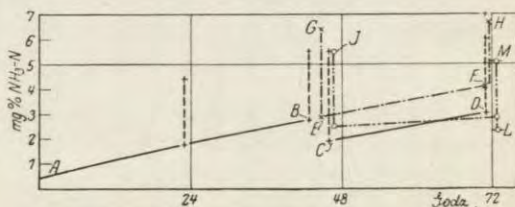


Rys. 10. Powstawanie amonjaku pośmiertne i urazowe w mięśniach żółwia błotnego. A—B zawartość istotna. C—D zawartość istotna i urazowa. E—F powstawanie amonjaku urazowe.

*Postmortale und traumatische Ammoniakbildung im Sumpfschildkrötenmuskel*  
A—B Ammoniakgehalt. C—D Summe aus aktuellen und traumatischen Ammoniakgehalt. E—F Traumatische Ammoniakbildung. Abscisse: Stunden.

Nieco inaczej ma się rzecz w mięśniach żółwia błotnego. W doświadczeniu z 14 lutego, w temperaturze  $12^{\circ}$ , u dużego samca stwierdziliśmy przebieg amonjogenezy pośmiertnej, przedstawiony w tabeli XVII i rys. 10.

W mięśniu żółwia odbywa się amonjogeneza pośmiertna w temperaturze  $12^{\circ}$  tak, że w ciągu godziny przybywa 0.05 mg  $\text{NH}_3\text{—N}$  na 100 g mięśnia: ale w ciągu doby przybywa ponadto wskutek roztarcia z wodą tyle amonjaku, co w mięśniach świeżych. Układ amonjakerodny nie wyczerpuje się zatem podczas amonjogenezy pośmiertnej, albo też, co prawdopodobniejsze, regeneruje się.



Rys. 11. Powstawanie amonjaku pośmiertne w mięśniach żaby. A—B zawartość amonjaku; --- efekt urazowy u żaby II (w mięśniach łydkowych i goleniowych) E—F zawartość amonjaku; E—G i F—H efekt urazowy w tychże mięśniach żaby I. C—D zawartość amonjaku, C—+ oraz D—+ efekt urazowy w mięśniach przywodzących uda żaby II. O—+ zawartość amonjaku, O—+ J oraz O—+ M efekt urazowy w mięśniach łydkowych i goleniowych żaby III. L—+ M efekt urazowy w mięśniach przywodzących żaby III. (por. doświadczenie, tabela XVIII).

*Postmortale Ammoniakbildung bei Rana temporaria. Vgl. Tabelle XVIII.* A—B Ammoniakgehalt; --- traumatischer Effekt im M. gastrocnemius und tibialis bei Frosch II. E—F Ammoniakgehalt, E—G and F—H traumatischer Effekt bei denselben Muskeln von Frosch I. C—D Ammoniakgehalt, C—+ and D—+ traumatischer Effekt bei den Adductoren, Frosch II. O—+ Ammoniakgehalt, O—+ J and O—+ M traumatischer Effekt bei M. gastrocnemius und tibialis Frosch III. L—+ M traumatischer Effekt in den Adductoren, Frosch III. Abscisse: Stunden.



Zupełnie podobne stosunki znaleźliśmy w doświadczeniach, wykonanych szczególnie starannie na mięśniach żaby i rozciągających się na okres 72 godzin. Przebieg doświadczenia w temperaturze 13° podaje tabela XVIII i rysunek 11.

Tabela XVIII<sup>1)</sup>.

Czas od zabicia: godzinny i minuty Zeit	2			3			4			U w a g i
	Żaba I Frosch I			Żaba II Frosch II			Żaba III Frosch III			
	Rodzaj mięśnia Muskel	z boranem mit Borat	z wodą mit Wasser	Rodzaj mięśnia Muskel	z boranem mit Borat	z wodą mit Wasser	Rodzaj mięśnia Muskel	z boranem mit Borat	z wodą mit Wasser	
23h				Tibialis	1,6					} Pobudliwe
23 10'				Gastrocn.	1,83	5,31				
23 20				"		4,44				
23 30				Tibialis	2,84					
43				Gastrocn.	2,65					
43 20				"		5,55				
43 10	Tibialis		6,4							
43 30	Adductor	2,9								
44 40	"		6,5	Adductor	1,91					
44 50				"		5,51				
46				"		5,37				
46 10							Tibialis	2,46		} Niepobudliwe
46 20							Gastrocn.		5,38	
46 30										
46 40										
70	Tibialis		6,74							
70 10	Adductor		6,48							
70 20	"	4,04								
70 30	"	4,06								
70 40	Gastrocn.	4,08								
70 50	"		6,4							
71				Adductor	3,0					} Pobudliwe
71 30				"		6,3				
72				"	3,0					
72 10				"		5,7				
72 20							Tibialis	2,9		
72 30	Adductor						Adductor	2,1		
72 30	"						"		5,1	
72 40	"						"	2,5		
72 50	"						"		4,6	

<sup>1)</sup> Amonjogeneza pośmiertna w mięśniach żaby. Preparowano starannie i jałowo odnoża tylne trzech dużych samców żaby płowej (2.III). Zawieszono je w dużym stoju, zawierającym kilka cm<sup>3</sup> płynu Ringerowskiego, stój wypełniono wilgotnym tlenem i zanurzone w termostacie o t. 13°. Jeżeli miała być wykonana analiza, to wyjmowano podstawkę, dzwigając odnoża, odcinano podudzie albo udo i zawieszano preparaty ponownie w stoju. Po 72 godzinach nie było ani śladu gnicia. Żaby są oznaczone jako I, II i III: doświadczenie umożliwia porównywanie zmian, zachodzących w mięśniach tych samych osobników. Liczby kolumn I (3, 4), II (3, 4), III (3, 4) podają zawartości azotu amonjakowego w mg na 100 g mięśni.

Z doświadczenia tego wynika, że w mięśniach żabich, trzymany w temperaturze niskiej, amonjogeneza pośmiertna postępuje w tempie powolnym, podobnie jak u żółwia, i że nie wyczerpuje ona w ciągu 72 godzin układu amonjakorodnego, albowiem wtedy, gdy za-

wartość istotna amonjaku dochodzi do wartości sześciokrotnej w stosunku do spoczynkowej, efekt roztarcia z wodą jest jeszcze bardzo wyraźny.

W temperaturze wyższej, równej 23°, amonjogeneza odbywa się o wiele szybciej, wyczerpując niemal zupełnie ciało macierzyste w czasie, zanim zjawią się sprawy gnilne (por. PARNAS i MOZOŁOWSKI '27.I, str. 428).

Nie wykluczamy, że w doświadczeniach tych istnieje pewien błąd, szczególnie w późniejszych zawartościach amonjaku: błąd ten mógłby wynikać w doświadczeniach tlenowych stąd, że amonjak uchodzi z tkanki do otaczającej atmosfery i do płynu Ringerowskiego. Należałoby przy powtórzeniu tych doświadczeń możliwość tego błędu wyłączyć. Ze względu na ten błąd nie podajemy tu seryj doświadczeń, w których porównywaliśmy amonjogenezę w atmosferze azotowej i w tlenowej: doświadczenia te są opisane w pracy PARNASA i MOZOŁOWSKIEGO ('27.I, str. 429, 430).

Między mięśniami, trzymanymi w tlenie i wyzbywającymi się powstałego w nich kwasu mlekowego, a trzymanymi w azocie, gdzie kwas mlekowy się gromadzi, może istnieć w późniejszych fazach sprawy pośmiertnej różnica oddziaływania, co prawda bardzo drobna, a wskutek różnicy w oddziaływaniu mógłby amonjak ulatniać się w stopniu znaczniejszym z mięśni alkaliczniejszych tlenowych, aniżeli z kwaśniejszych beztlenowych.

Jeżeli w doświadczeniach tlenowych i beztlenowych znajdujemy jednakowe nagromadzenie amonjaku, to wynika stąd a fortiori, że zaopatrzenie tkanki przeżywającej w tlen nie powstrzymuje ani nie usuwa gromadzenia się w niej amonjaku. Zresztą w sprawie tej większą moc dowodową mają doświadczenia nad beztlenowem i tlenowem powstawaniem amonjaku w czasie pracy mięśnia (por. str. 38—43).

Amonjogenezę w mięśniach gołębia opisuje tablica XIX i rys. 12.

Widzimy tu zupełnie odmienne zachowanie się amonjogenezy, aniżeli u zwierząt zmiennocieplnych. Układ amonjakerodny, oddziaływający na bodźce, zawarty w mięśniach gołębia w ilości znacznie mniejszej, aniżeli u żaby, ryby czy żółwia, rozpada się bardzo rychło, i po kilku godzinach w temperaturze 20° amonjogeneza urazowa już nie występuje. Odnosi się to zarówno do mięśni pier-

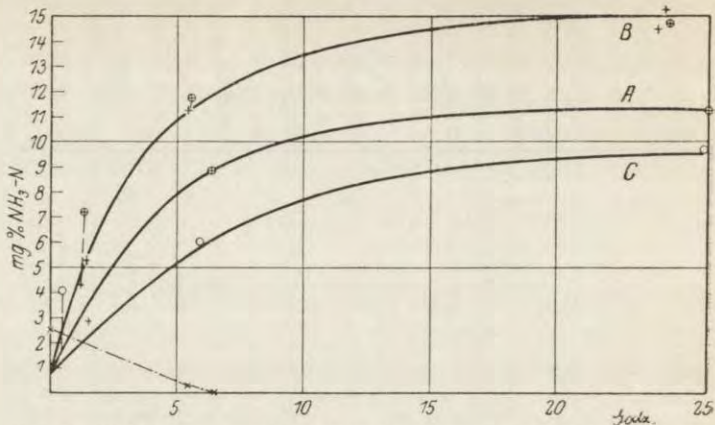
Tabela XIX.

Amonogeneza w mięśniach gołębia. Ptak skrwawiony przez odcięcie głowy b. szybko oskubany, mięśnie, żołądek, serce wypreparowane. Temperatura: 20°, o ile nie podano przy pewnych liczbach temperatury innej.

25. Februar. Taube, durch Köpfen entblutet, sehr schnell gerupft, ausgeweidet, Herz, Magen, Schenkel und Brustmuskul abpräpariert.  $t = 20^\circ$  (wo nicht anders vermerkt).

Masa mięśnia: mg Gewicht mg	Czas od zabicia: minuty Zeit von Tötung an Minuten	Zawartość azotu amonjakowego po roztarciu borano- wem: mg % mg Proz. $NH_3-N$ nach Zerreiben mit Borat	Zawartość azotu amonjakowego po roztarciu z wodą: mg % mg Proz. $NH_3-N$ nach Zerreiben mit Wasser	Pośmiertnie pow- stało azotu amon- jakowego mg % mg Proz. $NH_3-N$ postmortal gebil- det	Powstaje azotu amonjakowego urazowo mg % mg Proz. $NH_3-N$ traumatisch
Mięśnie udowe. Oberschenkel					
508	7	0,8			
463	30	[1,4]	3,97	[0,6]	2,6
481	90	2,85			
444	380	8,8		8	
463	385		8,8		0
428	1560	11,2		10,4	
446	1570		10,8		0
Mięśnie piersiowe. Brustmuskul.					
490	72	4,3		[3,5]	
492	79		7,2		2,4
428	85	5,2		4,4	
494	335	11,2		10,4	
474	337		11,7		0,5?
481	1440	14,5		13,7	
492	1445		14,8		0,3?
506	1460	15,2		14,7	
Mięśnie żołądkowe. Magenmuskul.					
481	13	0,71			
487	16		1,35		0,64
420	350	5,7		5,2	
467	355		5,9		0,2?
480	1560	9,4		8,5	
448	1565		9,6		0,2?
Serce: komora. Herz (Kammer).					
515	25	1,36			
473	33		4,02		2,66
482	360	6,2		4,8	
484	365		6,2		0

siowych, jak i udowych, a także do mięśnia sercowego. Tymczasem odbywa się w mięśniu nienaruszonym bardzo żywe pośmiertne powstawanie amonjaku, i po sześciu godzinach w temperaturze 20° zawartość amonjaku w mięśniu narasta do wartości trzykroć wyższej, aniżeli ta, którą wywołuje roztarcie mięśnia świeżego z wodą. Zawartość ta w mięśniu piersiowym gołębia

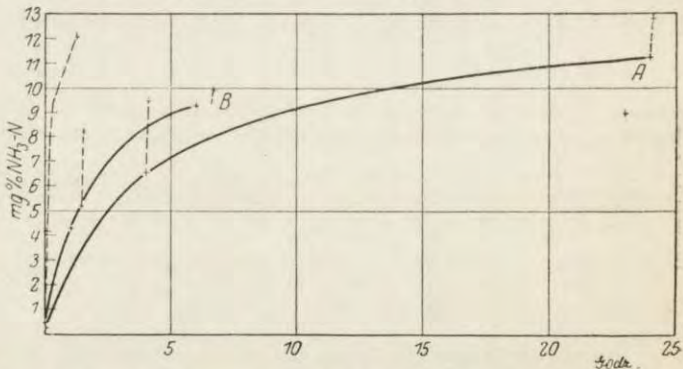


Rys. 12. Powstawanie amonjaku pośmiertne i urazowe w mięśniach gołębia. (por. tab. XIX). A — mięśnie udowe, B — mięśnie piersiowe, C — mięśnie żołądkowe. Zawartość istotna i zawartość po rozraniu z wodą (urazowa); ---- Efekt urazowy, x, —, —, x ciało amonjakerodne.

*Postmortale und traumatische Ammoniakbildung in Taubenmuskeln. A — Schenkelmuskeln, B — Brustmuskeln, C — Magenmuskeln nach Zerreiben mit Borat, nach Zerreiben mit Wasser; ---- traumatischer Effekt, x, —, —, x das ammoniakbildende System. Abscisse: Stunden.*

wynosi czterokrotnie więcej, w sercowym dwukrotnie, w żołądku zaś tyle, ile zawiera mięsień szkieletowy żaby trzymany w tej samej temperaturze po 40 godzinach.

W mięśniach królika widzimy — jak ukazuje tabela XX i rys. 13 — zachowanie się podobne, jak w mięśniach gołębia; i tu amonjo-



Rys. 13. Powstawanie amonjaku pośmiertne i urazowe w mięśniach królika. (por. tab. XX). A — mięśnie udowe w temperaturze 16,5°. B — mięśnie udowe w temperaturze 37°. — zawartość amonjaku; ---- efekt urazowy. Stroma linja ---- pierwsza; współdziałanie czynnika urazowego i pośmiertnego w miazdze mięsnej.

*Postmortale und traumatische Ammoniakbildung in Kaninchenmuskeln. A — Schenkelmuskeln bei 16,5°; B — Schenkelmuskeln bei 37°. — Ammoniakgehalt. ---- traumatischer Effekt. Erste steile ---- Linie: traumatischer und postmortaler Effekt im Muskelbrei bei 16°. Abscisse: Zeit in Stunden.*

geneza pośmiertna przeważa nad urazową. Powstawanie pośmiertne amonjaku wyczerpuje układ amonjakerodny, oddziaływujący na roztarcie tkanki, ale suma amonjaku nagromadzonego pośmiertnie i utworzonego wskutek roztarcia z wodą jest po upływie doby wyższa, aniżeli efekt urazowy w mięśniu świeżym<sup>1)</sup>.

Tabela XX.

Amonjogeneza w mięśniach królika.  
Postmörtale Ammoniakbildung in Kaninchenmuskeln.

Mięśnie Muskeln	Tempe- ratura  Tempe- ratur	Ciężar mięśnia mg  Muskel Gewicht mg	Czas od zabicia: minuty  Zeit von Tötung an Minuten	mg NH <sub>3</sub> — N w 100 g tkanki mg Proz. NH <sub>3</sub> — N			
				zawartość po roztarciu nach Zerreiben		powstało pośmiertnie	powstało urazowo
				z boranem mit Borat	z wodą mit Wasser	postmortal gebildet	traumatisch gebildet
mięśnie podudzia	—180°	320	3	0,46			
		550	3				
		508	240	6,6			
	16,5°	475	250	7,2		5,14	3,74
		462	260		9,5	6,7	
		516	1440	11,2			2,6
		518	1445		11,8	10,7	0,6
	—2° do —4°	462	2900	9,5			
		453	2900	8,9			
	mięśnie udowe	37°	442	4300	11,8		
442			2910		11,5 <sup>1)</sup>		
16,5°		390	4300		12,8 <sup>2)</sup>		
		411	62	4,3		3,8	
		396	91		8,2		3,9
16,5°		470	367	9,3		8,8	
		480	402		9,9		0,6
16,5°		396	1380	9,0			
		214	1390		8,9		
		477	5	1,38	1,67		
16,5°	583	337	2,43				
		593	335		2,7		

<sup>1)</sup> Trzymano po roztarciu przez 5' w temperaturze 16°.

<sup>2)</sup> Trzymano po roztarciu przez 30' w temperaturze 15°.

<sup>1)</sup> Niedawno podał HABS (27) w publikacji, pochodzącej z pracowni EMBDENA, że „z a p r a w a” mięśni króliczych, osiągnięta jednostronnie przez codzienne, w ciągu sześciu tygodni, „faradyzowanie” kilkunastutowe, powoduje zmiany chemiczne w mięśniu zaprawionym. Twierdzi on, że mięśnie „zaprawione”, posiekane na miazgę, wytwarzają amonjak powolniej, aniżeli miazga mięśniowa strony niezaprawionej. Uważam to twierdzenie za niezasadnione. Wystarczy bowiem spojrzeć na krzywą amonjogenezy, podaną przez autora, ażeby sobie taki sąd wyrobić. Zawartość amonjaku w miazdze mięśniowej wznosi się w sposób następujący:

Zupełnie podobne sprawy pośmiertne i podobny stosunek do amonjogenezy urazowej stwierdziliśmy w mięśniach myszy, kota, i człowieka (PARNAS i MOZOŁOWSKI '27.I, str. 432, 434): intensywną amonjogenezę pośmiertną i nietrwałość układu amonjakorodnego, oddziaływującego na bodźce urazowe.

### XVIII. Przegląd wyników.

W roku ubiegłym obraz procesów chemicznych, odbywających się w mięśniu czynnym, rozszerzył się bardzo poważnie i stracił przytem wiele z pierwotnej prostoty. Okres badań, rozpoczęty pracami FLETCHERA i HOPKINSA w r. 1906, a ukończony przez prace HILLA i MEYERHOFA oraz ich współpracowników, sięga do r. 1925 i ustala główny zarys energetyki i przemiany węglowodanowej w mięśniu szkieletowym: przekonanie, że okres ten stanowi chlubę nauki i że stworzył fundament pojęć o chemizmie i energetyce spraw mięśniowych, nie jest dotąd zachwiane, zaś próby obalenia tych fundamentów, podejmowane w ostatnich czasach przez EMBDENA, oparte przeważnie na przesłankach niedostatecznie uzasadnionych, nie zmieniły bynajmniej tego przekonania.

W zarysie, nazywanym teorią HILLA i MEYERHOFA, występuje, jako główna sprawa chemiczna, rozkład glikogenu na kwas mlekowy, resynteza glikogenu ze spalaniem częściowem kwasu mlekowego lub jego równoważnika cukrowego, zużycie tlenu, pośrednie związanie i odszczepienie kwasu fosforowego, wreszcie przemiany białka anjonowego w białko izoelektryczne oraz proces odwrotny. Z temi przemianami chemicznymi wiążą się poważniejsze pozycje przemiany energii.

Po upływie	20	30	60	90 min.
wynosi zawartość amonjaku mg na sto w mięśniowej miadzce „zaprawionej” . . . . .	1,7	2,3	2,5	5,1

Lamany charakter krzywej, w której między minutą 30-ą a 60-ą nie ma prawie zupełnie przyrostu, a między 60-ą a 90-ą przyrost ten jest dwa razy większy, powinienby autorowi nasunąć wątpliwości co do ścisłości eksperymentów własnych oraz analiz, wykonanych przez innego pracownika, a podanych na odpowiedzialność autora. Gdyby zresztą rzeczywiście „zaprawa“ obniżała amonjogenezę w miadzce mięśniowej, to możliwe byłoby znalezienie mocnego królika, w którego mięśniach nie byłoby zupełnie amonjogenezy, nawet po posiekaniu!

W latach 26/27 rozpoczyna się nowy okres badań, w którym ujawniają się nieprzewidywane przemiany chemiczne, związane ze sprawą mechaniczną mięśnia nie mniej ściśle, jak przemiana węglowodanów w kwas mlekowy; przemiany te nie stanowią jednak poważnych pozycji energetycznych. Badania MEYERHOFA z LOHMANNEM, JENDRASIKIEM i SURANY'IM ukazują niespodziewaną złożoność kolei fosforanów, biorących udział w przemianie glikogenu. P. i G. EGGLETONOWIE wykrywają nietrwały w płynach kwaśnych związek, który w analizach EMBDENA i jego szkoły uchodził za fosforan mineralny, a który dzięki pracy FISKEGO ('27) okazuje się związkiem kreatyno-fosforowym: MEYERHOF i LOHMANN ('27) stwierdzają przemiany tego ciała — fosfagenu — w czynności mięśniowej i objaśniają pewną lukę w bilansie energetycznym mięśnia, wypełnioną właśnie przez rozpad fosfagenu. Prace pracowni frankfurckiej i nasze poszukiwania odkrywają dalsze ogniwa przemiany azotowej mięśnia: powstawanie amonjaku i rozkład ciała purynowego. Przed rokiem nie znano jeszcze wogóle przemiany azotowej mięśnia pracującego, dziś wiemy już o przemianie kreatynowo-fosfagenowej, amonjakowej i aminopurynowej.

Te nowe fakty wypełniają obraz przemian chemicznych w mięśniu, zupełnie nie zacierając obrazu z okresu poprzedzającego. Jeżeli jednak mogło się komuś wydać, że ta suma wiadomości, która stanowiła osnowę poglądów z przed roku albo dwu lat, wystarcza na urobienie sobie obrazu zupełnego o tem, co się w mięśniu podczas czynności dzieje, to dalszy rozwój tej dziedziny fizjologii ostrzega przed zbyt pochopnym optymizmem: optymizm taki był, bądź co bądź, założeniem tylu teoryj mechanizmu skurczów mięśniowych, teoryj „kwasowych“, „napięciowych“, „osmotycznych“, „pęcznieniowych“ i innych. Zastosowanie subtelniejszych metod ujawniło niespodziewaną złożoność spraw chemicznych, związanych z czynnością mięśniową: biolog pogodzi się chętnie z tym nowym stanem rzeczy i będzie na nowej platformie szukał dalej, w nowej gęstwinie faktów, nowych ścieżek.

Jaką rolę należy przypisać amonjogenezie mięśniowej w zespole przemian, towarzyszących skurczowi mięśniowemu? Jeżeli udało się stwierdzić, że odszczepienie amonjaku towarzyszy każdej formie czynności mięśnia szkieletowego, każdej zmianie stanu tkanki, może nawet ogólniej, aniżeli przemiana glikogenu

w kwas mlekowy, to musimy uznać powstawanie amonjaku za sprawę zasadniczą przemiany mięśniowej, i każda teoria skurczu szkieletowego mięśnia prążkowanego powinna ją uwzględnić, jeżeli ma być teorią zupełną.

Jaką rolę przypisać należy amonjogenezie mięśniowej? Znaczenia energetycznego sprawa ta mieć nie może; odszczepienie amonjaku dodaje tylko kwotę bardzo drobną do przemiany energii w czynności mięśniowej. Ciepło dezaminacji zasad aminopurynowych jest, zdaje się, ujemne i drobne. Jeżeli obliczyć je według ciepła spalania gwaniny (588.5 kal. kg) i sumy ciepła spalania ksantyny i amonjaku rozpuszczonego ( $516.2 + 82.5 = 598.7$  kal. kg), to wypada na milimol amonjaku 10 kaloryj gramowych, zaś na całość efektu traumatycznego — najwyżej dwie i pół kaloryj gramowych. Jeżeli według oznaczeń MEYERHOFA (25 str. 518) powstaje beztlenowo około 380 kal. gramowych na 1 g kwasu mlekowego, a stosunek amonjaku do kwasu mlekowego wynosi w efekcie urazowym najwyżej 7 : 200, w takim razie na tę ilość amonjaku, która odpowiada (jako maksimum) 1 g kwasu mlekowego (t. j. 35 mg azotu amonjakowego) wypada ubytek 6.26 kaloryj gramowej, zaledwie 1.64 na sto energii przetworzonej. Jest to zatem kwota znikoma. Nie o wiele inaczej przedstawia się wynik rachunku, jeżeli przyjmujemy, jako sprawę amonjakerodną, dezaminację kwasu aminowego.

Także w równowadze kwasowo-zasadowej i jej dynamice śródtkankowej trudno przypisać amonjogenezie mięśniowej znaczenie sprawy dostarczającej zasady, chyba, że wyobrazimy sobie amonjogenezę skupioną w pewnych punktach, w których może powstać wskutek odszczepienia amonjaku oddziaływanie zasadowe, albo osłabić się oddziaływanie kwaśne. Takiej możliwości nie można ani uzasadnić, ani zgóry wykluczyć. Czy odszczepienie amonjaku w okresie czynności mięśnia służy do przesunięcia oddziaływania w ognisku reakcji, czy też do odsłonięcia lub uczynnienia któregoś z narzędzi chemicznych substancji żywej — o tem można snuć tylko domysły, które w obecnym stanie naszych wiadomości okażą się zapewne przedwczesnymi.

Ale skoro weszliśmy w tę dziedzinę, to będzie może użytecznem, jeżeli zwrócimy uwagę na niektóre wnioski, wpływające ze spostrzeżeń nad zjawiskiem urazem, opisanem powyżej.

W przeciwieństwie do doświadczeń dawniejszych stwierdziliśmy dla kwasu mlekowego, a również w nowem zjawisku



amonjogenezy urazowej, że zdruzgotanie mechaniczne tkanki powoduje bardzo szybkie utworzenie tych ciał znużeniowych w ilościach fizjologicznie maksymalnych: kwasu mlekowego w takiej ilości, jaka powstaje wskutek maksymalnego znużenia beztlenowego i bez dopływu zasad, zaś amonjaku—w ilości większej od tej jaką w drodze nużenia wywiązać można. Istotę czynnika, działającego w mechanicznym rozdrabnianiu mięśni, można pojmować rozmaicie: albo jako działanie bodźca urazowego, równoważne niezliczenie wielokrotnemu drażnieniu przez skaleczenia, albo jako zniszczenie struktury substancji żywej i wprowadzenie nieporządku tam, gdzie ład organiczny umożliwiał przedtem trwałe zaczynu obok podłoża i obok aktywatorów zaczynowych; albo wreszcie jako współdziałanie obydwu grup czynników, t. j. bodźców urazowych i zniszczenia ładu organicznego. Że zniszczenie struktury komórkowej wywołuje reakcje między zacynikami a podłożem, jest to dobrze znane zarówno w chemji roślin, jak i w fizjologii chemicznej zwierzęcej: przypomnijmy tylko sprawę diastazy wątrobowej, zbadanej w pięknych pracach E. J. LESSERA, a wyjaśnionej ostatnio w szczegółach przez S. J. PRZYŁĘCKIEGO, NIEDŹWIEDZKĄ i MAJEWSKIEGO ('27). Podstawą tłumaczenia zjawiska, polegającego na tem, że zniszczenie struktury komórkowej wywołuje reakcję w układzie, który w komórce nienaruszonej jest względnie trwały, polega na hipotezie przestrzennego rozmieszczenia i rozdzielenia części składowych tego układu, a więc zaczynu, albo zaczynów, podłoży i aktywatorów: uszkodzenie struktury niweczy czynniki ładu i stwarza stosunki, nie różniące się zasadniczo od tych, które istnieją w środowisku nieuporządkowanym.

Ale wiadomo przecież, że ład organiczny w substancji żywej może stanowić czynnik *ponadzaczynowy*, umożliwiający przebieg reakcyj—szczególnie, jeżeli chodzi o reakcje złożone—gładszy i szybszy, aniżeli w środowisku jednolitem. Znany przykład stanowi fermentacja alkoholowa i ta część jej mechanizmu, którą wyjaśniły badania HARDENA (por. streszczenie: PARNAS '22 str. 501 do 506), a ostatnio MEYERHOFA i jego szkoły. Czynniki strukturalne ładu organicznego—t. j. zespół rozmieszczenia przestrzennego i przepuszczalności, zależnych znowu od stężeń jonowych i innych czynników—mogą, jak mechanizm obrabiarki, rozdzielać ciała zdolne do reakcji albo też zbliżać je do siebie

tak, że dla odbycia się reakcji powstaną warunki optymalne, umożliwiające przy danych stężeniach przebieg żywszy, aniżeli w środowisku jednolitem.

Zjawisko urazowego powstawania kwasu mlekowego i amoniaku w takiej intensywności, w jakiej je tu opisano, wskazuje, że w tkance mięsnej istnieją układy gotowe do reakcji, złożone z zaczynu lub zaczynów, czynników współdziałających z nimi, oraz podłoży, ale ułożonych w porządku wyższym, trwałym, dopóty, dopóki struktura jest zachowana i nie działają bodźce, a reagujące natomiast albo gwałtownie na zaburzenie struktury albo w ściśle udawkowanych porcjach na działanie bodźców.

Najważniejszym wynikiem podanych tu badań jest jednak stwierdzenie, że czynność mięśniowa jest związana z przemianą azotową. Doświadczenia nasze dają prostą i stanowczą odpowiedź na dawne zagadnienie, na które nie umiały dać odpowiedzi jasnej doświadczenia, w których badano wpływ pracy mięśniowej na przemianę azotową, pojętą jako przemianę białkową ustroju całego. Rozstrzygając to zagadnienie, oświetlają je zarazem zupełnie inaczej, aniżeli można było dotąd przypuszczać.

Zagadnienie, czy praca mięśniowa zwiększa przemianę białkową, oświetlono niedawno w kilku pięknych, głęboko przemyślanych pracach (RUBNER '10), sprawozdaniach poglądowych (CATHCART '25) i podręcznikowych (CASPARI i STILLING '25 oraz G. LUSK '21). Z całokształtu nagromadzonego materiału eksperymentalnego wnioskuje LUSK w formie najbardziej stanowczej, „że praca mięśniowa nie zwiększa przemiany białkowej“ i „że istota przemiany białkowej nie ulega zmianie pod wpływem czynności mięśniowej“. CASPARI i STILLING natomiast ujmują swój pogląd w taki sposób, że „co prawda praca mięśniowa pierwotnie nie wymaga zwiększonego rozpadu białka, i zbytecznym jest dzisiaj dowodzić tego na podstawie danych z piśmiennictwa, ale jednak w czasie natężonej pracy mięśniowej występują wtórnie momenty, które same przez się powodują zwiększenie wydalania moczowego azotu, wzgl. rozkład białka“<sup>1)</sup>.

W przeciwstawieniu do przytoczonych autorów dochodzi CATHCART do wniosku, „że całość faktów wskazuje jaknaj-

<sup>1)</sup> Druk rozstrzelony w oryginale.

jaśniej, że czynność mięśniowa zwiększa przemianę azotową, aczkolwiek niekiedy w stopniu bardzo małym. Chociaż brak najzupełniej podstawy do uważania białka za źródło energii mięśniowej, to jednak wydaje się rzeczywiście zadziwiającym, że fakty wskazują w mięśniu czynnym na rozkład białka tak znikomej wielkości. Nasuwa się pytanie, dlaczego objaw zewnętrzny i dostrzegalny zużycia tkanki zaznacza się tak słabo w warunkach zwykłych? (CATHCART '25 str. 239).

Dla tych autorów, którzy dostrzegają wzmoczenie przemiany azotowej pod wpływem pracy mięśniowej i uważają to zjawisko za dostatecznie udowodnione, przedstawia się ono albo jako wynik „zużycia“ białek czynnych w chemomechanizmie mięśniowym (w znaczeniu takim, jak zużycie części maszynowych), czy też, ażeby użyć innego porównania, destrukcja płyt akumulatorowych. Tak też pojmuje to zjawisko RUBNER ('10), który opiera się na eksperymentach C. THOMASA ('10), zasługujących istotnie na szczególną uwagę. C. THOMAS badał wpływ ciężkiej pracy na przemianę azotową swego ustroju, pozostającego w stanie minimum przemiany azotowej, i to—minimum długotrwałego, a bardzo niskiego: wynosiło ono 2.27 g azotu na dobę. Jeżeli istnieje wpływ pracy mięśniowej na przemianę białkową, to powinien się uwidocznić najwyraźniej w stanach najmniejszej przemiany azotowej. U THOMASA praca mięśniowa, wynosząca 100000 do 136000 kg m dziennie, powodowała zwiększenie przemiany azotowej z 2.27 na 2.94 g na dobę. Różnica 0.67 g N jest poza granicami błędów eksperymentalnych i analitycznych i stanowi, bądź co bądź, wychylenie o 29,5%. Energetycznie nie znaczy wiele: odpowiada ona prawie 17.5 kal. kg na przeszło 1000 kal. kg nadwyżki w przemianie, wywołanej przez pracę. RUBNER oblicza na podstawie eksperymentów THOMASA, że na 100 kal. kg pracy mięśniowej wypada zwiększenie przemiany azotowej o 41 mg N. W eksperymentach późniejszych CATHCARTA i BURNETTA (CATHCART '25 str. 338), przeprowadzonych wprawdzie nie w minimum przemiany białkowej, ale, bądź co bądź, na djecie ubogiej w białko (przy 3000 kal. kg 8.8 g N w spoczynku), zaznacza się wpływ pracy wybitniej: na 100 kal. kg wypada 200 do 700 mg N nadwyżki w przemianie azotowej.

Amonjogeneza w pracy mięśni żaby wykazuje stosunek do przemiany energii nieco inny, aniżeli znaleziony w eksperymentach CATHCARTA i BURNETTA u człowieka. Jeżeli stosunek cząsteczkowy amonjaku i kwasu mlekowego, powstających w pracy mięśniowej, ocenimy na 1:10, to ponieważ na 1 g kwasu mlekowego wypada w sumie sprawy znużeniowej i wypoczynkowej około 770 kal. g, a w przemianie azotowej 15 mg azotu amonjakowego, przeto na 100 kaloryj wypada 2000 mg nadwyżki azotowej. Czy różnica między stroną ilościową amonjogenezy u człowieka i żaby polega na błędach kalkulacji, czy też jest rzeczywistą, pokażą dopiero dalsze doświadczenia. Narazie nie umiemy jeszcze uzgodnić dokładnie wyników doświadczeń na narządzie izolowanym żaby ze spostrzeżeniami nad bilansem azotowym ustroju całego człowieka; zagadnienie, sformułowane przez CATHCARTA, pozostaje otwarte.

Wobec ustalenia — przynajmniej dla mięśni jednego rodzaju — stałego stosunku między powstawaniem w czasie pracy amonjaku i kwasu mlekowego i wobec stwierdzenia, że funkcja i zmiany stanu mięśnia są zawsze związane z amonjogenezą, odpada niejasne pojęcie z użycia się substancji żywej, jako źródła azotowych nadwyżek czynnościowych: ponadto, nadwyżka przemiany azotowej nie przedstawia się jako wzmożenie przemiany białkowej. Przemiana azotowa, związana z czynnością mięśniową, nie różni się, ze względu na swój stosunek do tkanki, od przemiany pędnej, węglowodanowej: niema podstawy do uważania tej przemiany za objaw zużywania się maszyny samej.

Zarazem ukazuje się po raz pierwszy ogniwo w łańcuchu przemiany azotowej ustroju zwierzęcego, związane z taką funkcją tkanki, która nie ma charakteru przeróbki tworzywa, czy też wyrobienia substancyj użytecznych dla ustroju. Przemiana azotowa wydawała się dotąd złożoną z procesów przeróbki jednych aminokwasów na aminokwasy inne, przeznaczone na odbudowę protoplazmy lub wydzielin użytecznych (zaczynów i wydzielin dokrewnych), oraz na wyrobienie wydaliny z przetworów pośrednich. W żadnym przypadku nie ukazywała się przemiana aminokwasu albo aminopuryny jako związana z funkcją nie czysto chemiczną, przeróbkową: widzimy taki związek ścisły po raz pierwszy w mięśniu, i nie wątpię, że okaże się zjawiskiem ogólniejszym. Przemawiają za tem spostrzeżenia nad nerwami (TASHIRO; WINTERSTEIN i HIRSCHBERG) i amonjogenezą we krwi.

Przemiana azotowa mięśni jest, według tego, co dotąd wykryć się udało, przemianą aminopurynową: przemawia za tem stwierdzenie przez szkołę frankfurcką kwasu adenilowego obok inozynowego, stwierdzenie dezaminacji kwasu adenilowego, dodanego do miazgi mięsnej, i nasze stwierdzenie ubytku adeniny podczas amonjogenezy urazowej. Dzięki temu zaczyna się zarysowywać obraz istotny przemiany zasad purynowych, związanych w nukleotydach, i skoordynowanie tej przemiany z określonymi funkcjami. Także przemiana purynowa była dotąd dziwnie nieskoordynowana z jakąkolwiek funkcją, i pojmowana wyłącznie jako zużywanie się materiału jądrowego: pojęcie niezgodne z faktem, że w tkankach zwierzęcych, jak wątroba, a zwłaszcza mięsień, przeważna część zasad purynowych jest związana w nukleotydach typu kwasu nukleinowego roślinnego, nie mających nic wspólnego z jądrem komórkowym. Czy nie zarysuje się, jeżeli zechcemy snuć z jednego punktu wnioski na dalszą metę, nowe wyobrażenie o funkcji jądra komórkowego, względnie zawartych w niem kwasów nukleinowych?

Sprawy pochodzenia amonjaku moczowego wyniki podane tu nie posuwają naprzód. Doświadczenia na atletach (str. 50) wykazują, że aczkolwiek mięśnie przedstawiają w czynności źródło amonjaku bardzo poważne, to jednak amonjak ten na zawartość we krwi nie wpływa wyraźnie, i pozostaje fakt, że nerka wydziela do moczu amonjak z krwi, która zawiera niewiele tego ciała: sytuacja nie zmienia się w porównaniu z tą, którą ustalili NASH i BENEDICT ('21).

Rozpatrując wyniki nasze z punktu widzenia porównawczego, stwierdzamy przedewszystkiem, że amonjogeneza urazowa jest zjawiskiem ogólnem w mięśniach szkieletowych kręgowców. W gładkich mięśniach żołądka i w mięśniu sercowym występuje nie zawsze. Moznaby pewne wnioski wysnuć z faktu, że efekt urazowy występuje w silnym stopniu w sercu sprawnego fizycznie gołębia, a nie w mięśniach sercowych żaby, królika czy zółwia. Ciekawem zjawiskiem jest nieduży efekt urazowy w mięśniach zwierząt stałocieplnych przy bardzo dużej amonjogenezie pośmiertnej. Amonjogeneza czynnościowa w mięśniach zwierząt stałocieplnych jest, zdaje się, dostatecznie ustalona przez doświadczenia na mięśniach ludzkich *in vivo*.

Całość tego, co dziś wiemy po badaniach niespełna je-

dnorocznych o amonjogenezie mięśniowej, przedstawia się dopiero jako zarys, którego poszczególne punkty uważamy za ustalone, ale którego pole wypełnić muszą badania dalsze.

#### Piśmiennictwo.

- Adlersberg D.** und **Taubenhaus M.** 1926. Über das Verhalten der Ammoniakmuttersubstanz im Blute. *Arch. exp. Path. u. Pharmakol.* **113** (1).
- Ambard et Schmid.** 1922. Formation de l'ammoniaque par le rein. *C. R. Soc. Biol.* **86** (604).
- Barnett.** 1917. *J. biol. Chem.* **29** (459). (Cytowane podt. Nasha i Benedicta).
- Benedict S. R.** and **Th. Nash.** 1926. The site of ammonia formation and the rôle of vomiting in ammonia elimination. *J. biol. Chem.* **69** (381).
- Bliss S.** 1926. The site of ammonia formation and the prominent rôle of vomiting in ammonia elimination. *J. biol. Chem.* **67** (103).
- Boivin A.** 1926. Nouvelle méthode microanalytique de dosage de l'urée dans le sang. *Bul. Soc. Chim. Biol.* **8** (456).
- Bornstein A.** und **Keitel.** 1926. Über den Ammoniakstoffwechsel der normalen und der mit Blausäure vergifteten Extremität. *Bioch. Zeitschr.* **179** (117).
- Cahn T.** 1926. Revue critique de nos connaissances sur la composition chimique et la structure histologique du muscle normal et atrophié. *Ann. Physiol.* **2** (646).
- Cathcart.** 1925. Influence of muscle work on protein metabolism. *Physiol. Rev.* **5** (236).
- Cholopoff A. D.** 1926. Herkunft des Blutammoniaks und dessen Verteilung im Organismus nach Versuchen an angiostomierten Tieren. *Arch. ges. Physiol.* **214** (320).
- Dakin H. D.** 1912. Oxidations and reductions in the animal body. London.
- Eggleton P.** and **G. P.** 1927. I. The significance of phosphorus in muscular contraction. *Nature.* **119** (194).
- Eggleton P.** and **G. P.** 1927. II. The inorganic phosphate and a labile form of organic phosphate in the gastrocnemius of the frog. *Biochem. Journ.* **21** (190).
- Embden G.** 1925. *Chemismus der Muskelkontraktion und Chemie der Muskulatur.* Handbuch d. norm. u. path. Physiol. **8, I** (369).
- Embden G.** 1927. I. Neue Untersuchungen über die Tätigkeitssubstanzen der quergestreiften Muskulatur und den Chemismus der Muskelkontraktion *Klin. Woch.* **6** (628).
- Embden G.** 1927. II. Uwagi dyskusyjne na 95 Zjeździe *Brit. Med. Ass; Brit. Med. J.* **1926**, № 3488(860).
- Embden G.** 1927. III. Komunikat i uwagi dyskusyjne na 10 Zjeździe fizjologów niemieckich we Frankfurcie. *Ber. u. d. ges. Physiol.* **42** (560).
- Embden G.** und **Zimmermann M.** 1927. Über die Bedeutung der Adenylsäure für die Muskelfunktion. I. Das Vorkommen der Adenylsäure in der Skelettmuskulatur. *Z. physiol. Chem.* **167** (167).
- Fiske C.** and **Yellapadra Subbarow.** 1927. The inorganic phosphate of muscle. *J. biol. Chem.* **74**. Scientific proceedings (XXI, XXII).
- Fletcher W.** and **Hopkins F. G.** 1906. Lactic acid in amphibian muscle. *J. of Physiol.* **35** (247).
- Folin O.** and **Denis.** 1912. Cytowane według Jahresbericht für Tierchemie. *J. biol. Chem.* **11** (161—527).
- Folin O.** 1922. Non protein nitrogen in healt and disease *Physiol. Rev.* **2** (467).
- Fontès G.** 1926. Existe-t-il des sels ammoniacaux

dans le sang circulant? *Bul. Soc. Chim. Biol.* 8 (417). **Fontès G.** et **A. Yovanovitch.** 1925. Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang? *Bul. Soc. Chim. Biol.* 7 (1044). **Fontès G.** 1926. Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang? Reponse à Mm. Parnas et Klisiecki. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 8 (497). **Gad-Andersen.** 1919. Concentration of ammonia in blood. Comparison with concentration of ammonia in different secretions and tissues, especially in muscle. *J. biol. Chem.* 39 (267). **Habs.** 1927. Über chemische und biologische Veränderung der Muskulatur nach öfters wiederholter faradischer Reizung. *Z. physiol. Chem.* 171 (55). **Hoagland R., Mc. Bryde and Powick.** 1917. U. S. Agric. Dept. Bul. 1917 (433), (cytowane podług Hoaglanda i Mansfielda, por. następną cytate). **Hoagland R. and Mansfield S. M.** 1917. The function of muscular tissue in urea formation. *J. biol. Chem.* 31 (487). **Horodyński, Salaskin and Zaleski.** 1902. Über die Vertheilung des Ammoniaks im Blute und den Organen normaler und hungernder Hunde. *Z. physiol. Chem.* 35 (246). **Klisiecki A.** 1926. Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute V. *Biochem. Z.* 172 (442). **Klisiecki A., Mozołowski Wł. and Taubenhaus M.** 1927. Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute VII. *Biochem. Z.* 181 (80). **Lee and Tashiro.** 1922. Studies of alkaligenesis in tissues II. Ammonia production in muscle during contraction. *Am. J. Physiol.* 61 (244). **Mann F. C.** 1927. The effects of complete and of partial removal of the liver. *Medicine.* 6 (419). **Marshall.** 1913. *J. biol. Chem.* 15 (493), cytowane podług Marshall i Davies, por. następną cytate. **Marschall and Davies.** 1914. Urea, its distribution and elimination from the body. *J. biol. Chem.* 18 (53). **Meyerhof O.** 1921. Energieumwandlungen im Muskel. IV. Über die Milchsäurebildung in der zerschnittenen Muskulatur. *Arch. ges. Physiol.* 188 (119 i 129). **Meyerhof O.** 1921. Die Energieumwandlungen im Muskel. V. Milchsäurebildung und mechanische Arbeit. *Arch. ges. Physiol.* 191 (138). **Meyerhof O.** 1922. Atmung und Anaerobiose des Muskels. *Handbuch d. norm. u. pathol. Physiol.* 8, 1 (476). **Meyerhof O., Lohmann C. and Meier R.** 1925. Über die Synthese des Kohlehydrats im Muskel. *Biochem. Z.* 157 (459). **Meyerhof O. and Lohmann C.** 1927. Uwagi dyskusyjne na 95 Zjeździe Brit. Med. Ass. *Brit. Med. J.* 1927, № 3488 (859). **Mozołowski Wł. and W. Lewiński.** 1927. Über den Ammoniakgehalt und Ammoniakbildung im Muskel IV. *Biochem. Z.* (190). **Mozołowski Wł. and Taubenhaus M.** 1927. Über den Ammoniakgehalt und Ammoniakbildung im Blute. VIII. *Biochem. Z.* 181 (85). **Nash Th. and Benedict S. R.** 1921. The ammonia content in the blood and its bearing on the mechanism of acid neutralisation. *J. biol. Chem.* 48 (463). **Nencki M. and Zaleski J.** 1895. Über die Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten und Geweben. *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.* 36 (385) *Opera Omnia II.* (518). **Nencki M., J. Pawlow and J. Zaleski.** 1895. Über den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe und die Harnstoffbildung bei Säugetieren. *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.* 37 (26). *Opera Omnia II* (525). **Nencki M. and J. Pawlow.** 1896. Zur Frage über den Ort der Harnstoffbildung bei den Säugetieren. *Arch. f. exper. Path. und Pharm.* 38 (215). *Opera Omnia II* (561). **Nencki M. and J. Zaleski** 1901. Über die Bestimmung des Ammoniaks in tierischen Flüssigkeiten und Geweben. *Z. physiol. Chem.*

- 33 (193). Opera Omnia, 2. 806. **Neuberg C.** und **Koebel M.** 1927. I i II. Quantitative Untersuchungen über den Abbau von Aminosäuren und Aminopurinen durch Methylglyoxal und verwandte Substanzen. *Biochem. Z.* 188 (197). **Oszacki A.** 1927. O znaczeniu fizjologicznem i klinicznym kwasicy. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 5 (483). **Parnas J. K.** 1922. Chemja fizjologiczna, Warszawa—Lwów T. I. **Parnas J. K.** 1925. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. II. *Biochem. Z.* 155 (247). **Parnas J. K.** 1927. I. Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang circulant? *Bul. Soc. Chim. Biol.* 9 (76). **Parnas J. K.** 1927. II. O kwasicy. *Polskie Archiw. Med. Wewn.* 5 (397) **Parnas J. K.** und **J. Heller.** 1924. Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute. I. *Biochem. Z.* 152 (1). **Parnas J. K.** und **A. Klisiecki.** 1926. I. Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute. IV. *Biochem. Z.* 169 (255). **Parnas J. K.** und **A. Klisiecki.** 1926. II. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VI. *Biochem. Z.* 173 (225). **Parnas J. K.** und **Wł. Mozołowski.** 1927. I. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. I. *Biochem. Z.* 184 (399). **Parnas J. K.** und **Wł. Mozołowski.** 1927. II. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. *Klin. Woch.* 6 (998). **Parnas J. K., Wł. Mozołowski** und **W. Lewiński.** 1927. I. Über die Ammoniakbildung im isolierten Muskel und ihren Zusammenhang mit der Muskelarbeit. *Klin. Woch.* 6 (1710). **Parnas J. K., Wł. Mozołowski** und **W. Lewiński.** 1927. II. Über den Ammoniakgehalt und Ammoniakbildung im Blute. IX. Der Zusammenhang des Blutammoniaks mit der Muskelarbeit. *Biochem. Z.* 188 (15). **Parnas J. K.** und **M. Taubenhau.** 1925. Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute. III. *Biochem. Z.* 159 (298). **Parnas J. K.** und **R. Wagner.** 1921. Über die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl *Biochem. Z.* 125 (253). **Parnas J. K.** und **R. Wagner.** 1914. Über den Kohlenhydratumsatz isolierter Amphibienmuskel. *Biochem. Z.* 61 (416). **Popovicu U.** 1926. Über die Bedingungen der autolytischen Ammoniakbildung in den Geweben. *Biochem. Z.* 170 (408). **Przyłęcki St. J.** 1924. Sur l'origine de l'ammoniaque excretée par les reins. *Arch. intern. d. Physiol.* 24 (13). **Przyłęcki St. J.** 1925. I. Le rôle de l'ammoniaque dans la dégradation des protéines. *Arch. intern. d. Physiol.*, 24 (281). **Przyłęcki St. J.** 1925. II. Sur l'origine de l'ammoniaque dans l'organisme des vertébrés *Arch. intern. d. Physiol.* 25 (45). **Przyłęcki St. J.** 1927. I. La réversibilité des réactions enzymatiques. II. *Ann. de Physiol.* 3 (519). **Przyłęcki St. J., H. Niedzwiedzka** and **T. Majewski.** 1927. Structure and enzyme reactions. I i II. The system urease-charcoal and polysaccharide-amylase-charcoal. *Biochem. J.* 21 (1025). **Rubner M.** 1911. Über den Eiweissansatz. *Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abt.)*, (67). **Sumner J.** 1916. The direct determination of urea and ammonia in muscle *J. biol. Chem.* 27 (95). **Thomas C.** 1910. Über das physiologische Stickstoffminimum *Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abt.)*, (249). **Thierfelder.** 1925. Bestimmung der beim Kochen mit verdünnten Säuren aus Organe erhaltenen Nuclein-



basen. Bearb. von H. Steuddel. Hoppe-Seylers-Thierfelders Handbuch d. physiolog.-chem. Analyse. Wyd. 9, str. 875. **Truskowski R.** 1927. Studies in purine metabolism. III Basal metabolism and purin content. IV The nuclear plasmatic ratio in dogs in carbohydrate and protein feeding and starvation. *Biochem. J.* **21**, (1040—1054). **Warburg O., Negelein E. und Posener C.** 1924. Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochem. Z.* **152** (335). **Węgieńko J.** 1927. Kwasicca cukrzycowa i jej leczenie. Warszawa (102—103). **Woodrow and Wigglesworth.** 1927. The production of lactic acid in frogs muscle in vivo. *Biochem. J.* **21** (812).



[„Animal Breeding Research Department“ Uniwersytetu w Edynburgu]

S. K o p e ć.

O wpływie przerywanego głodzenia na długość życia formy dojrzałej *Drosophila melanogaster*.\*)

*L'influence du jeûne intermittent sur la durée de la vie de la forme adulte de Drosophila melanogaster.\*\*)*

Rękopis nadesłany w dniu 28. I. 1928.

Dans une de mes publications précédentes, j'ai exprimé la supposition que les expériences sur le jeûne intermittent peuvent avoir de l'importance pour le problème de la prolongation de la vie. Lorsqu'on tient compte des conceptions modernes concernant les causes de la mort physiologique et de la mort d'inanition, on devrait s'attendre que „the metabolism of the 'hunger days' would furnish antitoxins for the toxins accumulated in the organism during feeding, and on the contrary the metabolism of the 'feeding days' would give antitoxins against those toxins which were formed during the preceding hunger metabolism. This interchange would lead to the delay of natural death“ (KOPEĆ '22, b).

Lorsqu'on nourrit les chenilles de *Lymantria dispar* L. pendant certains jours et lorsqu'on les soumet au jeûne complet pendant d'autres, on arrive à prolonger très sensiblement la durée de leur vie larvaire. Dans un cas extrême (deux jours de jeûne sur trois), cette prolongation a atteint en moyenne pour les mâles 65.3 p.c. de la durée du stade analogue chez les animaux témoins, tandis qu'elle s'est élevée à 89.5 p.c. pour les femelles (KOPEĆ '21, '24). Au cours de mes recherches sur l'in-

\*) Praca wykonana ze stypendjum Rockefellera (International Education Board).

\*\*\*) Recherches exécutées grâce à une bourse de la Fondation Rockefeller (International Education Board), à l'Université d'Edinburgh (Animal Breeding Research Department, University of Edinburgh).

fluence qu'exerce le jeûne intermittent sur la métamorphose des têtards, j'ai pu observer un fait analogue (KOPEC '22, a, b). L'influence positive qu'exerce le jeûne intermittent sur la durée de la vie dans ces cas-là, ne s'étend cependant qu'à certains stades évolutifs des animaux observés.

J'ai donc repris ces recherches, d'une part sur des Mammifères et de l'autre, sur les formes adultes de *Drosophila melanogaster*, dans le but de me rendre compte si le jeûne intermittent aurait également un effet positif sur la durée de la vie en général.

J'ai exécuté jusqu'à présent les expériences suivantes sur *Drosophila melanogaster*:

A. Jeûne et privation d'eau, séries I à VII:

- I. Jeûne continu (série „g.c.“ des tableaux),
- II. Jeûne de 3 jours successifs sur 4, c.-à-d. de 72 heures sur 96 (série „72/96“),
- III. Jeûne de 2 jours sur 3 (indiqué dans les tableaux par „48/72“),
- IV. Jeûne de 18 heures sur 24, notamment à partir de 9 h. du soir jusqu'à 3 h. de l'après midi (série „18/24“),
- V. Jeûne de 24 heures sur 48 (série „24/48“),
- VI. Jeûne de 12 h. sur 24, notamment à partir de 10 h. du matin jusqu'à 10 h. du soir (série „12/24“),
- VII. Jeûne de 6 heures sur 24, notamment à partir de midi jusqu'à 6 h. du soir (série „6/24“);

B. Jeûne sans privation d'eau, séries VIII à XIV:

Les différentes séries étaient disposées et indiquées comme les séries ci-dessus;

C. Nourriture quotidienne; expérience de contrôle, insectes nourris „ad libitum“, sans interruption (série XV).

Chaque série comprenait 100 individus mâles de la mutation „white yellow“, dont 10 dans chaque éprouvette. Le nombre total des insectes examinés, était donc de 1500. Si l'on tient compte d'une expérience supplémentaire ce nombre s'élevait à 1600 animaux (pour les méthodes appliquées dans les expériences, v. KOPEC '28).

Les tableaux I et IV contiennent les données moyennes de la durée de la vie, calculées en jours pour les insectes de chaque éprouvette et de chaque série séparément. Dans les tableaux II et V, nous trouvons les données analogues en rapport

avec le minimum de la durée de la vie, tandis que dans les tableaux III et VI, nous avons réuni les données relatives à la durée maximum.

Ces expériences ont donné les résultats suivants:

1°. En appliquant le régime du jeûne intermittent d'après le plan indiqué ci-dessus, on voyait les insectes adultes de *Drosophila melanogaster* mourir en général plus tôt que les animaux témoins. Toutefois, lorsque les insectes étaient soumis au jeûne pendant 6 heures sur 24, sans être privés d'eau (série XIII), la durée de leur vie était tout au moins aussi longue que celle des individus nourris sans interruption.

2°. La durée de la vie était d'autant plus longue, que le jeûne était moins intense.

3°. Dans les séries où l'on fournissait de l'eau aux insectes soumis au jeûne intermittent, la vie durait toujours plus longtemps que dans les séries analogues, où les animaux étaient également privés d'eau.

4°. L'influence négative du jeûne sur la durée de la vie est plus sensible, lorsque les interruptions de l'alimentation sont plus longues quoique moins fréquentes, que lorsque ces intervalles sont plus courts, mais se répètent plus souvent (v. tabl. I, séries V, VI et II, IV, de même que tabl. IV, séries XII, XIII et IX, XI).

5°. Le jeûne de 6 heures sur 24 avec privation d'eau, de même que le jeûne de 12 heures sur 24 sans privation d'eau produisait un effet négatif, surtout chez les animaux d'un âge moyen (comp. dans les séries VII et XIII, tableaux II, III, V et VI, les durées minima et maxima de la vie des insectes étudiés avec les données analogues, concernant les animaux témoins).

6°. Avec l'âge, les animaux deviennent moins résistants aux effets nocifs du manque de nourriture. Une expérience supplémentaire a porté sur 100 mouches, nourries sans interruption pendant les premiers 20 jours de leur vie, mouches qui depuis ce moment ont été complètement privées d'eau et de nourriture. Aucun de ces insectes n'a survécu plus de 24 heures à ce régime.

7°. On ne saurait appliquer dans les conditions du jeûne, les „biologically equivalent life spans“ de PEARL ('22, a; selon cet auteur, 1 jour de vie de *Drosophila*, correspond plus ou moins à 1 an de la vie d'un homme).

Les expériences dont nous venons de parler ne sauraient résoudre définitivement la question relative à l'influence positive qu'exerce le jeûne intermittent sur la durée de la vie, influence que nous avons supposée, en nous appuyant sur des données théoriques.

Leur rôle se borne en effet à nous avoir fourni certaines indications applicables aux recherches ultérieures dans ce domaine. Elles ont approximativement fixé l'intensité du jeûne, qui paraît pouvoir nous donner la solution du problème mentionné, en ce qui concerne *Drosophila*. Il s'agit donc d'un jeûne de 6 heures toutes les 24 heures, sans priver les animaux d'eau, régime qui devrait être répété sur un matériel plus abondant, éclos le même jour. Il importe d'entreprendre des expériences spéciales pendant lesquelles les périodes de jeûne seraient encore plus courtes. Après avoir établi que la résistance des animaux au jeûne diminue avec l'âge, nous nous proposons d'entreprendre d'autres expériences, au cours desquelles les individus soumis au début au jeûne intermittent pendant une certaine période, seraient ensuite nourris sans interruption jusqu'à la fin de leur vie.

---

### I. Zagadnienie.

W piśmiennictwie ostatnich lat znajdujemy szereg prac, poświęconych wpływowi, jaki na długość życia zwierząt wywierają pewne wewnętrzne i zewnętrzne czynniki.

SLONAKER ('12) w badaniach swych nad szczurami stwierdza ujemny stosunek, istniejący pomiędzy długością życia tych ssaków a ogólną pracą mięśni przez nie wykonaną. Dodawanie teteliny do pożywienia myszy opóźnia, według doświadczeń ROBERTSONA i RAY'A ('19), śmierć naturalną tych zwierząt. STEINACH ('20) wzmiankuje o przedłużeniu życia szczurów, którym przewiązано nasieniowody, choć materiał, jakim autor ten rozporządza jest pod tym względem niezawodnie za mało miarodajny (por. PEARL, '22, b). LOEB i NORTHROP ('16, '17) widzą, że podniesienie ciepłoty otoczenia

przyśpiesza śmierć naturalną dojrzałej formy *Drosophila melanogaster* (podobne wyniki otrzymał ostatnio TITSCHAK '25 z *Tineola biselliella* Hum.). Według PEARLA i PARKERA ('22, b) długość życia *Drosophila* zależna jest również od ilości okazów, znajdujących się w naczyniach, oraz od stopnia wentylacji naczyń (PEARL i PARKER '22, c). Związek pomiędzy rodzajem pożywienia a długością życia uwydatniony został przez LOEBA i NORTHROPA ('17) w badaniach nad temi samymi owadami oraz przez GLASERA ('23) nad *Musca domestica*, *Stomoxys calcitrans* i *Lyperosia irritans*. Dane co do trwania życia w warunkach ciągłego głodu znajdujemy w pracach VINOKUROFFA ('22) i GLASERA ('23) nad muchami, oraz BARROWSA ('07), LUTZA ('15), przede wszystkim zaś PEARLA i PARKERA ('24) nad *Drosophila*.

Niezależnie od powyższych poszukiwań, zwróciłem już przed paru laty uwagę na przerywane głodzenie, jako na czynnik, który w zagadnieniu sztucznego przedłużenia życia odegra, być może, szczególną rolę. Istotnie, pogląd na istotę śmierci z głodu, jako spowodowaną samozatruciem ustroju produktami odmiennej przemiany materji, zdaje się coraz bardziej zyskiwać na prawdopodobieństwie. Z drugiej strony, według niektórych przynajmniej autorów, śmierć naturalna wywoływana jest przez nagromadzenie się produktów przemiany, które wskutek niedoskonałości układu wydalniczego zwierząt wielokomórkowych nie mogą być należycie z ustroju usuwane<sup>1)</sup>. Jeżeli zaś tak byłoby w istocie, to „możnaby... dopatrywać się podczas przerywanego głodzenia pewnej gry procesów odtruwających: „dni głodowe” ze swą głodową przemianą materji wytwarzałyby niweczniki dla toksyn, gromadzących się w ustroju podczas dni „pokarmowych” i odwrotnie, w dni odżywiania się organizmu zachodziłby proces, niweczący samozatrucie się ustroju produktami uprzedniej głodowej przemiany, co razem wzięte pociągałoby za sobą opóźnienie śmierci naturalnej“ (KOPEĆ '22, a, str. 56).

Karmiąc gąsieniec brudnicy nieparki (*Lymantria dispar* L.) w pewne tylko dni, zaś w inne poddając je zupełnemu głodzeniu, otrzymałem bardzo znaczne przedłużenie larwalnego okresu ich życia (KOPEĆ '21). W przypadku krańcowym (głodzenie przez dwa dni z rzędu na każde trzy dni życia) przedłużenie to wyniosło przeciętnie u samców 65.3, u samic zaś 89.5% w porównaniu z trwaniem analogicznego stadjum u osobników kontrolnych. Długość życia dojrzałej formy owadu, która u brudnicy nie pobiera wogóle nigdy pożywienia, nie ulegała przytem żadnej zmianie<sup>2)</sup>. Całkowity rozwój tych zwierząt — od chwili wylęgu gąsieniec z jaj aż do chwili zjawienia się motyli — trwał, w razie karmienia larw tylko co drugi dzień,

<sup>1)</sup> Piśmiennictwo tych zagadnień znajduje się u LIPSCHÜTZA ('15), PEARLA ('22, b), MORGULISA ('23) i JACKSONA ('25); por. też JOBLING i PETERSEN ('16) oraz nowsze wyniki CARNOTA i TERRISA ('24).

<sup>2)</sup> Spostrzeżenie to zgadza się najzupełniej z wynikiem, otrzymanym uprzednio przez NORTHROPA ('17) nad *Drosophila*, u których karmienie larw nieodpowiedniem pożywieniem opóźniało przeobrażenie, nie wpływając jednak na długość życia formy dojrzałej.

u samców przeciętnie o 24,2, u samic—o 30,0% dłużej, niż w materiałach kontrolnych, pomimo wyraźnego skrócenia okresu poczwarczego, jakie w doświadczeniach tych wystąpiło<sup>1)</sup>. Jakkolwiek powyższe wyniki moje są zatem bardzo wyraźne, to nie są one jednak dla naszego zagadnienia należyście rozstrzygające, a to dlatego, że dodatni wpływ, wywierany zapomożą przerywanego głodzenia na długość życia zwierząt, dotyczył tu bądź co bądź rozwojowego tylko okresu. To samo zastrzeżenie nastrocza się oczywiście i co do analogicznych moich poszukiwań nad kijankami, u których zastosowanie tego samego doświadczalnego czynnika wywołało również ogromne opóźnienie przeobrażenia (KOPEĆ '22), a to tembardziej, że w tych badaniach spostrzeżenia były z chwilą ukończenia metamorfozy wogóle przerywane<sup>2)</sup>. W związku z zagadnieniem naszym pragnę tu tylko podnieść, że przerywane głodzenie kijanek działało w sposób wyraźnie korzystny na odporność tych zwierząt względem nienormalnych z natury rzeczy warunków sztucznej hodowli.

Otóż pragnąc przekonać się, czy i o ile zauważony przeze mnie wpływ przerywanego głodzenia da się wyzyskać w kierunku zagadnienia przedłużenia życia wogóle, podjąłem szereg nowych poszukiwań nad ssakami z jednej strony, oraz nad dojrzałymi formami owadów z drugiej. Poniżej podaję zestawienie najważniejszych dotychczasowych wyników orientacyjnych, uzyskanych w doświadczeniach z *Drosophila melanogaster*.

Dr. A. W. GREENWOODOWI za ciągłą pomoc podczas przeprowadzania tych doświadczeń i cały szereg bardzo cennych wskazówek praktycznych składam i na tem miejscu moje najszczerze podziękowanie.

## II. Materiał i metody.

Do badań użyłem wyłącznie samców mutacji „white yellow”. Po dłuższych przedwstępnych próbach opracowano następujący sposób postępowania.

<sup>1)</sup> Co do istotności tego skrócenia porównaj pewne moje zastrzeżenia, uczynione ostatnio na innem miejscu (KOPEĆ '27, a).

<sup>2)</sup> Tylko w tych przypadkach, gdy do doświadczeń użyto zwierząt wyrosniętych (gąsienic od 10 dnia po ostatniej wylince, kijanek zaś w wieku 50—65 dni) osobniki głodzone przeobrażały się wcześniej od karmionych codziennie (próbę fizjologicznego wytłumaczenia tego odmiennego zachowania się zwierząt pod wpływem głodzenia w zależności od ich wieku znajdzie czytelnik w omawianych mych pracach). W odniesieniu do owadów ostatni ten mój wynik został potwierdzony przez SINGH-PRUTHI'EGO ('25) na *Tenebrio molitor* i na *Pieris brassicae*. Co się tyczy podobnych spostrzeżeń, opisanych ostatnio przez G. COUSIN ('26) nad *Calliphora erythrocephala*, por. KOPEĆ ('27, b).



Owady trzymano w jednakowo mniej więcej długich i szerokich probówkach, o jednakowej w przybliżeniu grubości szkła, zamykanych korkami z wyjąłowanej waty. Wszystkie próbki kładziono razem do jednego dużego szklanego naczynia, na którego dnie znajdowała się zwilżona wodą wata, zakryta metalową siatką. Naczynie to zamykano odpowiednią płytą i wstawiano do elektrycznego termostatu, którego temperatura utrzymywana była dość ściśle w 27°. Pożywkę robiono stale według przepisu Dr. Teodora Marchlewskiego z Krakowa; przygotowywano ją w sposób następujący: 21 g mąki, 2 g agar-agaru i 150 cm<sup>3</sup> dystalowanej wody ogrzewano do 60°, mieszano z 20 g wyciągu słodowego i gotowano przez 10 minut. Pożywkę tę po ostudzeniu umieszczano w cienkiej warstewce na bocznej ścianie probówek, blisko ich otworu. Po ukończeniu okresów żywienia strząsano owady, bez uprzedniego ich narkotyzowania<sup>1)</sup>, do innych starannie wymytych i wysuszonych probówek, w których w czasie głodzenia znajdowały się wąskie skrawki chemicznie czystego sączkowego papieru, zwilżone destylowaną wodą, i przytrzymane watą, zamykającą otwory probówek. Zwierzęta kontrolne strząsano co 12 godzin do innych probówek, zaopatrzonych nową dawką pożywienia.

Po licznych uprzednich próbach zdołano dostatecznie ujednostajnić stopień wilgotności zarówno w probówkach kontrolnych, jak też i w doświadczalnych, i to zarówno podczas okresów żywienia, jak też głodu. Przy odpowiednim ustaleniu wilgotności i ilości pożywienia, ilości podawanej w okresach głodzenia wody, wreszcie ściśłości, z jaką zamykano poszczególne próbki, otrzymano mianowicie zawsze jednakową w przybliżeniu ilość skroplonej pary wodnej na części wewnętrznych ścianek probówek; okoliczność ta pozwalała wnioskować, że we wszystkich przypadkach powietrze zawarte wewnątrz było jednakowo parą wodną nasycone. W osobnym szeregu doświadczeń badano wpływ przerywanego, lecz zupełnego głodzenia, to znaczy—z wyłączeniem wody. W tych razach próbki były zamykane niezmiernie ściśle; pomimo iż w probówkach nie znajdowało się wówczas ani śladu skroplonej pary wodnej, którą owady piłyby mogły w okresach głodu, zwierzęta nie ulegały zbyt szkodliwemu wysychaniu, a to dlatego, że powietrze we wspólnym naczyniu, w którym znajdowały się wszystkie próbki, było zawsze bardzo wilgotne.

Każda serja doświadczeń składała się z 10 probówek, w każdej z nich znajdowało się po 10 owadów. Tę samą ilość 100 okazów użyto w serji kontrolnej. Nie ze wszystkimi jednak probówkami rozpoczęto badania jednocześnie. Wszystkie muchy, wylęte w okresie od rana 4.V do rana 6.V, były uśpione eterem i zbadane pod względem płci. Następnie, uzyskane samce rozdzielano na „chybi-trafi“ pomiędzy wszystkie serje (pierwsza próbówka każdej serji, oznaczona w tabelach jako próbówka „a“). Analogicznie postąpiono 8.V (próbówki „b“ i „c“), 10.V (próbówki „d“ i „e“) i 12.V

<sup>1)</sup> PEARL i PARKER (22, a) przekonali się, że parokrotne eteryzowanie tych zwierząt nie wpływa na długość ich życia. Wynik taki nie wykluczał jednak możliwości, że przy codziennym narkotyzowaniu owadów śmierć naturalna uległaby znacznemu przyspieszeniu.

(„f“, „g“, i „h“); ostatnie dwie próbówki każdej serji („i“ i „k“) zawierały wreszcie samce wylęte w czasie od rana 14.V do rana 16.V. Podczas ciągłej zmiany próbówek pewna ilość much zdołała z nich wyfrunąć; niektóre znów okazy przyklejały się do powierzchni pożywienia lub też do kropel wody, osiadłych na części wewnętrznych ścian próbówek. W ten sposób dane co do dnia śmierci naturalnej dla wyjściowej setki okazów niektórych seryj uległy pewnemu zdekompilowaniu. Jednakowoż każde doświadczenie zaopatrzone było jedną lub dwiema zapasowymi próbówkami, zawierającymi owady z lęgu od 18—20.V i traktowanymi zupełnie tak samo, jak poprzednie 10 próbówek odpowiedniej serji. Otóż braki w danych, powstałe z wyżej wymienionych powodów, uzupełniane były kolejnymi danymi, dotyczącymi owadów zmarłych naturalną śmiercią w odpowiednich próbówkach zapasowych. Tego rodzaju uzupełniania były zresztą stosunkowo bardzo nieliczne; dotyczyły one we wszystkich 15 serjach (p. niżej) zaledwie 52 okazów, a mianowicie w serji IV—3, w VI—6, w serjach XIII i XIV—po 8, wreszcie w serjach VII, XI i XV—po 9 na 100 okazów, użytych w każdej z nich do badań (w pozostałych serjach żadnych strat nie było). Ta niewielka stosunkowo ilość strat tłumaczy się dwiema okolicznościami: po pierwsze, przeważną część owadów przyklejonych do powierzchni pożywienia lub wody udawało się, przy częstem (zwłaszcza nocnem) kontrolowaniu próbówek, uratować od śmierci, zdejmując je za pomocą delikatnego pędzelka i umieszczając na bezpiecznym miejscu wewnętrznej powierzchni ścian; po drugie, w bardzo prędkim czasie zwierzęta, trzymane w próbówkach, odzwyczajaly się niemal zupełnie od fruwania, tak iż przez cały prawie czas doświadczeń chodziły one tylko po ścianach próbówek.

Wszystkie dane, dotyczące długości życia badanych okazów, obliczane były od rana 7., 9., 11., 13., 17. i 21.V, ponieważ przez całe pierwsze 24 godzin po oddzieleniu owadów do badań były one jeszcze karmione do woli. Osobniki, pochodzące z lęgów późniejszych, ustępowały pod względem wielkości tym, które wylęły się wcześniej. W związku z tem podkreślić należy, że każda z seryj zawierała, jak widzieliśmy, jednakową ilość owadów z każdorazowego lęgu. Śmierć zwierząt kontrolowano co 12 godzin (o 9. rano i o 9. wieczorem), usuwając jednocześnie z próbówek zmarłe okazy.

### III. Opis spostrzeżeń.

Całość doświadczeń składała się z następujących seryj:

A. Głodzenie bez podawania wody, serje I—VII:

- I, głodzenie ciągle (serja oznaczona w tabelach jako „g.c.“),
- II, głodzenie przez 3 następujące po sobie doby na każde z 4-ch dni życia, to znaczy przez 72 godziny na każde 96 (serja oznaczona jako „72/96“),
- III, głodzenie przez 2 doby na 3 dni (oznaczona jako „48/72“),

IV, głodzenie przez 18 godzin na każdą dobę, a mianowicie od 9-ej wieczorem do 3-ej popołudniu (oznaczone jako „18/24“),

V, głodzenie przez jedną dobę na każde dwie doby („24/48“),

VI, głodzenie przez 12 godzin na 24, a mianowicie od 10-ej r. do 10-ej w. („12/24“),

VII, głodzenie przez 6 godzin na każdą dobę, a mianowicie od 12-ej w poł. do 6-ej w. („6/24“).

B. Głodzenie z podawaniem wody, serje VIII i XIV:

Poszczególne serje były tu najzupełniej tak samo nastawione i oznaczone, jak powyżej wymienione serje szeregu A.

C. Karmienie codzienne — serja XV:

Kontrola, zawierająca owady karmione każdego dnia dowoli.

Jak już wspomniałem, do każdej serji użyto po 100 okazów (po 10 okazów w 10-ciu próbkach). Ogólna liczba zbadanych zwierząt wyniosła zatem 1500 owadów. Przy uwzględnieniu jednego dodatkowego doświadczenia (p. niżej str. 12) ilość ta wynosi 1600 osobników.

W tabeli I i IV podane są przeciętne długości życia, obliczone w dniach dla zwierząt poszczególnych próbek każdej serji oddzielnie. W tabeli II i V znajdują się w ten sam sposób zestawione dane, dotyczące minimalnej długości trwania życia, w tabeli III i VI — analogiczne maksymalne wartości. Wszystkie tabele uzupełnione są ogólnymi przeciętnymi dla każdej serji, obliczonymi jako średnie z 10-ciu liczb, uzyskanych dla wszystkich przynależnych próbek.

#### A. Głodzenie bez podawania wody.

Z odpowiednich liczb tab. I wynika przedewszystkiem, że przeciętna długość życia okazów, które miały głodować przez 3 doby na każde 4 doby ich życia (serja II) z wyłączeniem wody, wynosiła w poszczególnych próbkach z reguły mniej, niż 2.5 dnia. Wynik ten staje się zrozumiałym, skoro się zważy, że maksymalna długość życia owadów głodzonych bez przerwy (serja I) równała się w ogólnej przeciętnej zaledwie trzem dobom (tab. III). W swych wyczerpujących studjach nad trwaniem życia *Drosophila* w warunkach zupełnego głodu, PEARL i PARKER ('24) podają jako przeciętną długość życia samców niecałe 2 dni, zarówno dla typu „wild“ jak też dla mutacji „vestigial“. Wyższa stosun-

kowo wartość przeciętna, otrzymana przeze mnie dla analogicznie traktowanych „white yellow“, tłumaczyć niezawodnie należy odmiennymi warunkami, w jakich w obu razach zwierzęta były trzymane. PEARL i PARKER widzą bowiem, że śmierć obu badanych przez nich form, pomimo iż w kontrolnych warunkach różnią się one pomiędzy sobą pod względem długości życia bardzo wybitnie (PEARL i PARKER '21), następuje przy ciągłym i zupełnym ich głodzeniu jednakowo szybko.

Tabela I.

Przeciętna długość życia owadów w każdej próbówce oddzielnie, w dniach.  
Głodzenie bez wody.

*Durée moyenne de la vie en jours, pour chaque éprouvette séparément.  
Animaux soumis au jeûne et privés d'eau.*

Materiał z dnia <i>Matériel du</i>	Numer próbówki <i>Nº de l'éprou- vette</i>	Serje — <i>Séries</i>							XV Kontrola <i>Animaux témoins</i>
		I g. c.	II 72/96	III 48/72	IV 18/24	V 24/48	VI 12/24	VII 6/24	
6.V	<i>a</i>	2.60	2.40	1.90	15.10	22.40	29.35	41.90	36.65
	<i>b</i>	2.00	2.35	3.70	16.45	17.70	23.85	34.35	40.30
8.V	<i>c</i>	2.10	2.85	4.80	17.05	17.85	32.20	36.35	42.45
	<i>d</i>	2.10	2.05	5.80	10.75	18.10	31.45	36.10	31.65
10.V	<i>e</i>	2.50	2.10	7.90	12.25	20.50	34.00	38.75	41.75
	<i>f</i>	2.25	1.95	2.95	13.00	16.00	23.00	37.15	33.55
12.V	<i>g</i>	2.70	2.20	3.10	13.95	17.85	31.35	39.60	36.20
	<i>h</i>	2.75	2.40	10.10	17.65	18.35	31.50	41.10	46.00
16.V	<i>i</i>	2.00	2.10	2.95	11.65	11.00	26.80	34.55	37.60
	<i>k</i>	2.40	2.20	6.80	14.25	14.80	29.75	37.50	42.90
Przeciętna ogólna: <i>Moyenne:</i>		<b>2.34</b>	<b>2.26</b>	<b>5.00</b>	<b>14.21</b>	<b>17.46</b>	<b>29.33</b>	<b>37.74</b>	<b>38.91</b>

W pozostałych serjach długość życia staje się coraz większa w miarę stosowania coraz słabszego głodzenia (p. tab. I — III); jednakowoż nawet w serji VII, w której owady pozbawione były pokarmu i wody tylko przez 6 godzin na każdą dobę, nie udało się zauważyć w obecnie omawianym szeregu doświadczeń opóźnienia chwili śmierci w porównaniu z materiałem kontrolnym.

Zwierzęta serji V głodowały co drugą dobę, serji zaś VI przez 12 godzin na każde 24. Pomimo różnej długości trwania okresów głodu i żywienia, w obu razach wzajemny stosunek tych okresów był zatem zupełnie ten sam. Pomimo to w pierwszym przypadku owady żyły o wiele krócej, niż w drugim (to samo

dotyczy serji II przy porównaniu z serją IV). Wynika stąd, że długość życia w warunkach przerywanego głodzenia zależy nie tylko od wzajemnego stosunku obu omawianych okresów, lecz również od absolutnej długości przerw w karmieniu zwierząt: ujemny wpływ dłuższych, choć rzadszych, przerw jest większy od wpływu krótszych choć częstszych okresów głodowania <sup>1)</sup>.

Tabela II.

Minimalna długość życia owadów w każdej próbówce oddzielnie, w dniach.  
Głodzenie bez wody.

*Minimum de la durée de la vie en jours, pour chaque éprouvette séparément.  
Animaux soumis au jeûne et privés d'eau*

Materiał z dnia <i>Matériel du</i>	Numer próbówki <i>N° de l'éprouvette</i>	Serje — <i>Séries</i>							XV Kontrola <i>Animaux témoins</i>
		I g. c.	II 72/96	III 48/72	IV 18/24	V 24/48	VI 12/24	VII 6/24	
.V	<i>a</i>	2.5	2.0	1.5	8.0	19.0	16.0	19.0	11.0
8.V	<i>b</i>	0.5	1.5	1.5	12.5	1.0	7.0	9.5	15.0
	<i>c</i>	2.0	2.5	1.5	8.0	0.5	21.5	28.5	21.5
10.V	<i>d</i>	1.0	0.5	1.5	2.5	1.5	4.5	1.0	6.0
	<i>e</i>	1.0	1.0	3.0	8.0	17.0	26.0	23.0	17.5
	<i>f</i>	2.0	1.5	1.0	2.0	1.0	6.0	30.5	6.5
	<i>g</i>	2.0	1.5	1.0	3.5	1.0	12.5	33.0	25.5
16.V	<i>h</i>	2.5	2.0	2.0	15.0	13.5	29.5	26.0	26.0
	<i>i</i>	1.0	1.5	0.5	0.5	1.0	15.5	25.0	17.0
	<i>k</i>	1.0	1.5	2.0	9.5	13.0	18.5	28.0	30.5
Przeciętna ogólna <i>Moyenne:</i>		1.6	1.6	1.6	7.0	6.9	15.7	22.4	17.7

W tab. II widzimy, że minimalna długość życia wyniosła w serji VII przeciętnie 22.4 dni, przewyższała zatem analogiczną wartość dla zwierząt kontrolnych (17.7 dni) aż o 26.5%, pomimo że przeciętne trwanie życia było w tej serji nieco krótsze, niż w materjale, karmionym bez przerwy (tab. I); ponieważ zaś maksymalna długość życia w serji VII (jak to łatwo obliczyć z tab. III) ustępowała zaledwie o 3.5% wartości uzyskanej w serji kontrolnej, staje się przeto rzeczą zrozumiałą, że szkodliwe działanie głodzenia (z wyłączeniem wody) przez 6 godzin na 24 odbiło się przedewszystkiem na owadach średniego wieku. To samo wynika zresztą na ogół z nieprzedstawionych tutaj szeregów liczebności

<sup>1)</sup> Por. analogiczne wyniki, otrzymane w doświadczeniach z gąsienicami (KOPEĆ '21).

dla osobników poszczególnych probówek omawianej serji. Z przedstawionego stanu rzeczy nasuwają się dwa wnioski: po pierwsze, zwierzęta stają się z wiekiem mniej odporne na brak pożywienia i wody, po drugie, okazy bardziej „silne” mogą w warunkach tego rodzaju głodzenia żyć niemal tak samo długo, jak osobniki niegłodzone. W jak wysokim stopniu odporność naszych owadów na głodzenie zmniejsza się z wiekiem, wynika w sposób niezmiernie uderzający z następującego dodatkowego doświadczenia: 100 samców, karmionych dowolnie przez pierwsze 20 dni ich życia

Tabela III.

Maksymalna długość życia owadów w każdej probówce oddzielnie, w dniach.  
Głodzenie bez wody.

*Maximum de la durée de la vie en jours, pour chaque éprouvette séparément.  
Animaux soumis au jeûne et privés d'eau.*

Materiał z dnia <i>Matériel du</i>	Numer próbówki <i>N° de l'éprouvette</i>	Serje — <i>Séries</i>							XV Kontrola <i>Animaux témoins</i>
		I g. c.	II 72/96	III 48/72	IV 18/24	V 24/48	VI 12/24	VII 6/24	
6.V	<i>a</i>	3.0	3.0	2.0	19.0	23.0	36.5	54.5	59.0
	<i>b</i>	2.5	3.0	8.0	19.5	21.0	33.5	53.0	57.5
8.V	<i>c</i>	3.0	3.0	14.0	24.5	23.0	37.5	49.5	62.0
	<i>d</i>	3.0	2.5	17.0	17.0	21.0	44.5	49.5	53.5
10.V	<i>e</i>	3.5	3.0	17.0	16.0	21.0	39.0	56.5	56.0
	<i>f</i>	2.5	2.5	8.0	20.0	19.0	32.0	51.5	49.5
12.V	<i>g</i>	3.0	3.5	8.0	20.0	27.5	41.5	52.5	45.5
	<i>h</i>	3.0	2.5	19.5	20.5	27.0	37.5	54.5	56.5
16.V	<i>i</i>	3.0	3.5	8.5	20.0	15.0	41.5	47.5	44.5
	<i>k</i>	3.5	3.5	14.0	18.5	15.0	37.0	50.5	54.5
Przeciętna ogólna: <i>Moyenne:</i>		3.0	3.0	11.6	19.5	21.3	38.1	52.0	53.9

codziennie, poddane było dopiero 21-go dnia głodzeniu (z wyłączeniem wody), które trwać miało przez 24 godzin na każde 48. O ile zwierzęta starsze miałyby być tak samo odporne na brak pożywienia, jak okazy młode, należałoby przypuszczać, że owady tego ostatniego doświadczenia przeżyją w warunkach zastosowanego głodzenia w przybliżeniu przynajmniej dalszych 2 tygodnie śmierć bowiem w analogicznie od początku traktowanej serji V następowała przeciętnie po 17.46 dobach, zaś przeciętna długość życia zwierząt kontrolnych sięgała niemal 40 dni. Otóż okazało się jednak, że ani jeden osobnik omawianego obecnie doświad-

czenia nie przetrwał 24-godzinnego braku pożywienia i wody, wszystkie bowiem owady zmarły przed ukończeniem pierwszego jednodniowego okresu głodzenia. Nie ulega zatem wątpliwości, że odporność na głód staje się z wiekiem mniejsza, choć na podstawie dotychczasowych spostrzeżeń nie można nic powiedzieć o fizjologicznej naturze tego zjawiska. Niewątpliwie, zmiany zachodzące z wiekiem w chitynie odgrywać tu mogą pewną rolę.

Tabela IV.

Przeciętna długość życia owadów w każdej próbówce oddzielnie, w dniach.  
Głodzenie z wodą.

*Durée moyenne de la vie en jours, pour chaque éprouvette séparément.  
Jeûne sans privation d'eau.*

Materiał z dnia <i>Matériel du</i>	Numer próbówki <i>N<sup>o</sup> de l'éprou- vette</i>	Serie — <i>Séries</i>							XV Kontrola <i>Animaux temoins</i>
		VIII g. c.	IX 72/96	X 48/72	XI 18/24	XII 24/48	XIII 12/24	XIV 6/24	
6.V	<i>a</i>	2.65	3.05	12.80	24.75	28.30	48.05	42.35	36.65
8.V	<i>b</i>	2.50	3.35	11.85	22.35	33.95	34.80	42.40	40.30
	<i>c</i>	2.50	4.20	17.85	25.75	35.05	44.00	43.25	42.45
10.V	<i>d</i>	2.90	3.65	8.65	22.65	29.05	36.65	36.50	31.65
	<i>e</i>	3.00	4.30	14.70	30.10	33.65	36.95	36.85	41.75
12.V	<i>f</i>	2.65	2.75	5.05	21.50	23.35	35.60	36.60	33.55
	<i>g</i>	2.75	2.85	5.85	23.20	29.25	39.30	42.25	36.20
16.V	<i>h</i>	2.90	3.90	11.30	26.50	32.00	40.00	46.10	46.00
	<i>i</i>	2.60	2.75	6.75	24.90	22.05	26.15	35.00	37.60
	<i>k</i>	2.90	3.35	7.40	25.65	28.90	34.55	35.90	42.90
Przeciętna ogólna: <i>Moyenne:</i>		<b>2.74</b>	<b>3.42</b>	<b>10.22</b>	<b>24.74</b>	<b>29.56</b>	<b>37.61</b>	<b>39.72</b>	<b>38.91</b>

### B. Głodzenie z podawaniem wody.

Przeciętna długość życia dla samców typu „wild“, które zupełnie nie otrzymały pożywienia, nie będąc jednak pozbawione wody do picia, obliczają PEARL i PARKER ('24), na podstawie odpowiednich liczb, podanych przez LUTZA ('15), na 66,31 godzin, czyli na 2.76 dni. Analogiczna wartość w niniejszych doświadczeniach (patrz dane dla serji VIII w tab. IV) wynosiła 2.74 doby, zgodność wyników w obu razach jest zatem zupełna.

W każdym z doświadczeń obecnie omawianego szeregu życie trwało przeciętnie dłużej, niż w odpowiedniej serji poprzednio przedstawionych poszukiwań, w których zwierzęta pozbawione były nie tylko pożywienia, ale i wody (por. tab. IV z I). To samo

wynika z porównania przeciętnych minimalnych oraz maksymalnych wartości (por. tab. V z II oraz VI z III); jedyny wyjątek stanowi tu tylko przeciętne minimum życia w serji XIV, o ile zestawi się je z tą samą wielkością, otrzymaną w serji VII. Z różnic, występujących w tym kierunku, nie sposób jednak należycie i dokładnie ocenić, w jakim stopniu dodatek wody do picia zwiększa długość życia przerywanie głodzonych zwierząt. Ponieważ, jak to wynika z opisaney powyżej metody postępowania,

Tabela V.

Minimalna długość życia owadów w każdej próbówce oddzielnie, w dniach.  
Głodzenie z wodą.

*Minimum de la durée de la vie en jours, pour chaque éprouvette séparément.  
Jeûne sans privation d'eau.*

Materiał z dnia <i>Matériel du</i>	Numer próbówki <i>N° de l'éprouvette</i>	Serje — <i>Séries</i>							XV Kontrola <i>Animaux témoin</i>
		VIII g. c.	IX 72/96	X 48/72	XI 18/24	XII 24/48	XIII 12/24	XIV 6/24	
6.V	a	1.5	1.5	5.0	19.0	16.0	35.0	10.0	11.0
8.V	b	2.0	3.0	2.0	1.5	17.5	6.0	12.0	15.0
	c	2.0	3.0	5.0	17.5	29.0	31.0	32.5	21.5
10.V	d	2.5	2.5	2.0	19.5	23.5	29.0	17.0	6.0
	e	2.0	3.0	5.0	21.5	29.0	29.0	27.0	17.5
12.V	f	2.5	1.5	1.0	4.0	17.0	10.5	14.0	6.5
	g	2.0	2.0	2.0	16.5	12.0	7.5	26.0	25.5
16.V	h	2.5	2.5	5.0	4.0	25.5	31.0	33.5	26.0
	i	2.0	1.0	2.0	19.0	9.0	7.0	29.0	17.0
	k	2.0	1.5	5.0	9.0	11.5	29.5	20.0	30.5
Przeciętna ogólna: <i>Moyenne:</i>		2.1	2.2	3.4	13.2	19.0	21.6	22.1	17.7

wilgotność w próbkach nie była w obu szeregach doświadczeń jednakowa, wyniki otrzymane z głodzeniem bez wody i z wodą mogą być mianowicie tylko z grubsza ze sobą porównane.

Przeoglądając kolejno dane dla seryj VIII — XIV, można i tym razem stwierdzić, że życie trwało przeciętnie dłużej w miarę tego, im głodzenie mniej było silne (tab. IV). W serji XIV śmierć następowała nawet z reguły przeciętnie później, niż wśród zwierząt kontrolnych: tylko bowiem owady próbek „i” oraz „k”, pochodzące zatem z najpóźniejszego lęgu, oraz osobniki próbek „e” zachowywały się pod tym względem odmiennie. Maksymalne zaś trwanie życia tylko w ostatniej próbówce było większe



w kontrolnym materiale, a w próbówce „c” w obu materiałach jednakowo długie (tab. VI). Należy przytem położyć duży nacisk na okoliczność, że badane owady w warunkach kontrolnych jedzą potrosze przez całą dobę, z czego wynika, iż 6-godzinne głodzenie zwierząt w ciągu każdego dnia życia bynajmniej nie było dla fizjologii ich odżywiania obojętne: po ukończeniu tych na pozór krótkich okresów głodu, owady odrazu pobierały pokarm bardzo chciwie, tak iż odwłoki ich niezmiernie szybko

Tabela VI.

Maksymalna długość życia owadów w każdej próbówce oddziennie, w dniach.  
Głodzenie z wodą.

*Maximum de la durée de la vie en jours, pour chaque éprouvette séparément.  
Jeûne sans privation d'eau.*

Materiał z dnia <i>Matériel du</i>	Numer próbówki <i>N° de l'éprouvette</i>	Serje -- <i>Séries</i>							XV Kontrola <i>Animaux témoins</i>
		VIII g. c.	IX 72/96	X 48/72	XI 18/24	XII 24/48	XIII 12/24	XIV 6/24	
6.V	<i>a</i>	3.5	6.0	17.5	28.0	39.0	62.0	64.5	59.0
8.V	<i>b</i>	3.0	6.5	20.0	33.5	41.0	55.5	60.5	57.5
	<i>c</i>	3.0	7.0	25.5	42.5	40.0	50.0	62.0	62.0
10.V	<i>d</i>	3.5	6.5	20.0	26.5	32.0	50.0	56.5	53.5
	<i>e</i>	4.0	7.0	23.0	40.5	38.0	46.5	60.0	56.0
	<i>f</i>	3.5	6.5	14.0	30.0	27.5	47.5	51.0	49.5
12.V	<i>g</i>	4.0	5.0	14.0	27.5	33.5	55.5	55.5	45.5
	<i>h</i>	3.5	10.0	25.5	39.5	36.0	53.0	58.5	56.5
16.V	<i>i</i>	3.5	3.5	11.0	35.0	29.0	41.5	46.5	44.5
	<i>k</i>	3.5	6.5	14.0	39.0	36.0	40.5	52.5	54.5
Przeciętna ogólna: <i>Moyenne:</i>		<b>3.5</b>	<b>6.5</b>	<b>18.5</b>	<b>34.2</b>	<b>35.2</b>	<b>50.2</b>	<b>56.8</b>	<b>53.9</b>

i w sposób niezwykle silny nabrzmiwały od spożytej w ogromnej ilości naraz pożywki. Wynik taki wskazuje na dodatni wpływ, jaki na długość życia *Drosophila* wywiera, być może, głodzenie tych zwierząt przez 6 godzin na każdą dobę, przy jednoczesnem zaopatrywaniu ich wodą do picia. Tylko jednak powtórzenie tych doświadczeń na większym materiale owadów, wylęgłych jednego i tego samego dnia, nadających się zatem do biometrycznego opracowania, może rzecz całą ostatecznie rozstrzygnąć.

Porównanie pomiędzy sobą danych dla seryj XIII i XII oraz dla seryj XI i IX każe i tym razem wnioskować o tem, że absolutna długość okresów głodzenia bez względu na stosunek

tych okresów do okresów odżywiania ma dla długości trwania życia ogromne znaczenie.

Z odpowiednich liczb tabel IV — VI wynika wreszcie, że w omawianych obecnie warunkach doświadczalnych, to znaczy przy głodzeniu zwierząt z podawaniem wody, pozbawianie owadów pokarmu przez 12 godzin w ciągu każdej doby zwiększa śmiertelność przede wszystkim tych osobników, które dosięgają średniego wieku.

### C. Karmienie codzienne.

Co się tyczy zwierząt kontrolnych (serja XV), wystarczy tu tylko podnieść, że przeciętna długość ich życia była dość wysoka, by zastosowaną przeze mnie metodę trzymania zwierząt uznać za odpowiednią do tego rodzaju badań (por. dane, dotyczące przeciętnego trwania życia u licznych innych mutacji *Drosophila*, podane w podstawowej pracy GONZALEZA '23).

### IV. Zestawienie wyników i uwagi ogólne.

Wyniki poszukiwań niniejszych, będących pierwszą próbą zbadania wpływu przerywanego głodzenia na długość życia całkowicie rozwiniętych zwierząt, dadzą się ująć w następujący sposób:

1<sup>o</sup>. Przy zastosowanych dotąd natężeniach przerywanego głodzenia śmierć dojrzałych owadów *Drosophila melanogaster* następowała z reguły szybciej, niż w materiałach kontrolnych. Jednakże w tym przypadku, gdy zwierzęta były głodzone 6 godzin na dobę, bez pozbawiania ich wody, życie trwało co najmniej tak samo długo, jak życie okazów karmionych bez przerwy do woli.

2<sup>o</sup>. Długość życia była tem większa, im zastosowane głodzenie było mniej silne.

3<sup>o</sup>. W serjach, w których pozbawiano owady pokarmu, zaopatrując je jednak w wodę do picia, życie trwało zawsze dłużej, niż w analogicznych serjach bez podawania wody.

4<sup>o</sup>. Ujemny wpływ głodu jest większy w razie dłuższych, choć rzadszych, przerw w odżywianiu, aniżeli w przypadkach krótszych, choć częstszych, okresów głodzenia.

5°. Głodzenie zwierząt przez 6 godzin na każde 24 bez podawania wody, jak również przez 12 godzin na każde 24 z jej podawaniem, odbija się ujemnie przede wszystkim na owadach średniego wieku.

6°. Zwierzęta stają się z wiekiem mniej odporne na szkodliwy wpływ braku pożywienia.

Doświadczenia niniejsze nie rozstrzygnęły zagadnienia co do przewidywanego na podstawie teoretycznych przesłanek dodatniego działania przerywanego głodzenia na długość życia ustrojów. Jako pierwsze orientacyjne poszukiwania spełniły one jednak swą rolę o tyle, że dały pewne wskazówki dla dalszych badań w tym kierunku. Natężenie głodzenia, które w tego rodzaju doświadczeniach z *Drosophila* jest zdaje się maksymalne, zostało w przybliżeniu wysłedzone: 6-godzinne głodzenie owadów, w czasie którego żyły one co najmniej tak samo długo, jak okazy kontrolne, powinno być raz jeszcze powtórzone na większym materiale, przy czym przeprowadzić należy dalsze doświadczenia, w których okresy głodu będą jeszcze krótsze i ewentualnie częstsze. Ponieważ, jak się okazało, odporność zwierząt na brak pożywienia zmniejsza się z ich wiekiem, pożądane są inne jeszcze badania, w których owady te, poddawane z początku przez pewną ilość dni lub tygodni przerywanemu głodzeniu, byłyby następnie do końca swego życia karmione codziennie do woli.

Dane, otrzymane w pracy niniejszej, zasługują zdaniem moim, na omówienie z innego jeszcze punktu widzenia. Według badań PEARLA ('22, a), krzywe przebiegu śmiertelności u dzikiej formy *Drosophila* („wild type“) odpowiadają mianowicie, naogół w zupełności, analogicznym krzywym u ludzi, z tą tylko charakterystyczną różnicą, że wartość jednego dnia życia tych much równa się w bardzo dużym przybliżeniu okresowi jednego roku w życiu ludzkim, wobec czego obie te wartości można, zdaniem PEARLA, uważać za „biologically equivalent life spans“. Chcąc zatem przedstawić warunki doświadczalne, jakim poddawaliśmy nasze muchy, w „równoważnikach biologicznych“, odpowiadających, w myśl powyższego, stosunkom ludzkim, doszlibyśmy do następującego zestawienia: warunki seryj VII i XIV (6 g. na 24 g.) odpowiadałyby głodzeniu ludzi przez 3, warunki seryj VI i XIII (12 g. na 24 g.)—głodzeniu ludzi przez 6, warunki seryj IV i XI (18 g. na 24 g.)—głodzeniu ludzi przez 9 kolejnych miesięcy na

każde 12 miesięcy ich życia, z wyłączeniem, względnie—bez wyłączenia wody do picia; ewentualne głodzenie ludzi przez cały 1 rok na 2 lata ich życia odpowiadałby warunkom naszych seryj V i XII (24 g. na 48), głodzenie ich przez 2 lata z rządu na 3 lata życia—serjom III i X (48 g. na 72 g.), wreszcie głodzenie przez 3 lata na 4 lata—serjom II i IX (72 g. na 96 g.). Otóż, przy tego rodzaju zestawieniu, długość życia naszych much okazuje się we wszystkich serjach uderzająco duża. Tak naprz. w seryj XII, by nie brać przypadków krańcowych, gdzie głodzenie zastosowane względem *Drosophila* odpowiadałoby pozabawieniu ludzi pokarmu przez każdy co drugi rok ich życia, zwierzęta nasze żyły przeciętnie od 19.0 do 35.2, średnio 29.56 dni, (p. tab. IV — VI), co na tle obecnego analogizowania „równoważników biologicznych“ PEARLA odpowiadałoby takim samym mniej więcej ilościom lat życia u ludzi, w przytoczony sposób traktowanych. Przy zastosowaniu tej analogji wyniki otrzymane w serjach I i VIII, w których owady były głodzone bez przerwy, odpowiadałyby możliwości, by ludzie poddani nieprzerwanemu głodzeniu mogli wyżyć przeciętnie 2.34, względnie 2.74 roku. Jak widzimy zatem, długość życia u *Drosophila* w warunkach głodu nie da się porównywać zapomocą wspomnianych równoważników z trwaniem życia głodzących ludzi. Czy jednak, wobec tego, przyjętą przez PEARLA równowartość jednego dnia życia tej muchy z jednym rokiem istnienia człowieka uważać należy wogóle za biologicznie bliżej nieuzasadnioną, nie chcę rozstrzygać. Być bowiem może, iż najzupełniej nierealne wyniki, do których doprowadziło nas odpowiednie przeliczanie danych, otrzymanych z *Drosophila*, na stosunki ludzkie, są przedewszystkiem wyrazem bardzo wybitnych różnic, jakie zachodzą pomiędzy obu temi formami w ich fizjologicznej zdolności przystosowania się do nienormalnych warunków braku pożywienia.

#### Piśmiennictwo.

(Prace oznaczone gwiazdką nie są mi znane w oryginale).

- \* Barrows W. M. 1907. The reaction of the pomace fly *Drosophila ampelophila* Loew, to odorous substance. Journ. Exp. Zool. 4 (515). Carnot P. et Terris E. 1924, a. Amaigrissement provoqué par les humeurs d'inanitiés. C. R. Soc. Biol. 90 (739). Carnot P. et Terris E. 1924, b. Amaigrissement

provoqué par les injections d'extraits d'organes d'animaux inanitiés. C. R. Soc. Biol. **91** (446). **Cousin G.** 1926, *a*. Influence du temps réservé à la nutrition sur les phases du cycle évolutif et les métamorphoses de *Calliphora erythrocephala*. C. R. Soc. Biol. **95** (565). **Cousin G.** 1926, *b*. Sur le retard de la nymphose, la limite extrême du jeûne et la réalimentation possible des larves de *Calliphora erythrocephala*. C. R. Soc. Biol. **105** (601). **Glaser R. W.** 1923. The effect of food on longevity and reproduction in flies. Journ. Exp. Zool. **38** (383). **Gonzalez B. M.** 1923. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*. Amer. Nat. **57** (289). **Jackson C. M.** 1925. The effects of inanition and malnutrition upon growth and structure. London. J. and A. Churchill. **Jobling J. W.** and **Petersen W.** 1916. Serum antitrypsin during inanition. Studies on ferment action. XIX. Zeitschr. f. Immun. Forsch. I Teil. **24**. (219). **Kopec S.** 1921. Wplyw głodzenia na rozwój i długość życia owadów. Pam. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **1** (164). **Kopec S.** 1922, *a*. Dalsze poszukiwania nad wpływem głodzenia na rozwój ustrojów zwierzęcych. Doświadczenia z kijankami. Pam. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **2** (35). **Kopec S.** 1922, *b*. Experimental studies on the influence of inanition on the development and the weight of amphibians. Bull. Ac. Pol. de Sc. Sér. B. (149). **Kopec S.** 1924. Studies on the influence of inanition on the development and the duration of life in insects. Biol. Bull. **46** (1). **Kopec S.** 1927, *a*. Dalsze doświadczenia nad wpływem pewnych swoistych substancyj na rozwój i ciężar owadów. Wplyw dodatku witaminów. Pam. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach. **8** (225). **Kopec S.** 1927, *b*. Über die Entwicklung der Insecten unter dem Einfluss der Vitaminzugabe. Biol. Generalis. **3** (375). **Kopec S.** 1928. On the influence of intermittent starvation on the longevity of the imaginal stage of *Drosophila melanogaster*. Brit. Journ. Exp. Biol. **5** (204). **Lipschütz A.** 1915. Allgemeine Physiologie des Todes. Braunschweig. F. Vieweg und Sohn. **Loeb J.** and **Northrop J. H.** 1916. Is there a temperature coefficient for the duration of life? Proc. Nat. Ac. Sc. **2** (456). **Loeb J.** and **Northrop J. H.** 1917, *a*. What determines the duration of life in metazoa? Proc. Nat. Ac. Sc. **3** (386). **Loeb J.** and **Northrop J. H.** 1917, *b*. On the influence of food and temperature upon the duration of life. Jour. biol. Chem. **32** (103). \* **Lutz F. E.** 1915. Experiments with *Drosophila ampelophila* concerning natural selection. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. **34** (605). **Morgulis S.** 1923. Hunger und Unterernährung. Berlin. Springer. **Northrop J. H.** 1917. The effect of prolongation of the period of growth on the total duration of life. Journ. biol. Chem. **32** (123). **Pearl R.** 1922, *a*. Experimental studies on the duration of life. VI. A comparison of the laws of mortality in *Drosophila* and in man. Amer. Nat. **56** (398). **Pearl R.** 1922, *b*) The biology of death. Philadelphia and London. J. B. Lippincott. **Pearl R.** and **Parker S. L.** 1921. Experimental studies on the duration of life. I. Introductory discussion of the duration of life in *Drosophila*. Amer. Nat. **55** (481). **Pearl R.** and **Parker S. L.** 1922, *a*. III. The effect of successive etherizations on the duration of life of *Drosophila*. Amer. Nat. **56** (273). **Pearl R.** and **Parker S. L.** 1922, *b*. IV. Data on the influence of density of population on duration of life in *Drosophila*. Amer. Nat. **56** (312). **Pearl R.**

and **Parker S. L.** 1922, c. V. On the influence of certain environmental factors on duration of life in *Drosophila*. Amer. Nat. **56** (385). **Pearl R.** and **Parker S. S. L.** 1924. X. The duration of life of *Drosophila melanogaster* in the complete absence of food. Amer. Nat. **58** (193). \* **Robertson T. B.** and **Ray L. A.** 1919. Experimental studies on growth. XII. The influence of pituitary gland (anterior lobe) tissue, tetelin, egg lecithin and cholesterol upon the duration of life of the white mouse. Journ. biol. Chem. **37** (427). **Singh-Pruruthi H.** 1925. Studies on insect metamorphosis. III. Influence of starvation. Brit. Journ. Exp. Biol. **3** (1). \* **Slonaker J. R.** 1912. The normal activity of the albino rat from birth to natural death, and its rate of growth and the duration of life. Journ. Anim. Behavior. **2** (20). **Steinach E.** 1920. Verjüngung durch experimentelle Neubildung der alternden Pubertätsdrüse. Arch. Entw. Mech. **46** (557). \* **Titschak E.** 1925. Untersuchungen über den Temperatureinfluss auf die Kleidermotte (*Tineola biselliella* Hum). Zeitsch. f. wiss. Zool. **124** (213). \* **Vinokuroff S. I.** 1922. (Materials on the comparative physiology of nutrition. Physiology of nutrition of the domestic fly). Hunger (Famine). In memory of V. G. Korolenko. Kharkoff. (74) In Russian.

[Zakład Chemji Rolniczej Uniwersytetu Jagiellońskiego]

Wł. Vorbrodt.

O związkach fosforowych grzybni kropidlaka (*Aspergillus niger*).

Doniesienie tymczasowe \*).

*Sur les composés phosphorés du mycélium de l'Aspergille (Aspergillus niger).*

Note préliminaire.

Rękopis nadestany w dniu 21. XI. 1927.

On a cherché à déterminer la teneur du mycélium de l'Aspergille en  $P_2O_5$  minéral et en  $P_2O_5$  organique soluble, en employant comme dissolvants de l'eau, des solutions de HCl, dont la concentration variait entre 0.0025 et 2 p.c., des solutions d'acide acétique à 1 et à 5 p.c., enfin des solutions de NaOH à 0.01 et à 0.02 p.c.

Les quantités de  $P_2O_5$  minéral, passant dans la solution, ne dépendaient que très peu du dissolvant employé, tandis que les quantités de  $P_2O_5$  organique variaient entre de larges limites (v. le tabl. I). La solution de HCl à 0.0275 p.c. tirait la plus petite quantité de  $P_2O_5$  organique (6.9% par rapport au  $P_2O_5$  total du mycélium); les solutions plus concentrées ainsi que les solutions plus diluées de cet acide ont donné des résultats (v. le tabl. II) se montant jusqu'à 11.3%, après l'application de HCl à 2 p.c., et jusqu'à 13.4%, après l'emploi de HCl à 0.0025 p.c. La teneur en  $P_2O_5$  organique des extraits aqueux et des extraits à base de NaOH, était encore plus élevée; elle atteignait jusqu'à 39.3%, tandis que la teneur des extraits à base d'acide acétique, se rapprochait du minimum de solubilité.

\*) Praca niniejsza została wydrukowana w języku francuskim w Biuletynie Wydz. Matem.-Przyr. Polskiej Akademji Umiejętności za rok 1926.

En admettant que le HCl à 2 p.c. ait complètement extrait les composés phosphorés de la fraction phytique, nous devons supposer, que l'excès de  $P_2O_5$  organique, trouvé même dans les extraits, dont la réaction était encore acide (leur pH variait entre 4.5 et 6.5), ne peut être attribué qu'aux substances nucléoprotéiques ou aux acides nucléiques eux-mêmes.

L'acide phosphorique minéral et les acides phospho-organiques de la fraction phytique sont accumulés dans le mycélium sous la forme de composés solubles dans l'eau, probablement sous la forme de sels de potassium.

---

W pracy „O przeróbce azotu i fosforu w grzybni kropidlaka“ ('19) podałem wyniki, dotyczące zawartości różnych kategorii związków fosforowych, otrzymane przez traktowanie grzybni 1% roztworem kwasu octowego. Wyniki te przemawiały za tem, że zawartość kwasu fosforowego ciał białkowatych ulega najmniejszym wahaniom w zależności od zawartości tego składnika w pożywce; natomiast zawartość rozpuszczalnych organicznych związków fosforowych waha się bardzo znacznie, schodząc niekiedy nawet do zera.

Jednakże rezultaty prac KOEHLERA ('26), MINKOWSKIEJ ('26) i LINDENBAUMÓWNY ('26) nastroczają pewne wątpliwości co do dokładności otrzymanych przeze mnie wyników. Prace te bowiem stwierdziły, że zastosowanie 1% kwasu octowego do mąki z ziarn roślin zbożowych (koński ząb, jęczmień i owies) daje wyniki zbyt niskie dla rozpuszczalnych organicznych związków fosforowych, a więc za wysokie dla kwasu fosforowego ciał białkowatych. Do roztworu bowiem przejść mogą pewne ilości ciał białkowatych, które przy sprzyjającym stężeniu jonów wodorowych, jakie ustala się w wyciągu, dają z kwasem fitynowym związki nierozpuszczalne.

Należało więc sprawdzić, czy i mąka z grzybni kropidlaka nie zachowuje się podobnie do materiałów badanych przez wspo-



mnianych autorów, gdyż — jeżeli tak jest — to wyniki moje dla organicznych rozpuszczalnych związków fosforowych — niekiedy tak bardzo niskie — mogły pochodzić nie z rzeczywiście niskiej ich zawartości w badanych produktach, ale być wynikiem reakcyj wtórnych, zachodzących w wyciągu. Wówczas też i wyniki co do zawartości kwasu fosforowego ciał białkowatych, a także wnioski oparte na nich i na ilości azotu ciał białkowatych, mówiące o zasobności grzybni w ciała nukleoproteidowe, mogłyby okazać się niezupełnie słuszne.

Dla sprawdzenia przygotowałem więc cały szereg wyciągów z mąki z grzybni, której zapas pozostał mi jeszcze z poprzednich moich doświadczeń z roku 1913. Porcje mąki o wadze około 1,5 g zalewano 150 cm<sup>3</sup> płynu i kłócono przez 3 godziny w aparacie rotacyjnym; wyciągi sączyły się szybko i prawie zupełnie klarownie, z nielicznymi tylko wyjątkami. W 50 cm<sup>3</sup> przesączu oznaczano zawartość całkowitego P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> przez spalenie metodą NEUMANNA, przez strącanie P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> mieszaniną magnezową, rozpuszczenie osadu w kwasie azotowym, zawierającym kwas siarkowy, i strącenie molibdenjanem według LORENZA. W drugiej takiej samej porcji przesączu oznaczano zawartość mineralnego P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> przez bezpośrednie dodanie mieszaniny magnezowej, postępując dalej z osadem, jak powiedziano wyżej. Oprócz tego oznaczano w wyciągu w przybliżeniu stężenie jonów wodorowych, stosując metodę WHERRYEGO.

Umyślnie wprowadzono tak szeroki stosunek mąki do rozpuszczalnika (1:100), aby mieć pewność, że ługowanie było kompletne; a można było sobie na to pozwolić, gdyż zastosowana metoda LORENZA daje możliwość uchwycenia nawet drobnych różnic w zawartości P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w wyciągach, zawierających niewielkie ilości tego składnika.

Jako rozpuszczalniki zastosowano wodę, roztwory kwasu solnego o bardzo szerokiej skali stężeń, a mianowicie od 0.0025% do 2%, roztwory kwasu octowego 1% i 5%, oraz bardzo słabe roztwory wodorotlenku sodowego, a mianowicie 0.01% i 0.02%. Wyciągi w tych ostatnich sączyły się już wyraźnie wolniej i mocniej opalizowały.

Zawartość ogólnego P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> w mące z grzybni określano, spalając dwie jej porcje metodą NEUMANNA i dalej postępując, jak powiedziano wyżej; otrzymano zawartość 2.205% i 2.216%, a więc

średnio możemy przyjąć 2.210% ogólnego  $P_2O_5$ . Tabela I podaje szczegółowy wykaz zastosowanych rozpuszczalników; ilości mąki, brane w poszczególnych przypadkach do przyrządzania wyciągów; znalezione w wyciągach ilości  $P_2O_5$ , zarówno całkowitego rozpuszczalnego, jak mineralnego, wyrażone w mg, a wreszcie obliczoną na ich podstawie procentową zawartość w grzybni kwasu fosforowego całkowitego rozpuszczalnego, mineralnego i organicznego rozpuszczalnego, obliczonego z różnicy dwu poprzednich pozycej.

Tabela I.

Rozpuszczalnik <i>Dissolvant</i>	Ilość mąki <i>Quantité de farine</i>	$P_2O_5$		$P_2O_5$		
		całkowity rozpuszczalny <i>soluble total</i>	mineralny <i>minéral</i>	całkowity rozpuszczalny <i>soluble total</i>	mineralny <i>minéral</i>	organiczny rozpuszczalny <i>organique soluble</i>
	g	mg	mg	w % względem mąki <i>en p. c. de la farine</i>		
HCl 2 ‰	1·5147	19·56	14·49	1·291	·957	·334
1 ‰	1·5261	19·60	15·15	1·284	·993	·291
1 ‰	1·5155	19·18	14·63	1·265	·965	·300
0·1 ‰	1·5455	19·88	16·88	1·286	1·092	·194
0·05 ‰	1·5149	18·89	—	1·247	—	·190
0·05 ‰	1·5093	—	15·96	—	1·057	·168
0·03 ‰	1·5288	18·66	16·09	1·220	1·052	·153
0·0275 ‰	1·5005	17·90	15·61	1·193	1·040	·167
0·025 ‰	1·5171	18·42	15·88	1·214	1·047	·202
0·01 ‰	1·5455	19·12	15·99	1·237	1·035	·295
0·0025 ‰	1·5253	20·39	15·89	1·337	1·042	·324
Woda {	1·5186	21·15	16·23	1·393	1·069	·323
Eau }	1·5247	21·23	16·32	1·393	1·070	·629
Na OH 0·01 ‰	1·5332	26·26	16·63	1·714	1·685	·879
0·02 ‰	1·5238	29·09	15·70	1·909	1·030	·184
Kwas oct. { 1 ‰	1·5329	18·76	15·93	1·224	1·040	·205
Ac. acétique } 5 ‰	1·5211	18·47	15·35	1·214	1·009	

Jeżeli rozpatrzymy procentową zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , uzyskaną przy użyciu różnych roztworów kwasu solnego, to zauważymy, że istnieje pewna wyraźna zależność pomiędzy stężeniem kwasu a otrzymanym wynikiem. A mianowicie, kwas solny o stężeniu 0.0275% dał minimum ługowania, a roztwory bardziej albo mniej stężone powodują silniejsze ługowanie związków fosforowych z grzybni. Wprawdzie różnice są bardzo niewielkie, ale występują dość prawidłowo. Roztwory kwasu solnego 1%

i 2% dały wyniki dość zgodne, a w myśl badań wspomnianych autorów nad ziarnami zbóż należałoby przyjąć, że zarówno fosforany mineralne, jak i organiczne związki fosforowe, o typie związków fitynowych, w roztworach kwasu solnego o takich stężeniach rozpuszczają się w całości. Można by więc założyć, że zawartość  $P_2O_5$  całkowitego rozpuszczalnego w macie z grzybni wynosi około 1.30%. [Jeżeli więc 0.0025% HCl dał liczbę wyższą, to można by przypuszczać, że polega to na przyroście mineralnego  $P_2O_5$ , odszczepianego pod działaniem enzymów od nierozpuszczalnych organicznych związków fosforowych. Przekonamy się jednak później, że takie przypuszczenie jest niesłuszne.

Wyższą jeszcze zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  posiadają wyciągi wodne, a bardzo znaczne zwiększenie występuje przy użyciu rozcieńczonych roztworów wodorotlenku sodowego, jako rozpuszczalnika. Czy możemy tłumaczyć to zwiększenie przyrostem mineralnego  $P_2O_5$ ?

Aby na to pytanie znaleźć odpowiedź, rozpatrzmy kolumnę liczb, dającą procentową zawartość mineralnego  $P_2O_5$ . Widzimy, że przy użyciu roztworów kwasu solnego, począwszy od 0.0025% aż do 0.03%, a nawet bodaj do 0.05%, otrzymuje się wyniki niemal jednakowe<sup>1)</sup>; dopiero wyciągi wodne zawierają wyraźnie więcej mineralnego  $P_2O_5$ , a także i wyciąg w 0.01% NaOH zawiera go jeszcze więcej. Wyciągi, przygotowane przez użycie 1% i 2% HCl dały dla mineralnego  $P_2O_5$  wyniki niższe, co zapewne da się tłumaczyć przechodzeniem do roztworu substancyj, utrudniających strącanie mineralnego  $P_2O_5$ ; było to obserwowane na macie z ziarn zbożowych.

Za tem przypuszczeniem przemawiają też wyniki, otrzymane z roztworami kwasu octowego: podczas gdy wyciągi w 1% i w 5% kwasie octowym zawierały ilości całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , leżące blisko minimum ługowania w kwasie solnym, to zawartość mineralnego  $P_2O_5$  w wyciągu w 1% kwasie octowym odpowiada zawartości w rozcieńczonych roztworach kwasu solnego, a w 5% kwasie octowym mamy już wyraźne obniżenie dzięki wysokiemu stężeniu kwasu.

Ponieważ przyrosty mineralnego  $P_2O_5$  są naogół niewielkie, tam więc, gdzie obserwujemy zwiększenie się zawartości całko-

<sup>1)</sup> Powstrzymuję się tymczasem od bliższego omawiania wyniku dla 0.1% HCl aż do otrzymania liczniejszych danych doświadczalnych.

witego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , spodziewać się możemy zarazem zwiększenia zawartości organicznego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , co też rzeczywiście potwierdza ostatnia kolumna tabeli I.

Jednakże liczby tej kolumny nie są zupełnie ściśle: z jednej strony bowiem na ich podwyżkę wpływać może niecałkowite strącenie  $P_2O_5$  mineralnego przy użyciu bardziej stężonych rozтворów kwasów, a z drugiej strony na obniżkę wpływać może

Tabela II.

Rozpuszczalnik <i>Dissolvant</i>	pH wyciągu  <i>pH de l'ex- trait</i>	$P_2O_5$			$P_2O_5$	
		całkowity rozpuszczalny  <i>soluble total</i>	mineralny  <i>minéral</i>	organiczny rozpuszczalny  <i>organique soluble</i>	organiczny rozpuszczalny po odjęciu stałej wartości dla mineralnego $P_2O_5$  <i>organique soluble, en ad- mettant une valeur fixe pour le <math>P_2O_5</math>, minéral</i>	
w % względem $P_2O_5$ ogólnego <i>en p. c. de <math>P_2O_5</math> total</i>						
HCl	2 %	—	58·4	43·3	15·1	11·3
	1 %	—	58·1	44·9	13·2	11·0
	1 %	—	57·2	43·6	13·6	10·2
	0·1 %	—	58·2	49·4	8·8	11·1
	0·05 %	< 1	56·4	—	8·6	9·4
	0·05 %	—	—	47·8	7·6	8·1
	0·03 %	env. 2	55·2	47·6	6·9	6·9
	0·0275 %	< 3	54·0	47·1	7·5	7·9
	0·025 %	3 — 4	54·9	46·8	9·2	8·9
	0·01 %	env. 4	56·0	47·1	13·4	13·4
	0·0025 %	4·5	60·5	48·4	14·6	16·0
Woda	{	5·5	63·0	48·4	14·6	16·0
Eau	}	env. 5	63·0	48·4	14·6	16·0
Na OH	0·01 %	6·5	77·5	49·1	28·4	30·4
	0·02 %	env. 8	86·4	46·6	39·8	39·3
Kwas oct.	{ 1 %	3 — 4	55·4	47·1	8·3	8·3
Ac. acétique	{ 5 %	2 — 3	54·9	45·7	9·2	7·9

przyrost mineralnego  $P_2O_5$ , odbywający się pod działaniem enzymów. Jeżeli założymy, że przyrost ten polega głównie na odszczepianiu się mineralnego  $P_2O_5$  od organicznych związków rozpuszczalnych, to możemy przyjąć, że właściwa zawartość  $P_2O_5$  mineralnego w mące wynosi 1·040%; odejmując tę liczbę od zawartości całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , otrzymamy poprawioną zawartość organicznego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ .

Dla otrzymania jaśniejszego obrazu otrzymane w ten sposób wartości, podobnie jak wartości  $P_2O_5$  całkowitego rozpuszczal-

nego i mineralnego obliczono w stosunku do ogólnego  $P_2O_5$ , zawartego w mące z grzybni, i zestawiono w tabeli II, która jednocześnie podaje odczyn, jaki ustalił się w różnych wyciągach.

Rozpatrując wartości pH wyciągów, widzimy, że grzybnia jest tak kwaśna, że nietylko wyciąg wodny jest kwaśny, bo ma pH ok. 5—5.5, ale nawet zastosowanie 0.01% ługu sodowego jeszcze dało wyciąg słabo kwaśny o  $pH = 6.5$ , a dopiero 0.02% ług sodowy doprowadził do zalkalizowania wyciągu. Minimum ługowania w kwasie solnym przypada na wartość pH pomiędzy 2 a 3, (względnie od 2 do 4) i pod tym względem zgodne są wyniki, otrzymane dla kwasu solnego i dla kwasu octowego o bardzo różnym procentowym stężeniu kwasu, ale o podobnym odczynie.

Najbardziej interesuje nas ostatnia kolumna tabeli II; cztery jej pierwsze szeregi dają liczby prawie jednakowe; a ponieważ odpowiadają one rozpuszczalnikom o bardzo różnym stężeniu, bo od 0.1% do 2% HCl, możemy więc przyjąć, że rzeczywista zawartość  $P_2O_5$  organicznych związków rozpuszczalnych (t. zw. frakcji fitynowej) wynosi w badanej grzybni 11%  $P_2O_5$  ogólnego. Używając coraz słabszych roztworów kwasu solnego, otrzymujemy wyniki coraz niższe, dochodzące w minimum do 7%, a więc obniżone przeszło o  $\frac{1}{3}$  wartości; przy użyciu kwasów o stężeniu  $< 0.0275\%$  HCl otrzymuje się wyniki coraz wyższe, i już płyn o stężeniu 0.0025% HCl daje wynik wyższy, aniżeli nawet 2% HCl.

Kwas octowy 1%-wy daje wynik, zbliżony do minimum; a więc zastosowanie tego rozpuszczalnika nie daje dokładnej odpowiedzi co do zawartości  $P_2O_5$  organicznego rozpuszczalnego w grzybni kropidlaka; w danej mące wprawdzie otrzymano różnice niewielkie, ale czy nie mogłyby się one stać większe w grzybniach, hodowanych w różnych pożywkach, na to pytanie odpowiedzi tymczasem dać nie można. Jeżeli bowiem obniżenie wyników w określonym odczynie wyciągu przypiszemy powstawaniu nierozpuszczalnego połączenia pomiędzy organicznymi rozpuszczalnymi związkami fosforowymi a ciałami białkowatymi rozpuszczalnymi, to możemy sobie wyobrazić, że grzybnia, rozwijając się na pożywkę ubogiej w fosfor a zasobnej w azot, będzie zawierała w sobie stosunkowo dużo ciał białkowatych, które więc łatwo spowodować mogą strącenie z wyciągu

niewielkiej ilości fosforowych związków organicznych, które pierwotnie przeszły do wyciągu.

Wspomniałem poprzednio, że w tabeli I uderza nas wysoka zawartość całkowitego rozpuszczalnego  $P_2O_5$  w wyciągach, przyrządzonych przy użyciu 0.0025% HCl, wody, lub rozcieńczonych ługów; zawartości te są wyższe, aniżeli otrzymane przy użyciu nawet 2% HCl. Nie możemy ich tłumaczyć przyrostem mineralnego  $P_2O_5$  w odnośnych wyciągach, bo przyrost ten, jak widzimy z tabeli II, jest bardzo drobny, dochodzi zaledwie do 2% względem ogólnego  $P_2O_5$ , i dlatego ostatnia kolumna stwierdza zupełnie wyraźny przyrost organicznego rozpuszczalnego  $P_2O_5$ , już w wyciągu w 0.0025% HCl o odczynie 4.5, silniejszy jeszcze w wyciągach wodnych o odczynie 5—5.5, a największy w roztworach wodorotlenku sodowego o odczynie 6.5 i około 8.

Na podstawie badań nad mąką z ziarn zbóż trudnoby przypuszczać, aby 1% lub 2% HCl nie był w stanie wylugować związków fosforowych frakcji fitynowej. Nadwyżkę więc  $P_2O_5$  organicznego rozpuszczalnego, znaną w wyciągach o odczynie nie mniej kwaśnym, aniżeli równym pH około 4.5, raczej należałoby przypisać przechodzeniu do roztworu ciał nukleoproteidowych, czy też — samych kwasów nukleinowych. Analizowana grzybnia wyrosła na pożywce, bogatej w kwas fosforowy (zawierała ona 0.5%  $KH_2PO_4$ ), a więc możnaby sądzić, że jest ona zasobna w związki nukleinowe tak, jak inne grzybnie, hodowane w podobnych warunkach, co stwierdziłem w poprzednio cytowanej pracy. Zresztą z tej samej mąki z grzybni udało mi się też wyosobnić zasady purynowe — adeninę, ksantynę, guaninę, oraz cytozynę, obecne w grzybni, szczególnie adenina i cytozyna, w ilości dość okazałej (VORBRD'T '21); świadczy to bowiem o gromadzeniu przez grzybnię materiału do budowy ciał nukleinowych. Dalsze badanie będzie miało za zadanie stwierdzenie, czy rzeczywiście znaczną zwyżkę zawartości  $P_2O_5$  organicznych związków rozpuszczalnych, zaobserwowaną w wyciągach, przygotowanych przy pomocy rozcieńczonych ługów, a po części nawet przy użyciu wody, należy przypisać rozpuszczaniu się związków nukleinowych. Kwestja ta wymaga jasnego rozstrzygnięcia, bo na podstawie ostatniej kolumny tabeli II trudno byłoby powiedzieć, gdzie mamy przeprowadzić granicę między tem, co nazywamy zwykle rozpuszczalnymi związkami fosforowemi, a tem, co nazy-

wamy związkami nierozpuszczalnymi. Zachowanie się grzybni wobec roztworów kwasu solnego mocno przypomina to, co zaobserwowano w mące z ziaren zbóż; wypadnie więc przekonać się, czy i w grzybni obecny jest kwas fitynowy, lub też inne pokrewne kwasy fosforowo-organiczne, i czy mogą one dawać połączenia nierozpuszczalne z białkami grzybni.

Wreszcie dodać można, że wyniki oznaczeń mineralnego  $P_2O_5$  w różnych wyciągach przemawiają za tem, że kwas fosforowy gromadzony jest w grzybni w postaci związków rozpuszczalnych, skoro nawet rozcieńczone ługi mogą je rozpuszczać; podobny wniosek musimy wyprowadzić także odnośnie do organicznych związków fosforowych. Widocznie więc, mimo znacznej zawartości magnezu w pożywce (zawierała ona 0.25%  $MgSO_4$ ), wyrosła na niej grzybnia gromadziła kwas fosforowy i kwasy fosforowo-organiczne nie w postaci soli, zawierających w sobie magnez, a zapewne tylko w postaci soli potasowych.

#### Streszczenie.

Mączka z grzybni kropidlaka była traktowana rozmaitemi rozpuszczalnikami, a mianowicie roztworami kwasu solnego o stężeniu od 0.0025 do 2%, kwasu octowego 1 i 5%, wodorotlenku sodowego 0.01 i 0.02%, oraz wody. Ilości mineralnego  $P_2O_5$ , jakie przechodziły do roztworu, bardzo mało tylko zależały od użytego rozpuszczalnika, natomiast ilości  $P_2O_5$  organicznego rozpuszczalnego wahały się znacznie. Przy użyciu kwasu solnego o stężeniu 0.0275% w roztworze otrzymano minimum ilości  $P_2O_5$  organicznego rozpuszczalnego, a mianowicie 6.9% względem ogólnego  $P_2O_5$  grzybni; roztwory kwasu solnego mocniejsze lub słabsze rozpuszczały coraz większe ilości, dochodzące do 11% przy użyciu kwasu o stężeniu od 0.1 do 2%, zaś do 13% przy użyciu kwasu bardzo rozcieńczonego — o stężeniu 0.0025%. Woda rozpuszczała już 16% ogólnego  $P_2O_5$ , a roztwory NaOH jeszcze więcej, mianowicie 30 i 39%. Kwas octowy dał wyniki zbliżone do minimum. Wysoką zawartość  $P_2O_5$  organicznego otrzymano już w tych wyciągach, których odczyn jeszcze był słabo kwaśny, jednakże widocznie do roztworu przechodziły już związki nukleinowe, bo trudno przypuścić, aby 2% kwas solny nie wyługował całej ilości związków frakcji fitynowej.

Kwas fosforowy mineralny i kwasy fosforowo-organiczne gromadzone są w grzybni w postaci związków rozpuszczalnych w wodzie, a więc zapewne soli potasowych, a nie magnezowych.

#### Piśmiennictwo.

**Koehler S.** 1926. — La solubilité et la répartition des composés phosphorés contenus dans les semences. Bulletin de l'Acad. Polon. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. mathém. et nat. Série B (707). **Lindenbaum S.** 1926. — Sur la solubilité des composés phosphorés de la farine d'avoine et sur la faculté de l'acide phytique de se combiner avec les substances protéiques qu'elle contient. Ibidem (1041). **Minkowska S.** 1926. — De la solubilité des composés phosphorés de la farine d'orge. Ibidem (1007). **Vorbrodt W.** 1919. — Elaboration de l'azote et du phosphore dans le mycélium d'*Aspergillus niger*. Ibidem (71). **Vorbrodt W.** 1921. — Les bases azotées dans le mycélium d'*Aspergillus niger*. Ibidem (223).



[Zakład Chemji Fizjologicznej Uniwersytetu Warszawskiego]

St. J. Przyłęcki.

**Wpływ struktury na kinetykę desmolaz. Część I. Układy: urikaza, kwas moczowy, węgiel czynny i nieczynny oraz białko.**

*L'influence de la structure sur la cinétique des desmolases. I-e partie. Systèmes: acide urique, uricase, charbon actif et inactif et protides.*

Rękopis nadesłany w dniu 16. XI. 1927.

Le présent travail se propose d'étudier l'influence exercée par différents adsorbants sur l'action de l'uricase. Notre choix est tombé sur les adsorbants exerçant différentes actions. Ainsi les uns ne donnaient qu'une simple adsorption de l'uricase (blanc d'oeuf coagulé), tandis que les autres se distinguaient par une action adsorbante simple par rapport à l'acide urique et à l'uricase (charbon privé de fer). Le troisième groupe enfin, adsorbait les deux corps, notamment, l'enzyme et la substance, et disposait en même temps du pouvoir de dégrader l'acide urique, sans la participation de l'uricase (charbon animal, ZYLBERTAL '27).

Les recherches en question devaient mettre en lumière l'influence que les différentes structures neutres ou capables d'activer la dégradation de l'acide urique, pouvaient avoir sur l'action de l'uricase. Elles devaient fournir ainsi le matériel permettant de généraliser les idées concernant les phénomènes constatés par WARBURG ('23), en rapport avec l'activation des oxydations par la structure intravitale. Nous espérons en plus pouvoir nous rendre compte, si l'influence inhibitrice des structures sur l'action des hydrolases, agit également sur les desmolases (PRZYŁĘCKI, NIEDŹWIECKA et MAJEWSKI '27, et PRZYŁĘCKI et NIEDŹWIECKA '28). Nous donnons ci-dessus les résultats de nos recherches.

Système I [Uricase, acide urique, charbon privé de fer].  
Le tableau I nous apprend que l'acide urique est énergiquement

adsorbé. Les alcools produisent une forte ellution. L'adsorption de l'uricase est très prononcée et les alcools ne provoquent qu'une faible ellution (tabl. II). L'addition d'acide urique n'est suivie que d'une très faible ellution du ferment adsorbé (tabl. III). Le tableau IV indique que l'uricase adsorbée par le charbon ne perd pas ses propriétés actives. Ces expériences ont été exécutées sur de l'uricase totalement adsorbée.

Les tableaux V et V-a témoignent de l'influence du charbon privé de métaux sur l'action de l'uricase. Dans certaines expériences, l'acide urique a été déterminé dans des portions contenant du charbon, dans d'autres, après ellution avec de l'alcool amylique. Il résulte des chiffres du tableau, que dans les analyses exécutées avant l'ellution, le pour-cent d'acide urique dégradé est le même en présence du charbon et lorsque celui-ci est absent, tandis que le nombre de milligrammes d'acide dégradé, est bien inférieur dans le premier cas. Par contre après l'ellution, on voit non seulement le nombre de mgr., mais aussi le pour-cent d'acide dégradé diminuer sensiblement en présence du charbon. Nous nous apercevons ainsi que lorsque la quantité globale d'uricase est adsorbée, la dégradation de l'acide urique est en raison inverse de la quantité de cet acide soumise à l'adsorption et que c'est exclusivement en solution que celui-ci peut être attaqué par l'uricase. L'action des alcools parle en faveur de cette opinion (tabl. VI). Les alcools elluent en effet l'acide urique et augmentent simultanément la dégradation de celui-ci en présence du charbon.

Systeme II [uricase, acide urique, C-Fe].

Les faits en rapport avec l'adsorption de l'uricase et de l'acide urique, de même que les faits relatifs à l'ellution par les alcools et par l'acide urique, concernent les uns et les autres également le charbon animal (Merck) (v. tabl. VII, VIII et X). Le tableau X illustre l'action du C-Fe sur la dégradation de l'acide urique en présence d'oxygène et sous l'influence de l'uricase. Dans ce tableau, nous examinons la dégradation de l'acide urique en solution aqueuse, et en présence de C-Fe. Dans ce dernier cas, nous voyons s'additionner l'action de ces deux agents c-à-d. celle de l'uricase et celle de C-Fe. Nous les analysons séparément. Il résulte de cette analyse que l'action totale de l'uricase et du C-Fe est plus forte que ne serait l'action isolée de l'uricase dans un milieu dépourvu de C-Fe. Par contre, lorsque nous ne com-

parons que l'action de l'uricase dans les deux milieux, cette action est visiblement affaiblie par la présence de C-Fe. La dégradation de l'acide urique dans le système [C-Fe, uricase, U] équivaut au total arithmétique de l'action du C-Fe et de l'uricase. Ces deux catalyseurs agissent indépendamment l'un de l'autre. L'action de l'uricase ne dépend que de la concentration de l'acide urique en solution, tandis que celle du C-Fe subit l'influence de l'acide urique adsorbé sur les surfaces actives. Le C-Fe ne renforce nullement l'action de l'uricase. Dans ce système, les alcools font augmenter l'action de l'uricase en elluant l'acide urique, et font diminuer l'action du C-Fe (v. le tabl. XI). L'action totale du C-Fe et de l'uricase, agissant séparément, est beaucoup plus intense dans le premier que dans le second cas examinée. Des résultats identiques ont été obtenus dans un milieu plutôt pauvre en oxygène (T. XII).

Système III [Uricase, U, blanc d'oeuf].

1°. Blanc d'oeuf coagulé. L'acide urique n'est que peu sujet à l'adsorption (tabl. XII): en revanche, l'uricase est fortement adsorbée et ne cesse d'être active à cet état. La présence des protéines n'atténue qu'insensiblement l'action de l'uricase (tabl. XVI), phénomène qui s'explique par la faible adsorption de l'acide urique.

2°. Blanc d'oeuf en solution. La dégradation de l'acide urique sous l'influence de l'uricase dans une solution qui renferme du blanc d'oeuf non coagulé, n'est que légèrement atténuée, lorsqu'on la compare avec l'action exercée par l'uricase dans une solution aqueuse (tabl. XVII).

Il résulte de ces expériences que l'action de l'uricase diminue à peine sous l'influence des protéines endocellulaires. Des expériences sur des tissus broyés (foie des veaux et grenouilles entières) ont fourni la preuve que ceux-ci n'adsorbent que faiblement l'acide urique (tabl. XVIII). L'addition de tissus broyés chauffés à 90° pendant 10' n'a presque pas eu d'effet sur l'action de l'uricase non purifiée.

Oddawna już stwierdzono, że po zniszczeniu struktury komórkowej reakcje chemiczne przebiegają bardzo różnorodnie. Podczas gdy jedne, jak np. autoliza, glikogenoliza—są znacznie przyspieszone, inne—że przytoczymy procesy utleniania—zostają osłabione, kinetycznie zmniejszone. Wystarczy wspomnieć w tej materji o wyniku badań LESSERA ('13) nad glikogenolizą w wątrobie żab z jednej strony, zaś z drugiej—o badaniach WARBURGA ('23) nad oddychaniem izolowanych czerwonych ciałek krwi ptaków.

Zmniejszenie się oddychania tłumaczy WARBURG zniszczeniem struktury. Autor stara się wykazać jednocześnie, że procesy utleniania są związane z obecnością katalizatora, żelaza, i całą teorię utlenień wiąże on z powyższą koncepcją.

W dobie obecnej teoria WARBURGA nie jest jeszcze w stanie wytłumaczyć wszystkich procesów utleniania w ustrojach żywych. Poza przypadkami najmniej poznanymi, w których wiele zdawałoby się przemawiać za brakiem enzymów utleniających (weźmy dla przykładu utlenianie kwasu linolinowego lub aminokwasów, gdzie żelazo odgrywa zapewne doniosłą rolę) cały szereg reakcyj często utleniających lub t. zw. oksydoredukcji przebiega w ustroju pod wpływem enzymów<sup>1)</sup>.

Badania, traktujące zagadnienie, czy procesy czysto enzymatyczne są przez zniszczenie struktury osłabione, oraz jaki jest ich stosunek do zasady WARBURGA, wydały nam się dosyć ciekawe, gdyż:

1<sup>o</sup>, mogą one rzucić pewne światło na mechanizm utleniania,  
2<sup>o</sup>, pozwolą, może być, uchwycić pewne cechy charakterystyczne dla reakcyj enzymatycznych, wreszcie —

3<sup>o</sup>, mogą wykazać, czy zawsze przestrzenne odgraniczenie enzym-substrat prowadzi do ograniczenia reakcji enzymatycznych<sup>2)</sup>.

W środowisku, gdzie enzym i substrat są absorbowane i dzięki temu są przestrzennie od siebie oddzielone, reakcje hy-

<sup>1)</sup> Że fermenty poza oksydazami właściwymi utleniają cały związek, nie redukując połowy substancji utleniającej lub innego akceptora wodoru bez udziału aktywatora tlenu (np. Fe), tego dzisiaj twierdzić nie możemy zresztą w sprawę tę narazie nie wnikamy.

<sup>2)</sup> Podana przez WILLSTÄTTERA ('23) sprawa przyspieszającego działania pewnego rodzaju adsorbentów na lipazę, omawiana będzie w następnej pracy.

drolityczne amylaz odbywają się, jak to udowodniono, znacznie powolniej, niż w środowisku jednolitem (PRZYŁĘCKI, NIEDŹWIECKA, MAJEWSKI '27). W trzeciej części badań wykazaliśmy, że dla zahamowania reakcji nie wystarcza absorbcja enzymu i substancji. Niezbędne jest ponadto istnienie struktury, zmniejszającej częstość zetknięć enzymu z substratem. Tylko w takich przypadkach można mówić o strukturze hamującej (PRZYŁĘCKI i NIEDŹWIECKA '28). Zjawisko to, prawdopodobnie ogólne, jeśli chodzi o hydro-lazy, jest logiczną konsekwencją prawa działania mas.

W razie reakcji utleniania zagadnienie komplikuje się znacznie. W pierwszym przypadku mieliśmy bowiem układ: enzym, adsorbent, substrat i woda, przyczem adsorbent, jak to powiedziano, nie wpływa przeważnie na uwodnienie sfery enzymu. Tak tedy najczęściej adsorbent, a więc struktura, nie wprowadza nic nowego, rozdziela tylko enzym od substratu.

W drugim przypadku—utleniania, występuje cały szereg nowych czynników. Przedewszystkiem więc musimy uznać, jeśli chodzi o oksydazy, iż poza substancją musi być aktywowany tlen. To samo zachodzi w razie utleniania kompletnego przy pomocy oksydoredukaz, gdzie w końcowym etapie mamy prawdopodobnie również moment aktywowania tlenu. Należy więc rozróżnić kilka możliwości.

Przedewszystkiem, jeśli chodzi o adsorbent, to mamy taki, który nie ułatwia aktywowania tlenu lub przenoszenia tlenu i—inny, który poza zdolnością adsorbencji, nie zmieniającej ani substratu, ani enzymu, posiada możność ich przekształcania, ułatwiając tem samem utlenianie lub aktywowanie tlenu: jest, innemi słowy, jego przenosicielem. Te ostatnie właściwości mogą odegrać specjalnie ważną rolę w działaniu struktury na reakcje enzymatyczne utleniania. Jak więc widzimy, nie można a priori przewidzieć, jaki wpływ wywierac będzie struktura na reakcje oksydaz i innych desmolaz.

Nie można było tem samem wyrażać zgóry tezy, że struktura hamuje, lub nie przyspiesza wszystkich wogóle reakcyj enzymatycznych.

Dla wyjaśnienia sprawy powyższej należało porzucić metodę analizy całego zespołu zjawisk, całego szeregu związanych ze sobą reakcyj, jak to się dzieje przy badaniu oddychania, rozpatrywać zaś — poszczególne wyodrębnione reakcje. Tylko w ten sposób

uniknąć można całego szeregu momentów, związanych z kolejnością reakcyj, a wymagających określonego układu. O tem wspominaliśmy już zresztą w pracy o „Odwracalności reakcyj enzymatycznych“ (27).

Podobne postępowanie jest tembardziej niezbędne, że w kompleksach reakcyj desmolutycznych istnieją etapy bardzo różnorodne. I tak np., niektóre z nich mogą przebiegać bez udziału enzymów, wyłącznie pod wpływem biokatalizatorów, działających jedynie w związku z określoną strukturą. Inne stąd są syntezami, wymagającymi dla swego urzeczywistnienia energii, dostarczanej przez reakcje kopulowane. I ten proces wymaga, być może, określonej struktury. Istnieją, przynajmniej w rozpadzie cukrów, dehydratacje. Reakcje te przebiegają tem szybciej, im odwodnienie środowiska jest większe. Rozcieńczanie w roztworze wodnym powodować może hamowanie dehydratacji, zaś wprowadzenie struktury o własnościach odwadniających, jak np. kolloidu hydrofilowego, wywołać może przyśpieszenie.

W badaniach nad wpływem struktury na czynność desmolaz powinniśmy odróżniać szereg czynników, a więc:

A. Rodzaj adsorbenta, — adsorbent chemicznie obojętny w niektórych przypadkach, np. węgiel, pozbawiony metali. Ten rodzaj adsorbenta miałby najmniej szans przyśpieszenia reakcyj. Przykładem mógłby być adsorbent chemicznie czynny, np. modyfikujący tlen, substrat lub enzym (najmniej prawdopodobne).

Z badań WARBURGA wynika, że kataliczne działanie adsorbenta jest bardzo specyficzne.

B. Warunki nasycenia tlenem. Rozróżnić tu powinniśmy środowisko tlenowe, zawierające nadmiar tlenu, i warunki beztlenowe, w których reakcja utleniania polega na odebraniu tlenu innemu związkowi lub częściej na — odczepieniu wodoru z badanego związku i na dostarczeniu go akceptorowi, np. błękitowi metylenowemu. Analiza działania oksydoredukaz w tlenie i bez tlenu, w obecności akceptora wodoru, może tu dać specjalnie ciekawe wyniki.

C. Dwa typy enzymów utleniających, oksydaz właściwych i oksydoredukaz, a wreszcie — biokatalizatorów termostabilnych utleniających. W oksydoredukazach interesować nas winien, jak to już wspominaliśmy, wpływ struktury na pierwszy

etap — odłączenia wodoru, i na drugi — polegający na połączeniu go z tlenem.

Wreszcie, jeśli chodzi o działanie, odróżnić winniśmy dwa rodzaje enzymów: czynne bez udziału koenzymu i wymagające dla aktywacji obecności kofermentu. Nowy ten czynnik wprowadza jeszcze jeden moment, którego rola jest narazie zupełnie nieznaną.

Ostatnie badania wykazują wszelako, że — jeśli chodzi o działanie struktury — nie można tego czynnika pomijać.

Z powyższego zestawienia widzimy, że badając wpływ struktury na desmolazę, zmuszeni jesteśmy liczyć się z całym szeregiem czynników.

Uważaliśmy, że pierwsze badania należało przeprowadzić na enzymie samowystarczającym, jeśli chodzi o utlenienie właściwe, i czynnym oraz dokładnie oczyszczonym. Jako taki obraliśmy urikazę. Charakterem działania samego enzymu i jego przynależnością do wyżej wymienionych grup (oksydaz, oksydoredukaz i t. d.) zajmiemy się w jednej z prac następnych.

Uważaliśmy za wskazane rozpocząć analizę od badań na prostym modelu, przechodząc dopiero następnie do typu doświadczeń nad ustrojami.

Materiał doświadczalny dzielimy na kilka grup.

Pierwsza obejmuje adsorbenty nieczynne, nie utleniające kwasu moczowego, nie zmieniające go chemicznie, przynajmniej w czasie trwania doświadczenia (4—12 godzin). Preparaty te nie zmieniają prawdopodobnie stanu tlenu poza możliwym zagęszczeniem go w pewnych miejscach dzięki adsorbencji. Dwa typy doświadczeń wykonano na tych modelach: jeden na węglu bez metali, w którym to przypadku mieliśmy jednoczesną adsorbencję enzymu i substratu, i drugi — na białku, kiedy adsorbowany był niemal wyłącznie enzym.

Doświadczenia z białkiem obejmują badania na ściętem białku jaja kurzego i na białku w roztworze. W ten sposób można było odróżnić działanie adsorbencji od działania wytworzonej struktury.

Druga grupa obejmuje doświadczenia z adsorbentami czynnymi lub w obecności ciał aktywnych.

Jako adsorbent chemicznie czynny stosowany był węgiel zwierzęcy, zawierający żelazo. Jak to wykazał, w Zakładzie Chemii Fizjologicznej Wydz. Weterynaryj Uniwersytetu Warszawskiego, ZYLBERTAL ('27), kwas moczowy jest w tych warunkach utleniany.

Doświadczenia z adsorbentami nieczynnymi wykonane były wyłącznie w warunkach tlenowych, zaś z adsorbentami czynnymi — w różnych środowiskach tlenowych, począwszy od całkowicie beztlenowych, a kończąc na nasyconych tlenem.

### Metodyka.

Jako adsorbenty stosowaliśmy węgiel i białko. Węgiel używaliśmy bądź prawie pozbawiony popiołu, bądź też zawierający żelazo: pierwszy otrzymywaliśmy z glukozy chemicznie czystej lub benzolu, z preparatów MERCKA lub też z preparatów zaoferowanych przez prof. LINDEMANA; jako węgiel, zawierający żelazo, używaliśmy preparat MERCKA, t. zw. węgiel zwierzęcy, lub preparat specjalnie aktywowany podług metody WARBURGA. Białko kurze stosowaliśmy w roztworze lub ścięte przez zagotowanie.

Badania przeprowadzone były na urikazie, czerpanej z dwu źródeł: z wątrób bydła i z żab. Stosowaliśmy preparaty oczyszczone. Wyciągi z organów lub całych zwierząt, przygotowywane według uprzednio już stosowanej metody (PRZYŁĘCKI '25), poddawane były oczyszczeniu. Polegało ono na podwójnym wytrąceniu acetonem, następnie — jednorazowym strąceniu alkoholem. W pewnych przypadkach stosowaliśmy wyciągi. W ten sposób otrzymywaliśmy preparaty urikazy o bardzo różnorodnej sile działania. Pozwalało to stwarzać dowolne układy o bardzo różnych stosunkach [urikaza: C-Fe] i jednocześnie preparaty o tym samym stosunku obu katalizatorów z bardzo wielkimi różnicami w pokryciu powierzchni węgla przez mniej lub bardziej oczyszczone preparaty urikazy.

Kwas moczowy oznaczany był kolorymetrycznie metodą FOLINA i DENISA. Stosowaliśmy roztwór moczanu sodowego o  $\text{pH} = 7.5$ . Wszędzie dla utrzymania jednostajnego  $\text{eH}$  dodawano mieszaniny fosforanów o  $\text{pH} = 7.5$ .

Wobec bardzo intensywnej adsorpcji kwasu moczowego na węglu (70 — 90%), stosowaliśmy jako eluensu dla oznaczenia całkowitego kwasu moczowego, nie tylko w roztworze, lecz i zadsorbowanego, alkoholu izoamylowego w nadmiarze, który okazał się środkiem bardzo cennym. Tylko stosując powyższą metodę udało się wykazać wpływ węgla na rozpad kwasu moczowego pod wpływem urikazy.

W celu przekonania się o działaniu czynników elucyjnych na szybkość rozpadu kwasu moczowego w środowisku „macroheterogen“ stosowaliśmy wielokrotnie alkohol propylowy (0.45 n), butylowy (0.075 n) i amylowy. Stężenie roztworów dodawanych alkoholi oznaczyliśmy przeważnie metodą stalagmometryczną.

Wszystkie doświadczenia kinetyczne wykonano w termostacie w 25° lub 37°.



## W y n i k i.

## I. Układ: [urikaza, kwas moczowy i węgiel bez metali].

A. Adsorbacja kwasu moczowego w roztworze wodnym. Z badań ZYLBERTALA wynika, że kwas moczowy jest dobrze adsorbowany. Wobec wielkiej różnorodności stopnia adsorbacji na różnych preparatach węgla sprawdzaliśmy go przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia. Najsilniej adsorbował preparat MERCKA.

Alkohole działają eluująco, przyczem wpływ ich odpowiada własnościom powierzchniowym (tab. I).

Tabela I.

Roztwór kwasu moczowego <i>Solution d'acide urique</i>	Ilość węgla <i>Quantité de C</i>	Rodzaj węgla <i>Genre du C employé</i>	% kwasu zadsorbowanego w roztworze wodnym <i>% d'acide urique adsorbé dans une solution aqueuse</i>	% kwasu zadsorbowanego w roztworze 0.45 n. alk. propylowego <i>% d'acide urique adsorbé dans une solution d'alcool propylique 0.45 n.</i>
%	g			
0.45 <sup>1)</sup>	0.2	Merck { bez Fe.	76.6	57.0
	0.4		sans Fe.	85.0
0.45	0.6	" "	90.0	71.4
	1.0		" "	92.1
0.50	0.3	" "	86.0	—
	0.4		" "	84.0
0.25	0.6	" "	90.0	—
	0.2		preparat krajowy	76.7
0.60	0.4	<i>C préparé en Polog.</i>	85.0	61.0
	0.6		" "	90.3
0.45	0.2	preparat przygotowany w Zakładzie	50.1	—
	0.4		<i>préparation obtenue au laboratoire</i>	63.4
0.45	0.6		77.2	—

<sup>1)</sup> Doświadczenia połączone tworzą jedną serję, wykonaną na tym samym materiale.  
*Les expériences constituant une série sont indiquées par le signe —.*

B. Adsorbacja enzymu. Zarówno węgiel, przygotowany przeze mnie, jak i inne preparaty adsorbują bardzo intensywnie urikazę. Adsorbacja jest w znacznym stopniu niezależna od czystości enzymu. Naogół ten sam preparat węgla jest w stanie zadsorbować więcej urikazy z preparatu czystego, niż z wyciągu. Zjawisko to tłumaczymy sobie mniejszą ilością zanieczyszczeń, adsorbowanych również przez węgiel i zajmujących jego powierzchnię.

Alkohole w nieznacznym tylko stopniu wpływają eluująco na zadsorbowaną urikazę (tab. II).

C. Kinetyka. Aktywność urikazy zadsorbowanej. Preparat węgla, zawierający urikazę zadsorbowaną, był kilkakrotnie przemyty dla usunięcia urikazy niezadsorbowanej. Po sprawdzeniu, że preparat zawiera wyłącznie urikazę zadsorbowaną, dodawano kwasu moczowego. Przekonaliśmy się, że związek ten nie eluuje urikazy (tab. III). Mimo to enzym jest czynny (tab. IV). Do tych doświadczeń nadaje się szczególnie węgiel w grudkach (Merk lub krajowy).

Tabela II.

Adsorbacja enzymu. Liczby oznaczone 0 pochodzą z doświadczeń, gdzie użyto enzymu nieoczyszczonego, liczby ze znakiem \* odnoszą się do preparatu oczyszczonego. W roztworach z C do roztworu: urikaza—węgiel po przesączeniu dodawano kwasu moczowego.

*Adroption de l'uricase. Le signe 0 indique qu'on ajoutait de l'uricase non purifiée, tandis que \* correspond à l'uricase purifiée. Dans le système (C. uricase), l'acide urique a été ajouté après la filtration.*

Roztwór kwasu moczowego dodany w % <i>Solution d'acide urique introduite en %</i>	Rodzaj węgla <i>Genre de charbon employé</i>	Ilość węgla dodanego w g <i>Quantité de C en gr.</i>	Ilość kwasu moczowego znaleziona pod koniec doświadczenia w mg w 1 cm <sup>3</sup> <i>Quantité d'acide urique en mgr. trouvée à la fin de l'expérience dans 1 cm<sup>3</sup></i>			
			Roztwór wodny bez węgla <i>Solution aqueuse sans C</i>	Roztwory zawierające C <i>Solution contenant du C</i>		
				Roztwór wodny <i>Solution aqueuse</i>	Roztwór alk. propylowego <i>Solution d'alcool propylique</i>	Roztwór alk. butylowego <i>Solution d'alcool butylique 0'07 n.</i>
0:50	przygotow.	0:3	0:27 <sup>o</sup>	0:48	0:46	0:47
0:50	w zakład.	0:3	0:10*	0:46	0:46	0:45
0:60	Merk	0:3	0:32 <sup>o</sup>	0:59	0:58	0:57
0:60	"	0:3	0:12*	0:57	0:55	0:56
0:25	"	0:3	0:12 <sup>o</sup>	0:22	0:20	0:20
0:25	"	0:3	0:05*	0:235	0:22	0:21
0:90	"	0:5	0:55 <sup>o</sup>	0:88	0:84	0:84
0:90	"	0:5	0:75*	0:89	0:88	0:89

Porównanie czynności urikazy w środowisku z adsorbentem i bez niego: doświadczenia, wykonane na preparatach węgla bez metali, w których zmieniano stężenie urikazy, węgla i kwasu moczowego, były nieco skomplikowane.

Oznaczano jednocześnie rozpad kwasu moczowego w środowisku wodnym bez węgla i w jego obecności. W tym ostatnim przypadku oznaczano kwas przed i po elucji alkoholem amylovym. Przebieg doświadczenia był następujący: do roztworu urikazy dodawano określoną ilość węgla (0.2, 0.4, 0.6 g i t. d.), t. j. conajmniej tyle, aby więcej niż 90% było zadsorbowane. Następnie dodawano kwasu moczowego. Jednocześnie taką samą ilość kwasu dodawano do jednakowej objętości wody z węglem.

Doświadczenie równoległe wykonane było na preparatach bez węgla. Do każdego doświadczenia używano czterech porcji. W dwóch oznaczono kwas po przesączeniu, w dwóch pozostałych po dodaniu alkoholu amylowego w nadmiarze (5—10 cm<sup>3</sup> na 50 cm<sup>3</sup> płynu), wstrząsano przez 3—8 godzin i sączono.

Przy oznaczeniach porównywano:

1<sup>o</sup>, rozpad  $\bar{U}$  w środowisku bez C (roztwór  $\bar{U}$  w H<sub>2</sub>O — roztwór  $\bar{U}$  z urikazą),

Tabela III.

Stężenie kwasu moczowego w preparacie: urikaza zadsorbowana wyłącznie na węglu; dodano kwasu moczowego, po 6 godzinach sączono.

*Solution de l'acide urique dans un système où l'uricase est totalement adsorbée sur le charbon. Filtration 6 h. après l'addition d'acide urique.*

Stężenie bezpo- średnio po przesą- czeniu w % Concentration en % de l'acide urique immédiatement après la filtration	Stężenie w 24 go- dziny po przesą- czeniu w % Concentration après 24 h.
0.10	0.09
0.13	0.13
0.21	0.20
0.09	0.09
0.08	0.08
0.26	0.25
0.14	0.14

Tabela IV.

Preparat, zawierający urikazę wyłącznie zadsorbowaną; dodano kwasu moczowego. Kwas oznaczono po 6 godzinach bez dostępu tlenu i po upływie 24 godzin przepuszczania tlenu.

*Uricase totalement adsorbée sur du C. Addition d'acide urique et dosage de celui-ci 6 h. plus tard dans une solution privée de O<sub>2</sub> et ensuite après 24 h. dans une solution aérée.*

Zawartość kwasu po 6 godzinach w mg Acide urique en mg après 6 h.		Zawartość kwasu po 24 godzinach w mg Acide urique en mg après 24 h.	
Węgiel, urikaza, kwas moczowy C, uricaze, U.	Węgiel woda kwas moczowy C, H <sub>2</sub> O, U.	Węgiel, urikaza, kwas moczowy C, uricaze, U.	Węgiel woda kwas moczowy C, H <sub>2</sub> O, U.
0.27	0.26	0.19	0.26
0.15	0.14	0.07	0.14
0.09	0.09	0.04	0.09
0.18	0.18	0.11	0.17
0.21	0.20	0.13	0.19
0.24	0.23	0.16	0.23

2<sup>o</sup>, rozpad w preparacie z C. Odejmuwano od ilości  $\bar{U}$  w roztworze wodnym (H<sub>2</sub>O, C,  $\bar{U}$ .) ilość  $\bar{U}$ , znajdującą się w roztworze z urikazą (urikaza, C,  $\bar{U}$ .),

3<sup>o</sup>, rozpad po dodaniu alkoholu amylowego. Postępowano tu jak pod 2<sup>o</sup>, z tą tylko różnicą, iż przed oznaczeniem dodawano alkoholu amylowego.

Wyniki otrzymane są bardzo zgodne (tab. V) i dowodzą, że w preparatach, gdzie niemal całkowita ilość urikazy jest zadsorbowana, rozpad kwasu moczowego jest tem mniejszy, im większa ilość kwasu jest zadsorbowana. Krzywa adsorpcji i hamowania pokrywają się wzajemnie (tab. VI). Opierają się one na materiale, w którym oznaczano procent kwasu moczowego zad-

sorbowanego i procent zmniejszenia rozpadu w stosunku do roz-  
tworu wodnego.

Tabela V.

Kwas moczowy znaleziony w roztworach, w %<sub>o</sub>.  
*Acide urique retrouvé en %<sub>o</sub>.*

C w g	Roztwór wodny bez C <i>Solution aqueuse privée de C</i>				Roztwór zawierający C <i>Solution contenant du C</i>				U w a g i  N o t e s
	C en gr.	U. urikaza <i>C. uricase</i>	H <sub>2</sub> O	U. rozłożony w % <sub>o</sub> ilości pierwotnej <i>C. dégradé en %<sub>o</sub> de la quantité primitive</i>	U. rozłożony w mg <i>C. dégradé en mgr.</i>	C. urikaza <i>C. uricase</i>	H <sub>2</sub> O	U. rozłożony w % <sub>o</sub> ilości pierwotnej <i>C. dégradé en %<sub>o</sub> de la quantité primitive</i>	
0.4	0.02	0.25	92	0.23	0.02	0.05	66.7	0.04	Bez elucji. <i>Sans ellution</i>
0.4	0.01 (5)	0.24	94	0.22 (5)	0.01	0.06	83.0	0.05	" " " "
0.2	0.28	0.60	53	0.32	0.03	0.14	43.0	0.05	" " " "
0.4	0.28	0.60	53	0.32	0.05	0.09	44.0	0.04	" " " "
0.6	0.28	0.60	53	0.32	0.03	0.06	50.0	0.03	" " " "
0.3	0.12	0.53	80	0.41	0.02 (5)	0.11	80.0	0.08 (5)	" " " "
0.3	0.12	0.53	80	0.41	0.27	0.40	32.0	0.13	po " <i>après</i>
0.3	0.12	0.53	80	0.41	0.02 (5)	0.13	82.0	0.01 (5)	bez " <i>sans</i>
0.3	0.12	0.53	80	0.41	0.29	0.42	31.0	0.13	po " <i>après</i>
0.2	0.42	0.60	27	0.16	0.20	0.25	20.0	0.05	bez " <i>sans</i>
0.2	0.42	0.60	27	0.16	0.35	0.43	19.0	0.08	po " <i>après</i>
0.4	0.42	0.60	27	0.16	0.15	0.20	20.0	0.04	bez " <i>sans</i>
0.4	0.42	0.60	27	0.16	0.30	0.35	14.0	0.05	po " <i>après</i>
0.6	0.42	0.60	27	0.16	0.10	0.13	23.0	0.03	bez " <i>sans</i>
0.6	0.42	0.60	27	0.16	0.30	0.33	9.0	0.03	po " <i>après</i>

Procent zmniejszenia obliczono, odejmując ilość mg kwasu  
moczowego, rozłożonego w roztworze wodnym, od ilości roz-  
łożonej w obecności odpowiedniej ilości węgla po elucji alkoholem

Tabela V-a.

Stopień adsorpcji i zahamowania rozpadu  
kwasu moczowego.

*Adsorption et diminution de la dégradation  
de l'acide urique.*

Ilość węgla doda- wanego w g C. en gr.	% <sub>o</sub> kwasu moczowego zad- sorbowanego  % <sub>o</sub> d'acide uri- que adsorbé	Procentowe za- hamowanie roz- padu  <i>Diminution de la dégradation en %<sub>o</sub> de la dégradation sans C.</i>
0.2	50.2	50.0
0.4	63.9	65.4
0.6	78.1	81.0
0.8	85.0	83.9
1.0	90.4	89.9

Doświadczenia, wykonane bez  
elucji, świadczą, iż w obu przy-  
padkach, porównywując roz-  
pad kwasu moczowego w roz-  
tworze w obecności węgla i bez  
niego, są rozłożone ilości pro-  
centowo równe. Jeśli jednak,  
zamiast oznaczania procento-  
wego, obliczymy ilość kwasu  
moczowego, rozłożonego w mg, to przekonamy się, iż bez węgla  
rozkłada się go znacznie więcej.

Pozostaje zarzut, że nie wiemy, czy tylko tak nieznaczne  
ilości kwasu moczowego są w tych warunkach rozłożone. Za-

chodzi bowiem możliwość, że różnice są znacznie większe, mianowicie, że w obecności urikazy kwas moczowy był eluowany i rozkładany, a tak małe jego ilości w próbkach (U. C. urikaza) pochodzą nietylko z adsorbencji, lecz i z rozpadu kwasu.

Aby się o tem przekonać, wykonano elucję kwasu przez alkohol amyłowy. Wyniki wykazują niezbicie, że przy stosowaniu silnych preparatów urikazy znajdujemy, w preparatach węglowych po elucji, bez wyjątku znacznie większe ilości kwasu moczowego, niż w porcjach bez węgla. Doświadczenia te świadczą bezsprzecznie o tem, że rozpad kwasu moczowego odbywa się w obecności preparatów węgla bez żelaza znacznie wolniej, niż w roztworze bez adsorbenta, że obecność węgla nie zwiększa i nie zmniejsza w niczem działania urikazy i że wreszcie rozpadowi podlega tylko kwas moczowy wolny.

Działanie alkoholi. Doświadczenia nad wpływem alkoholi potwierdzają w zupełności wniosek powyższy. Związki te silnie eluują kwas moczowy, natomiast nie mają niemal żadnego wpływu elucyjnego na urikazę.

Alkohole działają silnie przyspieszająco na rozpad kwasu moczowego. Wykazują to doświadczenia porównawcze nad działaniem tego samego preparatu węgla w roztworze wodnym i alkoholowym przed i po elucji alkoholem amyłowym. Porównywano tedy rozpad kwasu moczowego, oznaczając go w układach:

1°:  $H_2O$ , U i  $H_2O$ , U, urikaza,

2°:  $H_2O$ , U,C i  $H_2O$ , U,C, urikaza przed elucją i po elucji,

3°: roztwór alkoholi, U,C i roztwór alkoholi, C,U, urikaza.

Wszystkie doświadczenia stwierdzają zgodnie, że alkohole przyspieszają rozpad kwasu moczowego tem intensywniej, im silniej eluują one kwas moczowy zadsorbowany (tab. VI). Działanie ich polega tedy na zwiększeniu ilości kwasu w roztworze.

Zestawiając wszystkie wyniki otrzymane, stwierdzamy, że adsorbent obojętny, nie działający na substrat, nie przyspiesza działania urikazy, lecz odwrotnie osłabia je przez zmniejszenie stężenia kwasu moczowego w roztworze.

## II. Układ: [urikaza, kwas moczowy i węgiel, zawierający żelazo].

A. Adsorbencja kwasu moczowego była bardzo znaczna. Alkohole działają wybitnie eluująco, podobnie jak w preparatach węgla bez żelaza (tab. VII).

Tabela VI.

Działanie alkoholi na rozpad U w roztworach z C. Wszystkie oznaczenia wykonano po (b) i przed (a) elucją.

*Action des alcools sur la dégradation d'U, en présence de C. Toutes les expériences ont été exécutées avant (a) et après (b) l'ellution.*

Roztwór kwasu moczowego pierwotny mg w 1 cm <sup>3</sup> <i>Solution d'acide urique primitive en mgr. dans 1 cm<sup>3</sup>.</i>	Ilość węgla w g <i>C en gr.</i>	% U. zadsorbowanego. <i>% d'U adsorbé</i>		Układ: C, urikaza, U. H <sub>2</sub> O. <i>Système C. uricase. U. H<sub>2</sub>O.</i>		Układ: C, urikaza, U, alkohole <i>Système: C. uricase. U. alcools</i>				a — przed, b — po elucji <i>a—avant, b—après l'ellution</i>
		Roztwór wodny <i>Solution aqueuse.</i>	Roztwór alkohol. <i>Solution alcool.</i>	Układ: C, urikaza, U. H <sub>2</sub> O. <i>Système C. uricase. U. H<sub>2</sub>O.</i>	Alkohol butyl. <i>Alcool butylique</i>		Alkohol propyl. <i>Alcool propyl.</i>		Układ: C, urikaza, U, alkohole <i>Système: C. uricase. U. alcools</i>	
					% U rozłożonego z roztworu. <i>% d'U dégradé de la solution</i>	U rozłożony w mg <i>U dégradé en mgr.</i>	% U rozłożonego z roztworu <i>% d'U dégradé de la solution</i>	U rozłożony w mg. <i>U dégradé en mgr.</i>		
0·53	0·3	82·0	60·0	80·0	0·08	81·1	0·150	79·8	0·144	a
0·53	0·3	82·0	60·0	24·5*	0·13	35·8*	0·190	36·0*	0·193	b
0·53	0·3	82·0	60·0	82·0	0·01	81·4	0·03(7)	80·9	0·03(4)	a
0·53	0·3	82·0	60·0	24·5*	0·13	33·8*	0·179	34·0*	0·180	b
0·53	0·6	90·2	71·1	50·0	0·03	50·2	0·09	—	—	a
0·53	0·6	90·2	71·1	19·3*	0·103	25·7*	0·145	—	—	b

% oznaczone \* są obliczone przez podzielenie ilości kwasu moczowego rozłożonego przez ilość pierwotną t. j. przez 53.

*Dans les cas indiqués par le signe \*, le % de la dégradation a été déterminé par rapport à la concentration primitive 0·53.*

Doświadczenia wykonano częściowo w temperaturze 0°, dla uniknięcia utlenienia kwasu przez węgiel, częściowo zaś — bez dostępu tlenu.

Alkohole mają i tu zaledwie bardzo nieznaczne działanie elucyjne.

Tabela VII.

Adsorbacja kwasu moczowego na węglu zwierzęcym „Merck”.  
*Adsorption de l'acide urique sur du charbon animal „Merck”*

Ilość węgla w g <i>Quantité de charbon en gr.</i>	Roztwór kwasu moczowego w % <i>Solution d'acide urique en %</i>	Kwas moczowy zadsorbowany w % dodanego z: <i>% d'acide urique adsorbé</i>		
		roztworu wodnego <i>solution aqueuse</i>	roztworu 0·45 n. alk. propyl. <i>solution d'alcool propylique 0·45 n.</i>	roztworu 0·07 n. alkoholu butylowego <i>solution d'alcool butylique 0·07 n.</i>
		0·2	0·5	78·1
0·4	0·5	86·7	—	—
0·6	0·5	92·0	58·3	74·6
0·3	0·3	88·3	—	—
0·6	0·3	95·1	—	—
0·3	0·6	83·7	63·2	63·5
0·6	0·6	91·1	—	—

B. Adsorbacja urikazy. I ta była również wielka. Wszystko, co mówiliśmy o adsorbacji enzymu na preparatach bez żelaza, można powtórzyć na tem miejscu (tab. VIII).

Tabela VIII.

Adsorbacja urikazy na węglu zwierzęcym.  
*Adsorption d'uricase sur le C-Fe.*

Roztwór kwasu moczowego w $\frac{\%}{100}$ <i>Solution d'acide urique en <math>\frac{\%}{100}</math></i>	Dodano węgla w g <i>Quantité de charbon ad-ditionnée en gr.</i>	Ilość kwasu moczowego znaleziona po 24 g., w $\frac{\%}{100}$ <i>Quantité d'acide urique en <math>\frac{\%}{100}</math> trouvé après 24 h.</i>			
		Układ: woda, urikaza, kwas mocz. <i>Système: H<sub>2</sub>O, uricase U.</i>	Układ: urikaza i węgiel, sączono, dodano kwasu moczowego <i>Système: (uricase. C.-Fe). L'acide urique a été introduit après la filtration</i>		
			roztwór wodny <i>Solution aqueuse</i>	roztwór alkoh. propylowego <i>alcool propylique</i>	roztwór alkoh. butylowego <i>alcool butylique</i>
0.25	0.30	0.16	0.23	0.21	0.21 (5)
0.25	0.60	0.08	0.22	0.20	0.19
0.50	0.30	0.31	0.49	0.47	0.43
0.50	0.60	0.13	0.47	0.45	0.45
0.60	0.30	0.42	0.57	0.56	0.56
0.60	0.60	0.17	0.56	0.55	0.55

C. Kinetyka. Czynność enzymu zadsorbowanego. Doświadczenia, wykonane w sposób identyczny, jak to czyniono z węglem bez żelaza, wykazały, że urikaza zadsorbowana jest

Tabela IX.

Działanie urikazy zadsorbowanej (patrz tabela IV).  
*Action de l'uricase adsorbée (voir le tableau IV).*

Zawartość kwasu moczowego po 6 g. <i>Acide urique en mgr. dans 1 cm<sup>3</sup> après 6 h.</i>		Zawartość kwasu po 24 g. w tlenie <i>Acide urique en mgr. après un séjour de 24 h. dans l'oxygène dans 1 cm<sup>3</sup>, en mgr.</i>	
C. U. urikaza. <i>C. U. uricase.</i>	C. U. H <sub>2</sub> O.	C. U. urikaza. <i>C. U. uricase.</i>	C. U. H <sub>2</sub> O.
0.08	0.09	0.01	0.05
0.13	0.15	0.06	0.11
0.26	0.29	0.11	0.24
0.47	0.49	0.13	0.38

czynna (tab. IX). Do badań używano wyłącznie bardzo czynnych preparatów urikazy, bądź uprzednio oczyszczonych, bądź też wyciągów o dużej sile działania.

Badając rozpad kwasu moczowego pod wpływem urikazy zadsorbowanej, pamiętać należy, że kwas moczowy rozkładany jest przez preparaty C — Fe. Porównywując rozpad w próbkach:

1-o C, H<sub>2</sub>O, U i 2-o C, U, urikaza, mieliśmy w pierwszym przypadku rozpad wyłącznie pod wpływem węgla, zaś w drugim — zarówno przez działanie węgla, jak i urikazy.

Stosując nieoczyszczane, bardzo słabe preparaty urikazy, łatwo można było uchwycić moment, w którym dodanie jej, zamiast zwiększać, zmniejsza rozpad kwasu moczowego.

Porównyując rozpad kwasu moczowego pod wpływem urikazy w środowisku jednorodnym — i z węglem, zawierającym żelazo, należało prowadzić doświadczenia w różnych warunkach. Tak więc niektóre serje wykonane były w środowisku tlenowym, inne w beztlenowym. Wszędzie doświadczenie polegało na oznaczaniu kwasu przed i po elucji alkoholem amylowym w następujących porcjach: 1-o. U, H<sub>2</sub>O; 2-o. U, urikaza, 3-o.  $\alpha$ . C-Fe, H<sub>2</sub>O, U, w środowisku beztlenowym; 3-o.  $\beta$ . C-Fe, H<sub>2</sub>O, U; 4-o. C-Fe, H<sub>2</sub>O, U, urikaza inaktywowana przez zagotowanie; 5 o C-Fe, U, urikaza. Inaktywowanie urikazy z nerek bydła osiągnęto, ogrzewając ją przez 10' w 100°; oznaczenie 4-o miało na celu stwierdzenie, w jakim stopniu działanie C-Fe zmniejszone zostało przez zadsorbowanie urikazy. Oczywiście, w tych warunkach znaczna część zanieczyszczeń charakteru białkowego ulegała wytrąceniu, natomiast w preparatach oczyszczanych było ono tylko nieznaczne.

Oznaczając rozpad kwasu moczowego pod wpływem urikazy, określano różnice między porcjami: 1—2, 3 $\beta$ —5, 4—5, zaś przy oznaczaniu rozpadu kwasu moczowego pod wpływem C—Fe zestawiliśmy wyniki z serji 1—2, 3 $\alpha$ —3 $\beta$  i 3 $\alpha$ —4. Sumę rozpadu pod wpływem urikazy i C—Fe oznaczano z 3 $\alpha$ —5.

Wszędzie oznaczano kwas moczowy przed i po elucji. Doświadczenie wykonywano w płóczkach, przez które przepływał tlen z balonu.

Środowisko tlenowe. Roztwór wodny. Wyniki otrzymane, podane na tabeli X, świadczą, że suma rozpadu kwasu moczowego w przypadkach słabych stężeń urikazy (preparaty najstarszej oczyszczane) i większych ilości dodanego kwasu moczowego jest większa, niż w układzie: urikaza, kwas moczowy bez węgla. Wszędzie jednak działanie samej urikazy jako takiej jest w układzie z C—Fe znacznie słabsze. Rozpad kwasu moczowego w układzie: [C—Fe, urikaza] jest sumą arytmetyczną działania urikazy i C—Fe, pracujących zupełnie niezależnie od siebie, przyczem działanie urikazy zależy od kwasu moczowego wol-



Tabela X.

Ilość U. oznaczano w  $\frac{\%}{100}$ . Różnice w mg na 100 cm<sup>3</sup>. Wszędzie oznaczano U. po elucji alkoholem amyłowym.  
*Quantité d'acide urique en  $\frac{\%}{100}$ . Différences en mgr. pour 100 cm<sup>3</sup>. U était toujours déterminé après l'ellution avec de l'alcool amylique.*

Ilość węgla w R C en gr.	Ilość urikaz w cm <sup>3</sup> Quantité d'uricase en cm <sup>3</sup>	Układ bez węgla Système privé de C.										Układ z węglem Système avec C.				U w a g i Notes		
		1	2	3	4	5	6	7	8	C-Fe, U, H <sub>2</sub> O bez O <sub>2</sub>	C. urika- zowa U, O <sub>2</sub>	C-Fe, U, H <sub>2</sub> O O <sub>2</sub>	Różni- ca mie- dzy 7-9 w $\frac{\%}{100}$	Różni- ca mie- dzy 7-9 w $\frac{\%}{100}$	Różni- ca mie- dzy 7-12 w $\frac{\%}{100}$		Różni- ca mie- dzy 9-12 w $\frac{\%}{100}$	Różni- ca mie- dzy 8-12 w $\frac{\%}{100}$
0.3	10	0.53	0.28	0.25	47.0	0.50	0.30	0.27	0.23	46.0	0.16	0.34	0.34	68.0	0.11	36.7	urikaza nie- oczyszczona	uricase non épurée
0.3	10	0.53	0.28	0.25	47.0	0.50	0.22	0.20	0.30	60.0	0.15	0.35	0.35	70.0	0.05	31.8	"	"
0.3	10	0.48	0.26	0.22	46.0	0.46	—	0.02	0.44	95.2	0.13	0.33	0.33	76.1	-0.11	—	"	"
0.3	10	0.51	0.27	0.24	47.6	0.49	—	0.05	0.44	90.0	0.14	0.35	0.35	71.5	-0.09	—	"	"
0.3	5	0.36	0.15	0.21	58.3	0.34	0.12	0.06	0.28	82.3	0.10	0.24	0.24	70.6	-0.04	16.7	urikaza średnio oczyszczona	uricase peu épurée
0.3	5	0.30	0.11	0.19	63.3	0.29	—	0.05	0.24	83.0	0.08	0.21	0.21	72.4	-0.03	—	"	"
0.3	5	0.51	0.18	0.33	64.7	0.50	0.13	0.00	0.50	100.0	0.11	0.39	0.39	78.0	-0.11	16.5	urikaza oczyszcz. uricase épurée	uricase épurée
0.3	10	0.40	0.06	0.34	85.0	0.38	—	0.02	0.36	94.8	0.008	0.372	0.372	98.0	0.012	—	"	"
0.3	10	0.50	0.07	0.43	86.0	0.49	—	0.01	0.48	98.0	0.005	0.485	0.485	99.0	0.005	—	"	"
0.3	5	0.45	0.10	0.375	78.8	0.47	—	0.18	0.29	61.3	0.12	0.35	0.35	74.5	0.06	—	"	"
0.3	10	0.475	0.07	0.405	85.3	0.47	—	0.18	0.29	61.3	0.09	0.38	0.38	81.0	0.09	—	"	"
0.3	15	0.475	0.04	0.435	91.5	0.47	0.24	0.18	0.29	61.3	0.05	0.42	0.42	89.3	0.13	79.1	"	"
0.6	10	0.980	0.26	0.72	74.5	0.96	—	0.30	0.66	61.4	0.15	0.81	0.81	84.4	0.15	—	"	"
0.6	10	0.980	0.20	0.78	81.6	0.95	0.12	0.10	0.85	89.5	0.045	0.805	0.805	84.7	0.055	62.5	urikaza nieo- czyszczona	uricase non épurée
0.3	10	0.600	0.30	0.30	50.0	0.58	—	0.52	0.06	10.3	0.42	0.16	0.16	27.6	0.10	—	"	"
0.6	10	0.750	0.40	0.35	46.7	0.72	—	0.68	0.04	5.6	0.57	0.15	0.15	22.1	0.11	—	"	"

nego, zaś działanie węgla—od ilości tegoż kwasu adsorbowanego w jednostce czasu na powierzchniach utleniających.

Im mniej oczyszczony preparat urikazy stosuje się w badaniach, tem bardziej ogranicza się działanie węgla i tem mniejsza jest suma działań.

Nigdy nie udawało nam się w tych warunkach zauważyć wzajemnego współdziałania obu katalizatorów: węgiel z żelazem nie wzmacnia zatem w żadnej mierze działania urikazy.

Nawet nie biorąc pod uwagę kwasu moczowego, usuniętego przez adsorbację z pod działania urikazy, nigdy nie stwierdziliśmy aktywowania enzymu przez katalizator.

Oba katalizatory, jak to już było podkreślone, działają obok siebie i niezależnie od siebie. Obecność „nadtlenku“ nie przyspiesza wcale rozpadu kwasu pod wpływem urikazy. Uwidacznia się to specjalnie w bardzo czynnych preparatach enzymu, z którymi po 4—6 godz. wykonano próby i stwierdzono zaledwie nieznaczny rozpad pod wpływem C—Fe. Urikaza, w razie dostatecznego dostępu tlenu wolnego, jest więc systemem zupełnie samowystarczalnym, nie posiłkującym się innymi źródłami tlenu. Działanie jej jest raczej ograniczone, co wynika wyłącznie z adsorbacji kwasu i zmniejszonego jego stężenia w roztworze.

Działanie samej urikazy jest oczywiście poważnie zmniejszone. Jest ono tem mniejsze, im większy procent kwasu moczowego jest zadsorbowany. Odnajdujemy tu wszystkie objawy, jakie zachodzą w razie stosowania nieczynnego preparatu.

Jeśli teraz porównamy sumę wzajemnego działania urikazy w roztworze bez węgla i działanie C—Fe bez urikazy z równoczesnem działaniem obu tych czynników w układzie (węgiel, urikaza), to stwierdzimy zawsze w tym drugim przypadku znaczne zmniejszenie się rozpadu.

Działanie alkoholi. Porównyując zawartość kwasu w tych samych, co uprzednio, porcjach z tą tylko różnicą, że zamiast roztworu wodnego używano roztworów alkoholi propylowego i butylowego, stwierdziliśmy co następuje (tab. XI): alkohole zwiększają działanie urikazy proporcjonalnie do ilości kwasu eluowanego, natomiast zmniejszają rozpad pod wpływem C—Fe.

Zawsze więc, nawet w obecności adsorbenta—katalizatora, aktywatora tlenu, występuje to samo zjawisko: mianowicie, struktura hamuje czynność urikazy i elucja ją zwiększa.

Środowisko beztlenowe. Stwierdziwszy działanie urikazy w obecności C—Fe w atmosferze tlenu, przeszliśmy do identycznych doświadczeń w środowisku beztlenowym. Zasadniczo przeprowadzane były dwa typy doświadczeń. Typ pierwszy, w którym przepuszczaliśmy prąd CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> lub N<sub>2</sub>, i typ drugi, kiedy postępowano jak następuje: przez roztwór kwasu lub kwasu z urikazą przepuszczano H<sub>2</sub> lub N<sub>2</sub> (przeważnie ten ostatni) i naczynka szczelnie zamykano. Przez płóeczki, zawierające wodę z C—Fe, przepuszczano tlen, w ten sposób nasycając nim C—Fe. Do wody z węglem dodawany był roztwór kwasu z urikazą lub

Tabela XI.

Wpływ alkoholi na rozpad U. w układach: (C-Fe, U. H<sub>2</sub>O) i (C-Fe, urikaza, U.)

*Influence des alcools sur la dégradation de l'U. dans les systèmes (C-Fe. U. H<sub>2</sub>O) et (C-Fe. U. uricase).*

Roztwór bez alkoholi <i>Solution sans alcools</i>		Roztwór z alkoholem <i>Solution avec alcool</i>	
% kwasu rozłożonego przez C-Fe (C-Fe, U. H <sub>2</sub> O)	% d'acide dégradé par C-Fe. (C-Fe. U. H <sub>2</sub> O)	% kwasu rozłożonego przez C-Fe (C-Fe, U. H <sub>2</sub> O)	% d'acide dégradé par C-Fe. (C-Fe. U. H <sub>2</sub> O)
% kwasu rozłożonego przez urikazę (C-Fe, U. uricaza)	% d'acide dégradé par l'uricase (C-Fe. U. uricase)	% kwasu rozłożonego przez C-Fe (C-Fe, U. H <sub>2</sub> O)	% d'acide dégradé par l'uricase (C-Fe. U. uricase)
82.3	16.7	60.1	24.5
95.2	—	71.5	—
98.0	9.4	69.9	17.3
89.5	62.5	67.5	69.8
46.0	36.7	35.6	39.1
10.3	22.2	8.3	36.4
5.6	17.4	4.9	25.6

bez niej. Oba systemy zalewaliśmy parafiną płynną, dla uniknięcia dostępu tlenu z powietrza. Mieliśmy więc dwa modele. Jeden, pozbawiony prawie zupełnie tlenu, i drugi, pozbawiony tlenu wolnego, zawierający jednak tlen czynny w formie działającej utleniająco na kwas moczowy. Oba powyższe szeregi doświadczeń, specjalnie drugi, miały na celu stwierdzenie, czy w układzie, zawierającym tlen związany z żelazem, zaś urikazę pozbawioną tlenu wolnego, ferment będzie działał dzięki tlenu z C—Fe.

Doświadczeniom niniejszym przypisywaliśmy dość dużą wagę. W warunkach tlenowych urikaza rozporządza przypuszczalnie

wszystkimi danymi, potrzebnymi dla korzystania z tlenu wolnego. Tutaj zaś chodziło o zbadanie, czy tlen idealnego modelu WARBURGA może być zużytkowany przez urikazę.

Typ a). Zupełny brak tlenu. W tych warunkach część żelaza znajduje się jeszcze w formie nadtlenu, stąd w układzie [kw. moczowy, C—Fe] zaledwie niewielka ilość kwasu ulega rozpadowi. Oczywiście wszelkie manipulacje, związane z adsorbcją, wykonywać należało w temperaturze 0°. Dopiero po 4 godzinach przenoszono roztwory do 37°, a po następnych 15' eluowano i bezpośrednio oznaczano kwas moczowy. Identyczne oznaczenia przeprowadzano po 2—4—12 godzinach.

Tabela XII.

Kwas moczowy rozłożony w mg przez układy.  
*Acide urique dégradé par les systèmes.*

Kwas moczowy użyty w % <i>Acide urique au début de l'expérience</i>	Dodany węgiel w g <i>C additionné en gr.</i>	Kwas moczowy rozłożony <i>Acide urique dégradé dans les systèmes</i>	
		C-Fe. urikaza U. C-Fe. U. urikase	C-Fe. U. H <sub>2</sub> O
0.50	0.3	0.11	0.13
0.50	0.3	0.08	0.09
0.50	0.5	0.13	0.17
0.75	0.6	0.19	0.22
0.75	0.6	0.14	0.18
0.75	0.6	0.25	0.26
0.25	0.3	0.07	0.08
0.25	0.3	0.09	0.11
0.25	0.3	0.06	0.07

Dodanie urikazy nie potęguje i nie przyspiesza bynajmniej rozpadu. Jeśli np. rozpad kwasu moczowego trwa przez 3 godziny, to zastosowanie nawet bardzo silnych preparatów urikazy po 1½ godzinie nie wywołuje większego rozpadu niż ten, jaki nastąpił bez urikazy. Co więcej, zjawisko odwrotne — nieznaczniejszego zmniejszenia się rozpadu daje się stale obserwować przy użyciu nawet bardzo silnych preparatów enzymu.

Typ b). Zupełnie identyczny obraz stwierdzimy zawsze, ilekroć zastosujemy bardzo czynne preparaty C—Fe, nasycone uprzednio tlenem. I tutaj również dodanie urikazy zupełnie nie zwiększa, przeciwnie — stale zmniejsza działanie samego C—Fe. Im preparat urikazy jest czystszy, tem jego zdolności hamujące są słabsze (tab. XII).

Doświadczenie powyższe tłumaczymy sobie samowystarczal-

nością układu C—Fe w utlenianiu kwasu moczowego. Na mocy prób dotąd wykonanych trudno twierdzić bezwzględnie, że urikaza nie jest w stanie korzystać z tlenu w postaci nadtlenu Fe. Wyobraźmy sobie układ: [urikaza, C—Fe, kwas moczowy], w którym połączenia żelaza są jedynym źródłem tlenu; moglibyśmy przyjąć istnienie współzawodnictwa o tlen między urikazą i kwasem moczowym. Jest rzeczą możliwą, że urikaza sama lub w kompleksie z kwasem moczowym odbiera tlen C—Fe. W naszych warunkach nie utlenia ona kwasu szybciej, niż to czyni samo C—Fe, co uważamy za rzecz ważną.

Układ: [C—Fe, silny preparat urikazy, kwas moczowy, słaby bardzo dostęp tlenu]. Doświadczenie to różniło się od poprzedniego słabym dostarczaniem tlenu urikazie i C—Fe. Zawartość tlenu wolnego była w tych przypadkach minimalna. Doświadczenia te wykazały również, że przyspieszenie działania urikazy nie następuje. Rozpad, pod wpływem bądź urikazy, bądź też C—Fe, był silniejszy, jeśli oba katalizatory działały oddzielnie, aniżeli w przypadku tych dwu czynników, działających razem. Co więcej—działanie samej urikazy było znacznie silniejsze, aniżeli jej aktywność w preparacie z C—Fe.

Z osiągniętych dotąd faktów wynika, że w układzie, w którym stosunki tlenowe zbliżone są do tych, jakie panują w komórkach, gdzie prężność  $O_2$  wolnego jest znikoma i gdzie zdaniem wielu znajduje się on do dyspozycji głównie w postaci połączeń z żelazem, działanie urikazy nie jest przyspieszane przez dodanie C—Fe. Obecność jej w każdym razie nie potęguje działania C—Fe. Oczywiście, wobec wykazanej przez WARBURGA specyficzności działania preparatów C przy utlenianiu związków organicznych i koniecznej częstokroć obecności ciał pomocniczych, np. fosforanów i t. p., fakt powyżej stwierdzony nie przesądza jeszcze sprawy, czy w ustroju żywym nie spotkamy się z układem aktywatorów, przyspieszających rozpad kwasu moczowego pod wpływem urikazy. Chwilowo wydaje nam się to mało prawdopodobne.

Wszystko przemawia za wnioskiem, że urikaza sama jest zespołem, przekształcającym tlen w formę aktywną. Czy nie jest ona w stanie pobierać go z innych związków łatwo tlen oddających, lub oddawać wodór akceptorom, o tem z doświadczeń naszych sądzić nie możemy.

## III. Układ: [urikaza, kwas moczowy, białko].

## 1. Białko ścięte.

A. Adsorbacja kwasu moczowego. Adsorbacja badana była w zwykły sposób, przyczem stwierdzono, że zaledwie nieznaczne ilości (6—10%) kwasu są adsorbowane (tab. XIII).

Tabela XIII.

Adsorbacja kwasu moczowego na ściętem białku jaja kurzego (objętość 100 cm<sup>3</sup>).

*L'adsorption de l'acide urique sur du blanc d'oeuf coagulé (volume 100 cm<sup>3</sup>).*

Roztwór kwasu moczowego użyty, w % <i>Acide urique au commencement de l'expérience en %</i>	Ilość białka dodana w gr <i>Blanc d'oeuf coagulé ajouté en gr.</i>	Kwas moczowy zadsorbowany w % dodanego <i>% d'acide urique adsorbé</i>		
		Roztwór wodny <i>Solution aqueuse</i>	Roztwór alkoholu propylow. <i>Solution d'alcool propylique</i>	Roztwór alkoholu butylowego <i>Solution d'alcool butylique</i>
		0.25	10	7
0.25	20	10	1.8	1.7
0.50	10	5	1.2	1.3
0.50	20	8	1.7	—
0.50	30	10	2.1	2.5
0.75	10	4	0.9	1.0
0.75	20	7	1.3	1.4
0.75	30	11	—	—

Alkohole wpływają eluująco. Można otrzymać preparaty, które mają zaledwie 1% kwasu zadsorbowanego.

B. Adsorbacja urikazy. Jest ona dość znaczna, bowiem jest łatwo uzyskać preparaty, w których niemal całkowita ilość urikazy jest zadsorbowana (tab. XIV).

Tabela XIV.

Adsorbacja urikazy. Wszędzie dodano 10 g białka

*Adsorption de l'uricase. Addition de 10 gr. de blanc d'oeuf coagulé.*

Urikaza zadsorbowana w % dodanej <i>Uricase adsorbée en % de la quantité primitive.</i>		
Roztwór wodny kwasu moczowego H <sub>2</sub> O O.	Roztwór alk. propylowego <i>alcool propylique</i>	Roztwór alk. butylowego <i>alcool butylique</i>
91	88	89
89	87	86
89	86	87
95	93	94
90	88	88

Tabela XV.

Czynność urikazy zadsorbowanej.  
*Action de l'uricase adsorbée.*

Kwas moczowy w % <i>Acide urique en %</i>	
po 3 godzinach bez tlenu <i>après 3 h. sans O<sub>2</sub></i>	po 12 g. w O <sub>2</sub> <i>après 12 h. dans O<sub>2</sub></i>
0.47	0.28
0.41	0.19
0.45	0.23
0.43	0.31
0.42	0.16

C. Kinetyka. Przedewszystkiem można łatwo stwierdzić przez dłuższe przemywanie urikazy zadsorbowanej, że enzym jest czynny w tej postaci (tab. XV).

Sprawność działania urikazy w obecności białka jest tylko nieznacznie osłabiona w stosunku do roztworu wodnego. Różnica wynosi zaledwie 4 — 9% (tab. XVI).

Działanie alkoholi. Porównywując działanie alkoholi w roztworze z białkiem, stwierdzamy tylko niewielkie zwiększenie rozpadu, które tłumaczymy elucją zadsorbowanego kwasu moczowego. Przyrost ów wynosi 7 — 8%<sup>1)</sup>.

Tabela XVI.

Wpływ białka na działanie urikazy. Ogólna objętość 100 cm<sup>3</sup>.  
Action du blanc d'oeuf sur l'uricase. Volume total 100 cm<sup>3</sup>.

Kwas moczowy dodany w % Acide urique en % au commencement de l'expérience	Ilość białka w g Quantité de blanc d'oeuf coagulé en g	Znaleziono kwasu moczowego po 12 g. w O <sub>2</sub> , w % Acide urique trouvé après 12 h. dans O <sub>2</sub> en %			
		Roztwór wodny bez białka Solution aqueuse sans blanc d'oeuf	W obecności białka w roztworach En présence de blanc d'oeuf dans les solutions		
			wody H <sub>2</sub> O	alkohol propylowy alcool propylique	alkohol butylowy alcool butylique
0·6	30	0·22	0·25	0·22	0·21
0·6	30	0·24	0·27	—	—
0·6	15	0·22	0·23	0·21	0·21
0·6	15	0·24	0·25	—	—
0·3	30	0·11	0·13	0·10	0·10
0·3	15	0·11	0·11(5)	0·11	0·10(5)

## 2. Białko w roztworze.

Badając kinetykę działania urikazy w roztworach z białkiem rozpuszczonym, otrzymuje się obraz zupełnie podobny. Różnice w stosunku do roztworu, nie zawierającego białka, wynoszą zaledwie 3 — 5%. I tu alkohole zaledwie nieznacznie zwiększają działanie urikazy w roztworze z białkiem (tab. XVII).

Z powyższego zestawienia wynika, że jeśli chodzi o białko komórkowe, urikaza jest bardzo słabo hamowana przez strukturę, co pochodzi z nieznacznego stopnia adsorpcji kwasu moczowego. Badania, wykonane na miazdze z wątrób bydła rogatego i z całych żab, wykazały, że w ten sposób przygotowana treść komórki adsorbuje również tylko nieznaczne ilości kwasu moczowego (tab. XVIII).

<sup>1)</sup> Doświadczenia wykonano wyłącznie na preparacie nieoczyszczonym.

Dalej — miazga inaktywowana, ogrzewana przez 10' do 100°, także tylko nieznacznie hamuje działanie urikazy. Mimo więc, że wniosku tego nie można uogólniać, wydaje się rzeczą wielce

Tabela XVII.

Wpływ białka na działanie urikazy. Ogólna objętość 100 cm<sup>3</sup>.  
Action du blanc d'oeuf sur l'uricase. Volume total 100 cm<sup>3</sup>.

Kwas moczowy do- nany, w %.	Acide urique au commencement de l'expérience, en %.	Ilość białka w g Blanc d'oeuf en gr.	Znaleziono kwasu moczowego po 12 g. w O <sub>2</sub> w %		Różnica w % Difference en %
			Acide urique en % trouvé après 12 h. O <sub>2</sub> dans les solutions.		
			Roztwór z białkiem. de blanc d'oeuf	Roztwór bez białka. sans blanc d'oeuf	
0·8		15	0·355	0·340	4·6
0·8		30	0·362	0·340	6·6
0·6		15	0·240	0·230	4·3
0·6		30	0·257	0·230	10·9

prawdopodobną, że istniejąca w ustroju struktura tylko nieznacznie hamuje działanie urikazy. Narkotyki przeto tylko bardzo nieznacznie mogą potęgować rozpad kwasu moczowego in vitro.

Tabela XVIII.

Adsorbcja kwasu moczowego na tkankach.  
Adsorption de l'acide urique sur les tissus.

Roztwór kwa- su moczowego dodany w %	Ilość tkanki dodana w g	% kwasu mocz- owego dodanego zadsorbowany	U w a g i
Solution d'a- cide urique en %	Poids des tissus en gr.	% d'acide uri- que adsorbé	N o t e s
0·50	10	7·0	Miazga świeża 15° bez tlenu. Żaby całe. Tissus broyés, 15°, sans O <sub>2</sub> . Grenouilles entières.
0·50	20	12·0	
0·25	10	8·0	
0·25	20	13·1	
0·60	10	6·6	
0·60	20	12·8	"
0·50	10	6·3	Miazga żab ogrzana przez 10' do 100°. Tissus broyés de grenouilles, chauffés à 100° pendant 10'.
0·50	20	8·2	
0·25	10	7·9	
0·25	20	10·1	
0·60	10	5·4	
0·60	20	7·2	

Nie przesądza to bynajmniej możliwości działania czynników strukturalnych lub katalitycznych, aktywujących urikazę w komórkach żywych.



### Streszczenie.

Analiza działania urikazy w środowisku jednorodnym, oraz w obecności adsorbentów, stwarzających wielofazowość, dała wyniki następujące.

1°. Adsorbent obojętny, nie działający chemicznie na substancję badaną (węgiel bez metali) i adsorbujący kwas moczowy i urikazę, nie przyspiesza działania urikazy, lecz odwrotnie — osłabia to działanie przez zmniejszenie stężenia kwasu moczowego w roztworze. Alkohole propylowy i butylowy, eluujące z węgla tylko kwas moczowy, nie eluujące zaś enzymu, przyspieszają jego rozpad przez zwiększenie stężenia kwasu w roztworze.

2°. Adsorbent czynny (węgiel zwierzęcy, zawierający żelazo), rozkładający kwas moczowy w tlenie, zachowuje się bardzo podobnie. Suma rozpadu kwasu moczowego w układzie [C—Fe, U. urikaza] jest większa niż w układzie [U. urikaza]. Działanie jednak samej urikazy jest w układzie z węglem słabsze, niż w środowisku jednofazowym.

Rozpad kwasu moczowego w układzie [C—Fe, U. urikaza] jest sumą arytmetyczną działania urikazy i C—Fe, pracujących zupełnie niezależnie od siebie, przyczem działanie urikazy zależy od stężenia kwasu moczowego w roztworze, zaś działanie C—Fe jest zależne od stężenia kwasu zadsorbowanego na powierzchniach utleniających. Podobne warunki otrzymano, pracując przy bardzo różnych nasyceniach tlenem.

Alkohole w układzie z C—Fe przyspieszają rozpad kwasu moczowego pod wpływem urikazy, zmniejszają rozpad pod wpływem C—Fe.

3°. Adsorbent, stwarzający nową fazę, który wiąże niemal wyłącznie enzym i adsorbuje zaledwie małe ilości kwasu moczowego (6%, białko ścięte), tylko nieznacznie hamuje działanie urikazy (o 4—9%).

4°. Ten sam adsorbent w roztworze (białko rozpuszczone) hamuje działanie urikazy jeszcze mniej, bo o 3—5%.

5°. Wnosić można, że białka wewnątrzkomórkowe również tylko nieznacznie winny hamować działanie urikazy.

Przemawia za tem mała adsorbacja kwasu moczowego w miazgach z tkanek (wątroby cielęce i żaby całe) oraz nieznaczne hamowanie działania urikazy przez miazgę inaktywowaną.

## Piśmiennictwo.

**Lesser E. und Grode.** 1913. Über die Wirkung der diastatischen Fermente auf das Glikogen innerhalb der Zelle. *Zeitschr. f. Biol.* **60** (371). **Przyłęcki St. J.** 1925. La dégradation de l'acide urique chez les Vertébrés. I. *Arch. intern. de Physiol.* **24**<sub>3</sub>(237). **Przyłęcki St. J.** 1927. La réversibilité des réactions enzymatiques. *Ann. de Physiol.* **4** (381 i 519). **Przyłęcki St. J. and J. Niedźwiecka.** 1927. Structure and enzyme reactions. I—II. *Bioch. Journ.* **21** (1025). **Przyłęcki St. J. and J. Niedźwiecka.** 1928. Structure and enzyme reactions. III. *Bioch. Journ.* **22** (w druku). **Warburg O.** 1923. Über Oberflächenreaktionen in lebenden Zellen. *Jahresb. ges. Physiol. u. exp. Pharmak.* **1** (136). **Willstätter R., Waldschmidt, Leitz E., Memmen F.** 1923. Bestimmung der pankreatischen Fettspaltung. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **125** (93). **Zylbertal S.** Rozpad kwasu moczowego pod wpływem różnych preparatów węgla (w druku).

[Zakład Genetyki Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego]

E. Malinowski.

**Hipoteza powinowactwa chromosomów.**

*The hypothesis of chromosome affinity.*

Rękopis nadesłany w dniu 28. II. 1928 r.

In this paper I give some evidence for the possibility of a chromosome exchange between two groups of linked chromosomes. In one of my former papers ('27) I suggested that some phenomena of non-appearance of parental types in the  $F_2$  generation (the so called Wichura-type of segregation) may be explained in this way. The evidence which I give at present in favour of this supposition concerns several cases of non-appearance of the pure parental types in  $F_2$  of the crosses *Triticum durum*  $\times$  *Tr. polonicum*. I observed in  $F_2$  of these crosses a segregation into three types namely *polonicum*, intermediate and *durum* in the proportion of 1:2:1. The *polonicum* and intermediate plants of  $F_2$  taken together are three times more numerous than the *durum* plants of the same  $F_2$  generation (tab. I, p. 6).

I assume that the essential characters of the *durum* type as well as those of the *polonicum* type are located in several chromosomes which are linked owing to an affinity between these chromosomes. For that reason we observe a simple mendelian ratio 3:1 between two compounds of characters in respect of which two species of wheat differ from one another. But the *durum* type as well as the *polonicum* type which appear in the  $F_2$  generation are not pure. All individuals of the *durum* type are „contaminated“ with some *polonicum* characters like the hooked glume teeth, short *compactum* like ears (the parental *polonicum* belonged to the variety *compactum*) and so on. All individuals of the *polonicum* type on the other hand exhibit

some *durum* characters like straight glume teeth, strong keel and long ears. Fig. 1, p. 8 shows some spickelets and glumes of two parental species (*Tr. durum*, fig. 1, *a, b, c* and *Tr. polonicum*, fig. 1, *d, c, f, g*) and besides some spickelets and glumes of *polonicum* (fig. 1, *m—w*) and *durum* (fig. 1, *h—l*) of the  $F_2$  generation. The reciprocal contamination of two types with definite characters seems to be due to a chromosome exchange. Some chromosomes of each of two species pass, from one chromosome group to another owing to a difference in degree of affinity. I suggest that some chromosomes of the *polonicum* compound possess greater affinity with the *durum* compound and therefore they pass together with those chromosomes to one pole of the dividing cell. And also some chromosomes of the *durum* compound are conveyed, after my hypothesis, to the *polonicum* compound by an unknown cause which I call chromosome affinity.

---

Teorja MORGANA stoi na stanowisku niezaleźności chromosomów. Cytologowie również naogół uważają, że chromosomy są od siebie niezaleźne i w okresie podziałów redukcyjnych rozmieszczają się na biegunach zaleźnie od przypadku. Ci, którzy zadawali sobie trud liczenia rónych kombinacyj chromosomów (naprz. Miss CAROTHERS), stwierdzili, że wszystkie kombinacje są jednakowo spolite.

Jednak moźliwość sprzężenia chromosomów jest wysuwana od niedawna w literaturze cytologicznej. O ile mi wiadomo, R. GATES ('20) był pierwszym cytologiem, który zwrócił uwagę na zlepianie się pewnych niehomologicznych chromosomów i przechodzenie ich razem na jeden biegun w okresie podziałów redukcyjnych. Jest rzeczą waźną, że w okresie podziałów somatycznych takiego zlepiania nie obserwuje się. Praca GATESA dotyczyła rodzaju *Lactuca* i została ogłoszona w r. 1920. SCHRADER

w r. 1923 wykazuje, że u niektórych gatunków *Pseudococcus* występują dwie grupy chromosomów, które można obserwować przez cały okres podziałów redukcyjnych. Grupy te są niejako odrębnymi jednostkami. Chromosomy jednej grupy kierują się wszystkie na ten sam biegun.

W tych dwóch pracach niema jeszcze wyraźnie mowy o powinowactwie chromosomów. Praca SCHRADERA komplikuje do pewnego stopnia to zagadnienie, gdyż każda z dwóch grup chromosomów u *Pseudococcus* różnicuje się w innym czasie („in the prophases of the first spermatocytes . . . five chromosomes are evolved considerably in advance of the remaining five chromosomes“).

Zagadnienie powinowactwa chromosomów zostało wysunięte wyraźnie ze strony genetyków.

Pierwsze argumenty genetyczne, przemawiające za istnieniem powinowactwa chromosomów, zostały podane w r. 1925 przeze mnie i przez RENNERA.

Istnieją kompleksy cech, które rozpadają się na elementy tylko w pewnych krzyżówkach. W innych zaś rozpadowi nie podlegają. To zjawisko właśnie obserwował RENNER ('25) i było ono punktem wyjścia jego przypuszczenia co do sprzężenia („Koppelung“) chromosomów. Argumentom RENNERA możnaby przeciwstawić obserwowane przez STURTEVANTA i PLUNKETTA ('26) zjawisko braku „crossing-over“ między homologicznymi chromosomami w przypadku, gdy jeden z nich posiada odwrócony segment. Z obserwacji tych autorów wynika, że dwa chromosomy normalnie wymieniające między sobą cechy („crossing-over“) nie wymieniają ich w pewnych określonych przypadkach. Zachodzi więc tu zjawisko analogiczne do tego, jakie obserwował RENNER, lecz nie wymaga ono do swego wyjaśnienia pomocy hipotezy powinowactwa chromosomów. Aby dowieść, że to powinowactwo wchodzi rzeczywiście w grę, trzeba wykazać, że kompleksy cech, o których mówi RENNER, ulokowane są nie w jednym lecz w kilku chromosomach. Ten ostatni argument w odniesieniu do mieszańców pszenicy podałem w swych pracach z r. 1925. Poza tem, przytoczyłem inne jeszcze dane, które za powinowactwem chromosomów przemawiają. Powtórzyłem te argumenty w swej pracy z r. 1926, opierając je na szerszych podstawach eksperymentalnych. Załączam tu zestawienie argumentów RENNERA i swoich.

## Argumenty RENNERA z r. 1925.

1<sup>o</sup>. Gdyby wszystkie cechy wchodzącego w grę kompleksu znajdowały się w jednym chromosomie, wówczas ten chromosom byłby bardzo długi.

2<sup>o</sup>. Kompleks cech, o którym mowa, w niektórych krzyżówkach rozpada się na elementy, a w innych cechy pozostają sprzężone.

## Moje argumenty z r. 1925.

1<sup>o</sup>. W poszczególnych kompleksach cech, które w grę wchodzi, zawarte są prawie wszystkie cechy kłosów odpowiednich gatunków pszenicy. Jest więc nieprawdopodobne, aby wszystkie te cechy znajdowały się w jednym chromosomie.

2<sup>o</sup>. Kompleksy cech, o których mowa, rozpadają się w niektórych krzyżówkach na elementy, a w innych cechy pozostają sprzężone.

3<sup>o</sup>. Poszczególne kompleksy cech są związane zawsze z określoną liczbą chromosomów. Wynika z tego, że nie tylko jakość, lecz i liczba chromosomów jest warunkiem wystąpienia określonego kompleksu cech. Każdy kompleks jest więc uzależniony również od liczby chromosomów.

4<sup>o</sup>. Wyniki krzyżówek, wykonanych między pięciu gatunkami pszenicy, mieszczą się w ramach schematu, dotyczącego składu genetycznego tych gatunków i wprowadzonego na podstawie hipotezy sprzężenia chromosomów.

Stoję na tym stanowisku, że w pszenicy istnieją grupy chromosomów, sprzężonych skutkiem istnienia między nimi powinowactwa lub może—skutkiem istnienia powinowactwa między nimi a biegunami. Dane genetyczne, jakimi rozporządzam, nie pozwalają zdecydować z jakim z tych dwóch zjawisk mamy do czynienia. Jest to jednak rzeczą obojętną, jeśli chodzi o efekt zewnętrzny. Powinowactwo może być silniejsze lub słabsze. Cechy gatunkowe pszenicy ulokowane są w kilku chromosomach sprzężonych. Poza ową zasadniczą grupą silnie sprzężonych chromosomów i mieszczącą charakterystyczne cechy gatunku istnieją chromosomy mniej silnie z tamtymi sprzężone lub też całkowicie od tamtych niezależne.

Ze strony cytologicznej hipoteza powinowactwa chromosomów została wyraźnie poparta w r. 1926 przez METZA i CLELANDA.

METZ ('26) obserwował u *Sciara* w okresie pierwszego podziału spermatocytów zjawiska przechodzenia określonych chromosomów na jeden biegun. Według tego autora, chromosomy maceczne przechodzą do jednego jądra pochodnego, a ojcowskie— do drugiego.

W tym samym czasie CLELAND ('26) na podstawie swych badań cytologicznych nad *Oenothera* dochodzi do wniosku, że każdy chromosom prawdopodobnie posiada pewien rodzaj powinowactwa z jednym z biegunów. Wynik jest taki sam, jak gdyby chromosomy były ze sobą powiązane.

W pracy niniejszej podaję fakty, które rozszerzają hipotezę powinowactwa chromosomów, pozwalając jej objąć jednym schematem zjawiska, pozornie nie mające ze sobą nic wspólnego. Wydaje mi się rzeczą możliwą pomieszczenie w ramach tej hipotezy zjawisk zanikania typów rodzicielskich w drugim pokoleniu mieszańców. Są to zjawiska pospolite, dla których nie było wytłumaczenia w ramach dotychczasowych schematów genetycznych. Już w swej pracy z r. 1927 zwróciłem uwagę na możliwość wyjaśnienia tych zjawisk przy pomocy rozszerzonej teorii powinowactwa chromosomów. Lecz wówczas operowałem w swych rozważaniach teoretycznych materiałem cudzym. Materiał ten przytem dotyczył cech ilościowych, więc trudnych do wyodrębnienia. Obecnie posiadam materiał własny, który zdaje się wyraźnie wskazywać na możliwość przechodzenia na stałe niektórych chromosomów z jednej grupy do drugiej i skutkiem tego— również na możliwość nie pojawiania się w drugim pokoleniu mieszańców czystych typów rodzicielskich.

Po skrzyżowaniu pszenicy *Triticum durum* z *Tr. polonicum* otrzymałem w  $F_1$  rośliny o kłosach luźnych lecz zbliżone bardziej do *polonicum*, jeśli chodzi o cechy dotyczące plew i kłosek.

*Tr. durum*, użyte do krzyżowania, pochodzi z Hiszpanii, gdzie znane jest pod nazwą *Medea*. Odmiana ta posiada kłosa luźne. Jej kłoski i plewy przedstawione są na rys. 1, *a, b, c*, (str. 8). Plewy posiadają ząb prosty i grzbiet wyraźnie zaznaczony.

*Tr. polonicum*, użyte do krzyżowania, posiada kłosa zbite. Plewy są tu długie o zębie zakrzywionym i pozbawione są grzebienia (rys. 1, *d, e, f, g*).

W drugim pokoleniu mieszańców, nastąpiło rozszczepienie

na trzy kategorie roślin, a mianowicie, na 1<sup>o</sup> rośliny typu *durum*, 2<sup>o</sup> rośliny pośrednie i 3<sup>o</sup> rośliny typu *polonicum*. Granica między kategorią 1-szą a 2-gą była wyraźna, natomiast trudno ją było przeprowadzić między kategorjami 2-gą a 3-cią. Stosunek liczbowy między osobnikami kategorii 2-ej i 3-ej, z jednej strony, a osobnikami kategorii 1-ej, z drugiej, wynosił—3:1. Na ogólną liczbę 1411 roślin  $F_2$  (pochodzących z 10-ciu krzyżówek) osobników typu *polonicum* i pośrednich było 1062, a roślin typu *durum* było 349. Dane liczbowe przedstawia załączona tabela I.

T a b e l a I.

<i>Triticum durum</i> × <i>Tr. polonicum</i>	Pokolenie drugie <i>The F<sub>2</sub> generation</i>	
	typ <i>polonicum</i> i pośrednie <i>polonicum type</i> <i>and int.</i>	typ <i>durum</i> <i>durum type</i>
1	153	43
2	126	46
3	55	30
4	91	35
5	74	24
6	149	40
7	88	27
8	61	26
9	164	46
10	101	32
Ogółem <i>Total</i>	1062	349
Teoretycznie <i>Expected</i>	1058,3	352,7
Stosunek <i>Ratio</i>	3	1

Zgodnie z mojem założeniem, przedstawionem w dawniejszych pracach, większość cech *polonicum*, zarówno jak i *durum*, ulokowana jest w kilku sprzężonych ze sobą chromosomach. Dzięki temu te dwa kompleksy cech przekazują się tak, jak gdyby były jednostkami i stąd otrzymujemy prosty mendlowski stosunek 3:1 w drugim pokoleniu mieszańców. Jednak bliższe wejrzenie w szczegóły odsłania pewne różnice między typem *durum* z  $F_2$  a *durum* rodzicielskim oraz między typem *polonicum* z  $F_2$  a *polonicum* rodzicielskim. Typ *durum* oraz typ *polonicum* z drugiego pokolenia mieszańców nie są identyczne z typami



rodzicielskimi. Typ *durum* z  $F_2$  jest zanieczyszczony niejako pewnymi cechami *polonicum* i, odwrotnie, typ *polonicum* z  $F_2$  zawiera pewne drobne cechy *durum*. Typy rodzicielskie w postaci czystej zupełnie nie występowały w drugim pokoleniu mieszańców. Ważniejsze różnice między typami rodzicielskimi a *polonicum* i *durum* z  $F_2$  podane są w załączonym zestawieniu.

*Triticum durum* rodzicielskie.

Kłos luźny  
Ząb plew prosty  
Plewa z wyraźnym grzebieniem  
Plewa zwęża się ku wierzchołkowi.

*Triticum durum* z  $F_2$ .

Kłos maczugowaty  
Ząb plew zagięty  
Plewa ze słabym grzebieniem  
Plewa nie zwęża się tak.

*Triticum polonicum* rodzicielskie.

Kłos zbity  
Ząb plewy zagięty  
Plewa bez grzebienia  
Plewa szeroka w części górnej.

*Triticum polonicum* z  $F_2$ .

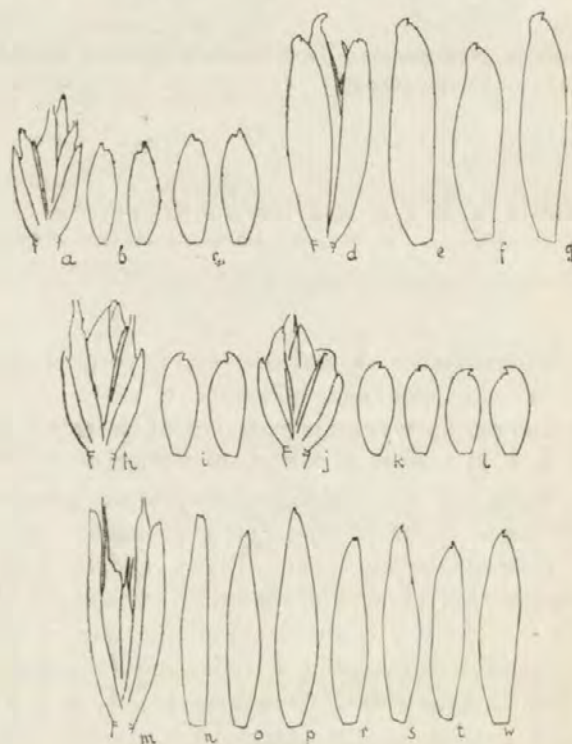
Kłos luźny lub lekko maczugowaty  
Ząb plewy prosty  
Plewa ze słabym grzebieniem  
Plewa zwężająca się ku wierzchołkowi.

Rys. 1 przedstawia kłoski i plewy typów rodzicielskich oraz typów drugiego pokolenia mieszańców.

Plewy *durum* są wyraźnie rozszerzone w części środkowej tarczy (rys. 1, *b*, *c*) i zwężają się ku obu końcom, t. zn. ku podstawie i ku wierzchołkowi. Zakończone są ostrym prostym zębem. Plewy opatrzone są dużym wystającym grzebieniem, czego jednak na rysunku przedstawić nie można. Plewy *polonicum* nie zwężają się w ten sposób, jak plewy *durum*, ku wierzchołkowi. W górnej części plewy widzimy zwykle zaokrąglony występ (rys. 1, *f*), którego nigdy nie obserwuje się u typowego *durum*. Ząb u plew *polonicum* jest zakrzywiony wyraźnie (rys. 1, *e*, *f*, *g*). Plewy pozbawione są grzebienia, charakterystycznego dla *durum*. W  $F_2$ , jak już zaznaczyłem, wystąpił zarówno typ *polonicum*, jak i *durum*, lecz oba nieco zmienione. Kłoski i plewy tych dwu typów przedstawione są na rys. 1, *h*—*w* tak, jak one wyglądają w  $F_2$ .

Plewy typu *durum* z  $F_2$  posiadają ząb zakrzywiony, i w górnej ich części można zauważyć często występ boczny zaokrąglony, charakterystyczny dla *polonicum*, który sprawia, że tarcza plewy nie zwęża się równomiernie ku wierzchołkowi. Dzięki temu plewy upodabniają się nieco do gatunku *Tr. dicoccum*. W związku

z tem i kłoski przybierają postać zbliżoną do kłosek *Tr. dicoccum* (rys. 1, *j, k*). To też niektóre osobniki  $F_2$  wyraźnie odchylają się od czystego typu *durum* w kierunku typu *dicoccum*. Wynika z tego, że czyste *polonicum* zawiera niektóre elementy *dicoccum*. Do wniosku tego doszedłem również na podstawie wyników innych krzyżówek gatunkowych, między innymi — *Tr. polonicum* × *Tr. Spelta*. Kłos typu *durum* z  $F_2$  jest przeważnie maczugowaty lub zbity. Wyjątkowo spotykamy kłosy luźne.



Rys. 1.

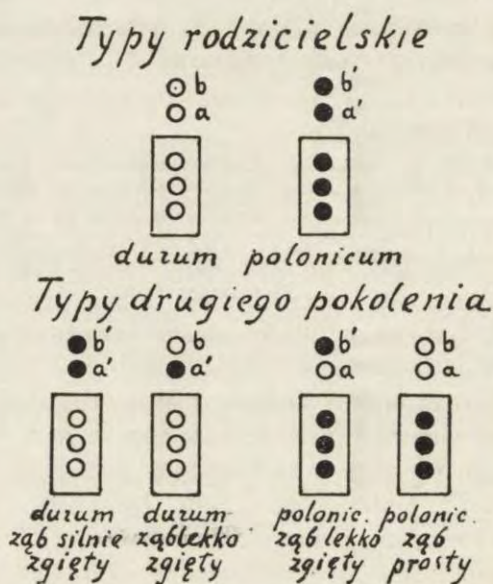
Plewy typu *polonicum* z  $F_2$  są zwykle węższe, niż czystego *polonicum*, wyraźnie swężają się ku wierzchołkowi (rys. 1, *n, o, p*), ząb posiadają prosty (rys. 1, *n, p*) lub słabo zagięty (rys. 1, *s, t, w*). Pozatem wszystkie plewy posiadają grzebień wyraźnie zaznaczony na całej długości grzbietu. Kłosy są tu przeważnie bardzo długie, luźne, niekiedy nieco krótsze, maczugowate, ale nigdy zbite, jak u czystego typu rodzicielskiego.

Na załączonych tu rysunkach, dotyczących  $F_2$ , wyraźnie widać niektóre cechy *polonicum* w plewach *durum* i odwrotnie.

W obrębie zarówno typu *polonicum*, jak i *durum*, otrzymanych w drugim pokoleniu mieszańców, występuje większa zmienność, niż w obrębie czystych typów rodzicielskich. Tak naprz., u roślin  $F_2$  w obrębie typu *polonicum* ząb plew może być zupełnie prosty lub zgięty (nigdy jednak tak silnie, jak u czystego *polonicum*). Ta ostatnia cecha (rys. 1, *t*, *w*) występuje jednak bardzo rzadko, mniej więcej w 5% przypadków. Podobnie też u roślin  $F_2$  w obrębie typu *durum* ząb może być silnie zgięty lub prawie prosty, i w tym ostatnim przypadku przypomina wyraźnie czysty typ *durum*. Te ostatnie przypadki jednak są równie rzadkie, jak lekko zgięte zęby *polonicum* z drugiego pokolenia mieszańców.

Wynikałoby z tego, że zgięcie zęba jest uzależnione od większej, niż jeden, liczby czynników, ułożonych w większej, inż jeden, liczbie chromosomów. Przypuśćmy, że istnieją dwa takie chromosomy. Przechodzenie tych chromosomów z jednego kompleksu do drugiego jest przedstawione schematycznie na rys. 2. Kompleksy chromosomów, nie ulegające rozbięciu, otoczone są na tym schemacie czworobokami. Chromosomy spowinowaczone z temi kompleksami oznaczone są kółkami białymi i czarnymi. Wskutek silniejszego powinowactwa chromosomów *a* i *b*, oznaczonych białymi kółkami (rys. 2), z kompleksem *polonicum*, niż z kompleksem *durum*, „białe” chromosomy łączą się z kompleksem *polonicum* w drugim pokoleniu mieszańców. Z tego samego powodu chromosomy *a'* i *b'*, oznaczone czarnymi kółkami (rys. 2), łączą się w  $F_2$  z kompleksem *durum*. Rodzicielskie połączenia nie występują zupełnie. Mogą też wchodzić w grę chromosomy, których powinowactwo z jednym z kompleksów, względnie z jednym z biegunów, jest nieznacznie silniejsze od powinowactwa z drugim kompleksem, względnie z drugim biegunem. W takich przypadkach chromosomy te przechodzą przeważnie (naprz. w 95% przypadków) na biegun, z którym łączy je silniejsze powinowactwo, lecz niekiedy (naprz. w 5% przypadków) pozostają razem z kompleksem, z którym są słabiej spowinowaczone. W ten sposób moglibyśmy wyjaśnić dużą stosunkowo różnorodność w obrębie zarówno typu *polonicum*, jak i *durum*, w drugim pokoleniu mieszańców.

Hipoteza powinowactwa chromosomów znajduje się w zaczątkach. Odsłania ona ciekawe perspektywy zarówno w genetyce, jak i w cytologii. Jak wiele teoryj, powstała ona w postaci mniej lub więcej skryzalizowanej w umysłach szeregu badaczy w jednym mniej więcej okresie czasu. BATESON w ostatniej swej pracy ('26) wysunął również tę hipotezę w odniesieniu do niektórych odchylających się od prawa MENDLA przypadków rozszepienia, między innymi—w odniesieniu do wyników krzyżówek



Rys. 2.

W. H. GATESA ('26) nad myszami, GOODSPEEDA nad tytoniem i t. p. W pracy tej, poświęconej głównie odchyleniom od normalnych mendlowskich stosunków, BATESON zwraca również uwagę na stosunek 1:1 między typem pośrednim a jednym z rodzicielskich przy niepojawieniu się drugiego, lub na stosunek 2:1 między typami rodzicielskimi w  $F_2$ . Nie wiąże jednak tych odchyleń z hipotezą powinowactwa chromosomów. Nie jest wykluczone, że z pomocą wysuniętego przeze mnie przypuszczenia eo do możliwości przechodzenia na stałe chromosomów z jednej

grupy sprzężonych chromosomów do drugiej możnaby również wyjaśnić i te ostatnie odchylenia.

Przypuścmy, że dwa czynniki  $A$  i  $B$  wywołują barwę czerwona. Te dwa czynniki ulokowane są w dwóch chromosomach sprzężonych ze sobą. Po skrzyżowaniu osobnika czerwonego ( $AB$ ) z białym ( $ab$ ) otrzymamy  $F_1$  o składzie genetycznym  $AaBb$ . Osobniki  $F_1$  będą czerwone, gdyż  $A$  i  $B$  są czynnikami panującymi. Jeżeli powinowactwo pomiędzy chromosomami  $A$  i  $b$  jest większe, niż pomiędzy  $A$  i  $B$ , otrzymamy w  $F_1$  dwa typy gamet, mianowicie  $Ab$  i  $aB$ , a w  $F_2$  wystąpią połączenia  $AAbb$  (białe):  $AaBb$  (czerwone):  $aaBB$  (białe) w stosunku 1:2:1. Liczba osobników białych będzie równa liczbie czerwonych i w ten sposób zamiast oczekiwanego stosunku 3 czerwone:1 biała, otrzymamy stosunek 1 czerwona:1 biała.

Przypuścmy następnie, że czynniki  $A$  i  $B$  nie są panujące i że  $F_1$  jest pośrednie w stosunku do barwy. Wówczas w  $F_2$  zamiast osobników czerwonych i białych w stosunku 1:1 otrzymamy pośrednie i białe w stosunku 1:1. W tym przypadku osobniki czerwone nie wystąpią zupełnie w drugim pokoleniu mieszańców.

#### Piśmiennictwo.

- Bateson W.** 1926. Segregation. Journ. Genetics. 16 (201). **Cleland R. E.** 1926. Meiosis in the pollen mother cells of *Oenothera biennis* and *Oenothera biennis sulfurea*. Genetics. 11 (127). **Gates R. R.** 1920. A preliminary account of the meiotic phenomena in the pollen mother-cells and tapetum of Lettuce. Proc. Roy. Soc. B. 91 (13). **Gates W. H.** 1926. The Japanese waltzing mouse: its origin, heredity and relation to the genetic characters of other varieties of mice. Carn. Inst. Wash. Publ. № 337. **Malinowski E.** 1925. Sur les phénomènes de linkage d'ordre supérieure. Comp. Rend. Soc. Biol. Paris. 93 (1395). **Malinowski E.** 1925. Zjawiska sprzężenia u pszenicy. Roczniki Nauk Rolniczych (1). **Malinowski E.** 1925. Les phénomènes de linkage qui ne peuvent pas être expliqués par la théorie de Morgan. Acta Soc. Bot. Poloniae. 3 (283). **Malinowski E.** 1926. Linkage phenomena in wheat. Journal Genetics. 17 (157). **Malinowski E.** 1927. The hypothesis of chromosome affinity and the suppression of characters on crossing. Journal Genetics. 18 (223). **Metz, Chas W.** 1926. Genetic evidence of a selective segregation of chromosomes in *Sciara* (Diptera). Proc. National Acad. Sc. Washington. 12 (690). **Metz, Chas W., Moses M. S., Hoppe E. N.** 1926. Chromosome behavior and genetic behavior in *Sciara* (Diptera). Zeitschr. ind. Abst. Vererb. 42

- (237). **Renner O.** 1925. Untersuchungen über die faktorielle konstitution einiger komplexheterozygotischer *Oenotheren*. *Bibliotheca Genetica*. **9** (152). **Schrader F.** 1923. A study of the chromosomes in three species of *Pseudococcus*. *Archiv. f. Zellforschung*. **17** (120). **Sturtevant A. H. and Plunkett C. R.** 1926. Sequence of corresponding third-chromosome genes in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans* *Biol. Bulletin*. **50** (56).

[Zakład Fizjologii i Nauki Żywnienia Zwierząt Uniwersytetu Jagiellońskiego]

F. Rogoziński i M. Starzewska.

**O trawieniu ligniny przez zwierzęta przeżuwające.**

*Sur la digestion de la lignine par les ruminants.*

Rękopis nadesłany w dniu 25. I. 1928.

Le résultat de nos recherches peut être résumé de la manière suivante:

1. Faute de méthodes appropriées pour le dosage exact de la lignine comme telle, on ne saurait actuellement se prononcer d'une manière définitive et générale quant à la digestibilité ou non digestibilité de la lignine dans l'économie animale.

2. L'examen approfondi des fèces et de leur teneur en groupes méthoxyle dans des expériences respectives semble indiquer que la lignine contenue dans la paille BECKMANN et la lignine isolée selon M. BECKMANN sont totalement ou à peu près indigestibles dans l'économie des ruminants.

---

Chemja ligniny była w ciągu ostatnich lat kilkunastu przedmiotem licznych badań. Zastanawiano się obszernie nad pytaniami, czy ligninę należy uważać za mieszaninę różnych ciał, czy też za ciało chemicznie jednorodne, czy zaliczać ją do substancyj alifatycznych czy też aromatycznych, jaki jej przypisać ciężar cząsteczkowy i jaką konstytucję chemiczną.

Jakkolwiek wiele punktów pozostało dotychczas spornych lub niewyjaśnionych, trzeba przyznać, że natura chemiczna ligniny została dzięki nowszym badaniom w znacznej mierze wy-

jaśniona (FUCHS '26). Tembardziej dziwnem musi się wydać, iż tak mało dotąd zastanawiano się nad właściwościami fizjologicznymi ligniny, w szczególności nad jej zachowaniem się w wymianie zwierzęcej. A zasługuje tu ona na uwagę z różnych powodów: z jednej strony, stanowi lignina w pożywieniu zwierząt roślinożernych pokazny ilościowo składnik i dlatego rozstrzygnięcie pytania, czy należy jej przypisywać własności odżywcze, czy też uważać ją za bezużyteczny balast, nie może być dla fizjologii odżywiania tych zwierząt obojętne; z drugiej strony — przypisywano ligninie niejednokrotnie, chociaż bez dostatecznego uzasadnienia, rolę w powstawaniu jednego z najważniejszych azotowych produktów wymiany zwierząt roślinożernych, mianowicie kwasu hipurowego (KÖNIG i BECKER '19).

Probowaliśmy niedawno ('26) wyjaśnić tę kwestję. Na podstawie analizy moczu barana, żywionego w różnych okresach doświadczenia bądź słomą zwykłą, bądź słomą preparowaną metodą BECKMANNA ('21), a więc pozbawioną częściowo ligniny, bądź wreszcie słomą preparowaną z dodatkiem ligniny, doszliśmy do wniosku, że wbrew dawnemu pogładowi nie można uważać ligniny za substancję macierzystą kwasu hipurowego, wydalanego w moczu przez zwierzę przeżuujące.

Materiał zebrany w powyższym doświadczeniu, może być jednak zużytkowany i w inny jeszcze sposób. Bliższe zbadanie kału, wydalanego przez badane zwierzę w niektórych okresach doświadczenia, rzuca pewne światło na kwestję, czy lignina wogóle ulega trawieniu w przewodzie pokarmowym przeżuwacza.

Zanim przejdziemy do szczegółowego rozpatrzenia naszych spostrzeżeń, przedstawimy w krótkości wyniki dotychczasowych prac, poświęconych temu przedmiotowi. Sprawą strawności ligniny zajmował się pierwotnie KÖNIG ze swymi współpracownikami ('07, '19). W badaniach swych używał on królików, świń i baranów. Wyniki otrzymywał bardzo chwiejne, nie uprawniające do stanowczych wniosków. Przytem, jak słusznie zaznacza HONCAMP ('21), przeciwko doświadczeniom KÖNIGA można podnieść szereg poważnych zarzutów metodologicznych: począćsi oznaczano w nich ligninę nie bezpośrednio, a tylko pośrednio przez obliczenie, począćsi używano do badań niezupełnie normalnych zwierząt, nie nadających się do tego celu.

Zdolnością trawienia ligniny przez zwierzę przeżuujące zajął się w dalszym ciągu HONCAMP ze współpracownikami. W dwu pracach ('21 a, b) zestawił on bardzo obfity materiał liczbowy, z którego wyciągnął już zupełnie stanowcze wnioski. Mianowicie, podług HONCAMP, lignina zawarta w różnych materiałach roślinnych ma być bardzo niejednakowo strawna:



lignina z siana i odpadków z nasion oleistych ma być strawna nawet w dosyć znacznej mierze; natomiast lignina ze słomy różnego rodzaju jest rzekomo całkowicie lub prawie całkowicie niestrawna. W ostatniej swej pracy w tym zakresie ('27) HONCAMP silnie podkreśla tę trudnostrawność ligniny, powołując się na badania KÖNIGA (07, '19), MAGNUSA ('19) i swoje własne. Niestety, w badaniach HONCAMP użyto do oznaczania ligniny w karmie i w kale metody niewłaściwej i dającej błędne wyniki, jak to postaramy się niżej uzasadnić. Dlatego też rezultatów, osiągniętych przez tego autora, nie można uważać za decydujące, a sprawę niestrawności ligniny za przesądzoną.

W tym stanie rzeczy każdy przyczynek, oparty na ścisłych wynikach doświadczalnych, może się przyczynić do wyjaśnienia kwestji; to nas zachęca do przedstawienia naszych spostrzeżeń. Będziemy posługiwali się w tym celu wynikami, uzyskanymi w drugiej serji naszych wspomnianych wyżej doświadczeń, w okresach 4, 5 i 6.

W każdym z tych okresów baran dostawał jednakową karmę podstawową, złożoną z 400 g suszonych ziemniaków, 140 g makucho lnianego, 6 g soli i 6 g popiołu z siana dziennie. Do tej karmy podstawowej dodawano ponadto w okresie 4 po 340 g słomy owsianej, preparowanej metodą BECKMANNA, w okresie 5 po 500 g słomy owsianej zwykłej, wreszcie w okresie 6 po 340 g słomy preparowanej oraz po 40 g ligniny, otrzymanej ze słomy owsianej według BECKMANNA ('21).

Każdy okres doświadczenia trwał dni 10; kał zbierano przez ostatnie pięć dni okresu, uważając pierwsze pięć dni za czas przejściowy. Preparat ligniny, używanej w naszym doświadczeniu, uzyskano w sposób następujący: 500 g siewki owsianej mieszano dokładnie z 4 litrami roztworu wodorotlenku sodowego o stężeniu 1.8% i pozostawiano na trzy doby w temperaturze pokojowej; po upływie tego czasu spuszczano wyciąg alkaliczny, zobojętniano go wobec lakmusu kwasem solnym i dodawano nadto tyle kwasu, aby zawartość jego wynosiła 2,5%. Mieszaninę ogrzewano do wrzenia, poczem umieszczano ją na dwie godziny w sterylizatorze, w strumieniu pary bieżącej. Po ostygnięciu oddzielano osad ligniny na pompie wodnej, przemywano go wodą i suszono w 100°. Preparat tak uzyskany jest proszkiem jasno brunatnym, zupełnie jednorodnym. Destylowany z kwasem solnym o c. g. 1.06 daje zaledwie ślady furfurołu, jest więc wolny od pentozanów.

Zbadanie analityczne preparatu dało następujące wyniki: popiołu znaleziono 0.64%; substancja sucha, wolna od popiołu

wykazała zawartość: węgla 62.42% i wodoru 6.25%. Wreszcie oznaczenie grup metoksylowych dało przeciętnie 12.11%. Tak w tym, jak i w innych przypadkach, wszystkie oznaczenia robione były podwójnie; podawane liczby są to przeciętne z dwu zgodnych oznaczeń.

Jak widać, preparat nasz zarówno pod względem składu elementarnego, jak i zawartości grup metoksylowych, zbliża się do preparatów ligniny, otrzymywanych przez innych autorów ze słomy roślin zbożowych.

Pogląd na strawność ligniny probowaliśmy uzyskać różnemi drogami. Pewne wskazówki w tym kierunku daje już samo porównanie ilości kału, wydalanego w okresie 4 i 6. W obu tych okresach, jak podaliśmy wyżej, racja karmowa podstawowa była zupełnie jednakowa, różnica polegała tylko na tem, że w okresie 6 baran dostawał, jako dodatek do karmy, po 40 g dziennie ligniny wyosobnionej. W ciągu ostatnich pięciu dni okresu skarmiono w ten sposób 200 g ligniny. Zawartość substancji suchej w kale, wydalonym w ciągu ostatnich pięciu dni okresu 4 (bez ligniny), była 1160.13 g; taż sama zawartość w kale z odpowiednich dni okresu 6 (z ligniną) wyniosła 1354.09 g. Jak widać, przyrost substancji suchej w kale z okresu 6 (193.96 g) odpowiada prawie zupełnie ilości skarmionej w tym czasie ligniny. Podobny wynik daje porównanie współczynników strawności substancji suchej w obu okresach. W okresie 4 współczynnik ten wynosił 70.99; w okresie 6 zmniejszył się znacznie, a mianowicie do 66.16. Jeżeli natomiast przyjmiemy, że lignina jest całkowicie niestrawna i odejmiemy skarmioną jej ilość od ilości substancji suchej w kale, to otrzymamy dla substancji suchej w pozostałej części karmy współczynnik 71.15, a więc ten sam, co w okresie 4.

Oba te fakty, przyrost substancji suchej w kale, odpowiadający ilości skarmionej ligniny, oraz zgodność współczynników strawności, gdy ligninę uważać będziemy za niestrawną, przemawiają silnie za tem, iż istotnie nie ulega ona trawieniu. Oczywiście jednak nie są to jeszcze dowody decydujące, a raczej wskazówki.

Próbowaliśmy w dalszym ciągu rozstrzygnąć postawione pytanie przez bezpośrednie oznaczenie ligniny w składnikach pożywienia i w kale. W badaniach nad chemją ligniny przyjęte jest otrzymywanie preparatów ligniny i oznaczanie jej ilościowe

przez działanie na pierwotny lub odtłuszczony materiał roślinny mocnymi kwasami, bądź wysoko stężonym kwasem solnym według WILLSTÄTTERA ('13), bądź też — 72% kwasem siarkowym, według metody, podanej przez KLASONA ('08, '23) oraz przez OSTA i WILKENINGA ('10). Obie te metody, jak to stwierdził KÖNIG ('14) w rozległych badaniach, dają naogół bardzo zgodne wyniki. W naszej pracy posługiwaliśmy się zawsze metodą OSTA i w dalszym ciągu pod ligniną według OSTA rozumieć będziemy preparaty, otrzymane przez działanie 72% kwasu siarkowego na pierwotny materiał.

Okazało się jednak rychło, że sposób ten, opracowany pierwotnie celem oznaczania ligniny w drewnie i dający tam istotnie pomyslnie rezultaty, nie może być bez zastrzeżeń stosowany do innego materiału roślinnego, a tem mniej do oznaczania ligniny w kale. Świadczy o tem bliższe zbadanie preparatów ligniny według OSTA, otrzymanych przez nas z siewki zwykłej, siewki ługowanej oraz kału z okresu 4, 5 i 6.

W siewce owsianej zwykłej, odtłuszczonej poprzednio, znaleźliśmy tą metodą przeciętnie 20.16% ligniny. Preparat bogaty w popiół (14.88%) zawierał w bezwodnej i bezpopielnej substancji:

59.73% C, 6.60% H, 1.61% N, 11.02%  $\text{OCH}_3$

Dla preparatu otrzymanego z siewki ługowanej, który zawierał 11.56% popiołu, a wynosił 15.64% siewki, znaleziono:

61.81% C, 7.11% H, 1.93% N, 10.61%  $\text{OCH}_3$ .

Jak widać, równoległe ze wzrostem azotu zmniejsza się w uzyskanych preparatach zawartość węgla, wzrasta zawartość wodoru, a przedewszystkiem obniża się ilość tak charakterystycznych dla ligniny grup metoksyłowych.

Samo działanie 72% kwasu siarkowego nie wywołuje odczepienia z ligniny grup metoksyłowych. Przekonaliśmy się o tem, poddając działaniu kwasu próbkę ligniny, wyosobnionej metodą BECKMANNA. Po upływie doby odzyskaliśmy użytą substancję w tej samej ilości, o niezmiennym składzie elementarnym i niezminionej zawartości grup metoksyłowych. Obniżenie ilości metoksyli w preparatach, otrzymanych według OSTA z siewki, należy więc tłumaczyć występowaniem w tych preparatach obok ligniny domieszek obcych, o odmiennym składzie chemicznym.

Jeszcze wyraźniej występuje ta zależność w preparatach,

otrzymanych według OSTA z kału, zebranego w okresach 4, 5, 6. Preparaty te zawierały:

13.49%, 13.65%, oraz 10.08% popiołu.

Skład substancji bezwodnej i bezpopielnej był następujący:

okres 4: 56.94% C, 6.69% H, 5.01% N, 7.16% OCH<sub>3</sub>

okres 5: 57.48% C, 6.58% H, 3.54% N, 7.54% OCH<sub>3</sub>

okres 6: 58.42% C, 6.91% H, 3.77% N, 8.40% OCH<sub>3</sub>

Przez działanie 72% kwasu siarkowego otrzymuje się zatem z kału zwierzęcia przeżuwającego preparaty o zmiennym składzie, bogate w azot, a zawierające mało metoksyli. Jeżeli obliczymy ilość ligniny w powyższych preparatach na podstawie zawartych w nich grup metoksylowych, to dojdziemy do wniosku, że blisko jedna trzecia do połowy przypada w nich na domieszki obce, nie mające z ligniną nic wspólnego. O tem samym zresztą świadczy i znaczna zawartość azotu.

Oczywiście w tych warunkach obliczenie strawności ligniny na podstawie oznaczenia według OSTA rzekomej „ligniny“ w karmie i w kale nie ma żadnego celu, to też nie podejmowaliśmy tego trudu.

Spostrzeżenia nasze dowodzą również, że nie mogły doprowadzić do pożądanego wyniku obliczenia strawności ligniny, przeprowadzone przez HONCAMPĄ i współpracowników ('21 b). Autorowie ci w długim szeregu doświadczeń oznaczali ligninę według OSTA i WILKENINGA zarówno w rozmaitych paszach (słomie, sianie, makuchach), jak i w wydalonym kale i na podstawie bilansów wyprowadzali wnioski co do strawności ligniny, zawartej w badanym materiale.

Oznaczenia rzekomej ligniny, robione w ten sposób, prowadziły niekiedy do wyników wręcz paradoksalnych, na co jednak autorowie, jak się zdaje, nie zwrócili uwagi.

I tak, znaleziono w słomie jęczmiennej 15,63% ligniny w substancji suchej, w makuchu lnianym zaś 18,04%, czyli znacznie więcej. Tymczasem wiadomo, że słoma jęczmienna zawiera około cztery razy więcej włókna surowego, niż makuch lniany, a zawartość ligniny we wszystkich materiałach roślinnych jest mniej więcej proporcjonalna do zawartości włókna surowego. Oddawna zresztą i zupełnie słusznie słoma zbożowa

uchodzi za materiał bogaty w ligninę, w przeciwieństwie do ubogich w nią makuchów.

Poddaliśmy wreszcie bliższemu zbadaniu produkt, otrzymany według OSTA z siana łąkowego.

HONCAMP znalazł w sianie 23.02% „ligniny“.

Pozostałość, otrzymana po działaniu kwasu, wyniosła w naszym doświadczeniu 26.63% siana pierwotnego; zawierała ona 9.07% popiołu. Znaleźliśmy zatem w naszym sianie 24.21% „ligniny“. Produkt uzyskany zawierał jednak 3.69% azotu, a zaledwie 5.45% grup metoksylowych.

Jak widać, uśiłowania nasze, zmierzające do wyosobnienia ligniny w czystym stanie z karmy i z kału i do oznaczenia w ten sposób jej strawności, doprowadziły do ujemnego wyniku. Zapomocą metod, jakie obecnie mamy do rozporządzenia, nie można wyosobnić czystej ligniny z różnych materiałów roślinnych, a tem mniej z kału zwierząt roślinożernych.

Podjęliśmy wobec tego próbę rozwiązania zagadnienia w sposób pośredni. Jak wiadomo, charakterystyczną cechą chemiczną ligniny jest obecność w niej grup metoksylowych, które w innych głównych składnikach materiału roślinnego, jak w białku, w tłuszczach i w węglowodanach, nie występują wcale lub prawie wcale. Te grupy metoksylowe możemy z całą dokładnością oznaczać zapomocą znakomitej metody, podanej pierwotnie przez ZEISSLA<sup>1)</sup>. Dokonałiśmy tych oznaczeń we wszystkich paszach, użytych w 4 i 6 okresie, oraz w kale, wydalonym w tych okresach. Oznaczenia w sieczce robione były makrochemicznie, w aparacie DECKERA ('03); w makuchu, ziemniakach suszonych, ligninie BECKMANNA oraz w kale z obu okresów oznaczano grupy metoksylowe podług doskonałej metody mikrochemicznej PREGLA ('23). Uzyskano następujące wyniki w procentach substancji wysuszonej na powietrzu:

Sieczka owsiana łągowana	2.05% OCH <sub>3</sub>
Makuch lniany	0.79% „
Ziemniaki suszone	0.35% „
Lignina Beckmanna	12.11% „
Kał z okresu 4	3.47% „
Kał z okresu 6	4.32% „

Na podstawie powyższych wyników można ułożyć bilans grup metoksylowych, pobranych i wydalonych w każdym z okresów doświadczenia.

<sup>1)</sup> Por. artykuł HERZIGA ('21).

Bilans ten przedstawia się jak następuje:

Okres 4.

Pobrano:

W 2000 g ziemniaków	7.00 g OCH <sub>3</sub>
W 700 g makucho lnianego	5.53 g "
W 1700 g szezki ługowanej	34.85 g "
	<hr/>
R a z e m	47.38 g OCH <sub>3</sub>

Wydalono:

W 1270 g kału	44.07 g OCH <sub>3</sub>
	<hr/>
Niedobór	3.31 g OCH <sub>3</sub> = 6.99 %

Okres 6.

Pobrano:

W 2000 g ziemniaków	7.00 g OCH <sub>3</sub>
W 700 g makucho lnianego	5.53 g "
W 1700 g szezki ługowanej	34.85 g "
W 200 g ligniny	24.22 g "
	<hr/>
R a z e m	71.60 g OCH <sub>3</sub>

Wydalono:

W 1480 g kału	63.94 g OCH <sub>3</sub>
	<hr/>
Niedobór	7.66 g OCH <sub>3</sub> = 10.70 %

Jak widać z powyższego zestawienia, odnaleziono w kale niemal w całości grupy metoksyłowe, podane zwierzęciu w karmie. Nieznaczny niedobór, który wynosił tu 7—10%, można łatwo wyjaśnić błędami koniecznymi, związanymi z samem doświadczeniem na zwierzęciu, w szczególności—trudnością uzyskania kału, dokładnie odpowiadającego podanej karmie.

Bilans grup metoksyłowych potwierdza więc nasze poprzednie przypuszczenie co do niestrawności ligniny, oparte na zmianach zawartości substancji suchej w kale i strawności substancji suchej w obu okresach doświadczenia. Dowodzi on nadto, że dopóki nie posiadamy dokładnej metody oznaczania ligniny jako takiej, oznaczanie grup metoksyłowych może oddać usługi w badaniu zachowania się tego ciała w wymianie zwierzęcej.

Z pracy naszej wyprowadzić można następujące wnioski:

1°. Z powodu braku odpowiednich metod do oznaczania ligniny jest obecnie rzeczą niemożliwą wydanie ogólnego sądu, czy lignina jest strawna, czy też niestrawna w ustroju zwierzęcym.

2<sup>o</sup>. Bliższe zbadanie w odpowiednich doświadczeniach kału i ilości znajdujących się w nim grup metoksylowych przemawia za tem, że lignina, zawarta w siewce ługowanej, oraz lignina, wyosobniona metodą BECKMANNA, jest dla zwierzęcia przeżuującego całkowicie lub prawie całkowicie niestrawna.

#### Piśmiennictwo.

**Beckmann E. u. O. Liesche.** 1921. Lignin aus Winterroggenstroh, Zeitschr. f. angew. Chemie. **34** (285). **Decker H.** 1903. Zur Praxis der Alkylbestimmungen. Ber. d. d. chem. Ges. **36** (2895). **Fuchs W.** 1926. Die Chemie des Lignins. **Herzig J.** 1921. Über Methoxyl- und Methylimidbestimmung. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, **1—3** (509). **Honcamp F.** 1927. Das Verfahren der Strohaufschliessung und der Nährwert des aufgeschlossenen Strohes. Cellulosechemie. **8** (81). **Honcamp F. u. F. Baumann.** 1921 a. Untersuchungen über den Futterwert des nach verschiedenen Verfahren aufgeschlossenen Strohes.—II Mitteilung. Landw. Versuchsst. **98** (1). **Honcamp F., O. Nolte u. E. Pommer.** 1921 b. Untersuchungen über den Futterwert des nach verschiedenen Verfahren aufgeschlossenen Strohes. IV. Mitteilung. Landw. Versuchsst. **98** (249). **Klason P.** 1908. Hauptversammlungsbericht der Zellstoff- und Papierchemiker (52), **Klason P.** 1923. Über den Ligningehalt des Fichtenholzes. Cellulosechemie. **4** (81). **König J. u. E. Becker.** 1919. Die Bestandteile des Holzes und ihre wirtschaftliche Verwertung. Zeitschr. f. angew. Chemie. **32** (155). **König J., A. Fürstenberg u. R. Murdfield.** 1907. Die Zellmembran und ihre Bestandteile in chemischer und physiologischer Hinsicht. Landw. Versuchsst. **65** (55). **König J. u. E. Rump.** 1914. Chemie und Struktur der Pflanzen—Zellmembran. **Magnus H.** 1919. Theorie und Praxis der Strohaufschliessung. **Ost H. u. L. Wilkening.** 1910. Die Verzuckerung des Zellstoffs. — Chemiker—Ztg. **34** (461). **Pregl F.** 1923. La Micro—analyse organique quantitative. **Rogoziński F. et M. Starzewska** — 1926. Sur l'origine de l'Acide hippurique éliminé dans les urines du ruminant. Bulletin de l'Ac. Pol. d. Sc. et d. L. Série B (157). **Willstätter R. u. L. Zechmeister.** 1913. Zur Kenntnis der Hydrolyse von Cellulose. Ber. d. d. chem. Ges. **46** (2403).





[Zakład Farmakologii Uniwersytetu Warszawskiego]

J. V. Supniewski.

**Związek między budową chemiczną i własnościami farmakologicznymi w grupie związków imidazolowych. I. Badania nad pochodnymi metylimidazolu.**

*The chemical constitution and the pharmacological properties of the methylglyoxaline compounds.*

Rękopis nadesłany w dniu 17. II. 1928.

In the present paper the pharmacological properties of some derivatives of 4-methylglyoxaline are described, in order to find the biological importance of different chemical groups attached to the carbon 4 — of the glyoxaline ring.

1°. Glyoxaline, glyoxaline aldehyde, methylglyoxaline alcohol, when injected intravenously, cause the increase of the blood pressure. The rise of the blood pressure is caused by the constriction of the blood vessels. Glyoxaline and methylglyoxaline produce the contraction of the isolated uterus of the guinea pig.

2°. Methylglyoxaline, when injected intravenously into the cat causes a decrease of the blood pressure and stimulates the respiratory movements. The decrease of the blood pressure depends from the dilatation of the intestinal (and renal) blood vessels. The isolated uterus of the virgin guinea pig is contracted by a solution 1/1000 of methylglyoxaline. The same solution does not contract the isolated intestines of the rabbit. Methylglyoxaline is a strong diuretic.

The pharmacological properties of 5-methyl-4-hydroxymethylglyoxaline are much like those of methylglyoxaline self.

3°. The intravenous injection of chlormethylglyoxaline stimulates the respiratory movements of the cat and causes a decrease of the blood pressure of this animal. This compound depresses the function of the cardiac muscle. The isolated uterus of the guinea pig is contracted by a solution 1/2000 of this compound.

4°. Aminomethylglyoxaline, when injected into the cat causes a small rise of the blood pressure. Aminomethylglyoxaline contracts the bronchial muscles „in situ“. This compound causes the contraction of the isolated uterus of the guinea pig and of the isolated intestines of the rabbit.

5°. Thionaminomethylglyoxaline when injected into the cat stimulates the respiration and causes a small decrease of the blood pressure. The function of the heart is depressed (cardiometer), the volume of the intestines and kidneys increased, the volume of the legs decreased. This compound does not contract the uterus of the guinea pig.

6°. Diethylaminomethylglyoxaline when injected intravenously causes a decrease of the blood pressure and stimulates the respiratory movements. This compound contracts the isolated uterus of the guinea pig.

7°. Piperidylmethylglyoxaline, when injected into the cat (0.003 gr/kg) causes a marked and strong fall of the blood pressure. The function of the heart is depressed (cardiometer), the volume of the legs, intestines and of the kidney is decreased. This compound is non toxic for the isolated hearts of frogs and of rabbits. The coronaries of the rabbit's heart are constricted, the blood vessels of the rabbit's legs are dilated.

Piperidylmethylglyoxaline contracts the isolated uterus of the virgin guinea pig, but does not contract the isolated intestines of the rabbit. After an intravenous injection of this compound the bronchioles of the cat are dilated. Piperidylmethylglyoxaline have no action on the bladder of the cat "in situ".

Piperidylmethylimidazol stimulates the respiratory movements of the cat. This compound is a strong diuretic.

8°. Without any pharmacological properties are: glyoxaline carbonic acid, glyoxaline dicarbonic acid and thionmethylglyoxaline.

Związki imidazolowe pełnią bardzo poważną rolę w procesach życiowych roślin i zwierząt. W każdej prawie komórce znajdują się białka, zawierające histydynę (4-imidazolalaninę), która jest substancją macierzystą innych związków imidazolowych, spotykanych w sokach tkankowych.

Zdaje się, że histydyna jest syntetyzowana w tkankach roślinnych z aminokwasu argininy, choć nie wyklucza to innych dróg biosyntezy pierścienia imidazolowego, jak np. drogą kondensacji powstałych z rozpadu węglowodanów gliksali i aldehydów z amoniakiem (WINDAUS i KNOOP '05), bądź też drogą kondensacji aminoheksos z kwasem siarkocjanowodorowym (PAULY i LUDWIG '22).

W państwie roślinnym spotykamy wielką różnorodność związków imidazolowych. Obok nieczynnych farmakologicznie związków z grupy betain histydynowych i ergotionein, spotykamy bardzo ważne z punktu widzenia farmakologicznego alkaloidy, jak np. pilokarpina i izopilokarpina.

Nie udało się stwierdzić, aby pierścień imidazolowy mógł być syntetyzowany w organizmach zwierząt wyższych. Niektóre kręgowce (ptaki, gady) posiadają zdolność syntezy związków purynowych bądź z ciał alifatycznych, bądź też z histydyny; w purynach zaś pierścień imidazolowy występuje w postaci skondensowanej z pierścieniem pirymidynowym.

W organizmie ssaków histydyna ulega daleko idącemu rozpadowi. W ustroju zwierząt roślinożernych rozkład ten odbywa się trudniej, niż u zwierząt mięsożernych. Normalny mocz zwierząt roślinożernych zawiera dość pokaźne ilości kwasów imidazolokarbonowych, wówczas gdy mocz psów, wkrótce po nakarmieniu dużymi ilościami histydyny, zawiera niewielkie ilości kwasu 4-imidazolakrylowego (kwasu urokaninowego—KATAKE i KONISHI '22, ENGLAND '08).

Inne związki imidazolowe ulegają w organizmie ssaków w mniejszym lub większym stopniu zupełnemu rozpadowi, aż do związków alifatycznych. Imidazol ulega rozpadowi w ilości 7%, 4-metylimidazol — 70%, kwas imidazolomleczny — 60% (LEITER '25, NOVELLO i SHERVIN '25).

Normalny mocz ssaków zawiera niewielkie ilości związków imidazolowych, z których część jest pochodzenia pokarmowego, część zaś jest produktem przemiany materii samych tkanek organizmu (KOESSLER i HANKE '24), a przedewszystkiem—produktem funkcji tkanki mięśniowej (HUNTER '25).

Wyciąg mięśniowy zawiera około 10% karnozyny (GULEWITSCH i AMIRADZIBI '00), dwupeptydu złożonego z histydyny i kwasu  $\beta$ -aminopropionowego. Związek ten, podobnie jak i zbliżone do imidazoli pod względem budowy chemicznej związki kreatynowe i kreatyninowe, odgrywa prawdopodobnie poważną rolę w fizjologii tonicznego skurczu mięśniowego. Fakt ten jest ciekawy z tego względu, że niektóre związki imidazolowe posiadają własność pobudzania mięśni do skurczu tonicznego. Nasuwa to przypuszczenia co do ewentualnego hormonalnego znaczenia niektórych związków imidazolowych, jakie one posiadają dla utrzymania tonicznego napięcia tkanki mięśniowej.

Histydyna ulega łatwo dekarboksylizacji, nawet już pod wpływem zaczynów, zawartych w grzybach i bakterjach (ACKERMANN '10, BARGER i DALE '10), dając histaminę (4-imidazoletylaminę)—związek, posiadający własność wywoływania skurczu mięśni gładkich (ACKERMANN i KUTSCHER '10, DALE i LAIDLAW '10). Mimo zdolności wprowadzania w stan skurczu ścian naczyń krwionośnych, histamina obniża ciśnienie krwi zwierząt mięsożernych. Zjawisko to jest wywołane własnością histaminy rozszerzania i porażania naczyń włoskowatych (DALE i RICHARDS '18). Te dwie własności warunkują dużą toksyczność histaminy dla zwierząt stałocieplnych. Duże dawki histaminy wywierają działanie pilokarpinowe na gruczoły oraz porażają zakończenia sympatyczne (SCHENK '22).

Nie udało się wykazać, aby histamina tworzyła się w tkankach zwierząt wyższych. Wykryto ją w ogniskach rozpadu tkankowego (ZUNZ '20), w zawartości i w śluzówce jelit (BARGER i DALE '10, MUTSCH '14, HOLMES '16), skąd ulega ona wessaniu systemem żyły wrotnej i wreszcie rozpadowi przy współdziałaniu komórek wątrobowych (HANKE i KOESSLER '24). W normalnych warunkach nie wykryto histaminy w krwiobiegu.

Nie jest jednak wykluczone, że histamina może pełnić poważną rolę w patologii i fizjologii zwierzęcej.

Pod względem niektórych własności farmakologicznych jest bardzo do histaminy zbliżony hormon przysadki mózgowej, zwany pituitryną. Pituitryna powoduje kurcz niektórych mięśni gładkich, jednakowoż w odróżnieniu od histaminy wywiera wpływ kurczący i tonizujący na naczynia włoskowate, co jest jej główną funkcją hormonalną (KROGH). Czysta bezbiałkowa pituitryna (ABEL) daje barwną reakcję pierścienia imidazolowego (reakcja PAULY'EGO).

Ciekawe własności histaminy i pituitryny skłoniły zarówno chemików, jak i farmakologów do badań nad syntezą i analizą farmakologiczną pochodnych tych związków.

Sam imidazol jest związkiem mało trującym dla zwierząt stałocieplnych. Pobudza on do skurczu macię świnki morskiej; po dożylnym zastrzyku podnosi ciśnienie krwi u psa, co wywołane jest kurczem naczyń krwionośnych (AUVERMANN '18).

Nieco bardziej trującym jest 4-metylimidazol. Związek ten w dawce 0.05 g/kg wywołuje u psa napady duszności i wymioty (LEITER '25). 2-4-5-Trójmetylimidazol nie jest ciałem trującym (GUNDERMANN '11). Bardziej trującymi dla zwierząt okazały się 1-metylimidazol i 1-etylimidazol. Związki te powodują śmierć zwierząt stałocieplnych, wskutek porażenia ośrodka oddechowego. Posiadają one również własność porażania zakończeń nerwu błędnego w sereu żaby (SCHULTZ '81, SCHULTZ i MEYER '83). Własności te występują w formie spotęgowanej u pochodnych chlorowych wyżej opisanych związków. 1-Metyl-4-chlorimidazol i 1-etyl-4-chlorimidazol są ciałami bardzo trującymi dla zwierząt stałocieplnych. Wywołują one porażenie ośrodków ruchowych oraz porażenie nerwów ruchowych (BINZ '75).

Pochodne jodowe imidazolu były badane tylko z punktu widzenia przyswajalności jodu, podanego w tej formie (GUNDERMANN '11) Dla zwie-

rzał stałocielnych okazały się mało trującymi: 2-metyl-(1-4)-dwujodimidazol oraz 2-etyl-(1-4)-dwujodimidazol. 2-4-5 Trojjodimidazol jest związkiem mało trującym w odróżnieniu od analogicznego związku bromowego; 2-4-5-trójbromimidazolu, obdarzonego dość dużą toksycznością.

1-2-4-5-Czterojodimidazol jest dość dobrym anaseptykiem, zbliżonym z działania do jodu.

Badane były również związki, w których pierścień imidazolowy występuje w postaci skondensowanej z pierścieniem benzolowym lub hydro-piperidynowym. Benzimidazol, metylbenzimidazol i fenylbenzimidazol, podane w średnich dawkach, nie wywołują u zwierząt stałocielnych poważniejszych objawów zatrucia. Związki te zmniejszają napięcie toniczne mięśni gładkich (AUVERMANN '18). Tetrahydro-3-4-pirydoimidazol (FRAENKEL i ZEIMER '20) pod wieloma względami przypomina histaminę, jest jednak wielokrotnie od niej słabszy (DALE i DUDLEY '21). Trójfenylo-dwuhydroimidazol (amaryna) wyróżnia się swą toksycznością dla krążenia, wówczas gdy trudno rozpuszczalny w wodzie trójfenyloimidazol (lofina) jest związkiem zupełnie nietrującym.

Badania nad związkami imidazolowymi, pochodnymi histaminy, wykazały, że najbardziej biologicznie czynnymi są pochodne 4-etylimidazolu.

W porównaniu z histaminą, 4-aminometylimidazol i 4-aminobutyylimidazol są ciałami farmakodynamicznie nieczynnymi (PYMAN '17).

$\alpha$ -amino- $\beta$ -hydroksy-4-etylimidazol (PYMAN '17), 4-metyl-5-aminometylimidazol, 4-metyl-5-metylaminometylimidazol, 1-metyl-4-aminoetylimidazol i 1-metyl-5-aminoetylimidazol (EVINS '11) są związkami farmakodynamicznie słabszymi od histaminy.

N-metylhistamina jest w stosunku do ciśnienia krwi 200 razy, a w stosunku do działania na macię świnki morskiej—80 razy słabsza od histaminy (DALE i DUDLEY '21). Glicylhistamina jest w działaniu na mięśnie gładkie 100 razy słabsza od histaminy (GUGGENHEIM), wówczas gdy 4-metyl-5-aminoetylimidazol jest ciałem farmakodynamicznie równoważącym z histaminą (EVINS '11).

Zupełnie nieczynnymi w stosunku do gładkich mięśni okazały się: 1-aminoetylimidazol i alkohol 4-etylimidazolowy (BARGER). Wodorotlenek trójamonjumimidazolu posiada własności, zbliżone do kuraryny (ACKERMANN i KUTSCHER '10).

$\beta$ -Dwuimidazol- $\alpha$ -etylamina wywołuje skurec macicy kota w stężeniu  $2 \cdot 10^{-5}$ , wówczas gdy stężenie  $2 \cdot 10^{-4}$  tego związku znosi napięcie jelit królika i macicy kota. 3-5-Dwuimidazolmorfolina kurczy macię świnki morskiej w stężeniu  $2 \cdot 10^{-4}$ . (LOEWE '27).

Alkohol 4-metylimidazolowy jest bardzo podobny w swym działaniu farmakologicznym do imidazolu, lecz jest wielokrotnie od niego słabszy. Aldehyd-4-imidazolowy wywołuje ośrodkowe podrażnienie odruchów u żab. Kwas 4-imidazolkarbonowy jest ciałem farmakodynamicznie obojętnym (KURODA '26).

Ciałami farmakologicznie obojętnymi okazały się: karnozyna (KUTSCHER i LOHMANN '07) i ergotioneina (TAINTER '27).

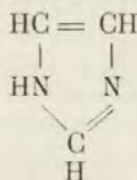
Dane literatury wskazują, że badania nad związkami imidazolowymi były prowadzone bardzo dorywczo i chaotycznie. Wiele z syntetyzowanych związków wogóle nie było badane farmakologicznie, inne zaś były badane bardzo niedokładnie.

Zadaniem niniejszej pracy było systematyczne opracowanie własności farmakologicznych serii pochodnych metylimidazolu, celem zorientowania się co do wpływu, jaki wywierają pojedyncze grupy chemiczne na własności biologiczne preparatów.

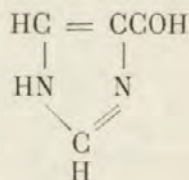
Do doświadczeń używano zubożonych (pH = 7.6) roztworów chlorowodorów pochodnych metylimidazolowych. Badane związki rozpuszczały się dobrze w wodzie (tionmetylimidazol 2.5%), dając trwałe roztwory. Jedynie na roztworze nietoksycznego alkoholu metylimidazolowego mogą rosnąć bakterje i pleśnie. Synteza badanych związków będzie opisana w „Rocznikach Chemji“ (1928).

Panu prof. L. SZPERLOWI dziękuję za gościnę, udzieloną mi w Pracowni Chemji Organicznej Politechniki Warszawskiej, gdzie dokonana została synteza związków imidazolowych.

Imidazol.

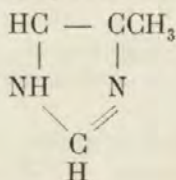


Aldehyd 4-imidazolowy.



Związki te były już badane bliżej przez AUVERMANNĄ i KURODĘ, tak że ograniczyłem się tylko do paru orientacyjnych doświadczeń. Oba te preparaty wywołują skurcz wyosobnionej macicy dziewiczej świnki morskiej. Pozatym imidazol jest słabym diuretykiem.

4-metylimidazol.



**Krążenie.** Badania nad działaniem metylimidazolu na krążenie uskuteczniiono na kotach, którym zastrzykiwano dożylnie dawki 0.017 — 0.025 g/kg chlorowodoru tego związku. Natychmiast po zastrzyku obserwowano nagły, szybko przemijający spadek ciśnienia krwi, po którym często następowała krótkotrwała faza podniesienia się ciśnienia (por. tablicę, rys. 1). W okresie spadku ciśnienia krwi obserwowano nagły wzrost objętości jelit (onkometr) oraz nagły krótkotrwały spadek objętości nerek (onkometr), po którym następował długotrwały okres, podczas którego objętość nerek była zwiększona.

Równomiernie ze zmianami ciśnienia krwi obserwowano nieznaczne zmniejszenie się objętości serca (kardjometr), zwolnienie pulsu oraz pewne zwiększenie objętości skurczowej serca (rys. 5, p. tablica V). Metylimidazol nie jest bardzo trujący dla wyosobnionych serc żab. Stężenie 1/300 — 1/200 tego preparatu wywołuje nawet nieznaczne zwiększenie amplitudy skurczowej serca, a dopiero stężenie 1/70 — 1/60 hamuje jego ruchy.

Pod pewnemi względami działanie metylimidazolu na krążenie jest zbliżone do działania pod tym względem histaminy. Spadek ciśnienia krwi wywołany jest rozszerzeniem naczyń jelitowych, wówczas gdy pewne pogłębienie i zwolnienie funkcji serca jest skutkiem spadku ciśnienia krwi.

**Oddychanie.** Po dożylnym zastrzyku 0.017 g/kg chlorowodoru metylimidazolu obserwowano u kota krótki okres zupełnego bezdechu, wywołany nagłym spadkiem ciśnienia krwi, po którym następował okres szybkich i głębokich wydechów, spowodowany podrażnieniem ośrodka oddechowego, który kończył się paroma fazami oddechu CHEINE-STOKESA (rys. 1).

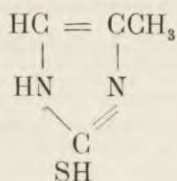
**Wydzielanie moczu.** W 2 do 5 minut po zastrzyku 0.02 g/kg chlorowodoru metylimidazolu obserwowano u kota wybitną diurezę. (Kot normalnie wydzieliał 3 krople moczu na 2 minuty, po zastrzyku zaś preparatu wydzieliał 25 kropli na 2 minuty). Diureza ta zaczyna się w okresie, gdy ciśnienie krwi jest jeszcze niskie, a objętość nerkowa wybitnie zmniejszona; osiąga ona swe maksimum w okresie zwiększonej objętości nerkowej i utrzymuje się przez czas dłuższy.

Z wielu względów obraz tej diurezy przypomina diurezę, wywołaną przez zasady purynowe, które są zbliżone do imidazoli pod względem ich budowy chemicznej.

Działanie na mięśnie gładkie. Chlorowodorek metylimidazolu w rozcieńczeniu 1/1000 wywołuje silny skurcz wyosobnionej macicy dziewiczej świnki morskiej. Takież same stężenie tego preparatu wywołuje tylko nieznaczne zwiększenie amplitudy skurczów peristaltycznych wyosobnionego jelita królika. Rozcieńczenie 1/200 wywołuje wybitne zmniejszenie amplitudy skurczów jelitowych. Zastrzyk dożylny dawki 0.04 g/kg chlorowodoru metylimidazolu nie wywołuje skurczu pęcherza kota „in situ”.

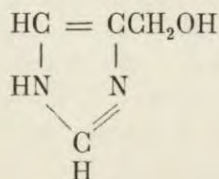
Działanie na cukier krwi. Podskórny zastrzyk 0.05 g/kg chlorowodoru metylimidazolu wywołuje u królika nieznaczne obniżenie się cukru we krwi. (Normalnie królik zawierał 0.145% cukru we krwi; w 45 minut po zastrzyku preparatu cukier krwi wynosił 0.128%).

#### 2-tion-4-metylimidazol.



W odróżnieniu od metylimidazolu związek ten jest farmakodynamicznie nieczynny. Dawka 0.04 g/kg, zastrzyknięta dożylnie, nie wywołuje u kota zmian ciśnienia krwi. Obserwowano tylko nieznaczne przyspieszenie i pogłębienie oddychania, wywołane przez ten związek. Związek ten w rozcieńczeniu 1/200—1/100 powoduje zmniejszenie amplitudy skurczowej wyosobnionego serca żaby, wówczas gdy stężenie 1/80 preparatu hamuje jego ruchy. Roztwór 1/80 chlorowodoru tionmetylimidazolu nie wywołuje skurczu wyosobnionej macicy świnki morskiej, ani też nie wywiera wpływu na wyosobnione jelita królika.

#### Alkohol 4-metylimidazolowy.





W odróżnieniu od metylimidazolu związek ten odznacza się zupełnym brakiem własności trujących.

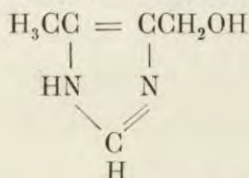
Dożylny zastrzyk 0.035 g/kg chlorowodoru alkoholu metylimidazolowego wywołuje u kota mierne podniesienie się ciśnienia krwi. Wzrost ciśnienia krwi wywołany jest skurczem naczyń krwionośnych. Wskazują na to badania onkometryczne. Po zastrzyku preparatu obserwowano u kota, równomiernie ze spadkiem ciśnienia krwi, wyraźny wzrost objętości kończyn i zmniejszanie się objętości jelit.

Związek ten nie wywiera wyraźnego działania na serce kota „in situ”. Badania kardjometryczne wykazały tylko nieznaczne zmniejszenie się objętości serca oraz zmniejszenie się jego objętości skurczowej. Zmiany te wywołane są czynnikami mechanicznymi i są wynikiem zwiększonego oporu w układzie naczyniowym. Dla wyosobnionego serca żaby alkohol metylimidazolowy jest zupełnie nietrujący. Rozcieńczenie 1/100 tego związku wywołuje nawet nieznaczne zwiększenie amplitudy skurczów serca, gdy stężenie 1/20 preparatu powoduje zwolnienie jego ruchów.

Związek ten nie wywiera wyraźnego działania na ruchy oddechowe kota (por. tablicę, rys. 4).

Roztwór 1/100 tego związku wywołuje skurcz wyosobnionej macicy świnki morskiej. Taki sam roztwór zwiększa nieco amplitudę ruchów peristaltycznych wyosobnionego jelita królika. Nawet stężenie 1/40 nie wywiera szkodliwego wpływu na wyosobnione serce żaby.

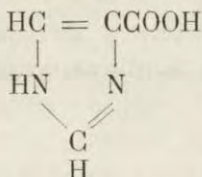
Alkohol 5-metyl-4-metylimidazolowy.



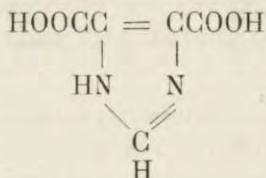
Związek ten jest bardziej czynny w działaniu farmakologicznym od alkoholu metylimidazolowego. W działaniu swem jest bardzo podobny do metylimidazolu. Związek ten, wprowadzony dożylnie w dawce 0.03 g/kg, wywołuje u kota dość znaczny spadek ciśnienia krwi oraz podrażnienie oddychania.

Po zastrzyku preparatu objętość nerki kota ulega wyraźnemu zmniejszeniu. Ruchy wyosobnionego serca żaby są hamowane w roztworze 1/80 chlorowodoru alkoholu metyl-metylimidazolu. Roztwór 1/1000 preparatu wywołuje wybitny skurecz wyosobnionej macicy dziewiczej świnki morskiej. Taki sam roztwór nie wywiera działania na wyosobnione jelito królika.

Kwas imidazolo-4-karbonowy.

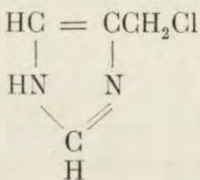


Kwas imidazolo-4-5-dwukarbonowy.



Związki te stosowano pod postacią soli sodowych, przyczem roztwór soli sodowej reagował silnie alkalicznie (pH = 9.0). Kwas imidazolokarbonowy zachowywał się jak związek farmakologicznie obojętny, wówczas gdy kwas imidazolokarbonowy wywoływał u kota nieznaczny spadek ciśnienia krwi i nieznaczne podrażnienie oddychania.

4-chlormetylimidazol.



Po dożylnym zastrzyku 0.016 — 0.008 g/kg chlorowodoru chlormetylimidazolu obserwowano u kota dość duży i długotrwały

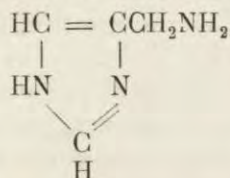
spadek ciśnienia krwi, zależny od szkodliwego działania preparatu na funkcję serca. Objętość serca (kardjometr) była miernie zwiększona, zato objętość skurczowa serca była wybitnie zmniejszona. Objętość kończyn u kota (onkometr) zmniejsza się w miarę spadku ciśnienia krwi z powodu hamowania czynności serca.

Roztwór 1/180 preparatu zwalnia ruchy wyosobnionego serca żaby, zaś roztwór 1/80 hamuje je zupełnie.

Roztwór 1/2000 tego związku wywołuje skurcz wyosobnionej macicy dziewiczej świnki morskiej. Taki sam roztwór osłabia nieco ruch wyosobnionego jelita królika.

Po dożylnym zastrzyku preparatu obserwowano u kota przyśpieszenie i pogłębienie ruchów oddechowych.

#### 4-aminometylimidazol.



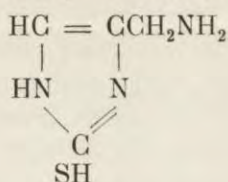
Związek o słabym działaniu histaminowym.

Po dożylnym zastrzyku 0.03 g/kg chlorowodoru aminometylimidazolu obserwowano u kota dość krótkotrwałe zmniejszenie się amplitudy ruchów oddechowych oraz nieznaczny wzrost ciśnienia krwi, za którym następowała krótkotrwała faza spadku ciśnienia i powrót do normy. Zmniejszenie się amplitudy ruchów oddechowych zależy od skurczu oskrzeli, wywołanego działaniem preparatu na mięśnie oskrzelowe. Zastrzyk dożylny preparatu wywoływał u kota dość znaczne zmniejszenie się objętości płuc.

Związek ten nie wywiera wyraźnego działania na serce kota „in situ” (kardjometr). Objętość kończyn kota (pletysmograf) była nieznacznie zmniejszona. Związek ten wywołuje skurcz wyosobnionej macicy świnki morskiej w stężeniu 1/15000. Roztwór 1/25000 wywołuje wybitne zwiększenie napięcia wyosobnionego jelita królika. Atropina nie znosi tego skurczu (rys. 3).

Ruchy wyosobnionego serca żaby są zahamowane w stężeniu 1/70 preparatu. Aminometylimidazol nie wywiera wpływu na pęcherz kota „in situ”.

## 4-aminometyl-2-tionimidazol.



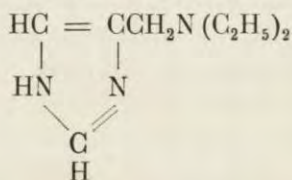
Dawka 0.06 g/kg chlorowodorku aminometyltionimidazolu, zastrzyknięta dożylnie, wywołuje u kota nieznaczne podrażnienie oddychania oraz mierny, krótkotrwały spadek ciśnienia krwi, zależny od szkodliwego działania na serce zwierzęcia. Objętość serca kota (kardjometr) „in situ” jest nieco zwiększona, objętość skurczowa serca zmniejszona. Związek ten w stężeniu 1/600 zmniejsza amplitudę skurczów wyosobnionego serca żaby, co wskazuje na działanie toksyczne tego preparatu na mięsień sercowy.

Obserwowany spadek ciśnienia krwi w pewnej mierze jest zależny od działania preparatu na ośrodek naczynioruchowy, bądź na system nerwów naczynioruchowych. Równomiernie ze spadkiem ciśnienia krwi obserwowano wzrost objętości jelit i nerek (onkometry) oraz zmniejszenie się objętości kończyn (rys. 6). Zmiany te utrzymują się jeszcze przez czas pewien po ustaniu działania preparatu na serce zwierzęcia.

Aminometylimidazol nie wywiera działania na wyosobnioną macicę świnki morskiej, oraz na wyosobnione jelita królika. Nie wywiera działania na pęcherz i na mięśnie oskrzelowe kota „in situ”.

Związek ten nie obniża poziomu cukru we krwi królików, ani też nie posiada własności diuretycznych.

## 4-dwuetylaminometylimidazol.

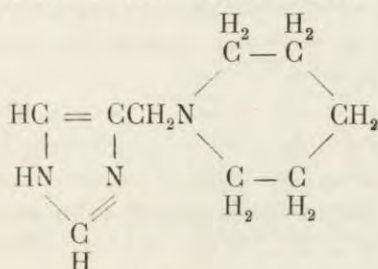


Chlorowodorek dwuetylaminometylimidazolu zastrzyknięty dożylnie w dawce 0.005 g/kg wywołuje u kota pogłębienie i przy-

śpieszenie ruchów oddechowych oraz wybitny długotrwały spadek ciśnienia krwi. Serce kota „in situ” (kardjometr) wykazuje nieznaczne zwiększenie i zwolnienie skurczów zależne od ogólnego spadku ciśnienia krwi. Równomiernie ze spadkiem ciśnienia krwi obserwowano u kota zmniejszenie objętości jelit i nerek (onkometry), która jednak paroma skokami szybko wraca do normy.

Związek ten kurczy macię świnki morskiej w stężeniu 1/3000. To samo stężenie wywołuje nieznaczne zwiększenie amplitudy peristaltyki wyosobnionego jelita królika. Stężenie 1/200 preparatu zwalnia ruchy wyosobnionego serca żaby, zaś stężenie 1/50 hamuje jego ruchy.

#### 4 - piperydylmetylimidazol.



Krążenie. Dawki 0.003—0.03 g/kg chlorowodoru piperydylmetylimidazolu, wprowadzone dożylnie, wywołują u kotów duże, długotrwały spadek ciśnienia krwi. U zwierząt dekapitowanych obserwowano przed okresem spadku ciśnienia krwi krótkotrwały okres podniesienia się ciśnienia.

W okresie spadku ciśnienia krwi, obserwowano u kotów powolne duże i długotrwałe zmniejszanie się objętości jelit, nerek i kończyn (onkometry). Organy te nie ulegają rozszerzeniu przez czas dłuższy po powrocie ciśnienia krwi do stałego poziomu.

Zauważono wyraźne zwiększenie się wypływu z naczyń kończyn tylnych królika, przy perfuzji tychże 1/1000 roztworem chlorowodoru piperydylmetylimidazolu. Normalnie wyciekło z naczyń królika 13.5 cm<sup>3</sup> płynu w ciągu minuty, po wyprowadzeniu piperydylmetylimidazolu wypływ wzrósł do 16—19 cm<sup>3</sup> płynu na minutę.

Naczynia włoskowate języka żaby ulegają nieznacznemu rozszerzeniu po zadziałaniu na nie 1/100 roztworem preparatu.

Ruchy wyosobnionego serca żaby są zwolnione w roztworze 1/200 piperydylmetylimidazolu; roztwór 1/70 preparatu hamuje je.

Roztwór 1/1000 chlorowodoru piperydylmetylimidazolu nie jest szkodliwy dla wyosobnionego serca królika (LOCKE). Roztwór taki wywołuje nieznaczne zmniejszenie się amplitudy skurczów serca. Tenże roztwór zmniejsza w sposób bardzo wybitny wypływ płynu przez naczynia wieńcowe. Z naczyń wieńcowych wyosobnionego serca królika wypływało w warunkach normalnych 65 cm<sup>3</sup> płynu w ciągu dwóch minut. Po wprowadzeniu piperydylmetylimidazolu obserwowano zmniejszenie się wypływu do 2 cm<sup>3</sup> płynu na 2 minuty, wreszcie do dwóch kropli płynu na dwie minuty.

Po dożylnym zastrzyku piperydylmetylimidazolu obserwowano u kota „in situ“ wybitne zwiększenie się objętości serca (kardjometr) oraz wybitne zmniejszenie się objętości skurczowej (rys. 2).

Obserwowany po zastrzykach piperydylmetylimidazolu spadek ciśnienia krwi jest wywołany szkodliwym działaniem preparatu na serce zwierzęcia. Wydaje się dość prawdopodobne, że preparat nie wywiera działania szkodliwego na mięsień sercowy jako taki, lecz wywołuje tylko skurcz naczyń wieńcowych, a przez to samo wpływa na gorsze odżywianie mięśnia sercowego i na jego osłabienie. Zmiany objętości organów w pierwszym rzędzie są wywołane działaniem nasercowym preparatu, chociaż zmiany te utrzymują się w okresie, gdy ciśnienie krwi i działalność serca zwierzęcia wróciły już do normy. Wskazuje to na działanie czynnego skurczu naczyniowego, wypychającego krew z organów do dużych żył i do nadmiernie rozszerzonego serca.

Oddychanie. Po dożylnym zastrzyku piperydylmetylimidazolu obserwowano u kota w czasie spadku ciśnienia krwi okres bezdechu, po którym następował okres szybkich i głębokich oddechów oraz powrót do normy.

Dożylny zastrzyk 0,03 g/kg preparatu wywoływał u kota z odciętą głową wyraźne zwiększenie się objętości płuc, wywołane rozszerzeniem się oskrzeli i oskrzelików.

Piperydylmetylimidazol wywiera drażniący wpływ na ośrodek oddechowy. Obserwowany (po zastrzykach preparatu) okres zupełnego bezdechu jest zapewne wywołany nagłą anemizacją ośrodka oddechowego, spowodowaną przez nagły spadek ciśnienia krwi.

Wydzielanie moczu. Po dożylnym zastrzyku 0.03 g/kg piperydylmetylimidazolu obserwowano u kota wybitnie diuretyczne działanie preparatu. Normalnie kot wydzieliał 3 krople moczu w ciągu 2 minut. W 10 minut po zastrzyku preparatu, ten sam kot wydzieliał 25 kropli moczu w ciągu 2 minut.

Diureza ta występuje bardzo szybko po zastrzyku preparatu w okresie bardzo niskiego ciśnienia krwi i zmniejszonej objętości nerek. To samo nasuwa przypuszczenie, że jest ona wywołana działaniem preparatu na śródbłonki (ewentualnie również i na nabłonki) nerkowe.

Działanie na gładkie mięśnie. Roztwór 1/70000—1/50000 chlorowodoru piperydylmetylimidazolu wywołuje skurcz wyosobnionej macicy dziewiczej świnki morskiej. W takim samym stężeniu preparat ten wywołuje nieznaczne zwiększenie amplitudy peristaltyki wyosobnionego jelita królika. Piperydylmetylimidazol w roztworze 1/400 wywiera nieznaczne działanie trujące na wyosobnione jelita królika (obserwowano nieregularności peristaltyki). Na pęcherz kota „in situ” piperydylmetylimidazol nie wywiera żadnego działania.

Mechanizm skurczu macicy świnki morskiej, wywołany piperydylmetylimidazolem, jest inny, niż mechanizm jej skurczu, wywołany przez histaminę. Związek ten nie wywołuje, w odróżnieniu od histaminy, skurczu innych organów, zawierających mięśnie gładkie (naczynia krwionośne i jelita królika, oskrzela i pęcherz kota).

Piperydylmetylimidazol nie zmienia poziomu cukru we krwi królika.

Związki, otrzymane przez dołączanie różnych grup chemicznych do węgla 4 i 5 pierścienia imidazolowego, wykazują więc bardzo różnorodne własności farmakologiczne.

Wprowadzenie grupy metylowej na miejsce wodoru 4 pierścienia imidazolowego daje związek (4-metylimidazol), obdarzony mocniejszym działaniem biologicznym, niżli sam imidazol. Zamiana wodoru grupy metylowej metylimidazolu na hydroksyl daje preparat (alkohol 4-metylimidazolowy) nietrujący, słabszy w swym działaniu biologicznym od metylimidazolu. Zamiana wodoru grupy metylowej metylimidazolu na chlor (4-chlormetylimid-

azol) nadaje otrzymanemu preparatowi silnie trujące własności dla serc ssaków. Zamiana wodoru grupy metylowej metylimidazolu na grupę aminową daje nietrujący związek (4-aminometylimidazol), obdarzony słabymi własnościami histaminowymi. Etylowanie grupy aminowej poprzedniego preparatu daje zasadę trzeciorzędową (4-dietylaminometylimidazol), pozbawioną własności histaminowych, ale wyróżniającą się swem działaniem na krążenie. Inna znów zasada trzeciorzędowa metylimidazolu, piperzydylmetylimidazol, wyróżnia się swem działaniem na krążenie i na serca ssaków.

Wprowadzenie grup tionowych przy węglu 2 pierścienia imidazolowego zmienia zupełnie własności farmakologiczne preparatów. W odróżnieniu od metylimidazolu, 2-tion-4-metylimidazol jest związkiem farmakodynamicznie obojętnym. 2-Tion-4-aminometylimidazol jest związkiem nietrującym.

W odróżnieniu od pochodnych imidazolowych związki tionimidazolowe nie powodują kurczu wyosobnionej macicy świnki morskiej.

Wprowadzenie nowych grup metylowych przy węglu 5 pierścienia metylimidazolowego daje związki bardziej czynne, niżli pochodne imidazolowe wyjściowe. 4-Hydroksymetyl-5-metylimidazol jest bardziej czynny farmakologicznie od alkoholu 4-metylimidazolowego, jest jednak słabszy od 4-metylimidazolu.

Zamiana grup metylowych pochodnych imidazolowych na grupy karboksylowe daje związki farmakodynamicznie obojętne (kwasy imidazolokarbonowe).

Na centralny układ nerwowy większość związków imidazolowych wywiera działanie depresyjne, jedynie aldehyd 4-imidazolowy posiada własności podrażniania odruchowych ośrodków rdzenia kręgowego.

W stosunku do krążenia pochodne imidazolowe wywierają podwójne działanie. Jedne z nich (chlormetylimidazol, piperzydylmetylimidazol i tionaminometylimidazol) wywierają przede wszystkim szkodliwe działanie na czynność serca. Inne znów wywierają wybitny wpływ na naczynia krwionośne; z tych imidazol, alkohol metylimidazolowy i aminometylimidazol wywołują podniesienie się ciśnienia krwi, jako wynik kurczącego działania preparatów na naczynia krwionośne, gdy natomiast metylimidazol i dwuetylaminometylimidazol wywołują spadek ciśnienia krwi.



Wszystkie badane pochodne metylimidazolu posiadają własność wywoływania skurczu macicy świnki morskiej z wyjątkiem farmakodynamicznie nieczynnych kwasów imidazolokarbonowych. Jednak jedynie tylko aminometylimidazol obdarzony jest własnościami wywoływania skurczu innych organów, zawierających mięśnie gładkie (oskrzela, jelita, naczynia), tylko ten związek jest obdarzony własnościami, zbliżonymi do własności farmakodynamicznych histaminy. Obecność pierwszorzędowej grupy aminowej przy bocznym łańcuchu alifatycznym węgla 4-5 pierścienia imidazolowego jest zasadniczym warunkiem histaminowego działania preparatów. Alkylowanie grupy aminowej znosi histaminowe własności związku.

Wiele z badanych związków metylimidazolowych wywiera swoisty wpływ na oddychanie. Zmiany te uwarunkowane są bezpośrednim działaniem preparatów na ośrodek oddechowy.

Związki metylimidazolowe (metylimidazol, piperydylmetylimidazol) posiadają silniejsze działanie diuretyczne, niż sam imidazol. Diureza ta prawdopodobnie jest wywołana przez czynniki analogiczne do tych, które wywołują diurezę purynową. Związki imidazolowe są pod względem chemicznym pokrewne purynom. Podobnie jak i w grupie puryn, tak i w grupie pochodnych imidazolowych metylowanie pierścienia zwiększa diuretyczne własności preparatów.

Związki pochodne metylimidazolu nie odznaczają się trującymi własnościami dla zwierząt stałocieplnych. Pierścień imidazolowy, w odróżnieniu od pokrewnego mu pierścienia pyroloowego, nie jest trujący dla zwierząt wyższych. Dołączenie do węgla 4 pierścienia imidazolowego szkieletu, złożonego z dwóch węgli alifatycznych, daje związki obdarzone swoistymi własnościami farmakodynamicznymi (histamina), warunkującymi ich wyjątkową toksyczność dla zwierząt stałocieplnych. Badania nasze wskazują, że obecność jednego węgla alifatycznego przy węglu 4 pierścienia imidazolowego nie wytwarza tak silnych własności farmakodynamicznych.

#### Piśmiennictwo.

- Ackermann.** 1910. Zeitschr. f. physiol. Chem. **65** (504). **Ackermann** und **Kutscher.** 1910. Zeitschr. f. Biol. **51** (387). **Auermann.** 1918. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **84** (155). **Barger** and **Dale.** 1910. Journ. of Physiol. **41** (499). **Barger**

and Dale. 1910. Journ. of the chem. Soc. 97 (2592). Barger and Dale. 1910. Journ. of Physiol. 41 (409). Binz. 1875. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 4 (340). Dale and Dudley. 1921. Journ. of Pharm. and exp. Ther. 18 (103). Dale and Laidlaw. 1910. Journ. of physiol. 41 (318). Dale and Laidlaw. 1912. Journ. of Physiol. 43 (192). Dale and Richards. 1918. Journ. of Physiol. 52 (110). Engeland. 1908. Zeitschr. f. physiol. Chem. 57 (49). Evins. 1911. Journ. of the Chem. Soc. 99 (2052). Fränkel und Zeimer. 1920. Biochem. Zeitschr. 110 (234). Gulewitsch und Amiradzibi. 1900. Zeitschr. f. physiol. Chem. 30 (565). Gundermann. 1911. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 65 (259). Hanke and Koessler. 1924. Journ. of biol. Chem. 59 (879). Holmes. 1916. Lancet (93). Hunter. 1925 Biochem. Journ. 19 (34). Katake und Konishi. 1922. Zeitschr. f. physiol. Chem. 122 (230). Koessler and Hanke. 1924. Journ. of biol. Chem. 59 (803). Kuroda. 1926. Journ. of Biophysic. 1 (14). Loewe. 1927. Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 56 (271). Leiter. 1925. Journ. of biol. Chem. 64 (125). Lohmann. 1907. Arch. f. ges. Phys. 114 (553). Mutsch. 1914. Quart. Journ. of Med. 7 (427). Novello and Schervin. 1925. Proc. Soc. of exp. Biol. and Med. 22 (294). Pauly und Ludwig. 1922. Zeitschr. f. physiol. Chem. 121 (170). Pyman. 1917. Journ. of the Chem. Soc. 111 (1103). Schenk. 1922. Arch. f. exp. Pharm. Path. 92 (34). Schultz. 1881. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 13 (304). Schultz und Meyer. 1883. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 16 (256). Tainter. 1927. Proc. of the Soc. exp. Biol. a. Med. 24 (621). Windaus und Knoop. 1905. Ber. d. deutsch. chem. Gesell. 38 (1166). Zunz. 1920. Compt. Rend. Soc. Biol. 82 (1078).

### Objaśnienie rysunków w tablicy.

#### *Description of the tracings.*

- Rys. 1. Oddychanie (*R.*) i ciśnienie krwi (*B. P.*) kota wagi 3000 g, narkotyzowanego 1.5 g/kg uretanu, po dożylnym zastrzyku 1 cm<sup>3</sup> 15% roztworu chlorowodoru 4-metylimidazolu.  
*Cat. Urethane. Respiration (R). Blood pressure (B. P.) of a cat after the intravenous injection of 1 cc. 5% 4-methylglyoxaline hydrochloride.*
- Rys. 2. Krzywa kardjometryczna (*C.*) i krzywa ciśnienia krwi (*B. P.*) kota 2800 g wagi, narkotyzowanego 1.2 g/kg uretanu, po dożylnym zastrzyku 0.3 cm<sup>3</sup> 10% roztworu chlorowodoru 4-piperdylmetylimidazolu.  
*Cat. Urethane. The cardiometer curve (C.) and the blood pressure (B. P.) of a cat after the intravenous injection of 0.3 cc. 10% 4-piperdylmethylglyoxaline hydrochloride.*
- Rys. 3. Wpływ roztworów 1/10000, 1/5000 i 1/1000 chlorowodoru 4-aminometylimidazolu na ruchy wyosobnionych jelit królika.  
*Isolated rabbit's intestines. The figure shows the action of 1/10000, 1/5000 and 1/1000 concentrations of 4-aminomethylglyoxaline hydrochloride.*

Rys. 4. Krzywa oddychania (górną) oraz krzywa ciśnienia krwi (dolną) kota wagi 3000 g, narkotyzowanego 1.2 g/kg uretanu, po dożylnym zastrzyku 1 cm<sup>3</sup> 5% roztworu chlorowodoru alkoholu 4-metylimidazolu.

*Cat. Urethane. Respiration and the blood pressure of a cat after the intravenous injection of 1 cc. 5% 4-methylglyoxaline-alcohol hydrochloride.*

Rys. 5. Krzywa kardjometryczna (górną) i krzywa ciśnienia krwi kota wagi 2800 g, narkotyzowanego 1 g/kg uretanu, po dożylnym zastrzyku 0.5 cm<sup>3</sup> 5% roztworu chlorowodoru 4-metylimidazolu.

*Cat. Urethane. The cardiometer and blood pressure curves of a cat after the intravenous injection of 0,5 cc. 5% 4-methylglyoxaline hydrochloride.*

Rys. 6. Objętość kończyny (L. V.) i ciśnienie krwi (B. P.) kota wagi 3000 g, narkotyzowanego 1.5 g/kg uretanu, po dożylnym zastrzyku 1 cm<sup>3</sup> 10% roztworu chlorowodoru 2-tion-4-aminometylimidazolu.

*Cat. Urethane. Leg volume (L. V.) and blood pressure (B. P.) of a cat after the intravenous injection of 1 cc. 10% 2-thion-4-amino-methylglyoxaline hydrochloride.*



[Zakład Fizjologii Ogólnej Wolnej Wszechnicy Polskiej. Praca № 1]

T. Vieweger.

### Skład chemiczny węgorzy głodzonych.

*Sur la composition chimique des anguilles soumises à l'inanition.*

Rękopis nadesłany w dniu 17. II. 1928.

On a insisté ces temps derniers sur le rôle des graisses dans la constitution et dans le métabolisme des animaux poikilothermes. On a surtout discuté sur la part de l'élément „constant“ et de l'élément „variable“ des graisses, dans la composition chimique des animaux à sang froid.

La présente étude a pour but d'éclaircir le rôle des graisses pendant la période de jeûne chez les anguilles. Ces animaux ont déjà été l'objet d'études semblables (LIPSCHÜTZ, REUSS), toutefois les observations précédentes, qui variaient en ce qui concerne les résultats obtenus, ont porté sur des animaux très jeunes (0.1—0.2 gr.), qui ne contiennent que très peu de graisses. Quant aux remarquables études d'ANCONA, elles n'ont tenu compte que des changements dans la constitution morphologique du corps.

Les anguilles qui ont servi aux expériences en question, ont été prises dans le golfe de Puck (29. VIII. 25). Elles étaient placées au laboratoire dans de l'eau courante de ville, à une température de 10 — 16°. Quatre animaux ont été tués après un bref délai (2 — 20 jours) et ont servi de point de comparaison aux analyses ultérieures. Les autres animaux ont été tués entre le 20-me et le 320-me jour d'inanition. Pendant le jeûne, les animaux avaient perdu de 10% à 26% de leur poids initial, c'est-à-dire leur poids a subi une perte s'élevant à 102 gr. de substance fraîche.

L'analyse a porté sur la teneur en substance sèche, en azote, en acides gras et en substances graisseuses en général (solubles dans l'alcool et dans l'éther sulfurique). La composition de la substance organique a été calculée d'après les résultats des ana-

lyses. Il en appert que la teneur en substance sèche des anguilles (pesant de 300 à 700 gr.), correspond environ à 50%, que la teneur en azote équivaut à 2.35% et que le contenu d'acides gras s'exprime par 27.5%, par rapport à la substance fraîche. Ces chiffres correspondent à la teneur de la substance organique en protéines et en graisse, soit à 31.5, respectivement à 68.5 p.c. La plus grande partie des graisses est répartie dans les muscles et dans le tissu souscutané adjacent. Les autres organes (la peau et les viscères) n'en renferment qu'environ 10%.

On n'a pas réussi à observer de changements de la composition chimique du corps, se produisant dans un sens déterminé durant la longue période de jeûne. Il faut remarquer surtout que le taux des graisses ne diminue pas pendant l'inanition. Nous apprenons ainsi que l'assez forte participation des graisses aux processus métaboliques, n'entraîne pas de changements appréciables dans la composition de la substance organique. Cette constatation nous fait conclure, qu'il est très utile de soumettre à une révision les opinions actuelles sur le rôle que jouent les graisses dans le métabolisme des poissons en général et surtout sur la signification des changements chimiques, se produisant à l'époque de leurs migrations et de la maturation des organes sexuels.

---

W ostatnich czasach została poruszona przez BIALASZEWICZA ('19), PRZYŁĘCKIEGO ('24, '26) i TERROINE'A ('19) kwestja istnienia w organizmach zmiennocieplnych zapasów tłuszczowych w tem znaczeniu, jakie posiadają one u zwierząt stałocieplnych. U tych ostatnich tłuszcz pełni rolę swoistą, jako składnik plastyczny, który w czasie głodu podlega zużyciu w większym stopniu, aniżeli białko, zabezpieczając zapotrzebowanie energetyczne organizmu. Nasuwało się pytanie, czy taką samą rolę spełnia tłuszcz u zwierząt zmiennocieplnych.

BIAŁASZEWICZ ('19) w badaniach nad przemianą materji i energii u pijawki w czasie głodu stwierdził, że poszczególne składniki organiczne ciała podlegają równomiernemu rozpadowi, wskutek czego skład chemiczny zwierząt głodzonych nie wykazuje wyraźnych zmian. Powyższe badania skłaniają wymienionego autora do przypuszczenia, że u pijawki tłuszcz nie odgrywa roli składnika zapasowego, a jest wyłącznie tak zwanym tłuszczem konstytucyjnym. BIAŁASZEWICZ uogólnia wnioski ten na całą grupę zwierząt zmiennocieplnych: zwierzęta zmiennocieplne charakteryzuje niezdolność gromadzenia zapasów tłuszczowych oraz jednocześnie niski udział procentowy tłuszczów w ogólnej przemianie materji. Wyniki badań BIAŁASZEWICZA zostały potwierdzone przez LIBRACHÓWNE ('22) dla płazów. Odmienne rezultaty otrzymał SZRETTER ('22) dla węży (grupa pośrednia pomiędzy stało- i zmiennocieplnymi?) i PIŁEWICZÓWNA ('26) dla pływaka. VIEWEGER ('23) w pracy nad przyswajaniem białka stwierdza przyrost kwasów tłuszczowych (od 5 do 150%) u pijawki lekarskiej obficie odżywianej, jednakże nie sądzi, ażeby na wynikach otrzymanych dla pijawki, można było opierać wnioski natury bardziej ogólnej, ze względu na małą wogóle zawartość tłuszczu w ciele tych zwierząt.

TERROINE ('19) i PRZYŁĘCKI ('24, '26) dochodzą w swych pracach do wniosków wręcz przeciwnych, aniżeli BIAŁASZEWICZ. TERROINE rozróżnia u zmiennocieplnych tłuszcz konstytucyjny (élément constant) i tłuszcz zapasowy (élément variable), i nie znajduje różnicy w zachowaniu się tego ostatniego w czasie głodu u zwierząt stało- i zmiennocieplnych. PRZYŁĘCKI interpretuje wyniki swych badań nad przemianą materji u żaby, jako dowód występowania u zwierząt zmiennocieplnych zapasów tłuszczowych oraz działania tłuszczu, zaoszczędzającego rozpad białka.

Należy jednak zaznaczyć, że w stosunku do żaby można zrobić podobną uwagę, jak do pijawki, i — wyrazić obawę, czy można opierać wnioski o znaczeniu rezerwy tłuszczowej u zmiennocieplnych wogóle na badaniu zwierząt o małej procentowej zawartości tłuszczu (pijawka 0.5—2%, żaba 1—3.5% wagi substancji świeżej). Należałoby w tym przypadku skontrolować wartość wyprowadzanych wniosków na przykładzie zwierząt zmiennocieplnych o większej zawartości tłuszczów. Powyższy wzgląd był po części pobudką do pracy niniejszej nad składem chemicznym ciała węgorzy głodzonych.

Występowanie znacznych ilości tłuszczu u wielu gatunków ryb jest faktem oddawna znanym, potwierdzonym przez wyniki analiz ATWATERA ('88), MIESCHERA ('97), BALLANDA ('98), LICHTENFELTA ('04). Fakt ten jednak nie był w dostatecznym stopniu oświetlony przez autorów, interesujących się specjalnie kwestją roli tłuszczu w organizmie zmiennocieplnym. W pracy TERROINE'A ('19), która posiada charakter monografji o tłuszczach zwierzęcych, znajdujemy skąpe dane, dotyczące nielicznych gatun-

ków ryb<sup>1)</sup>. Z drugiej strony wyniki, otrzymane dla ryb głodzonych, nie wyjaśniają należycie udziału tłuszczu w przemianie głodowej. Z pracy LICHTENFELTA ('04) wynikałoby, że w czasie głodu zachodzi u ryb znaczne zużycie tłuszczu, tem większe (w wartościach bezwzględnych i procentowo), im większa jest początkowa zawartość tłuszczu w mięśniach. Powyżej zaznaczone zużycie tłuszczu zmniejsza się przytem stopniowo w czasie głodu. Na znaczny udział tłuszczu w głodowej przemianie materji i na wybitne zmniejszanie się procentowej zawartości tłuszczu wskazywałyby również wyniki, otrzymane przez LIPSCHÜTZA ('11) dla młodych węgorzy i karp. Natomiast odrębne rezultaty dla węgorzy otrzymali REUSS i WEINLAND ('13), którzy nie stwierdzili zmiany w składzie chemicznym ciała u osobników, trzymanyh w temperaturze 12,5<sup>o</sup>, oraz znaleźli zmiany nieznaczne u osobników w temp. 19<sup>o</sup>. Należy zaznaczyć, że zarówno w doświadczeniach LIPSCHÜTZA, jak i REUSSA badane były osobniki bardzo młode (wagi 0.1 — 0.2 g), o niskiej (1 — 2% substancji świeżej) zawartości tłuszczów. Wreszcie, ze wspomnianych wyżej analiz TERROINE'A ('19) wynikałoby, że u okonia i lina zawartość kwasów tłuszczowych bardzo wyraźnie zmniejsza się w czasie głodu (z 1—3% do 0.4—0.5% świeżej masy).

Zagadnienie zmian w składzie chemicznym ryb głodzonych wiąże się pośrednio z innym zagadnieniem, a mianowicie ze sprawą zmienności składu chemicznego wogóle, a zwłaszcza zmian sezonowych u tych zwierząt. Z analiz ATWATERA, BALLANDA, CLARKA ('18) i DILLA ('21) wynika szeroka skala wahań w zawartości tłuszczu u osobników w obrębie jednego gatunku. To ostatnie zjawisko było wielokrotnie poruszane przez różnych badaczy i podlegało różnorodnej interpretacji. POLIMANTI ('15) przypuszczał istnienie zależności pomiędzy zawartością tłuszczu a głębokością, w której normalnie ryba przebywa. Ryby, żyjące w górnych warstwach wodnych, wykazują większą zawartość tłuszczu, niż ryby głębinowe. HJÖRT ('11), FAGE i LEGENDRE ('14) wskazują na zależność pomiędzy zawartością tłuszczu a temperaturą wody otaczającej, i do tego czynnika prowadzą zmiany sezonowe. Na pierwszy plan jednak wysuwają się od czasu badań MIESCHERA ('97) prace, zmierzające do wyjaśnienia zmian w składzie chemicznym ryb wędrujących w okresie godowym. Zagadnienie zyskało na znaczeniu po ustaleniu znacznego rozpowszechnienia tego zjawiska zarówno wśród gatunków morskich, jak i słodkowodnych. Gatunkiem bliżej zbadanym pod tym względem jest jedynie łosoś. Prace MIESCHERA, a zwłaszcza C. W. i C. H. GREENE'A ('19—'26), wykazały daleko idące zmiany w składzie chemicznym u tych ryb. Zawartość „wyciągu tłuszczowego“ w mięśniach, wynosząca u osobników łowionych przy ujściu rzek około 16% substancji świeżej, spada u osobników, składających ikrę, do 2%. Jednocześnie, aczkolwiek w daleko mniejszym stopniu, zachodzi zmniejszenie procentowej zawartości białka. Zjawisko znikania znacznych ilości tłuszczu jest o tyle ciekawe i skomplikowane, że na przebieg procesów metabolizmu wywiera wpływ w danym przypadku głód, wyczerpana praca mięśniowa oraz

<sup>1)</sup> TERROINE nie uwzględnia wyników prac MIESCHERA, LICHTENFELTA, BALLANDA, REUSSA i t. p.



jednoczesny rozwój gonad. Który z wyżej wymienionych czynników posiada znaczenie w powodowaniu zmian w składzie chemicznym ciała, jest rzeczą niemożliwą do rozstrzygnięcia, analizując jedynie zwierzęta schwytane w warunkach naturalnych. Stoi temu na przeszkodzie brak ścisłej kontroli, która pozwoliłaby ustalić stopień działania, przynależnego poszczególnym czynnikom, wchodzącym w grę. GREENE, opierając się na wynikach swych analiz, sądzi, że głód i praca mięśniowa odgrywają znaczną rolę w zaniku rezerwy tłuszczowej.

W pracy niniejszej chodziło mi o ustalenie działania w tym kierunku jednego czynnika, t. j. głodu.

Materiałem doświadczalnym były węgorze. Zwierzęta te nadawały się do doświadczeń ze względu na znaczną zawartość tłuszczu oraz wytrzymałość na głód.

#### Materiał i metody.

Węgorze, które służyły do niniejszych doświadczeń, były złowione w zatoce Puckiej w końcu sierpnia (29/VIII—1925 r.), w okresie masowego ich pojawiania się w nadbrzeżnych wodach zatoki. Waga pojedynczych osobników wynosiła od 300 do 700 g, długość ciała około 50—55 cm. Niezwłocznie po złowieniu były one w ilości 11 sztuk przewiezione w mchu wilgotnym, w stanie całkowicie pomyślnym. W pracowni przebywały w pokoju nieogrzewanym w 2 akwarjach, pojemności około 100 litrów, w wodzie wodociągowej, stale przepływającej. Temperatura wody zmieniała się w ciągu doświadczenia okresowo i wynosiła w miesiącu wrześniu i październiku 14°, poczem stopniowo opadła w listopadzie do 10° i na tej wysokości utrzymywała się w przeciągu miesięcy zimowych; począwszy od drugiej połowy kwietnia temperatura wzrosła powoli do 16° (czerwiec). Jedynie w końcowym okresie doświadczenia (lipiec, węgorze № III i IX zabite 14 i 15 VII.1926 r.) nastąpił szybszy wzrost temperatury do 20°. Dla ustalenia początkowej zawartości białka i tłuszczu zostały zabite cztery węgorze wkrótce po przewiezieniu: I po upływie 2 dni od złowienia, II po 10, X i XI po 20 dniach. Analizy nie wykazały wyraźnych zmian w składzie chemicznym ciała pod wpływem krótkotrwałego głodu, dlatego też następne osobniki analizowane były w dłuższych odstępach czasu, pomiędzy 20 i 320-ym dniem od złowienia. Zaznaczę, że rozpoczynając doświadczenie, nie przewidywałem tak długotrwałego okresu głodzenia; tem, zarówno jak trudnością otrzymania świeżego materiału, tłumaczy się niewielka ilość osobników doświadczalnych i nieregularność odstępów czasu, w których były dokonywane analizy<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Już w okresie pisania pracy zaznajomiłem się z pracą d'ANCONA ('26, '27) nad wpływem głodu u węgorzy na cytologiczną budowę ciała. D'ANCONA głodził jednego osobnika w przeciągu 657 dni i obserwował stratę wagi 61%. Należy zaznaczyć jednak, że badał osobniki znacznie młodsze (wagi 30—140 g).

Z pomiędzy wymienionych węgorzy, № VI i VII zostały zabite w stanie przedśmiertnym, pozostałe nie wykazywały ujemnych oznak hodowli.

Normalny przebieg analizy był następujący <sup>1)</sup>. Po osuszeniu powierzchni ciała zwierzę było ważone. Następnie po zdarcie skóry, oddzielałem wątrobę, płaty tłuszczowe, występujące po bokach przewodu pokarmowego, oraz pozostałe wnętrzności; każdą z tych części analizowałem oddzielnie: wątrobę, płaty tłuszczowe i wnętrzności (pozostałe) w całości, zaś skórę drobno pokrajaną—częściami. Pozostawała masa mięśniowa (wraz z układem nerwowym i kostnym); zawierała ona przeważającą ilość tłuszczu, który u węgorzy jest głównie (ok. 90%) zlokalizowany w worze mięśniowym i w otaczającej tkance podskórnej. Ponieważ było rzeczą niemożliwą otrzymanie jednolitego materiału w stanie świeżym, postępowałem w sposób następujący. Masę powyższą, drobno pokrajaną, ogrzewałem na łaźni wodnej, zlewałem wytopiony tłuszcz, zalewałem parokrotnie eterem na przeciągu kilku godzin, następnie — eter zlewałem. W ten sposób otrzymywałem oddzielnie wyciąg płynny, składający się (po odparowaniu eteru) prawie wyłącznie z tłuszczów, i substancję suchą, która nadawała się do równomiernego sproszkowania. Substancję suchą doprowadzałem do stałej wagi w suszarce próżniowej w temperaturze 35°. W wyciągu płynnym i substancji suchej oznaczałem azot oraz kwasy tłuszczowe, robiąc jednocześnie po trzy równoległe oznaczenia. Do jednego oznaczenia brałem 1—2 g substancji. Azot oznaczałem zwykłą metodą KJELDAHLA (płynny 1/10 n), kwasy tłuszczowe — metodą KUMAGAWA-SUTO, doprowadzając je w suszarce próżniowej do wagi stałej. Metodę KUMAGAWA-SUTO stosowałem z dwóch względów: 1°, daje ona w postaci względnie najczystszej zawartość kwasów tłuszczowych, a więc czynnika składowego tłuszczów, który w pierwszym rzędzie może wchodzić w grę, jeżeli mowa o rezerwie tłuszczowej; 2°, metoda powyższa znalazła szerokie zastosowanie w pracach autorów nowszych, omawiających zagadnienie rezerwy tłuszczowej (BIAŁASZEWICZ, PRZYŁĘCKI, TERROINE). Odmienne metody oznaczania tłuszczów napotykamy w pracach (tyczących się składu chemicznego ryb), autorów dawnych (BALLAND, LICHTENFELT), jak również w pracach współczesnych autorów amerykańskich (DILL, GREENE), którzy stosują ogólnie metodę bezpośredniego ekstrahowania alkoholem lub eterem („metoda oficjalna“). W celu ułatwienia porównania wyników, wykonałem również szereg analiz (masy suchej i wyciągu płynnego) wspomnianą metodą ekstrahowania. Sposób postępowania był następujący: 1—2 g suchej substancji, względnie wyciągu płynnego (po nadaniu mu odpowiedniej konsystencji przez domieszkę krzemionki), ekstrahowałem w aparacie SOXHLETA w przeciągu 6—8 godzin alkoholem wrzącym; po odparowaniu alkoholu w suszarce próżniowej oznaczałem wagę wyciągu alkoholowego. Ekstrahując następnie pozostałą masę (6—8 godzin) eterem siarczanym, oznaczałem wartość

<sup>1)</sup> Węgorz № XI był analizowany w sposób odrębny. Zwierzę w całości było drobno pokrajane, poczem postępowano tak, jak z masą mięśniową, analizując oddzielnie substancję suchą i wyciąg płynny.

wyciągu alkohol-eter. Po ponownym rozpuszczeniu w eterze siarczanym, po przesączeniu i odparowaniu eteru, otrzymywałem frakcję rozpuszczalną w eterze. Równolegle oznaczałem zawartość kwasów tłuszczowych metodą KUMAGAWA-SUTO. Wyniki analiz zestawilem w tabeli I. Z tabeli I możemy wyprowadzić następujący ważny dla dalszych rozważań wniosek: stosunek wzajemny poszczególnych frakcyj wyciągu (a zwłaszcza frakcji 2 i 3) waha się w niewielkich stosunkowo granicach (fr. 2:1.11—1.19, fr. 3:1.07—1.15). Wskazuje to pośrednio, że charakter substancyj tłuszczowych nie podlega głębszym zmianom w czasie głodu. Upoważnia nas to jednocześnie do podawania w dalszych analizach wyników, opartych na stosowaniu wyłącznie metody KUMAGAWA-SUTO.

Tabela I.

Zawartość wyciągu alkoholowo-eterowego i kwasów tłuszczowych w węgorzach № I, II, IV, IX (z analizy wyłączono skórę oraz wnętrzności jamy brzusznej). Procenty podano w odniesieniu do wagi analizowanej substancji świeżej.

*Teneur des anguilles № I, II, IV et IX en substances grasses solubles dans l'alcool et l'éther sulfurique, ainsi qu'en acides gras. L'analyse a porté sur l'animal entier, excepté la peau et les viscères. % exprimés par rapport à la substance fraîche.*

Numer zwierzęcia № de l'animal.	Waga substancji świeżej Poids de la substance fraîche		1				2			3		4	
			Frakcja alkoholowa wyciągu Extrait alcoolique				Frakcja alkoholowa + eterowa wyciągu Extrait alcoolique + étheré			Frakcja eterowa wyciągu Extrait étheré		Kwasy tu- szczowe Acides gras (KumagawaSuto)	
			g	‰	Stosunek do kwa- sów tłuszczowych Rapport-extrait al- cool; acides gras	g	‰	Stosunek do kwa- sów tłuszczowych Rapport-extrait alc. + étheré; acides gras	g	‰	Stosunek do kwa- sów tłuszczowych Rapport-extrait étheré; acides gras	g	‰
I	440.25	116.14	26.4	0.94	142.81	32.4	1.16	137.45	31.2	1.11	123.59	28.1	
II	576.85	151.37	26.2	0.80	225.62	39.1	1.19	212.45	36.8	1.12	189.81	32.9	
IV	396.81	99.27	28.4	0.88	124.43	31.4	1.11	120.63	30.4	1.07	112.57	28.4	
IX	310.88	91.98	29.6	0.82	133.24	42.9	1.19	128.95	41.5	1.15	111.95	36.0	
Prze- ciętna Moy- enne				0.86			1.16			1.11			

## Wyniki doświadczeń i omówienie.

W tabeli II-iej podałem wagę początkową oraz straty na wadze ogólne i procentowe zwierząt. Tabela III zawiera wyniki analiz, dotyczące zawartości azotu i kwasów tłuszczowych w poszczególnych organach, oraz całkowitej zawartości tych składników w ciele. Dane tabeli III-iej posłużyły do skonstruowania tabeli IV, w której podałem procentowe ustosunkowanie dwu zasadniczych składników substancji organicznej, t. j. białka i substancyj tłuszczo-

watych, rozpuszczalnych w alkoholu i eterze. Zawartość białka wyliczałem, mnożąc ilość azotu przez współczynnik 6.25, zaś dla tłuszczów stosowałem ustalony wyżej współczynnik 1.16 (tab. I). Tabela IV daje nam zatem skład substancji organicznej węgorzy głodzonych, wprawdzie tylko w przybliżeniu, ponieważ po pierwsze, wartość współczynnika 6.25 należy uważać za względną, a po drugie, nie uwzględniona została zawartość węglowodanów. Jednakże, sądząc z prac DILLA ('21) i GREENE'A ('21), wartość błędu, popełnionego na tej drodze, uznać należy za niewielką, gdyż wymienieni autorowie zgodnie stwierdzają u ryb bardzo nieznaczne ilości glikogenu (do 0.015% w mięśniach łososia, 0.17 —

Tabela II.

Straty wagi zwierząt głodzonych.  
*Diminution du poids des animaux soumis au jeüne.*

№ zwierzęcia No de l'animal	Waga początkowa Poids initial	Dni głodu Nombre de jours d'inanition	Strata wagi Diminution du poids			
			całkowita Dimin. totale		na 24 g Dimin. par jour	
			g	‰	g	‰
			g	‰	g	‰
VI	300	107	43	14.3	0.40	0.13
VII	459	114	47	10.2	0.41	0.09
VIII	508	244	65	12.8	0.27	0.05
V	476	265	46	9.7	0.17	0.04
IV	530	293	75	14.2	0.26	0.05
III	364	319	95	26.1	0.30	0.08
IX	472	320	102	21.6	0.32	0.07

0.50% u sardynki). Potwierdzają to również próbne doświadczenia, dokonane przeze mnie na węgorzu № II. Oznaczyłem w nim zawartość glikogenu metodą PFLÜGERA w 100 g mięśni świeżych oraz mikrometodą PRZYŁECKIEGO w częściach wątroby. Wyniki otrzymane wykazały w mięśni 0.023% i w wątrobie 0.14% glikogenu, w odniesieniu do substancji świeżej. Wobec stwierdzonej niskiej zawartości węglowodanów, danym tabeli IV śmiało możemy przypisać znaczenie orientacyjne w ocenie składu substancji organicznej.

W tabeli III i IV uderza wysoka zawartość kwasów tłuszczowych, wzgl. substancyj tłuszczowatych. Zawartość kwasów tłuszczowych sięga do 34% (przeciętna 27.5), zaś wyciągu eterowego do 40% (przec. 31.9%) świeżej masy, względnie 74% sub-

stancji organicznej. Zawartość tłuszczu u węgorzy przewyższa zatem ilości, jakie napotykamy w analizach, podawanych przez różnych autorów dla innych gatunków ryb. DILL ('21) znajduje u sardynek kalifornijskich (*Sardinia caerulea*) do 21.4%, u makrełowatych (*Sarda chilensis*) do 19.2%, GREENE ('19) stwierdza u łososi do 21% wyciągu eterowego w odniesieniu do świeżej masy (wzgl. do 53% substancji suchej). Natomiast wyniki analiz BALLANDA ('98), dotyczące węgorza rzecznoego, zbliżają się do moich; stwierdził on zawartość 25.7% wyciągu eterowego. Należy zaznaczyć, że analizy wyżej wymienionych autorów dotyczyły tylko części jadalnych, wzgl. mięśni. Rzut oka na tabelę III pozwala nam stwierdzić, że jest to główne miejsce zlokalizowania tłuszczu; zawartość tłuszczu w mięśniach sięga 90% ogólnej jego zawartości w ciele. Dostyc znaczna część tłuszczu zlokalizowana jest w skórze i w bezpośrednio przylegającej tkance podskórnej (4 — 8%). Na wątrobę przypada 0.2 — 1.5, na przewód pokarmowy 0.7 — 2.1 i „płaty tłuszczowe“ 1.1 — 4.7% ogólnej ilości tłuszczu. Warto zaznaczyć, że pod względem ogólnej zawartości tłuszczów węgorz nie ustępuje znacznie ssakom tuczonym. Tak np. dla świni tuczzonej TANGL ('10) podaje zawartość tłuszczów, dochodzącą do 42% świeżej masy (lub też 80% substancji organicznej).

Zawartość azotu w węgorzach wynosi około 2.35%; odpowiada to zawartości białka ok. 15% w odniesieniu do żywej wagi. Liczba ta zbliża się do tej, jaką podaje MIESCHER (13 — 17%) lub też GREENE (13 — 18%) dla mięśni łososia. Natomiast w odniesieniu do substancji organicznej zawartość procentowa białka jest znacznie niższa u węgorza (31.5%), niż w mięśniach łososia (MIESCHER: 60 — 70%, GREENE: 41 — 70%). Pozostaje to w ścisłym związku z ogólną zawartością suchej masy, która w mięśniach łososia wynosi według MIESCHERA: 18 — 27%, zaś według GREENE'A: 20 — 40% wagi, gdy tymczasem u węgorza jest ona znacznie wyższa. W węgorzu № XI, który, jak wspomniałem, był analizowany w całości, zawartość substancji bezwodnej wynosiła 51.4%, w węgorzach № I — X zawartość substancji bezwodnej oznaczana była tylko w masie, pozostałej po usunięciu skóry i wnętrzości, i wynosiła od 47.3 do 58.8%, przytem najwyższa wartość (58.8) odnosi się do węgorza № IX.

Podana wyżej zawartość białka u węgorza jest naogół niższa od przeciętnej zawartości białka u stałocieplnych (TERROINE '24),

Tabela III.

Skład chemiczny węgorki. Wyniki analiz.  
*Teneur des anguilles en azote et en acides gras.*

№ zwierzęcia	Dni kłodu	Nombre de jours d'incu- tion	Waga końcowa	Wątroba <i>F o i e</i>			Wnętrznosci (pozostale) <i>Viscères</i>			Skóra <i>P e a u</i>			Pozostale organy <i>Autres organes</i>			O g ó l n e <i>T o t a l</i>		
				Waga <i>Poids</i>	N	Kwasy tłu- szcze <i>Acides gras</i>	Waga <i>Poids</i>	N	Kwasy tłu- szcze <i>Acides gras</i>	Waga <i>Poids</i>	N	Kwasy tłu- szcze <i>Acides gras</i>	Waga <i>Poids</i>	N	Kwasy tłu- szcze <i>Acides gras</i>	g	%	g
I	2	2	525	5.82	158	0.292	33.45	4.419	45.48	2.445	5.604	440.25	10.123	123.589	13.371	2.55	133.904	25.50
II	10	10	705	11.40	220	2.212	38.95	5.977	77.80	2.797	10.508	576.85	13.572	189.808	17.327	2.46	208.505	29.58
X	20	20	444	8.23	166	0.877	29.38	3.135	56.30	1.066	13.291	350.09	8.663	99.891	10.485	2.36	117.194	26.39
XI	20	20	409	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10.499	2.57	111.361	27.23
VI	107	257	3.33	3.33	64	1.068	13.17	1.831	32.35	1.315	5.095	208.15	4.451	60.661	6.062	2.36	68.595	26.69
VII	114	412	7.53	7.53	110	0.739	24.26	2.495	42.90	1.836	7.359	337.31	7.373	93.716	9.619	2.33	104.309	25.32
VIII	244	443	5.53	5.53	90	0.995	23.06	5.060	36.53	1.661	7.366	377.88	6.464	99.777	8.655	1.95	113.198	25.55
V	265	430	6.12	6.12	93	0.711	22.52	7.011	35.15	1.761	4.981	366.21	7.486	98.199	9.687	2.25	110.902	25.79
IV	293	455	5.84	5.84	104	1.303	18.85	6.454	33.50	1.750	7.261	396.81	7.473	112.568	9.647	2.12	127.586	28.04
III	319	269	2.50	2.50	58	0.334	12.17	2.461	28.18	1.366	6.516	226.15	4.692	66.531	6.393	2.38	75.842	28.19
IX	320	370	3.75	3.75	89	0.558	15.31	4.044	40.06	2.068	10.135	310.88	5.828	111.952	8.301	2.24	126.689	34.24

Cyfrы tłuste wskazują, że przy oznaczeniu były straty.

zbliża się natomiast lub przewyższa zawartość białka u ssaków tuczonych; według danych TEREGA (cyt. według TANGLA '10), zawartość białka w świni tuczonyj wynosi 8.2% w odniesieniu do substancji świeżej, 20% — do substancji suchej.

Przejdziemy teraz do rozpatrzenia wpływu głodu na opisany wyżej skład chemiczny ciała. Z danych tabeli IV widoczne jest, że zawartość procentowa azotu i kwasów tłuszczowych w ciele nie zmienia się zasadniczo w czasie długiego okresu

Tabela IV.

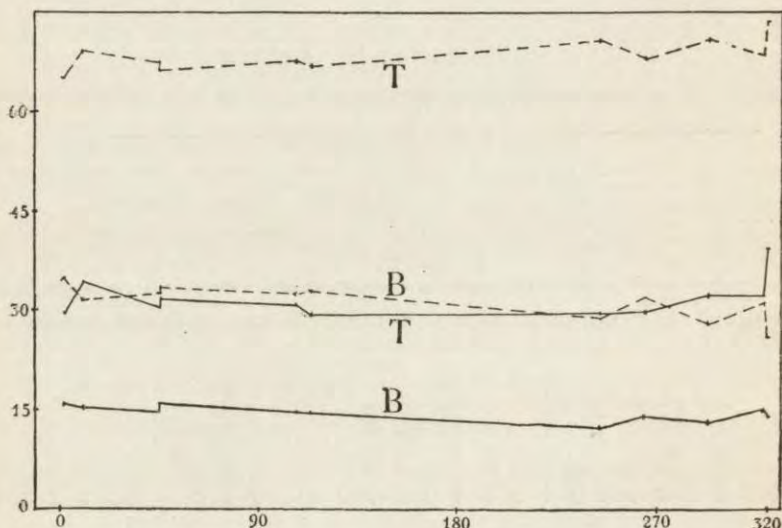
Zawartość i przybliżony skład substancji organicznej.  
*Teneur de la substance organique en protéines et en graisses.*

№ zwierzęcia № de l'animal	Białko <i>Protéines</i> (N × 6.25)			Tłuszcze (kwasy tłuszczowe × 1.16) <i>Graisses</i> (acides gras × 1.16).			Ogółem subst. org. [białko + tłuszcze] <i>Subst. organ. [protéines + graisses]</i>	
	zawartość ogólna <i>quantité totale</i>	% subst. organ. <i>en % de la subst. organ.</i>	% subst. świeżej <i>en % de la subst. fraîche</i>	zawartość ogólna <i>quantité totale</i>	% subst. organ. <i>en % de la subst. organ.</i>	% subst. świeżej <i>en % de la subst. fraîche</i>	zawartość ogólna <i>quantité totale</i>	% subst. świeżej <i>en % de la subst. fraîche</i>
	g	%	%	g	%	%	g	%
I	83.57	35.0	15.9	155.33	65.0	29.6	238.90	45.5
II	108.30	30.9	15.4	241.86	69.1	34.3	350.16	49.7
X	65.53	32.5	14.8	135.95	67.5	30.6	201.48	45.4
XI	65.62	33.7	16.0	129.18	66.3	31.6	194.80	47.6
VI	37.89	32.3	14.7	79.57	67.7	30.9	117.46	45.7
VII	60.12	33.2	14.6	121.00	66.8	29.4	181.12	44.0
VIII	54.09	29.2	12.2	131.31	70.8	29.6	185.40	41.9
V	60.54	32.0	14.1	128.65	68.0	29.9	189.19	44.0
IV	60.29	28.9	13.3	148.00	71.1	32.5	208.29	45.8
III	39.96	31.2	14.9	87.98	68.8	32.7	127.94	47.6
IX	51.88	26.1	14.0	146.96	73.9	39.7	198.84	53.7

głodu. Zawartość kwasów tłuszczowych waha się w wąskich granicach 25.3–29.6% substancji świeżej; jedynie węgorkz № IX, ostatni w serii głodowej, wykazał zawartość znacznie wyższą: 34.2%. Odpowiednio do tego skład substancji organicznej nie ulega zmianom w określonym kierunku w czasie głodu. Zwłaszcza widoczne to jest z załączonego wykresu. Uderza w nim równomierność rozmieszczenia punktów, odnoszących się do składu chemicznego węgorkzy № I — VIII, X i XI<sup>1)</sup>. Jedyne większe odchylenie stanowi wspomniany osobnik № IX, który ujawnił

<sup>1)</sup> Szczegółowe rozejrzenie się w wykresie naprowadza na przypuszczenie, że nastąpiło obniżenie zawartości procentowej tłuszczu w okresie zimowym, zaś wzrost — w okresie letnim. Zjawisko powyższe, które

znacznie większą procentową zawartość tłuszczu oraz normalną zawartość białka (w odniesieniu do substancji świeżej). Jest rzeczą zasługującą na podkreślenie, że porównanie węgorzy, zgrupowanych według wagi (a więc poniekąd i wieku), nie wykazuje również zmian jednokierunkowych w stosunku ilościowym białka i tłuszczu. Pod tym względem zachodzi różnica z wynikami, otrzymanymi przez LIPSCHÜTZA ('11) dla karpia; zdaniem LIPSCHÜTZA,



Rys. 1. Zawartość procentowa w węgorzach białka (B) i tłuszczów (T) w odniesieniu do substancji świeżej (linje ciągłe) i do substancji organicznej (linje przerywane). Na osi pionowych zaznaczono procent sub. świeżej, wzgl. organicznej, na osi poziomych — dni głodu.

*Teneur des anguilles en protéines (B) et en graisses (T), exprimée par rapport à la substance fraîche (ligne continue) et à la substance organique (ligne pointillée). Les pour-cents de la substance fraîche, respectivement de la substance organique, ont été portés sur l'axe des ordonnées, tandis que le nombre des jours d'inanition a été marqué sur l'axe des abscisses.*

karpie mniejszej wagi wykazują mniejszą zawartość procentową białka i tłuszczu. Wyprowadza on stąd wniosek, że zwierzęta te głodują w stanie naturalnym.

zresztą nie występuje wyraźnie, może pozostawać w związku ze zmianami temperatury. Zdaniem HJÖRTA i in. zawartość tłuszczu u ryb wzrasta wraz z temperaturą. W zgodzie z tem pozostają wyniki prac KNAUTHEGO ('01), że wzrost temperatury powoduje zwiększenie udziału białka w ogólnej przemianie materji u ryb. Zaznaczę, że kwestja wpływu temperatury na skład chemiczny ryb wymaga uzupełniających badań doświadczalnych.



Jak wynika z tabeli II, w okresie głodowym węgorze wykazały znaczne, do 26% wagi początkowej dochodzące straty<sup>1)</sup>. Odpowiada to zużyciu około 50 g substancji organicznej, w czem ok. 35 g przypada na tłuszcze, pozostała zaś ilość na białko.

Doświadczenie wykazuje, że u zwierząt stałocięplnych naruszenie rezerwy tłuszczowej i zmiany w procentowym składzie substancji organicznej występują już przy bardziej krótkotrwałym głodzie i mniejszych procentowych stratach wagi. Z doświadczeń PRZYŁĘCKIEGO ('26, tab. III) wynikałoby, że żaby głodzone w przeciągu 4—5 miesięcy (w temp. 5—10°) wykazują, przy stratach wagi 20—40%, zmniejszenie przeszło dwukrotne procentowej

Tabela V.

Zawartość % azotu i kwasów tłuszczowych w ciele. Węgorze zgrupowane według wagi.  
Teneur du corps en azote et en acides gras. Les anguilles sont groupées d'après leur poids.

№ zwierzęcia № de l'animal	VI	III	IX	XI	VII	V	VIII	X	IV	I	II.
Waga w gramach Poids en gr.	257	269	370	409	412	430	443	444	455	525	705
N w procentach wagi świeżej N en pour-cents de la subst. fraîche	2.36	2.38	2.24	2.57	2.33	2.25	1.95	2.36	2.12	2.55	2.40
Kwasy tłuszczowe w procentach wagi świeżej Acides gras en pour-cents de la subst. fraîche	26.7	28.2	34.2	27.2	25.3	25.8	25.6	26.4	28.0	25.5	29.0

zawartości kwasów tłuszczowych. O ileby zatem tłuszcz u węgorzy spełniał identycznie rolę rezerwy pokarmowej, możnaby spodziewać się u węgorzy głodzonych zmniejszenia procentowej zawartości tłuszczu w ciele. Z doświadczenia wynika, że tak nie jest; zwierzęta głodzone nie wykazują bynajmniej zaniku tłuszczu: wahania w zawartości procentowej tego składnika, w porównaniu do zwierząt świeżo złowionych, nie przekraczają 5% in minus. Ciekawą jest przytem rzeczą, że „płaty tłuszczowe“, znajdujące się po bokach przewodu pokarmowego, nie ujawniają zaniku w czasie głodu; zawartość tłuszczu wynosiła w nich u węgorza № I—II: 1—1.2%, III i IX: 1.1—2.1%. Z powyższych doświadczeń

<sup>1)</sup> Podane wyżej zmniejszenie wagi ciała nie jest oczywiście maksymalne; dla ryb głodzonych straty wagi mogą sięgać znacznie dalej np. d'ANCONA ('27) obserwował u węgorza młodego (30 g) stratę 61%.

wyprowadzić musimy zatem wniosek, że u węgorzy główne składniki organiczne, t. j. białko i tłuszcz, podlegają w czasie głodu względnie równomiernemu rozpadowi. Stwierdzenie tego faktu prowadzi nas do dalszych ciekawych wniosków. W przypadku opisywanym mielibyśmy do czynienia z organizmem, którego przemiana głodowa posiadałaby charakter wybitnie tłuszczowy (60—70%), a jednocześnie zużycie tłuszczu zachodziłoby równomiernie i równoległe do zużycia białka. Pojęcie rezerwy i działania ochronnego tłuszczu w tem znaczeniu, jakie mu nadały u ssaków badania VOITA, nie da się zastosować w przypadku badanym; tem nie mniej, nie zdaje się ulegać wątpliwości znaczna rola tłuszczu w przemianie głodowej. W związku z tem ciekawe jest zestawienie dziennych strat substancji organicznej węgorzy ze stratami, jakie wykazują inne zwierzęta zmiennocieplne. Z badań LIBRACHÓWNY ('22) wynika, żeienne straty na wadze w czasie głodu wynoszą dla żaby (temp. 25°) ok. 0.5% sub. świeżej, t. j. ok. 0.05—0.1% substancji organicznej, w czem przypada na białko i węglowodany 0.047—0.095%, na tłuszcz 0.003—0.005%. Ogólna wartość kaloryczna przemiany głodowej wynosiłaby 0.2—0.4 kal. kg na 100 g wagi i dobę. Dla pijawki powyższe straty materialne wynoszą ok. 0.76% wagi, co odpowiada (temp. 25°) 0.4 kal. kg na 100 g i 24 godz. (BIAŁASZEWICZ '19). Straty dzienne na wadze węgorzy wynoszą (tab. II) 0.04—0.13 g substancji świeżej, 0.02—0.06 g substancji organicznej, w czem ok. 0.007—0.02 białka, 0.013—0.04 tłuszczu (temp. 10°—16°), co odpowiadałoby ok. 0.1—0.4 kal. kg na 100 g wagi i dobę. Przy nieznacznym zatem stratach wagi wartości kaloryczne przemiany głodowej byłyby dosyć wysokie.

Na tej drodze znajdujemy częściowo odpowiedź na pytanie, jaką rolę należy przypisać tym znacznym masom tłuszczu, jakie węgorz gromadzi w swych tkankach. Pytanie powyższe oczywiście posiadać może zasadniczo znaczenie bardziej rozległe i jest trudne do rozwiązania w całokształcie: jak wspomniałem wyżej, zawartość dużych ilości tłuszczu charakteryzuje wiele gatunków ryb, których etologia nie zawsze jest dobrze zbadana. Jest rzeczą jasną, że nagromadzenie tłuszczu w ciele jest czynnikiem ułatwiającym przetrwanie długotrwałych okresów głodu oraz podejmowanie odległych wędrówek. Nasuwa się wprawdzie uwaga, że długotrwałe okresy głodowe zdolne są również przetrzymać organizmy zmiennocieplne bezkręgowce, nie zawierające większych

ilości tłuszczu, jak np. pierwotniaki, pijawki, wypławki. U zwierząt bezkręgowych jednakże przebieg głodu związany jest z bardzo daleko idącą redukcją masy ogólnej (do 1/100, a nawet 1/1000 pierwotnej wartości); tak daleko idącej redukcji organizmu nie możemy się spodziewać u zwierząt kręgowych, posiadających odrębny i bardziej skomplikowany system organizacji. Znaczna zawartość tłuszczu u tych zwierząt kręgowych, u których okresy długotrwałego głodu są zjawiskiem naturalnym, posiadać może zatem swe usprawiedliwienie w odrębnych warunkach organizacji.

Znaczenie, jakie tutaj nadajemy złożom tłuszczu u węgorza, pokrywa się częściowo z poglądami MIESCHERA i GREENE'A na rolę tłuszczu u łososia. MIESCHER w masach tłuszczu, nagromadzonych w mięśniach łososia, upatrywał główne źródło energii, zużytkowywanej na potrzeby przemiany zachowawczej, zaś w białku — źródło materiału twórczego gonad<sup>1)</sup>. GREENE, opierając się na wynikach swych analiz łososi z rzeki Sacramento, przyjmuje udział materjalny tłuszczu pięciokrotnie większy (84%) aniżeli białka (16%) w przemianie zachowawczej; odpowiada to udziałowi tłuszczu w 90% przemiany energetycznej<sup>2)</sup>. Wobec tego, że tłuszcz u łososi stanowi zaledwie ok. 45% substancji organicznej, udział tłuszczu w stopniu wskazanym w przemianie zachowawczej organizmu z konieczności musiałby prowadzić do zmiany w składzie chemicznym mięśni. Aczkolwiek liczby GREENE'A, o ile chodzi o udział procentowy tłuszczu w procesach rozpadowych, nie odbiegają bardzo od otrzymanych przeze mnie dla węgorza (60—70%), to jednak sądzę, że zarówno MIESCHER, jak i GREENE nadmierne przypisują znaczenie przemianie zachowawczej w zaniku „rezerwy tłuszczowej“. Opierając się na wynikach pracy niniejszej, sądzić należałoby, że nawet długotrwały głód nie powinien powodować tak wyraźnych zmian w składzie chemicznym mięśni. Pozostaje do sprecyzowania działanie czynnika dodatko-

<sup>1)</sup> BIAŁASZEWICZ ('19, tab. XLVII), opierając się na danych pracy MIESCHERA, wylicza udział tłuszczów w przemianie zachowawczej łososia na 27%, białka na 73%.

<sup>2)</sup> GREENE ('26, str. 233) ocenia straty ogólne mięśni łososia wagi normalnej („standard salmon“) na 1177 g tłuszczu i 589 g białka, z czego 161 g tłuszczu i 390 g białka przypadałoby na przyrost substancji jajników, pozostała ilość — na potrzeby przemiany zachowawczej. Dane, które podaje wyżej, są wyliczone na podstawie przytoczonych liczb GREENE'A.

wego, t. j. pracy mięśniowej: GREENE sądzi, że tłuszcz jest zbiornikiem energii kinetycznej mięśni, że zastępuje on w danym przypadku nieobecne węglowodany, i przypuszcza, iż intensywne prace mięśniowe w okresie głodu powoduje wyczerpanie zapasów tłuszczu. Z analiz GREENE'A wynika rzeczywiście, że zmniejszenie się zawartości tłuszczu w mięśniach łososia zachodzi bez porównania szybciej, aniżeli białka. Jednakże wnioski, jakie wyprowadza GREENE ze słynnej serii badań nad łososiami rzeki Sacramento i Columbia, pozostawiają pewne punkty niejasne, zwłaszcza co do wpływu głodu i pracy mięśniowej na metabolizm tłuszczów. Warto zaznaczyć te punkty wątpliwe. Jest rzeczą ciekawą przedewszystkiem, że łososie, pochodzące z kolejnych stacji rzeki Columbia (Ilwaco, Warrendale i Seufert), nie wykazują prawie żadnych zmian w składzie chemicznym mięśni (GREENE '19) pomimo, że dzieli je od morza okres kilkumiesięcznej wędrówki, przebycie przeszło 200 mil drogi w bystrej rzece, usianej licznymi wodospadami. Łososie ze stacji Ontario (rzeka Snake, dopływ Columbji), odległej o 700 mil od morza, wykazują zmniejszenie procentowej zawartości tłuszczu (z 42 na 33% substancji suchej) i zwiększenie zawartości białka w mięśniach (z 46 na 53%); jednocześnie występuje szeroka skala wahań indywidualnych, tak że obok osobników o niskiej zawartości tłuszczu, napotykamy osobniki o zawartości wyższej, aniżeli na stacji poprzedniej. Wyraźny natomiast zanik tłuszczu w mięśniach (11% subst. suchej) występuje u łososi ze stacji Cazadero (miejsce składania ikry), odległej o 130 mil od morza (rzeka Willamette, dopływ Columbji), jak również u łososi, łowionych w źródłach rzeki Sacramento (odległość od morza ok. 300 mil?). W tym ostatnim przypadku kontrola zwierząt schwytanych wykazała 26% strat ogólnej wagi ciała<sup>1)</sup>.

Jak uzgodnić wyniki analiz, otrzymane na stacji Ontario i Cazadero: odległa wędrówka od morza i niezbyt znaczne zmiany w składzie chemicznym mięśni (Ontario), odległość mniejsza, umiarkowane straty wagi i głęboka przebudowa organów (Cazadero, Sacramento)? Fakty przytoczone skłaniają raczej do przyjęcia bardziej wybitnego, niż przypuszcza GREENE,

<sup>1)</sup> MIESCHER obliczał straty wagi ciała łososi reńskich w czasie wędrówki do źródeł Ren u na 8% wagi początkowej.

udziału tłuszczu w rozwoju gruczołów płciowych, zwłaszcza w końcowym okresie. Dla ścisłości zaznaczyć jednak należy, że i w tym kierunku wyniki dotychczasowych badań nie dają odpowiedzi wystarczającej. Udział znacznych ilości tłuszczów w wytwarzaniu gonad nie może być kwestjonowany; stosunek ilościowy jednak białka i tłuszczu w gonadach nie odbiega o tyle od składu chemicznego mięśni, ażeby nasuwała się konieczność jednostronnego zużycia tłuszczów, nagromadzonych w mięśniach. Z prac przytem DILLA ('21) wynikałoby, że u szeregu ryb (makrele, sardynki) minimum zawartości tłuszczu w ciele nie przypada na maksimum rozwoju gonad, lecz później. GREENE twierdzi, że w końcowym okresie życia łosia królewskiego zachodzi równoległe zmniejszanie się procentowej zawartości tłuszczu w gonadach i w mięśniach. Nasuwa się pytanie, czy przyczyny powyższych zmian końcowych nie należy poszukiwać w działaniu innych jeszcze czynników, powodujących zakłócenie równowagi chemicznej ustroju, w okresie poprzedzającym śmierć organizmu. Czynniki te, zarówno jak i bezpośredni powód śmierci łosia, składających ikrę, pozostają w tej chwili całkowicie niewyjaśnione.

Narazie zaznaczamy skomplikowany charakter zmian chemicznych w okresie godowym ryb, zamierzając powrócić do powyższego zagadnienia na drodze eksperymentalnej.

#### Streszczenie.

1°. Analiza składu chemicznego węgorzy (waga 300—700 g) wykazuje ok. 50% substancji bezwodnej, 2.35% azotu i 27.5% kwasów tłuszczowych w odniesieniu do wagi żywej. W skład substancji organicznej białko wchodzi w stosunku ok. 31.5% i tłuszcze (wyciąg alkoholowo—eterowy) ok. 68.5%.

2°. Główna ilość tłuszczu jest nagromadzona w mięśniach i przylegającej tkance podskórnej. Na skórę właściwą i wewnętrzności przypada ok. 7—8% tłuszczu.

3°. W czasie długotrwałego głodu (do 320 dni) w temperaturze 10°—16° węgorze wykazały straty wagi, dochodzące do 102 g, czyli do 26% wagi początkowej.

4°. Długotrwały głód nie powoduje zmian wyraźnie jednokierunkowych w składzie chemicznym ciała; zwłaszcza zasługuje na uwagę fakt, że zawartość procentowa tłuszczu w odniesieniu

do substancji świeżej i organicznej nie zmniejsza się w czasie głodu. Wysoki przypuszczalnie udział tłuszczu w przemianie zachowawczej nie prowadzi zatem do naruszenia pierwotnego składu substancji organicznej. Wyniki powyższe skłaniają ku poddaniu rewizji dotychczasowego poglądu na zmiany w składzie chemicznym ryb w okresie godowym, a zwłaszcza do sprecyzowania na drodze doświadczalnej wpływu pracy mięśniowej i rozwoju gonad na zanik tłuszczu w mięśniach.

#### Piśmiennictwo.

- D'Ancona U.** 1926. Osservazioni sull'azione del digiuno nelle anguille giovani. Arch. ital. di anat. e di embriol. **23** [cyt. wdł. Ber. der chem. Phys 1927. **41**]. **D'Ancona U.** 1927 Studi sull'inanizione. I. L'azione del lungo digiuno sulle cellule e sui tessuti. Amer. Journ. Anat. **39** (135). **Atwater W.** 1888. The chemical composition and nutritive values of food fishes. Rep. Com. Fish. and Fish. (cyt. wdł. Clark'a). **Balland M.** 1898 Sur la composition des poissons, des crustacés et des mollusques. C. R. Ac. Sc. **126** (1728). **Białaszewicz K.** 1919. Z badań porównawczych nad ogólną przemianą materji i energii. I. Głód i odżywianie u pijawek. Prace Tow. Nauk. Warsz. № **32**. (Études comparées sur le métabolisme chimique et énergétique. I. L'inanition et la nutrition chez les Hirudinées. Trav. Soc. Scient. Varsovie. № **32**). **Clark E.** and **L. Almy.** 1918. A chemical study of food fishes. The analysis of twenty common food fishes with especial reference to a seasonal variation in composition. Journ. biol. Chem. **33** (483). **Dill B.** 1921. A chemical study of certain pacific coast fishes. Journ. biol. Chem. **48** (73). **Dill B.** 1921. A chemical study of the California sardine (*Sardinia caerulea*). Journ. biol. Chem. **48** (93). **Fage L.** et **R. Legendre.** 1914. Teneur des sardines en eau et en matières grasses. C. R. Soc. Biol. **76** (284). **Greene C. W.** 1919. Biochemical changes in the muscle tissue of king salmon during the fast of spawning migration. Journ. biol. Chem. **39** (435). **Greene C. H.** 1919. Changes in nitrogenous extractives in the muscular tissue of the king salmon. Journ. biol. Chem. **39** (457). **Greene C. W.** 1921. Chemical development of the ovaries of the king salmon during the spawning migration. Journ. biol. Chem. **48** (59). **Greene C. W.** 1921. Carbohydrate content of the king salmon tissues during the spawning migration. Journ. biol. Chem. **48** (429). **Greene C. W.** and **E. Nelson.** 1921. The chemical composition of the skeletal muscle of the fresh water gar, *Lepidosteus*. Journ. biol. Chem. **49** (57). **Greene C. W.** 1926. The physiology of the spawning migration. Physiol. Rev. **6** (201). **Hjört J.** and **E. Lea.** 1911. Report on the international herring investigations during the year 1910. Publ. du cons. intern. pour l'explorat. de la mer. **61** (cyt. wdł. Fage'a) **Knauthe K.** 1901. Die Karpfenzucht. [cyt. wdł. Cronheim W. w Oppenheimer's Handb. d. Bioch. 1911. **4**. (1)]. **Librachówna S.** 1922. O przemianie materji

u płazów. Prace Inst. Nenckiego. 1. (Sur le métabolisme chimique chez les Amphibiens a l'état de jeûne. Trav. Inst. Nencki 1). **Lichtenfelt H.** 1904. Über die chemische Zusammensetzung einiger Fischarten. Arch. f. ges. Physiol. 103 (353). **Lipschütz A.** 1911. Über den Hungerstoffwechsel der Fische. Zeitschr. f. allg. Physiol. 12 (129). **Miescher F.** 1897. Statistische und biologische Beiträge zur Kenntnis vom Leben des Rheinlaches im Süßwasser. Histochem. u. Histol. Arbeit. Leipzig. 2 (116). **Nelson E. and C. W. Greene.** 1921. The chemical composition of the ovaries of fresh water gar, *Lepidosteus*. Journ. biol. Chem. 49 (47). **Pilewiczówna M.** 1926. O przemianie azotowej u owadów. Prace Inst. Nenckiego. 3. (Sur le métabolisme azoté des insectes. Trav. Inst. Nencki. 3). **Polimanti O.** 1915. Über den Fettgehalt und die biologische Bedeutung desselben für die Fische. Bioch. Zeitschr. 69 (145). **Przyłęcki S. et W. Karczewski.** 1924. Le métabolisme protéique chez les grenouilles à jeun et après une nourriture hydrocarbonée. Arch. intern. Physiol. 22 (208). **Przyłęcki S. et J. Opieńska.** 1926. Le métabolisme chez les grenouilles inanitiées et après une nourriture composée de graisses. Bull. Acad. Pol. Cracovie. Ser. B. (293). **Reuss H. und E. Weinland.** 1913. Über die chemische Zusammensetzung der Aalbrut unter verschiedenen Bedingungen. Zeitschr. f. Biol. 59. **Szretter R.** 1922. O głodowej przemianie materji u węzów. Prace Inst. Nenckiego. 1. (Sur le métabolisme chimique des serpents inaniés. Trav. Inst. Nencki 1). **Tangl F.** 1909. Allgemeine biochemische Grundlagen der Ernährung. Oppenheimer's Handb. d. Bioch. 3 (2). **Terroine E.** 1919. Contribution à la connaissance de la physiologie des substances grasses et lipoidiques. Ann. Sc. Natur. 10 s. 4 (1). **Terroine E.** 1924. La composition globale des organismes dans les carences et surcharges diverses. Arch. intern. Physiol. 22 (232). **Vieweger T.** 1923. O wytwarzaniu zapasów bezazotowych podczas przyswajania białka u zwierząt zmiennocieplnych. Prace Inst. Nenckiego. 2 (Sur la production des réserves non-azotées pendant l'assimilation des protéines chez les animaux poikilothermes. Trav. Instit. Nencki. 2).





[„Prace Instytutu im. Nenckiego“, № 63 \*]

K. Białaszewicz.

Studja porównawcze nad składem cieczy międzycząstkowej komórek jajowych.

*Études comparées sur la composition du liquide intermicellaire des oeufs.*

Rękopis nadestany w dniu 17. X. 1927 r.

Le présent travail est la continuation de mes recherches sur les électrolytes des cellules-oeufs. Les analyses des cendres dont j'ai donné les résultats dans un de mes travaux antérieurs (26), définissent la teneur globale de l'ooplasme en composants minéraux, toutefois, elles ne tiennent pas compte du rapport dans lequel ces substances se trouvent dans la cellule, relativement à la phase colloïdale qui est vouée à la destruction au moment de l'incinération. La méthode d'ultrafiltration, dont j'ai décrit l'application au matériel étudié dans ma dernière publication (27), permet de connaître l'état de la répartition des électrolytes dans la cellule.

En appliquant cette méthode à des oeufs d'une série d'espèces animales appartenant à différents groupes zoologiques, nous avons abouti aux résultats suivants.

Les cendres des oeufs provenant des espèces étudiées, se distinguent en général par un pour-cent élevé de potassium, par une quantité plusieurs fois moins forte de sodium, de calcium et de magnésium, enfin par une teneur en chlore, qui n'équivaut pas aux bases alcalines et alcalino-terreuses.

Les substances organiques qui constituent la phase dispersée et qu'on voit se présenter sous la forme d'un mélange de colloïdes,

---

\*) Z Zakładu Fizjologii Instytutu im. Nenckiego i Stacji Zoologicznej w Neapolu.

de gouttelettes d'émulsion et de suspensions deutoplasmiques, occupent une grande partie (20—63 p.c.) du volume de l'ooplasmе et réduisent ainsi sensiblement l'espace intermicellaire, rempli d'une solution aqueuse de corps dialysables (v. le tabl. I).

Les composants des cendres ne se combinent pas dans la même proportion avec ces substances dispersées (v. le tabl. II). La plus grande partie des alcalis, ainsi que le chlore, se trouvent dans le cytoplasme sous forme de composants filtrables. Par contre, ce sont les métaux bivalents et le phosphore qui représentent le pour-cent relativement le plus élevé des composés colloïdaux.

Lorsqu'on tient compte de l'ensemble des facteurs influençant la répartition des électrolytes dans les cellules étudiées (leur teneur globale en cendres, la composition de celles-ci, puis la proportion dans laquelle les composants minéraux se combinent avec les colloïdes, enfin le volume relatif de la phase dispersée dans l'ooplasmе), il est possible de considérer l'ooplasmе (v. le tabl. III) comme une solution hétérogène, dans laquelle à la surface de contact des particules suspendues et du milieu de dispersion, on voit se produire des différences régulières et caractéristiques dans les concentrations. En effet, les ions monovalents (K, Na et Cl), qui sont des composants typiques du liquide intermicellaire, se distinguent par une différence négative de la concentration par rapport au dissolvant, tandis que les cations bivalents (Ca, Mg), qui jouent le rôle de substances minérales de réserve, manifestent une différence positive. Le dernier groupe de composants diffère du premier, également par le fait que ses composés colloïdaux sont plus facilement sujets à la dissociation sous l'influence de la dilution du liquide intermicellaire (v. le tabl. IV). La courbe (v. la fig. 1) indiquant dans quelle mesure la combinaison de ces substances dépend de leur concentration dans le liquide intermicellaire, manifeste à première approximation les caractères propres aux isothermes d'adsorption.

La composition chimique du liquide intermicellaire, est la résultante de l'action des facteurs ci-dessus mentionnés. On s'aperçoit que les oeufs d'animaux même très différents au point de vue de leur organisation, se distinguent par presque la même composition minérale de leur liquide intermicellaire (v. les tableaux V, VI, VII, et la fig. 2). A tout prendre, celui-ci est le

véhicule charriant les sels des alcalis et des terres alcalines, dans lequel, on voit le chlorure de potassium en qualité d'électrolyte principal, l'emporter de beaucoup sur les composés du sodium, du calcium et du magnésium, dont les quantités sont très rapprochées entre elles. A 100 unités de poids de potassium dans le liquide intermicellaire des oeufs, on voit correspondre en moyenne environ 10 unités de sodium, 7 unités de calcium et autant d'unités de magnésium. Le liquide intermicellaire de l'ooplasmе, est par conséquent une solution caractérisée par une composition minérale particulière, éminemment différente de celle des liquides intercellulaires. Comparé à ces derniers (v. le tabl. VIII et la fig. 3), il se distingue par une concentration bien plus forte des sels de potassium et par une concentration plusieurs fois plus faible des composés du sodium, tandis que le calcium est réparti d'une façon à peu près uniforme dans l'une et dans l'autre solution aqueuse.

L'émancipation du milieu de dispersion de la cellule par rapport au milieu ambiant, ne se traduit pas seulement par la composition chimique, car elle se manifeste également par la concentration globale des composés minéraux. En effet, aussi bien dans les cellules-oeufs d'animaux poïkilosmotiques que dans celles d'animaux homéosmotiques, la concentration des électrolytes n'offre pas de différences fondamentales. En conséquence, on ne voit chez les animaux poïkilosmotiques qu'une très faible fraction, s'élevant à peine à 25 p. c. de la pression osmotique totale de l'ooplasmе, correspondre aux composés minéraux (v. le tabl. IX et X).

La différence entre la concentration osmolaire totale de l'ooplasmе et la concentration des composés inorganiques diffusibles qu'il contient, est compensée par les cristalloïdes organiques, représentant les produits du métabolisme protéique (urée, taurine, glyocolle). Ces substances sont particulièrement concentrées dans les oeufs des animaux marins poïkilosmotiques, dont les tissus et les liqueurs circulant dans l'organisme, se distinguent par une forte ( $\Delta = \text{ca } 2.1^{\circ}$ ) pression osmotique (v. le tabl. IX). Ces composés assument le rôle de régulateurs de la pression osmotique du cytoplasme, par rapport à celle des liquides intercellulaires.

### I. Uwagi wstępne.

Punktem wyjścia niniejszych poszukiwań była poprzednia moja praca ('26) nad składem mineralnym komórek jajowych. Wyniki analiz, podanych w tej pracy, nasunęły przypuszczenie, że różnice, stwierdzone w składzie popiołu jaj badanych gatunków zwierzęcych, mają swe źródło w niejednakowym stopniu wiązania się składników nieorganicznych z koloidami, i że ciecz międzycząstkowa ooplazmy zwierzęcej posiada w zasadzie jednakowy, niezależny od organizacji ustroju, skład mineralny. Główne zadanie poszukiwań obecnych sprowadzało się zatem do poznania składu chemicznego roztworu wodnego krystaloidów, pełniącego względem substancyj rozdrobionych komórki rolę ośrodka dyspersyjnego.

Z zagadnieniem tem wiąże się jednak cały szereg kwestyj, które staraliśmy się również wyjaśnić. — Chodziło więc nam nie tylko o ustalenie składu mineralnego fazy wodnej ooplazmy, ściślej zaś mówiąc—stosunku ilościowego, w jakim jony związków nieorganicznych występują w tej cieczy, ale interesowała nas również rola substancyj koloidalnych w rozmieszczeniu elektrolitów oraz sprawa udziału krystaloidów organicznych w ciśnieniu osmotycznym komórki.

Wybór obiektu badań został dokonany zupełnie celowo. Kierowaliśmy się w tym względzie przede wszystkim stosunkiem będącego w mowie przedmiotu badań do pewnych zagadnień z zakresu fizjologii zapłodnienia, rozwoju i wzrostu, ostatecznie jednak przeważał ważny wzgląd natury praktycznej, mianowicie—łatwość otrzymania materiału do analiz chemicznych w stanie zupełnie czystym, pozbawionym obcych domieszek mineralnych ze strony cieczy międzycząstkowych.

Sposób opanowania trudności, jakie następują się w odzielaniu w komórkach jajowych cieczy międzycząstkowej od składników koloidalnych, podaliśmy w poprzedniej pracy ('27), dotyczącej stosowania ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie.

## II. Metoda.

Wobec wspomnianych trudności, o składzie chemicznym cieczy międzycząstkowej i fazy rozdrobnionej komórek jajowych mogliśmy wnioskować tylko drogą pośrednią. Metoda, którą posługiwaliśmy się w poszukiwaniach niniejszych, polegała zasadniczo na ekstrapolowaniu stanu rozmieszczenia elektrolitów w wyjściowym układzie koloidalnym, t. j. w ooplazmie, na podstawie zachowania się tych ciał w stosunku do obu faz w roztworach rozcieńczonych, dających się bez przeszkód cedzić przez błony ultrafiltracyjne.

Za miarę rozmieszczenia danej substancji przyjęliśmy stosunek liczbowy między ilością jej, rozpuszczoną w cieczy międzycząstkowej, a całkowitą jej zawartością w układzie koloidalnym. Ułamek ten, wyrażający względną ilość przesączalną w roztworze niejednorodnym, nazywamy ilorazem rozmieszczenia ( $\delta$ ). O wartości jego można sądzić ze stosunku

$$\delta = \frac{ud}{c}, \quad (1)$$

w którym  $u$  odpowiada koncentracji badanego ciała w określonej ( $1 \text{ cm}^3$ ) objętości cieczy międzycząstkowej, wzgl. w ultraprzesączu,  $c$  — całkowitemu jego stężeniu w tejże objętości mieszaniny, obliczonemu z analiz popiołu, zaś  $d$  wyraża objętość cieczy międzycząstkowej, wzgl. t. zw. „przestrzeń rozpuszczającą”, w roztworach niejednorodnych. Iloczyn  $ud$  oznacza zatem bezwzględną ilość substancji, znajdującą się w stanie właściwego roztworu.

Przy obliczaniu wartości wyjściowej tego ilorazu, charakteryzującego stan repartycji substancji w cytoplazmie nierozcieńczonej, wychodzimy z faktu, stwierdzonego w pracy poprzedniej (BIAŁASZEWICZ '27), że zmiany w rozmieszczeniu elektrolitów w mieszaninach są funkcją liniową stopnia rozcieńczenia cytoplazmy. Dzięki temu, znając wartość ilorazów rozmieszczenia jakiegoś ciała w dwu lub większej liczbie mieszanin ( $\delta_1, \delta_2 \dots$ ) cytoplazmy o wzrastającym stopniu rozcieńczenia ( $n_1, n_2 \dots$ ), można wartość początkową ( $\delta_0$ ) wyprowadzić z równania:

$$\delta_0 = \frac{(n_2 - 1) \delta_1 - (n_1 - 1) \delta_2}{n_2 - n_1}, \quad (2)$$

w którym stopień rozcieńczenia ( $n_1, n_2$ ) przedstawia stosunek objętości mieszaniny po rozcieńczeniu do objętości ooplazmy użytej do jej przygotowania.

Stąd określenie stężenia, w jakim ciało badane znajduje się w cieczy międzycząstkowej jaja ( $u_0$ ), według równania:

$$u_0 = \frac{c_0 \delta_0}{d_0} \quad (3)$$

nie przedstawia trudności, jeżeli jest znana jego koncentracja całkowita w cytoplazmie ( $c_0$ ) oraz objętość, jaką w niej zajmuje ciecz międzycząstkowa— $d_0$  („przestrzeń rozpuszczająca” autorów<sup>1)</sup>).

<sup>1)</sup> Por. POLÁNYI ('20) i AUSBERGER ('25).

Ostatnio wymienioną wielkość ( $d_0$ ) obliczano ze stężenia chloru ( $u'_1, u'_2$ ) w ultraprzęsączach z dwu lub większej liczby mieszanin, albo też z obniżenia punktu zamarzania ( $\Delta_1, \Delta_2$ ) wodnych roztworów ooplazmy:

$$d_0 = \frac{(n_2 - 1) u'_2 - (n_1 - 1) u'_1}{u'_1 - u'_2}. \quad (4)$$

Okazało się bowiem (BIAŁASZEWICZ '27), że rozmieszczenie chloru w mieszaninach nie ulega znaczniejszej zmianie pod wpływem rozcieńczania ooplazmy. Wartość  $d_0$  stanowiła w dalszym ciągu punkt wyjścia w obliczeniu przestrzeni rozpuszczającej roztworów rozcieńczonych ( $d_1, d_2 \dots$ ).

Ponieważ szczegółowy opis postępowania doświadczalnego został podany na innym miejscu ('27), ograniczę się tutaj do kilku wskazówek ważniejszych.

Usuwanie elektrolitów z cieczy międzykomórkowej uskuteczniano przez wielokrotne oplukiwanie (lub odwirowywanie) jaj w izotonicznym roztworze azotanu litu. Przygotowywanie mieszanin, nadających się do ultrafiltracji, odbywało się przez dodanie do określonej objętości roztartej i wymieszanej ooplazmy ściśle wymierzonych ilości cieczy rozcieńczającej. Cieczą tą w większości doświadczeń był obojętny roztwór izotoniczny azotanu lub siarczany litu, albo w przypadkach gdy to było możliwe (nieobecność globulin) — woda destylowana.

Składniki mineralne, których repartycję badano, były oznaczane w popiele, otrzymanym po spaleniu pozostałości suchej mieszanin (w obecności stężonego kwasu azotowego), oraz w wolnym ośrodku dyspersyjnym tych mieszanin. Oddzielenie tego ostatniego od fazy koloidalnej przeprowadzano metodą ultrafiltracji (por. ZSIGMONDY i BACHMANN '18).

Oznaczanie składników w popiele i w przesączach uskuteczniano metodami mikroanalitycznymi, a mianowicie: sód—metodą KRAMERA i TISDALLA ('21 a) w modyfikacji BÁLINTA ('24), potas—KRAMERA i TISDALLA ('21 b), wapń—DE WAARDA ('19) i HECHTA ('23), magnez i fosfor—skombinowanymi metodami KRAMERA i TISDALLA ('21 d), BÉLLA i DOISY'EGO ('20) i BRIGGS'A ('22), oraz chlor—mikrometodą WHITEHORNA ('21).

W tabelach materiałowych (XII — XV), podanych w końcu tekstu (str. 43—45), stężenie składników w mieszaninach ( $c_1$ ) i w ultraprzęsączach ( $u_1, u_2$ ) zostało wyrażone w miligramach w 1 cm<sup>3</sup> cieczy. Tabela ogólna, XI, zawiera przeprowadzone na podstawie danych tych tabel materiałowych oraz podanych powyżej wzorów obliczenia następujących wartości, charakteryzujących ooplazmę:  $d_0$ —objętość cieczy międzycząstkowej w 1 cm<sup>3</sup> ooplazmy;  $\xi_0$ —wartość ilorazów rozmieszczenia następujących składników: K, Na, Ca, Mg, P i Cl;  $c_0$ —całkowite ich stężenie w 1 cm<sup>3</sup> ooplazmy (mg);  $u_0$ —stężenie ich w cieczy międzycząstkowej (mg/1 cm<sup>3</sup>).

Poniżej podajemy listę gatunków zwierząt, których komórki jajowe były przedmiotem naszych analiz:

Aves: *Gallus domesticus* L.

Amphibia: *Rana temporaria* L.

Pisces: *Salmo salar* L., *Salmo fontinalis* L., *Labrax lupus* Cuv., *Torpedo ocellata* Raf., *Scyllium canicula* L.

Crustacea: *Maja verrucosa* M. Edw., *Maja squinado* Latr.

Mollusca: *Sepia officinalis* L., *Loligo vulgaris* Lm.

Echinodermata: *Arbacia pustulosa* Gray., *Paracentrotus lividus* Lm.

Annelida: *Arenicola Claparedii* Lev., *Sipunculus nudus* L.

### III. Wyniki.

Analiza interesującego nas tutaj zagadnienia wymagała przede wszystkim zaznajomienia się z pewnymi własnościami fazy rozdrobnionej, od których zależy stan rozmieszczenia substancji badanych w komórkach jajowych. Dlatego na pierwszym miejscu pracy niniejszej podajemy ogólną charakterystykę substancji, stanowiących tę fazę, rozpatrując ich własności adsorbcyjne w stosunku do składników dializujących oraz rozważając wpływ, jaki one wywierają na objętość przestrzeni rozpuszczającej w cytoplazmie. Oba te czynniki mają znaczenie zasadnicze dla sprawy rozmieszczenia krystaloidów: gdy bowiem od zdolności łączenia się substancji rozdrobnionych z temi ciałami zależy w pierwszym rzędzie skład chemiczny ośrodka dyspersyjnego komórki, to wielkość przestrzeni, jaką one zajmują w cytoplazmie, wpływa bezpośrednio na stężenie w niej ciał osmotycznie czynnych.

Wyjaśnienie roli ciał dyspersyjnych w rozmieszczeniu elektrolitów stanowi punkt wyjścia dla poznania własności chemicznych cieczy międzycząstkowej badanych układów koloidalnych. Albowiem poznanie tych stosunków pozwala ustalić zarówno skład mineralny, jak i stężenie całkowite dializujących związków nieorganicznych w komórce. Wreszcie ustalenie stosunku, w jakim poszczególne składniki mineralne występują w dwu roztworach wodnych, mianowicie — w ośrodku dyspersyjnym cytoplazmy i w cieczy międzykomórkowej, daje możliwość poznania stanu rozmieszczenia elektrolitów po obu stronach półprzepuszczalnej błony komórkowej i pozwala sądzić o roli, jaką w regulowaniu ciśnienia osmotycznego komórki pełnią inne związki przesączalne.

#### A. Faza rozdrobniona.

##### 1. Objętość „przestrzeni nierozpuszczającej“.

Wyniki odnośnych pomiarów, przeprowadzonych na jajach dziewięciu gatunków zwierząt, należących do różnych grup

układu systematycznego, zostały przedstawione w tabeli I. Wielkość „przestrzeni nierozpuszczającej“ (POLÁNYI '20), czyli objętość fazy rozdrobnionej, została obliczona na podstawie stężeń chloru, znalezionych w ultraprzesączach mieszanin rozcieńczonych ooplazmy (por. równ. 4), i wyrażona w procentach objętościowych [ $100(1 - d_0)$ ]. Dane liczbowe zostały ułożone w tabeli w szeregu wzrastającej wielkości tej przestrzeni w jajach. Pouczają one, jak wybitną rolę w rozmieszczeniu elektrolitów pełnią substancje nieprzesączalne komórki.

Istotnie, w przypadkach krańcowych (*Maja*) wielkość przestrzeni, zajętej przez ciała rozdrobnione, może dochodzić do 63% całkowitej objętości komórki, sprawiając, że na roztwór wodny ciał dializujących, wypełniający przestrzeń międzycząstkową, przypada zaledwie około  $\frac{1}{3}$  objętości komórki. Również i pozostałe liczby tabeli dowodzą, że jaja należą do kategorii elementów komórkowych ustroju o wyjątkowo dużej zawartości ciał nieprzesączalnych. W porównaniu z osoczem krwi, zawierającym, jak wiadomo (AUSBERGER '25 i in.), zaledwie około 7% substancji koloidalnych, objętość fazy rozdrobnionej, nawet w jajach o stosunkowo małej zawartości związków zapasowych (jeżowce), wykazuje wartość kilkakrotnie większą.

Można ogólnie powiedzieć, że jaja o typie bródkowania powierzchniowego (*Maja*, *Sepia*, *Torpedo*, *Gallus*), zawierające zwykle duże zapasy substancji deutoplazmatycznych, odznaczają się tem, że stosunek wzajemny objętości obu będących w mowie faz jest znacznie przesunięty na niekorzyść cieczy międzycząstkowej. Wyjątek z tej reguły stanowią jednak jaja *Salmo* oraz młode niewykształcone oocyty *Scyllium*, o małej stosunkowo objętości fazy koloidalnej.

Nie można również wykazać ściślejszej zależności pomiędzy wielkością przestrzeni nierozpuszczającej a procentową zawartością substancji suchej w komórce. Wprawdzie w większości przypadków daje się stwierdzić pewną równoległość, polegającą na tem, że jaja o znacznej procentowości części stałych ujawniają naogół większą objętość fazy rozdrobnionej, to jednak odchylenia od tej reguły są czasami dosyć znaczne i wręcz sobie przeciwne. Przykładem mogą służyć, z jednej strony, jaja *Salmo*, wykazujące zaledwie 20.8% przestrzeni nierozpuszczającej wobec 41.5% wagowej zawartości substancji suchych, z drugiej zaś



komórki jajowe *Maja*, zawierające 43.6% tych substancyj wobec 63.2% ich objętości, wypełnionej przez ciała koloidalne. Fakty te wskazują na to, że substancje rozdrobnione różnych gatunków jaj różnią się od siebie pod względem własności hydratacyjnych, które ze swej strony mogą być zależne od składu chemicznego ich ośrodka dyspersyjnego.

Tabela I.

Objętość fazy rozdrobnionej w jajach.  
Volume de la phase dispersée dans les oeufs.

№ doświadczenia № de l'expérience	Gatunek zwierzęcia Espèce animale	Objętość Volume		Procentowa zawartość substancji suchej w ja- jach (według autorów)  Teneur des oeufs en substance sèche, expri- mée en pour-cents de leur poids (Données d'après les analyses des auteurs)
		cieczy międzycząstko- wej w 1 cm <sup>3</sup> ooplazmy du liquide intermicel- laire dans 1 cm <sup>3</sup> d'oopla- sme $d_0$ cm <sup>3</sup>	fazy roz- drobnionej w% objętości ooplazmy de la phase dispersée exprimé en % du volume de l'oopla- sme $\frac{100}{1-d_0}$ %	
21	<i>Scyllium canicula</i> L.	0.830	17.0	—
41	<i>Arbacia pustulosa</i> Gray.	0.822	17.8	—
34	<i>Paracentrotus lividus</i> L.	0.793	20.7	22.6% (WETZEL '07)
15	<i>Salmo fontinalis</i> L.	0.792	20.8	41.5% dla <i>Trutta fario</i> (FAURÉ-FRÉMIET et GARRAULT '22)
16	<i>Rana temporaria</i> L.	0.601	39.9	42.6% (KOLB '01, TER- ROINE et BATHÉLE- MY '23)
12	<i>Gallus domesticus</i> L.	0.549	45.1	50.3% (KOJO '11)
24	<i>Sepia officinalis</i> L.	0.500	50.0	47.3% (WETZEL '07)
43	<i>Torpedo ocellata</i> Raf.	0.410	59.0	47.3% dla <i>Acanthias</i> (ZDAREK '04)
37	<i>Maja verrucosa</i> M. Edw.	0.368	63.2	43.6% (WETZEL '07)

Streszczając się, możemy więc ooplazmę zwierzęcą ogólnie scharakteryzować jako roztwór niejednorodny o różnej lecz naogół dużej zawartości substancyj rozdrobnionych (koloidów, emulsyj i zawiesin deutoplazmatycznych), które zajmują znaczną przestrzeń w komórce.

## 2. Procent składników popiołu, związanych z fazą rozdrobnioną.

W tabeli II zostały umieszczone najbardziej typowe wyniki, dotyczące rozmieszczenia metali jedno- i dwuwartościowych oraz chloru i fosforu. Odnośne liczby wyrażają ilości procentowe poszczególnych składników mineralnych, które w ooplazmie są związane z ciałami nieprzesączalnymi; zostały one obliczone na podstawie wartości ilorazów ich rozmieszczenia w jajach ośmiu badanych gatunków zwierzęcych [100 (1- $\delta_0$ )].

### Tabela II.

Procent składników mineralnych, związanych z fazą rozdrobnioną, w jajach różnych gatunków zwierząt.

*Quantités des composants minéraux, exprimées en pour-cents, liées aux substances dispersées dans les oeufs de différentes espèces animales.*

№ doświadczenia № de l'expérience	Gatunek zwierzęcia <i>Espèce animale</i>	Procent składników, związanych z fazą rozdrobnioną <i>Pour-cent des composants liés à la phase dispersée</i> 100 (1 - $\delta_0$ )					
		K	Na	Cl	Ca	Mg	P
13	<i>Gallus</i>	28	6	45	91	70	97
16	<i>Rana</i>	0	43	9	61	54	76
14	<i>Salmo</i>	11	49	0	73	68	90
43	<i>Torpedo</i>	0	(95)	6	68	84	100
21	<i>Scyllium</i>	13	—	0	24	59	100
37	<i>Maja</i>	3	(92)	3	53	29	96
34	<i>Paracentrotus</i>	5	0	0	50	73	81
24	<i>Sepia</i>	20	0	23	0	51	100

Liczby podane w tabeli dowodzą, że składniki popiołu tylko częściowo występują w ooplazmie pod postacią wolnych, z łatwością dializujących, związków mineralnych, pozostałe natomiast frakcje tych składników, wiążąc się z fazą rozdrobnioną w zmiennym odsetku ich całkowitej zawartości w komórce, tworzą mniej lub więcej trwałe połączenia nieprzesączalne. Pomimo różnic, jakie zachodzą w poszczególnych przypadkach, można jednak w zachowaniu się składników popiołu w stosunku do fazy rozdrobnionej wyróżnić dwie dosyć odrębne grupy.

Pierwszą z nich stanowią pierwiastki jednowartościowe, jak potas, sód i chlor, odznaczające się małą i naogół niestałą tendencją do tworzenia połączeń koloidalnych. Tak np., pomijając

sód, którego ilości są wogóle bardzo niewielkie, a wskutek tego oznaczenia nasze — niedosyć ściśle, dwa inne składniki wchodzą w związek z fazą dyspersyjną w ilościach, w większości przypadków nie przekraczających około 30% całkowitej ich zawartości w jaju, zwykle zaś są one tak nieznaczne, że praktycznie biorąc można je uważać za składniki, znajdujące się całkowicie poza obrębem przestrzeni nierozpuszczającej.

Inaczej natomiast i w sposób bardzo charakterystyczny zachowują się składniki drugiej grupy, do której należą metale ziem alkalicznych i fosfor. Z ogólnej ilości tych ciał zaledwie część nieznaczna, i to nie stale, występuje w formie niezwiązanej; dotyczy to zwłaszcza fosforu, który w pewnych przypadkach znajduje się w ooplazmie wyłącznie pod postacią związków niedyfundujących.

Stąd wypływa, że z pośród czterech zasad, wchodzących w skład popiołu, jedynie wapń i magnez w ilościach znaczniejszych tworzą związki nieprzesączalne. Pierwszy z tych metali jest, jak wiemy z badań poprzednich (BIAŁASZEWICZ '26), jednym z najbardziej zmiennych składników popiołu komórek jajowych.

Nie można nie zwrócić w tym miejscu uwagi na analogję, jaka pod względem stosunku zasad mineralnych do koloidów zachodzi między ooplazmą z jednej strony, a niektórymi cieczami odżywczemi ciała, a zwłaszcza — osoczem krwi, z drugiej.

Istotnie, prowadzone w latach ostatnich badania nad rozmięszaniem elektrolitów we krwi wskazują zgodnie na różnice, jakie w tym względzie zachodzą pomiędzy metalami alkalicznymi i ziem alkalicznych. Na podstawie tych prac można uważać za rzecz pewną, że sód występuje w surowicy zwierząt wyższych pod postacią związków koloidalnych w ilości stosunkowo bardzo niewielkiej, nie przekraczającej 10% (po uwzględnieniu przestrzeni nierozpuszczającej, według AUSBERGERA '26)<sup>1)</sup>. Ilości procentowe potasu koloidalnego są, podobnie jak i w naszych analizach, dosyć zmienne i, o ile można sądzić na podstawie ogłoszonych

<sup>1)</sup> Por. prace autorów: LOEWY i ZUNTZ ('94), LIEBERMANN i BUGARSKY ('98), ASHER i ROSENFELD ('07), MICHAELIS i RONA ('08), HENDERSON ('08), RONA i GYÖRGY ('13), NEUHAUSEN ('22), NEUHAUSEN i PINCUS ('23), RONA i PETOW ('23), TSCHIMBLER ('24), MICHAELIS i KAWAI ('25).

wyników <sup>1)</sup>, są jeszcze mniejsze, niż sodu; ważne pod tym względem są badania RINGERA ('23, '25), stwierdzające, że cały szereg ciał białkowych, rozpuszczonych w słabych roztworach KCl, pozostaje prawie bez wpływu na aktywność jonów potasu.

Natomiast wszystkie dotychczasowe badania wskazują na bardzo intensywne wiązanie się białek osocza z metalami ziem alkalicznych, przyczem z danych tych wynika, że ilość wapnia nieprzesączalnego wynosi od 30 do 70% <sup>2)</sup>, zaś magnezu od 20 do 27% <sup>3)</sup> całkowitej zawartości tych metali w surowicy.

Pozatem — bardzo ciekawe analogie wykazują analizy mleka (WHA '24), w którym wapń i fosfor występują pod postacią koloidalną w ilości około 50 — 60%, gdy prawie całkowita ilość potasu i chloru, zawarta w mleku, jest przesączalna.

Powyższe zestawienie wskazuje, zdaniem naszym, na ogólnofizjologiczne znaczenie rozpatrywanego tutaj zjawiska. Powinowactwo niektórych ciał białkowych do metali dwuwartościowych jest faktem ciekawym nie tylko z punktu widzenia warunków, w jakich reakcje wiązania zachodzą w protoplazmie, ale nade wszystko — ze względu na zagadnienie wymiany mineralnej w organizmie. Nie jest rzeczą nieprawdopodobną, że niektóre białka, wchodzące w skład zarówno komórek, jak i cieczy ciała, pełnią rolę regulatorów, których zadanie polega na utrzymaniu stałego i charakterystycznego stężenia kationów dwuwartościowych w odpowiednich układach koloidalnych ustroju.

### 3. Względne stężenia składników mineralnych w obu fazach ooplazmy.

Ostatnio omawiane fakty dotyczyły wyłącznie sprawy ryczałtowego rozdziału składników mineralnych pomiędzy fazę rozdrobnioną i ciecz dyspersyjną komórki. Nie charakteryzują one jednak w mierze dostatecznej własności substancyj rozdrobno-

<sup>1)</sup> NEUHAUSEN i PINCUS ('23), RONA i PETOW ('23), RICHTER-QUITNER ('24), RONA, HAUROWITZ i PETOW ('24).

<sup>2)</sup> RONA i TAKAHASHI ('11, '13), CUSHNY ('20), NEUHAUSEN i MARSHALL ('22), RICHTER-QUITNER ('21, '22), NEUHAUSEN i PINCUS ('23), CSÁPO i FAUBL ('24), RONA, PETOW i WITTKOWER ('24), TSCHIMBLER ('24), NITSCHKE ('25), RONA i MELLI ('25), NITSCHKE i FREYSCHMIDT ('26).

<sup>3)</sup> HIRTH i TSCHIMBLER ('24).

nych, jako podłoża wiążącego te składniki. Za miarę tych zdolności możemy, z pewnem oczywiście zastrzeżeniem, przyjąć ilości względne składników badanych, znajdujące się w jednostce masy lub objętości fazy rozdrobnionej. Ilości te zależą nie tylko od wartości ilorazu rozmieszczenia i od całkowitej zawartości danego ciała w popiele, ale w stopniu nie mniejszym — od stosunku wzajemnego objętości obu faz w roztworze koloidalnym.

Chcąc więc poznać własności adsorbcyjne substancyj rozdrobnionych, które tak wybitnie wpływają na rozmieszczenie składników nieorganicznych w komórce, wypada z kolei zaznaczyć się ze składem mineralnym tych substancyj.

Tabela III.

Stężenie składników mineralnych w fazie rozdrobnionej ( $k_0$ ) i w cieczy międzycząstkowej ( $u_0$ ) ooplazmy, wyrażone w miligramach na  $1 \text{ cm}^3$  odpowiedniej fazy.

*Concentrations des composants minéraux dans la phase dispersée ( $k_0$ ) et dans le liquide intermicellaire ( $u_0$ ) de l'ooplazme, calculées en mgr. pour  $1 \text{ cm}^3$  de la phase correspondante.*

№ do- świad- czenia № de l'expé- rience	Gatunek zwie- rzęcia  <i>Espèce animale</i>	K		Ca		Mg		P	
		$k_0$	$u_0$	$k_0$	$u_0$	$k_0$	$u_0$	$k_0$	$u_0$
12	<i>Gallus</i>	1.81	2.61	2.59	0.32	0.21	0.20	9.66	0.33
16	<i>Rana</i>	0	4.21	0.32	0.14	0.97	0.55	11.97	2.57
15	<i>Salmo</i>	1.51	3.20	1.92	0.19	2.60	0.32	19.29	0.42
32	<i>Labrax</i>	2.76	3.41	0.67	0.05	0.20	0.05	3.06	0.44
43	<i>Torpedo</i>	0	5.61	0.38	0.26	0.10	0.03	8.59	0
34	<i>Paracentrotus</i>	2.11	9.45	1.12	0.30	1.99	0.19	13.19	0.79
24	<i>Sepia</i>	0.12	0.48	0	0.32	0.10	0.10	7.09	0

Odnośne obliczenia, określające stężenia czterech składników (K, Ca, Mg, P) w fazie koloidalnej [ $k_0 = c_0 (1 - \delta_0) / (1 - d_0)$ ], znajdują się w tabeli III, w której ponadto, dla porównania, podano stężenia tychże składników w cieczy międzycząstkowej [ $u_0 = c_0 \delta_0 / d_0$ ]; stężenia te zostały wyrażone w miligramach w  $1 \text{ cm}^3$  odpowiedniej fazy.

Jako pierwszy fakt, wypływający z porównania wartości  $k_0$ , obliczonych dla poszczególnych ciał, należy podnieść bardzo znaczne różnice, jakie występują w składzie mineralnym fazy rozdrobnionej badanych gatunków jaj. Nie może być tutaj mowy o jakiegokolwiek bądź prawidłowości w stosunku wzajemnym składników, związanych z koloidami. W szczególności zaś stwierdzamy np., że potas, będący najstalszym i najobfitszym katjonem popiołu, jest w fazie rozdrobnionej bądź wcale nieobecny (*Rana*, *Torpedo*),

bądź też występuje w niej w ilościach naogół bardzo zmiennych (0.12 — 2.76 mg w 1 cm<sup>3</sup>). To samo w zasadzie można powiedzieć o metalach dwuwartościowych, których stężenia wykazują wahania bardzo nieprawidłowe. Mniejsze stosunkowo różnice w stężeniach fosforu objaśniamy tą okolicznością, że pierwiastek ten wchodzi konstytucyjnie w skład zapasowych substancyj koloidalnych jaja, które naogół posiadają nie bardzo różniący się od siebie skład elementarny.

Do zgoła odmiennych wniosków, ustalających pewne ogólne prawidłowości w rozmieszczeniu elektrolitów, doprowadza porównanie stężeń tych ciał w obu fazach ooplazmy. Biorąc pod uwagę wartości  $k_0$  i  $u_0$ , odnoszące się do oddzielnych składników, zyskujemy podstawę do twierdzenia, że substancje mineralne nie są rozmieszczone w całej ooplazmie w sposób równomierny, lecz że przeciwnie — stanowi ona z tego punktu widzenia mieszaninę niejednorodną, w której na granicy podziału obu faz istnieją stałe i charakterystyczne dla poszczególnych składników różnice stężeń parcjalnych.

Jako ogólne prawo można przyjąć, że jony, które w małym procencie wiążą się z frakcją nieprzesączalną (K, Na, Cl), znajdują się w przestrzeni nierozpuszczającej w stężeniach mniejszych, niż w cieczy międzycząstkowej, i odwrotnie — dodatni spadek stężeń w stosunku do fazy wodnej ujawniają te ciała, które w większym procencie łączą się ze składnikami koloidalnymi komórki (Ca, Mg, P).

Zjawia się więc pytanie, czy między temi dwiema grupami składników mineralnych zachodzi również różnica i pod względem trwałości ich stanu koloidalnego?

#### 4. Rozmieszczenie składników mineralnych w rozcieńczonych roztworach ooplazmy.

W celu wyświetlenia ostatnio poruszonej kwestji przeprowadzono szereg doświadczeń, w których chodziło o ustalenie wpływu stężenia niektórych składników, występujących w cieczy międzycząstkowej, na stopień ich wiązania przez fazę rozdro-

bnioną. W doświadczeniach tych, częściowo już omówionych w pracy poprzedniej ('27), przygotowywano mieszaniny ooplazmy z izotonicznymi roztworami soli litowych ( $\text{LiNO}_3$ ,  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ ) o różnym rozcieńczeniu ( $n$ ) i oznaczano następnie składniki mineralne w ultraprzesączach i w popiele, otrzymanym po spaleniu pozostałości stałej tych mieszanin. Na podstawie tych analiz obliczano następnie stężenie badanych składników (w mg na  $1 \text{ cm}^3$ ) w obu fazach mieszanin ( $u$ ,  $k$ ).

Tabela IV.

Stężenie składników mineralnych (mg w  $1 \text{ cm}^3$ ) w cieczy międzycząstkowej ( $u$ ) i w fazie koloidalnej ( $k$ ) rozcieńczonych roztworów żółtka kurzego. Według doświadczenia № 13, tab. XII. *Concentration des composants minéraux (en mgr. par  $1 \text{ cm}^3$ ) du liquide intermicellaire ( $u$ ) et de la phase colloïdale ( $k$ ), dans les solutions diluées de jaune d'oeufs de poule. D'après l'expérience № 13, v. le tabl. XII.*

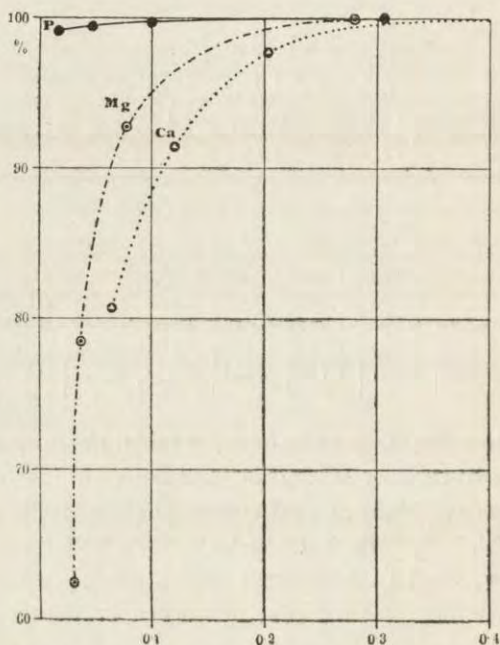
$n$	K		Cl		Ca		Mg		P	
	$u$	$k$	$u$	$k$	$u$	$k$	$u$	$k$	$u$	$k$
10	—	—	0.165	1.883	0.048	1.795	—	—	0.013	5.140
6	0.201	0.726	0.296	1.984	0.061	1.977	0.023	0.133	0.023	5.150
4	0.327	0.710	0.493	1.717	0.088	2.010	0.029	0.169	0.034	5.134
2	0.870	0.617	1.225	1.778	0.152	2.149	0.058	0.199	0.078	5.166
1	3.947	0.618	5.461	1.780	0.554	2.196	0.220	0.214	0.331	5.168

W doświadczeniu, streszczonem w tabeli IV, do przygotowania czterech mieszanin użyto żółtka kurzego, które rozcieńczono (2, 4, 6 i 10 razy) słabym roztworem (0.7%) azotanu litu. Podane stężenia K, Cl, Ca, Mg i P zostały wyprowadzone z danych tab. XII (dośw. № 13), przyczem ekstrapolację wartości  $\delta_0$  przeprowadzono według wskazówek, podanych w części metodycznej (por. równ. 2).

Na zasadzie danych tej tabeli przychodzimy przede wszystkim do wniosku, że zmiany stężenia potasu i chloru w cieczy międzycząstkowej ( $u$ ) nie wpływają w sposób widoczny na stężenie tych składników w fazie koloidalnej mieszanin ( $k$ ). Niezależność ta szczególnie wyraźnie zaznacza się w zachowaniu się chloru, którego repartycja pomiędzy obie fazy mieszanin nie ulega, jak to stwierdziliśmy w poprzedniej pracy, zmianie pod wpływem rozcieńczania ooplazmy. Okoliczność ta, jak wiemy, umożliwia ustalenie objętości przestrzeni nierozpuszczającej w mieszaninach i w samej ooplazmie.

Natomiast jony dwuwartościowe zachowują się pod tym względem w sposób zgoła odmienny; stężenie bowiem cieczy

międzycząstkowej nie pozostaje bez wpływu na ilość wiążących się z frakcją nieprzesączalną składników. Jest widocznym, że w miarę zmniejszania się stężenia wapnia, magnezu i anjonów fosforanowych w ośrodku dyspersyjnym mieszanin, zmniejsza się również zawartość tych składników w przestrzeni nierozpuszczającej.



Rys. 1. Zależność między zawartością wapnia, magnezu i fosforu w fazie rozdrobnionej żółtka kurzego (rzędna—procenty ilości początkowych w ooplazmie) a stężeniem tych składników w cieczy międzycząstkowej (odcięta — mg w 1 cm<sup>3</sup>). Według danych tab. IV.

*Fig. 1. Rapport entre la teneur en calcium, en magnésium et en phosphore (exprimés en pour-cents de leur quantités initiales) de la phase dispersée du jaune d'oeufs de poule et la concentration de ces substances dans le liquide intermicellaire (en mgr. par 1 cm<sup>3</sup>). D'après les données du tableau IV.*

Dla zilustrowania tych stosunków podajemy powyżej wykres, oparty na danych tabeli IV: przedstawia on zależność, jaka zachodzi między stężeniem Ca, Mg i P w cieczy międzycząstkowej a ilością tych składników w fazie dyspersyjnej, wyrażoną w procentach nasycenia wyjściowego, charakterystycznego dla ooplazmy rodzimej, nierozcieńczonej.



Przebieg tych krzywych dowodzi, że ilości jonów, wiązanych przez substancje rozdrobnione, zmieniają się w roztworach rozcieńczonych znacznie szybciej, niż w roztworach bardziej stężonych, zbliżających się do stężeń, charakterystycznych dla żółtka rodzimego, przyczem wartość liczbowa tej zależności nie jest dla oddzielnych składników jednakowa. W roztworach jednakowo rozcieńczonych związki koloidalne wapnia i magnezu ulegają rozszczepieniu w stopniu znacznie większym, niż połączenia fosforowe. Te ostatnie, jak już wiemy, występują w jajach przeważnie pod postacią zapasowych związków organicznych, nie ulegających dysocjacji.

Należy zaznaczyć, że krzywe te, przedstawiające stan równowagi rozmieszczenia elektrolitów w różnych stężeniach ośrodka dyspersyjnego, są podobne w pierwszym przybliżeniu, zwłaszcza w odcinkach, odpowiadających stężeniom mocniejszym, do izoterm adsorbcyjnych.

Streszczając powyższe, możemy w komórkach jajowych wyróżnić dwie grupy składników mineralnych, odznaczających się odmiennem zachowaniem się w stosunku do fazy rozdrobnionej.

Należące do pierwszej z nich metale ziem alkalicznych i reszty kwasowe fosforanów (ewentualnie — fosforany tych katjonów) posiadają wyraźnie zaznaczoną tendencję do wiązania się z substancjami fazy rozdrobnionej, w których one występują w stężeniach większych, niż w rozpuszczalniku. Tworząc z cząstkami zawieszonymi połączenia nietrwałe, z łatwością ulegają one odszczepieniu. Zapewne stanowią one zapasowe składniki mineralne cytoplazmy, które pod wpływem zmian czynnościowych, zachodzących w cieczy międzycząstkowej, mogą przechodzić do roztworu.

O ile jony te są charakterystycznymi składnikami fazy dyspersyjnej, to pierwiastki jednowartościowe, do których w danym razie zaliczamy chlor i metale alkaliczne, można nazwać grupą składników mineralnych ośrodka dyspersyjnego cytoplazmy. Znajdują się one bowiem w komórce prawie całkowicie pod postacią związków zdolnych do dyfuzji i gromadzą się w cieczy międzycząstkowej w stężeniach znacznie większych, niż

w przestrzeni, wypełnionej przez ciała nieprze-  
sączalne.

### B. Ciecz międzycząstkowa.

#### 1. Skład mineralny.

Poznanie stosunku substancyj rozdrobnionych do składni-  
ków popiołu komórki pozwala bliżej zaznajomić się z pewnymi  
własnościami cieczy międzycząstkowej, w pierwszym zaś rzędzie—  
z jej składem mineralnym.

Jak wiemy, skład mineralny cieczy międzycząstkowej, ściślej  
zaś mówiąc—stosunek ilościowy między dializującymi składnikami  
nieorganicznymi w cytoplazmie, zależy od dwu jej właściwości:

Tabela V.

Stężenie procentowe składników mineralnych w cieczy międzycząstkowej jaj różnych gatun-  
ków zwierzęcych.

*Concentration (en pour-cents) des composants minéraux dans le liquide intermicellaire d'oeufs  
de différentes espèces animales.*

№ doświad- czenia № de l'expé- rience	Gatunek zwierzęcia <i>Espèce animale</i>	K	Na	Ca	Mg	Cl	P
		%	%	%	%	%	%
13	<i>Gallus</i>	0.395	0.065	0.055	0.022	0.546	0.033
16	<i>Rana</i>	0.421	0.044	0.014	0.055	0.264	0.257
14	<i>Salmo</i>	0.320	0.044	0.019	0.032	0.287	0.042
32	<i>Labrax</i>	0.341	—	0.005	0.005	0.201	0.044
43	<i>Torpedo</i>	0.561	0.017	0.026	0.003	0.733	0
37	<i>Maja</i>	0.441	0.014	0.051	0.034	0.407	0.072
34	<i>Paracentrotus</i>	0.945	0.059	0.030	0.019	1.375	0.079
24	<i>Sepia</i>	0.048	0.012	0.032	0.010	0.359	0

po pierwsze, od składu popiołu komórki jako całości, i po  
drugie—od swoistych właściwości substancyj rozdrobnionych nie-  
jednakowego wiązania się z poszczególnymi składnikami mineral-  
nymi. Wobec stwierdzonych powyżej różnic gatunkowych w skła-  
dzie mineralnym zarówno całych komórek jajowych, jako też ich  
fazy rozdrobnionej, proporcja, w jakiej występują poszczególne  
elektrolity w cieczy międzycząstkowej, będzie w każdym oddziel-  
nym przypadku wypadkową obu wyżej wymienionych czynników.

W tabeli V znajdujemy dane liczbowe, przedstawiające  
stężenia sześciu składników (K, Na, Ca, Mg, Cl, P) w cieczy  
międzycząstkowej jaj szeregu gatunków zwierząt, należących  
do różnych grup układu zoologicznego (ptaki, płazy, ryby,

skorupiaki, mięczaki, szkarłupnie). Znajdujemy wśród nich przedstawicieli zarówno zwierząt lądowych (*Gallus*, *Rana*), jak i morskich (*Labrax*, *Torpedo*, *Paracentrotus*, *Maja*, *Sepia*), reprezentujących również dwie odmienne, z punktu widzenia własności osmoregulacyjnych, grupy ustrojów (poj kilo- i homojosmotycznych). Stężenie oznaczanych składników zostało obliczone według wzoru:  $u_0 = 100 c_0 \delta_0 / d_0$  (por. równ. 3) i wyrażone w procentach gramowych.

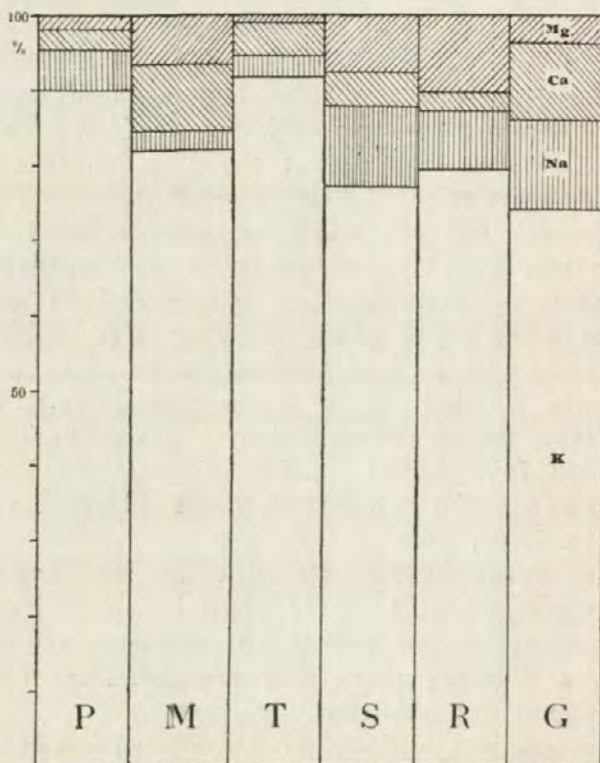
Ograniczając się w rozbiórce danych tabeli narazie do pierwszych czterech pierwiastków (K, Na, Ca, Mg), stwierdzamy przede wszystkim zastanawiający i ważny z ogólnego punktu widzenia fakt, wynikający już do pewnego stopnia z rozważań rozdziału poprzedniego. Potas, który charakteryzowaliśmy powyżej jako najstalszy i najobfitszy katjon popiołu, ujawniający małą tendencję do wiązania się z koloidami, jest główną zasadą mineralną cieczy międzycząstkowej komórek jajowych<sup>1)</sup>. Pomijając wyjątkowo małą zawartość tego składnika w jajach *Sepia*, o czym będzie mowa poniżej, można obliczyć, że we wszystkich innych przypadkach potas stanowi od 74% (*Gallus*) do 92% (*Torpedo*) całkowitej masy przesączalnych zasad mineralnych ooplazmy (por. rys. 2, str. 20).

Reszta, wynosząca zaledwie od 8 do 26%, przypada na pozostałe trzy katjony, t. j. na sód, wapń i magnez, które znajdują się w cieczy międzycząstkowej w ilościach dosyć do siebie zbliżonych, z widoczną jednak przewagą, zwłaszcza u zwierząt morskich, wapnia nad magnezem.

Rolę potasu, jako ilościowo głównej zasady mineralnej związków dyfundujących, ilustruje podany poniżej rysunek, przedstawiający ilości względne czterech wspomnianych metali, wyrażone w procentach wagowych całkowitej ich zawartości w ośrodku dyspersyjnym sześciu gatunków jaj. Diagramat ten uwidacznia bardzo daleko posunięte podobieństwo składu mineralnego cieczy międzycząstkowej ooplazmy zwierząt, należących, jak widzimy, do bardzo pod względem systematycznym od siebie odległych

<sup>1)</sup> Według RUNNSTRÖMA ('25) w jajach jeżowców znajdują się znaczne ilości potasu dializującego, które około ośmiu razy przewyższają stężenie tego katjonu w wodzie morskiej.

i ekologicznie bardzo różniących się grup zoologicznych. Wystarczy pod tym względem porównać jaja *Salmo* i *Maja*, ażeby stwierdzić prawie jednakowy udział potasu (77 i 82%) i identyczny — magnezu (8%) w składzie procentowym rodników zasadowych.



Rys. 2. Diagramat, przedstawiający ilości względne czterech zasad mineralnych (K, Na, Ca, Mg), wyrażone w procentach ich całkowitej zawartości w cieczy międzycząstkowej jaj następujących gatunków zwierzęcych: P — *Paracentrotus lividus* Lm.; M — *Maja verrucosa* M. Edw.; T — *Torpedo ocellata* Raf.; S — *Salmo fontinalis* L.; R — *Rana temporaria* L.; G — *Gallus domesticus* L.

Fig. 2. Diagramme, représentant les quantités relatives des radicaux basiques des composés minéraux (K, Na, Ca, Mg), calculées en pour-cents de leur quantité globale dans le liquide intermicellaire des oeufs des espèces animales suivantes: P — *Paracentrotus lividus* Lm.; M — *Maja verrucosa* M. Edw.; T — *Torpedo ocellata* Raf.; S — *Salmo fontinalis* L.; R — *Rana temporaria* L.; G — *Gallus domesticus* L.

Stosunek ilościowy do potasu trzech innych kationów wyraźnie uwydatnia następująca tabela (VI): występujące tutaj różnice

nie są jednak charakterystyczne z punktu widzenia porównawczego i są zbyt nieprawidłowe dla wyprowadzenia wniosków o jakiegokolwiek bądź zależności między składem mineralnym ośrodka dyspersyjnego a własnościami chemicznymi środowiska, w którym zwierzęta wytwarzające komórki jajowe żyją. To też uważając te odchylenia za nieistotne, można przyjąć, że w cieczy międzycząstkowej ooplazmy na 100 części wagowych potasu przypada przeciętnie około 10 części sodu i po 7—wapnia i magnezu.

Tabela VI.

Stosunek zasad mineralnych w cieczy międzycząstkowej jaj.

*Rapports quantitatifs entre les bases minerales du liquide intermicellaire des oeufs.*

Gatunek zwierzęcia <i>Espèce animale</i>	K g	Na g	Ca g	Mg g
<i>Gallus</i>	100	16	14	5
<i>Rana</i>	100	10	3	13
<i>Salmo</i>	100	14	6	10
<i>Labrax</i>	100	—	2	2
<i>Torpedo</i>	100	3	5	1
<i>Maja</i>	100	3	11	8
<i>Paracentrotus</i>	100	6	3	2

Z pośród dwu oznaczanych w ultraprzesączkach anjonów chlor jest najstalszym i najobfitszym rodnikiem kwasowym związków nieorganicznych ośrodka dyspersyjnego, występującym w ilościach równoważnie zbliżonych do głównego katjonu, t. j. do potasu (por. tab. V i VII). Fosfor nieorganiczny jest natomiast składnikiem bardzo niestałym: występuje on w niektórych gatunkach jaj w stężeniach znikomo małych, nie dających się oznaczyć ilościowo (*Torpedo*, *Scyllium*, *Sepia*), w innych zaś zjawia się, jako normalny składnik cieczy międzycząstkowej, w ilościach wymiernych, a nawet niekiedy (rosnące oocyty *Rana*) — zbliżonych do chloru.

W tabeli VII podajemy oddzielnie stężenia oznaczanych rodników zasadowych i kwasowych, obliczone w równoważnikach gramowych na litr cieczy międzycząstkowej odnośnych gatunków jaj. Jak wynika z tej tabeli, w części analiz (*Gallus*, *Maja*) zachodzi dosyć dobra zgodność między sumą wykrytych katjonów i anjonów, w innych natomiast stwierdzamy nadwyżkę

bądź zasad (*Salmo*), bądź też reszt kwasowych (*Rana*, *Torpedo*, *Paracentrotus*, *Sepia*). Nie precyzując tych różnic z powodu braku oznaczeń innych anjonów (głównie  $\text{HCO}_3^-$ ), które mogłyby w tych obliczeniach zaważyć, można jednak wyrazić przypuszczenie, że prócz czterech oznaczanych zasad (Na, K, Ca i Mg) nie należy spodziewać się w cieczy międzycząstkowej obecności większych ilości innych katjonów nieorganicznych.

Tabela VII.

Stężenie składników mineralnych w cieczy międzycząstkowej ooplazmy, wyrażone w gramorównoważnikach w litrze.

*Concentration des composants minéraux du liquide intermicellaire de l'ooplasmе, calculée par litre en grammes-équivalents.*

№ doświadczenia <i>de l'expérience</i>	13	16	14	43	37	34	24
Składniki cieczy międzycząstkowej ooplazmy <i>Composants du liquide intermicellaire de l'ooplasmе</i>	<i>Gallus</i> g. eq./l	<i>Rana</i> g. eq./l	<i>Salmo</i> g. eq./l	<i>Torpedo</i> g. eq./l	<i>Maja</i> g. eq./l	<i>Paracentrotus</i> g. eq./l	<i>Sepia</i> g. eq./l
K <sup>+</sup>	0.101	0.108	0.082	0.143	0.113	0.242	0.012
Na <sup>+</sup>	0.028	0.019	0.019	0.007	0.003	0.011	0.005
Ca <sup>++</sup>	0.027	0.007	0.009	0.013	0.025	0.015	0.016
Mg <sup>++</sup>	0.018	0.045	0.026	0.002	0.028	0.016	0.008
Rodniki zasadowe <i>Radicaux basiques</i>	0.174	0.179	0.136	0.165	0.169	0.284	0.041
Cl <sup>-</sup>	0.154	0.074	0.081	0.206	0.115	0.387	0.101
P <sup>'''</sup> )	0.019	0.159	0.023	0	0.042	0.046	0
Rodniki kwasowe <i>Radicaux acides</i>	0.173	0.223	0.104	0.206	0.157	0.433	0.101

<sup>1)</sup> Obliczone na tej podstawie, że przy pH = 7.5 stosunek  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 1$  (por. Kramer i Tisdall '22).

Nie można jednak pominąć milczeniem znacznego deficytu zasad w jajach *Sepia*. Liczne nasze analizy ultraprzesączców ponad wszelką wątpliwość stwierdziły stały i znaczny niedobór katjonów w porównaniu z chlorem, który, przy zupełnej nieobecności fosforu nieorganicznego, więcej niż dwukrotnie pokrywa sumę znalezionych zasad mineralnych. Nasuwa to przypuszczenie, że w danym razie mamy do czynienia z jakimś nieznanym katjonem, występującym w dość znacznych ilościach (około 0.06 g-eq.). Jak wykazały specjalne próby jakościowe, składnikiem tym nie jest miedź, która w jajach zwierząt, posiadających znaczne ilości tego metalu we krwi (mięczaki, skorupiaki), jest zwykle nieobecna (DUBOIS '00, DHERÈ '04).

Streszczając powyższe wyniki, możemy ciecz międzycząstkową ooplazmy zwierzęcej scharakteryzować ogólnie jako roztwór wodny soli alkaliów i ziem alkalicznych z bardzo znaczną przewagą związków potasowych, głównie zaś—chlorku potasu. Oprócz chloru rolę rodników kwasowych pełnią anjony fosforanowe, występujące w cieczy międzycząstkowej w ilościach zmiennych i w porównaniu z chlorem—niewielkich, oraz niezawodnie—anjony węglanów, które wspólnie z fosforanami i białkami pełnią ważną rolę w zachowaniu równowagi kwasowo-zasadowej w komórkach jajowych.

## 2. Porównanie składu mineralnego cieczy międzycząstkowej jaj i ich środowiska zewnętrznego.

Stwierdzone w rozdziale poprzednim fakty wskazują, że między ośrodkiem dyspersyjnym komórki a jej bezpośrednim środowiskiem zewnętrznym zachodzi zasadnicza różnica pod względem składu mineralnego. Gdy bowiem wszystkie dotychczasowe badania stwierdzają zgodnie<sup>1)</sup>, że ilościowo najważniejszym składnikiem nieorganicznym ośrodka dyspersyjnego cieczy odżywczych organizmu jest chlorek sodu, to, jak wynika z naszych poszukiwań, w ośrodku dyspersyjnym ooplazmy składnikiem tym jest chlorek potasu. Również i inne sole występują w obu roztworach wodnych w stężeniach, które naogół znacznie różnią się od siebie.

W celu zdania sobie sprawy z tych różnic, podajemy w tabeli VIII stężenia potasu, wapnia, magnezu i chloru w obu środowiskach, t. j. w cieczy międzycząstkowej jaj i w surowicy (wzgl. w osoczu krwi) odnośnych gatunków zwierzęcych. Dla porównania wybraliśmy trzy najbardziej typowe przykłady, dotyczące zwierząt, których surowice różnią się znacznie pod względem tak ogólnego stężenia, jak i składu elektrolitów.

Jako przykład typowy dla bezkręgowych zwierząt morskich, podajemy ciecz międzycząstkową jaj i ich środowisko zewnętrzne u skorupiaka *Maja*, którego krew, jak wiadomo (GRIFFITHS '92), nie różni się pod względem składu i ogólnego stężenia soli mineralnych od wody morskiej. Drugi gatunek (*Torpedo*) ilustruje

<sup>1)</sup> Por. artykuł PARNASA ('26), w którym literatura przedmiotu jest wyczerpująco zebrana.

ciekawe pod tym względem stosunki u ryb spodoustych, których surowica, izotoniczna z wodą morską, zawiera znaczne ilości kryształoidów organicznych (głównie — mocznika) i ujawnia jednocześnie, jak to stwierdziliśmy w osobnej serji analiz (p. tab. VIII), bardzo zmienioną w porównaniu z poprzednią grupą zwierząt proporcję elektrolitów i bardzo zredukowane ich stężenie całkowite. I wreszcie, jako przykład charakterystyczny dla krę-

Tabela VIII.

Stężenie składników mineralnych w cieczy międzycząstkowej jaj i w surowicy zwierząt.  
Concentration des composants minéraux dans le liquide intercellulaire des oeufs et dans le sérum d'animaux.

Składniki Composants	Maja verrucosa M. E d w.			Torpedo ocellata Raf.			Salmo fontinalis L.		
	Stężenie Concentration		Stosunek tych stę- żeń	Stężenie Concentration		Stosunek tych stę- żeń	Stężenie Concentration		Stosunek tych stę- żeń
	w cie- czy międ- zyczą- stkowej jaja	w suro- wicy zwie- rzęcia <sup>2)</sup>		w cie- czy międ- zyczą- stkowej jaja	w suro- wicy zwie- rzęcia <sup>2)</sup>		w cie- czy międ- zyczą- stkowej jaja	w suro- wicy zwie- rzęcej <sup>2)</sup>	
	<i>dans le liquide intermi- cellaire de l'o- oplasmе</i> mg/cm <sup>3</sup>	<i>dans le sérum de l'ani- mal</i> mg/cm	<i>Rapport entre ces concentra- tions</i>	<i>dans le liquide intermi- cellaire de l'o- oplasmе</i> mg/cm <sup>3</sup>	<i>dans le sérum de l'ani- mal</i> mg/cm <sup>3</sup>	<i>Rapport entre ces concentra- tions</i>	<i>dans le liquide intermi- cellaire de l'o- oplasmе</i> mg/cm <sup>3</sup>	<i>dans le sérum de l'ani- mal</i> mg/cm <sup>3</sup>	<i>Rapport entre ces concentra- tions</i>
Na·	0.142	11.920	1 : 84	0.168	5.240	1 : 32	0.443	3.652	1 : 8
K·	4.407	0.409	11 : 1	5.610	0.121	46 : 1	3.200	0.229	14 : 1
Ca·	0.515	0.472	1,1 : 1	0.028	0.044	1 : 1,4	0.190	0.168	1,1 : 1
Mg·	0.338	1.359	1 : 4	0.260	0.194	1,5 : 1	0.316	0.023	14 : 1
Cl'	4.067	21.160	1 : 5	7.330	5.071	1,4 : 1	2.868	4.127	1 : 1,4
Δ	2.18 <sup>0</sup>	2.18 <sup>0</sup>	1 : 1	2.18 <sup>0</sup>	2.18 <sup>0</sup>	1 : 1	0.64 <sup>0 1)</sup>	0.62 <sup>0</sup>	1 : 1

<sup>1)</sup> Według pomiarów Boguckiego (28). *D'après Bogucki.*

<sup>2)</sup> Obliczono według składu wody morskiej. *Calculé d'après la composition de l'eau de mer.*

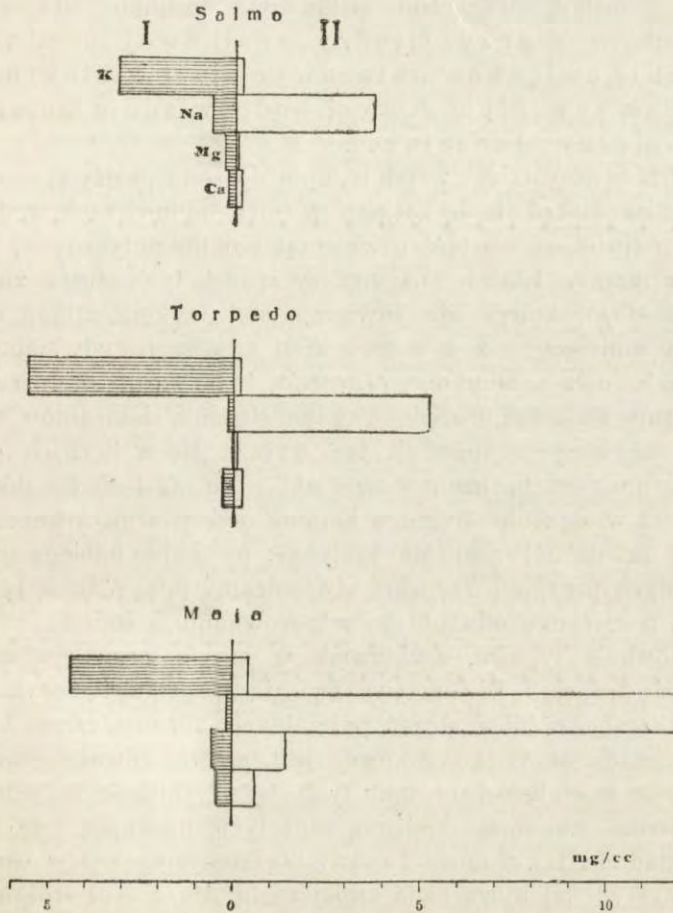
<sup>3)</sup> Według moich analiz. *D'après les analyses de l'auteur.*

gowców homojosmotycznych, przytaczamy w ostatniej rubryce również przez nas wykonane analizy jaj i surowicy *Salmo*: cieczy ciała tej ostatniej grupy organizmów cechuje nieznaczna zawartość kryształoidów organicznych (NEUHAUSEN '22) oraz małe stężenie soli mineralnych o składzie, zbliżonym do składu surowicy ryb spodoustych.

Porównyując liczby, wyrażające stosunek stężeń oddzielnych składników w roztworze wodnym jaj i w surowicy odnośnych zwierząt, oraz rozpatrując diagramat, wykreślony na podstawie danych tejże tabeli (rys. 3), notujemy pewne fakty, stanowiące ciekawy przyczynek do kwestji rozmieszczenia elektrolitów w organizmie.



Jak należało zgóry przewidywać, w sposób pod tym względem najbardziej jednoznaczny zachowują się kationy jednowar-



Rys. 3. Diagramat, przedstawiający stężenie (mg/l cm<sup>3</sup>) potasu, sodu, magnezu i wapnia w cieczy międzycząstkowej jaj (I) oraz w surowicy (II) trzech gatunków zwierząt: *Salmo fontinalis* L., *Torpedo ocellata* Raf. i *Maja verrucosa* M. Edw. (Według danych tabeli VIII).

Fig. 3. Diagramme, représentant les concentrations (mgr./cm<sup>3</sup>) du potassium, du sodium, du magnésium et du calcium dans le liquide intermicellaire des oeufs (I) et dans le sérum (II) de trois espèces animales: *Salmo fontinalis* L., *Torpedo ocellata* Raf. et *Maja verrucosa* M. Edw. (D'après le tableau VIII).

tościowe, t. j. potas i sód, będące głównymi składnikami: pierwszy z nich—cieczy międzycząstkowej cytoplazmy, drugi zaś—cieczy międzykomórkowej. Pomimo znacznych różnic, jakie obserwujemy

w składzie mineralnym surowic tych zwierząt, kierunek spadku stężeń jonowych jest we wszystkich trzech przypadkach jeden i ten sam. W obu bowiem roztworach wodnych stężenia tych zasad pozostają względem siebie w stosunku odwrotnym, przyczem w cieczy międzycząstkowej ooplazmy stężenie związków potasowych jest wielokrotnie większe, zaś soli sodowych—odpowiednio mniejsze, niż w cieczy otaczającej.

Przedewszystkiem w odniesieniu do sodu należy stwierdzić, że różnica stężeń tego katjonu w obu środowiskach wodnych osiąga największą wartość u zwierząt pojkilosmotycznych, żyjących w morzu. Istotnie, największy spadek tych stężeń znajdujemy u *Maja*, której jaja zawierają sól w koncentracji około 84 razy mniejszej, niż w osoczu krwi zwierzęcia, gdy natomiast u innych dwu gatunków (*Torpedo* i *Salmo*), reprezentujących grupę zwierząt o zredukowanem stężeniu elektrolitów w cieczach odżywczych, stosunek ten wyraża się w liczbach odpowiednio mniejszych, mianowicie—jak 1 do 32 i do 8. Różnice natomiast w stężeniu drugiego katjonu jednowartościowego, t. j. potasu, są naogół znacznie mniejsze: pomijając odbiegający od pozostałych przykład *Torpedo*, stwierdzamy tutaj różnice 11 i 14-krotne, o kierunku odwrotnym w porównaniu z sodem.

Również typowe, aczkolwiek w innym sensie, jest zachowanie się wapnia. W przeciwstawieniu do alkaliów, wykazujących znaczne różnice stężeń parcjalnych, rozmieszczenie Ca po obu stronach błony komórkowej jest prawie równomierne, co wyraża się w wielkości stosunku tych stężeń, zbliżonej do jedności.

Bardzo natomiast zmienną repartycję ujawniają dwa pozostałe składniki, t. j. magnez i chlor. Stężenie magnezu w ośrodku dyspersyjnym jaj bywa bądź mniejsze (u *Maja* — czterokrotnie), bądź większe (u *Salmo* — czternaście razy), lub prawie równe (*Torpedo*) koncentracji tego katjonu w surowicy. Podobne zachowanie się ujawnia chlor przesączalny, którego stężenie w komórce może być zarówno mniejsze (*Maja*, *Salmo*), jak i większe (*Torpedo*), niż w cieczach ciała.

Streszczając się, możemy twierdzić, że podobnie jak na granicy podziału fazy koloidalnej w obrębie samej cytoplazmy, tak również i po obu stronach błony żyjącej jaja, która oddziela ciecz międzycząstkową ooplazmy

od cieczy międzykomórkowej, istnieją stałe różnice stężeń, charakterystyczne dla poszczególnych elektrolitów: zaznaczają się one zarówno w kierunku, jak i wielkości spadku koncentracji, jakie na pograniczu obu roztworów wodnych ujawniają poszczególne składniki mineralne.

W szczególności zaś poszukiwania nasze wykazują, że z wyjątkiem wapnia, którego stężenie w obu fazach wodnych jest prawie jednakowe, inne zasady mineralne są rozmieszczone w sposób bardzo swoisty, świadczący o wybitnie zaznaczonym, nawet u przedstawicieli niższych grup zwierzęcych, wyodrębnieniu i uniezależnieniu środowiska elektrolitycznego komórki od składu i stężenia związków mineralnych w środowisku zewnętrznym, pomimo, iż środowisko to ujawnia, jak wiemy, wielką pod względem składu mineralnego różnorodność w szeregu form zwierzęcych.

Wyświetlenie mechanizmu tego zjawiska stanowi bez wątpienia jedno z najważniejszych zagadnień fizjologicznej przepuszczalności błon zwierzęcych.

### 3. Stężenie całkowite związków mineralnych w cieczy międzycząstkowej ooplazmy.

Zważywszy, że stężenie soli mineralnych w cieczach ciała większości zwierząt, żyjących w morzu, jest około czterech razy większe, niż w osoczu krwi kręgowców homoosmotycznych, oraz opierając się na fakcie (JAPPELLI '06, BOTTAZZI i QUAGLIARIELLO '12, COLLIP '20), że większość tkanek zwierzęcych jest izotoniczna lub nawet zlekka hipertoniczna w stosunku do cieczy międzykomórkowych, możnaby przypuszczać, że i w tkankach tych dwu grup zwierzęcych zachodzi taka sama różnica pod względem stężenia składników mineralnych.

Tymczasem, pobieżne nawet przejrzanie danych tabeli V, a zwłaszcza analiza liczb tabeli VII, przekonywa o niestusznosci powyższego przypuszczenia, przynajmniej w stosunku do komórek jajowych.

Rzeczywiście, biorąc pod uwagę ogólną koncentrację związków mineralnych, za miarę której możemy uważać stężenie jednego rodzaju rodników, więc np. stężenie zasad mineralnych, wyrażone w gramo-równoważnikach w litrze cieczy (por. tab.

VII), przekonywamy się, że ilość związków nieorganicznych, rozpuszczona w jednakowych objętościach cieczy międzycząstkowej jaj, nie pozostaje w żadnym stosunku do ogólnej koncentracji elektrolitów w cieczach ciała odpowiednich zwierząt. Ilustrując wniosek powyższy przykładem najbardziej rzucającym się w oczy, stwierdzamy, że stężenie zasad mineralnych w ośrodku dyspersyjnym jaj skorupaika morskiego *Maja* jest prawie takie same (0.169 g. eq. w litrze), jak w żółtku jaj kury (0.174 g. eq. w litrze), której surowica zawiera (Ssobkiewitsch '13) zaledwie około 25% tej ilości soli, która znajduje się w hemolimfie wspomnianego kraba (Griffiths '92, Bottazzi '97, Duval '24).

Podobnie i inne dane liczbowe tabeli VII (pomijając wyniki, dotyczące *Sepia*) dowodzą, że pomiędzy stężeniami elektrolitów w ośrodku dyspersyjnym badanych komórek jajowych zachodzą znacznie mniejsze różnice, niż między stężeniami tych ciał w osoczu krwi odnośnych zwierząt.

Stąd wynika, że ciecz międzycząstkowa ooplazmy odznacza się nie tylko znacznym podobieństwem składu mineralnego, ale ponadto tem, że całkowite stężenia związków nieorganicznych w komórkach jajowych różnego pochodzenia są bardzo do siebie zbliżone.

Powyższe wnioski wypływają bezpośrednio z porównania składu mineralnego cieczy międzycząstkowej komórek jajowych. Nie wyjaśniają one jednak w mierze dostatecznej roli, jaką w ciśnieniu osmotycznym ooplazmy pełnią inne — oprócz składników mineralnych — związki przesączalne.

Kwestję tę staraliśmy się bliżej rozpatrzeć w specjalnej serji doświadczeń. Chodziło nam przedewszystkiem o ustalenie, jaką część całkowitego stężenia osmolarnego ooplazmy stanowią związki mineralne, rozpuszczone w jej ośrodku dyspersyjnym. Do doświadczeń tych użyto wyłącznie jaj morskich zwierząt pojkilosmotycznych, odznaczających się, jak wiadomo, bardzo dużem stężeniem ciał osmotycznie czynnych w tkankach (*Torpedo*, *Maja*, *Sepia*, *Arbacia*). Doświadczenia te miały przedewszystkiem na celu znalezienie stosunku liczbowego między obliczoną, na podstawie analizy ultraprzesączów, wartością ciśnie-

nia osmotycznego, przypadającego na związki mineralne, a całkowitą wartością ciśnienia osmotycznego ooplazmy.

W tym celu ooplazmę rozcieńczano wodą destylowaną dwu- lub trzykrotnie, i w mieszaninie w ten sposób przygotowanej mierzono w aparacie BECKMANN obniżenie punktu zamarzania. Z reszty mieszaniny przygotowywano odpowiednią ilość ultraprzesączu, w którym oprócz składników, charakterystycznych dla związków organicznych (o nich będzie mowa w następnym rozdziale), oznaczano cztery główne zasady nieorganiczne: sól, potas, wapń i magnez. Wartość stężenia osmolarnego związków nieorganicznych w przesączu została wyrażona w stopniu obniżenia punktu zamarzania ( $\Delta$ ) i obliczona w założeniu, że sole tych zasad znajdują się wyłącznie pod postacią chlorków (tab. IX).

Z porównania wartości  $\Delta$ , obliczonych z analiz ultraprzesączo- w, z wartościami, otrzymanymi z bezpośrednich pomiarów krjoskopowych, wynika, zgodnie zresztą z poprzednimi rozważaniami, że sole nieorganiczne pokrywają zaledwie część całkowitego stężenia osmolarnego komórek jajowych (tab. IX). Tak np. dwie pierwsze serje pomiarów, przeprowadzonych na jajach *Torpedo* i *Maja*, wykazały stosunek stężeń obliczonych do znalezionych, jak 0.167° do 0.726° w pierwszym przypadku, oraz 0.113° do 0.490° — w drugim, w obu zaś doświadczeniach — zgodną wielkość pokrycia związkami mineralnymi całkowitej wartości krjoskopowej, wynoszącą zaledwie 23%.

Bardziej jednak odbiegające liczby notujemy w pozostałych dwu doświadczeniach. U *Sepia* udział wykrytych elektrolitów w obniżaniu punktu zamarzania ooplazmy wynosi zaledwie 9%; liczba ta, ze względu na wspomniany poprzednio deficyt zasad w przesączach, jest bez wątpliwości mniejsza od rzeczywistej. U *Arbacia* natomiast znajdujemy odchylenie w kierunku przeciwnym: tutaj znowu, z powodu nieuniknionych zanieczyszczeń materiału wyjściowego wodą morską, znaleziona wartość 61% jest prawdopodobnie zbyt wysoka.

Jakkolwiekbyśmy interpretowalibyśmy te odchylenia, to jednak w świetle wyników powyższych nie ulega wątpliwości, że w komórkach jajowych o dużym stężeniu osmolarnem na związki nieorganiczne przypada mniej, niż połowa całkowitego efektu osmotycznego.

Mamy więc tutaj do czynienia ze zjawiskiem, które mogli-

byśmy nazwać „hipotonją mineralną“ elementów komórkowych w stosunku do osocza krwi. Ten deficyt związków mineralnych w protoplazmie komórkowej jest szczególnie jaskrawo wyrażony u większości morskich zwierząt pojkilomotycznych, których ciecze odżywcze posiadają prawie identyczne z wodą morską stężenie soli nieorganicznych (FREDERICQ '84, '22, BOTTAZZI '97, 05, DUVAL '25), przy bardzo nieznacznej zawartości krystaloidów organicznych (BAGLIONI '06/07).

Tabela IX.

Obniżenie punktu zamarzania roztworów ooplazmy, rozcieńczonej wodą destylowaną, i zawartość w ultraprzesączkach substancji mineralnych i organicznych.  
Abaissement du point de congélation des solutions d'ooplasmе, étendu d'eau distillée et teneur des liquides ultrafiltrés en substances minérales et organiques.

№ doświadczenia de l'expérience		43	38b	42	41	
Gatunek zwierzęcia Espèce animale		Torpedo ocellata	Maja verrucosa	Sepia officinalis	Arbacia pustulosa	
Mieszanka Mélange	Stopień rozcieńczenia ooplazmy Degré de dilution de l'ooplasmе	2	3	3	3	
	Objętość fazy rozdrobnionej Volume de la phase dispersée	29.5%	14.2%	14.5%	7.0%	
	Obniżenie punktu zamarzania Abaissement du point de congélation	0.726°	0.490°	0.471°	0.716°	
Ultraprzesączka Liquide ultrafiltré	Stężenie zasad mineralnych w ultraprzesączkach, w gramocząsteczkach w litrze Concentration des bases minérales dans les liquides ultrafiltrés, en grammes-molécules par litre.	K·	0.0417	0.0214	0.0040	0.0471
		Na·	0.0021	0.0011	0.0021	0.0611
		Ca·	0.0020	0.0035	0.0026	0.0031
		Mg·	0.0005	0.0027	0.0012	0.0076
	Obliczone Δ chloroków katjonów oznaczanych Δ calculé des chlorures des cations dosés	w °C en °C	0.167°	0.113°	0.042°	0.435°
		w % Δ mieszaniny en % du Δ du mélange	23%	23%	9%	61%
	Zawartość w gramach w litrze ultraprzesączki Teneur en gr. par litre de liquide ultrafiltré	Substancji suchej Substance sèche	40.0	30.0	28.2	23.6
		N	3.34	3.38	2.24	1.99
		S	1.66	2.08	2.47	0.36
		mocznika urée	8.43	0	0	0
Obliczone stężenie tauryny, w gramach na litr Concentration calculée de la taurine (gr. pour un litre)		6.48	8.12	9.64	1.39	
Obliczone Δ przypadające na mocznik i taurynę Δ calculé, correspondant à la teneur en urée et en taurine	w °C en °C	0.368°	0.120°	0.144°	0.021°	
	w % Δ mieszaniny en % du Δ du mélange	51%	25%	31%	3%	

Grupę jakgdyby przejściową stanowią ryby spoudoste, Osocze krwi tych zwierząt jest wprawdzie izotoniczne w stosunku do wody morskiej, w której one żyją, lecz zawiera prawie o połowę mniej soli mineralnych (FREDERICQ '84, 01, QUINTON

'12). U zwierząt tych, dzięki znacznej redukcji zawartości soli we krwi, hipotonja mineralna elementów komórkowych jest zaznaczona już w stopniu znacznie mniejszym (por. tab. X).

Tabela X.

Stężenie całkowite zasad mineralnych w cieczy międzycząstkowej jaj i w cieczach ciała zwierząt.  
*Concentration globale des bases minérales dans le liquide intermicellaire des oeufs et dans les liquides nourriciers des animaux correspondants.*

Gatunek zwierzęcia <i>Espèce animale</i>	a	b	Stosunek tych stężeń <i>Rapport entre ces concentrations</i>
	Stężenie zasad mineralnych <i>Concentration des bases minérales</i>		
	w cieczy międzycząstkowej jaj <i>dans le liquide intermicellaire des oeufs</i> g. eq./l	w cieczach ciała zwierząt <i>dans les liquides nourriciers des animaux</i> g. eq./l	$\frac{a}{b}$
<i>Salmo</i>	0.136	0.175 <sup>1)</sup>	0.77
<i>Torpedo</i>	0.165	0.244 <sup>1)</sup>	0.68
<i>Paracentrotus</i>	0.284	0.596 <sup>2)</sup>	0.48
<i>Maja</i>	0.169	0.596 <sup>2)</sup>	0.28

<sup>1)</sup> Według moich analiz. *D'après les analyses de l'auteur.*

<sup>2)</sup> Obliczone na podstawie analiz wody Morza Śródziemnego, według Forchhammera. *Calculée d'après les analyses de l'eau de la Méditerranée, suivant Forchhammer.*

U wyższych kręgowców, w których osoczu stężenie elektrolitów jest blisko cztery razy mniejsze, niż w wodzie morskiej, prawie całkowite ciśnienie osmotyczne ooplazmy jest wyrównane przez związki mineralne jej ośrodka dyspersyjnego.

#### 4. Przesączalne związki organiczne ooplazmy.

W konsekwencji powyższych faktów nasuwa się dalsze pytanie: do jakiej kategorii związków należą substancje, które kompensują wspomnianą różnicę stężeń? Jak wskazuje tabela IX, stężenie tych substancyj w ooplazmie niektórych zwierząt może być bardzo znaczne i dochodzi do wartości, równoważnej około 1.6° obniżenia punktu zamarzania. Jasnem jest, że nie mogą to być substancje koloidalne (STARLING '95, SØRENSEN '15/17, '19, FAHR i SWANSON '26), aczkolwiek znajdują się one tutaj w stężeniach kilkakrotnie większych, niż w surowicy, lecz raczej związki organiczne o stosunkowo niewielkim ciężarze cząsteczkowym, odznaczające się dobrą rozpuszczalnością w wodzie.

Jeżeli chodzi o zwierzęta morskie o dużej koncentracji ciał osmotycznie czynnych w tkankach ( $\Delta = \text{ca. } 2.1^\circ$ ), to w literaturze współczesnej znajdujemy wskazówki, pozwalające domyślać się, że substancjami temi są t. zw. wyciągowe związki azotowe. Na specjalną uwagę zasługują trzy z pośród nich, mianowicie — mocznik, tauryna i glikokol, w które bardzo obfitują tkanki niektórych zwierząt morskich.

O ile sądzić można na podstawie dotychczasowych badań, to rola mocznika, jako krystaloidu, pełniącego funkcję osmoregulacyjną w organizmie, ogranicza się do jednej tylko grupy zwierząt pojkilosmotycznych, mianowicie — do ryb spodoustych (STAEDLER i FRERICHS '58, v. SCHROEDER '90, RODIER '00, BAGLIONI '05, DELAUNEY '13, MACALLUM '10, '26). Obecność tej substancji została wykryta, jak wiadomo, nie tylko we krwi, gdzie występuje w stężeniach około 2.6%, ale również, wprawdzie w ilościach mniejszych, w tkankach ciała tych zwierząt (według SCHROEDERA, w wątrobie — 1.36%, w mięśniach — 1.95%) oraz w żółtku jaj (u *Torpedo*, według GORI'EGO '20).

Druga z kolei substancja wyciągowa — tauryna, jest bardziej rozpowszechniona. Jak wykazały badania szeregu autorów (VALENCIENNES i FRÉMY '54, '55, CHITTENDEN '75, FREDERICQ '78, KELLY '04, MENDEL '04, HENZE '04/05, '08, BUGLIA i CONSTANTINO '13, JENSEN '13, KOSSEL i ELDBACHER '15, SCHMIDT i WATSON '18 i inni), związek ten występuje w dosyć znacznych ilościach w tkankach (mięśnie, wątroba, nerki) wielu bezkręgowców morskich (*Octopus*, *Haliotis*, *Sycotypus*, *Fulgur*, *Pecten*, *Mytilus*, *Astropecten*), głównie zaś — u przedstawicieli dwu grup zoologicznych: mięczaków i szkarłupni. Obecność znacznych ilości tauryny w jajach (*Octopus*, *Astropecten*, *Paracentrotus*) została stwierdzona dzięki badaniom VALENCIENNA i FREMY'EGO ('54) oraz KOSSELA i ELDBACHERA ('15).

Wreszcie glikokol, pełniący zapewne analogiczną do poprzednio wymienionych związków rolę, został wykryty w większych ilościach w mięśniach szeregu gatunków mięczaków morskich (według CHITTENDENA '75 i KELLY'EGO '04, w mięśniach *Pecten* znajduje się około 0.4 — 0.7%) oraz w jajnikach i jądrach szkarłupni (u *Astropecten* i *Paracentrotus*, według KOSSELA i ELDBACHERA '15).

Należy pozatem zwrócić uwagę na szereg związków azoto-



wych o charakterze alkaloidów, których obecność została stwierdzona przez KUTSCHERA i ACKERMANN (26) w tkankach wielu bezkręgowców morskich.

Nie wydaje się natomiast rzeczą prawdopodobną, ażeby równie wybitne znaczenie w tym kierunku mogły mieć związki bezazotowe. Przynajmniej badania, dotyczące specjalnie glukozy, wykazały, że w żółtku jaj ptasich (DIAMARE '09, '10, '11, '16, SALKOWSKI '11, GORI '19, '20, GADASKIN '26) i w jajnikach łososia (GREENE '21) zawartość glukozy jest bardzo nieznaczna, brak zaś jej zupełnie zarówno w jajach płazów, jak i w żółtku jaj *Torpedo ocellata* (GORI '19). Z badań HENZE'GO ('08) wiemy, że jaja *Octopus* zawierają, w obliczeniu na masę suchą, niespełna 0.79% pentozy.

Moje analizy, których wyniki zostały streszczone w omawianej już poprzednio tabeli IX, miały na celu jedynie ogólną charakterystykę organicznych związków przesączalnych w jajach kilku gatunków zwierząt morskich. Analizy te dotyczyły zawartości w ultraprzesączach części stałych, azotu całkowitego, mocznika i siarki organicznej.

Jak wynika z tej tabeli, już oznaczenia substancji suchej łącznie z analizami składników mineralnych wskazują na obecność znacznych ilości przesączalnych związków organicznych. Tak np. w jednym litrze ultraprzesącza, otrzymanego z żółtka *Torpedo ocellata* dwukrotnie rozcieńczonego wodą, znajdujemy około 40 g części stałych, w których, według dokonanych obliczeń, na związki organiczne przypada około 36.3 g. Podobnie i w potrójnie rozcieńczonych mieszaninach ooplazmy trzech innych gatunków wykrywamy dość pokaźne ilości substancji organicznych, wynoszące, w obliczeniu na tę samą objętość ultraprzesączów, 27.4 g (*Maja*), 26.9 g (*Sepia*) i 13.9 g (*Arbacia*).

Co się tyczy siarki organicznej, to najwięcej jej zawierają jaja *Sepia* (0.247% w cieczy międzycząstkowej potrójnie rozcieńczonej ooplazmy), wyraźnie mniej — jaja *Maja*, *Torpedo* i *Arbacia*. Jeżeli zgodnie z autorami (KELLY '04, MENDEL '04, HENZE '04, '05) zawartość tauryny obliczymy na podstawie znalezionych ilości siarki organicznej, to stężenie tego związku w cieczy międzycząstkowej jaj wyniesie: 4.37% — u *Sepia*, 3.62% — u *Maja*, 2.23% — u *Torpedo* i 0.49% u *Arbacia*. Wynik ten pozostaje w zgodzie z poszukiwaniem FREDERICQA ('78), a zwłaszcza HENZE'GO ('04), który w różnych tkankach głowonogów znalazł bardzo znaczne

ilości (w mięśniach — około 0.5% wagi świeżej) dokładnie przez siebie zidentyfikowanej tauryny.

Obecność mocznika zdołaliśmy stwierdzić tylko w jajach ryb spodoustych (*Torpedo*, *Scyllium*): przesącze, otrzymane z innych gatunków jaj, dały zupełnie ujemną próbę ureazową i ksanthydrolową. Nasze ilościowe oznaczenia, przeprowadzone w przesączach podwójnie rozcieńczonego żółtka *Torpedo* przy pomocy metody FOSSE'A ('13, '14), zmodyfikowanej przez NICLOUX i WALTERA ('21), wykazały około 8.4 g mocznika w litrze, co odpowiada 3.04% stężeniu w ośrodku dyspersyjnym ooplazmy nierozcieńczonej<sup>1)</sup>.

Biorąc zatem pod uwagę tylko dwie ostatnio rozpatrywane substancje wyciągowe i obliczając ich stężenie w stopniu przypadającego na nie obniżenia punktu zamarzania, stwierdzamy (tab. IX), że w jajach *Torpedo* są one równoważne 51 procentom stężenia osmolarnego cieczy międzycząstkowej, wobec poprzednio ustalonych 23%, pokrytych przez składniki mineralne. Na samą tylko taurynę przypada w jajach *Sepia* i *Maja* — 31% i 25% całkowitego ciśnienia osmotycznego.

Na nieoznaczoną resztę organiczną, będącą prawdopodobnie mieszaniną różnych substancyj wyciągowych, przypadają w naszych analizach następujące wartości  $\Delta$ : dla *Torpedo* — 0.191°, dla *Maja* — 0.257°, dla *Sepia* — 0.285° i dla *Arbacia* — 0.260°, co jest równoważne deficytowi, wynoszącemu odpowiednio 26%, 52%, 61% i 36% całkowitego ciśnienia osmotycznego.

Na podstawie przybliżonych, mających jedynie wartość orjentacyjną obliczeń, w których bierzemy pod uwagę ilość azotu i obniżenie punktu zamarzania, przypadające w ultrapresączach na tę niezdefiniowaną resztę organiczną, możemy ją scharakteryzować, jako mieszaninę związków o zawartości azotu, wahającej się od 7 do 16%, i o stosunkowo małym (60 — 200) średnim ciężarze cząsteczki.

Sądzymy, że wyodrębnienie, utożsamienie i oznaczenie ilościowe tych substancyj w tkankach przedstawicieli różnych grup zwierząt morskich może stanowić ciekawe zadanie specjalnie w tym kierunku przedsięwziętych poszukiwań.

Reasumując rozdział niniejszy, możemy zarówno na podstawie badań dotychczasowych, jak też na zasadzie własnych

<sup>1)</sup> We krwi tego samego gatunku zwierzęcia VON SCHROEDER ('90) znalazł około 2.6% mocznika.

analiz uważać za fakt dostatecznie uzasadniony, że tkanki ciała i komórki jajowe zwierząt o dużym stężeniu osmolarnem cieczy odżywczych zawierają znaczne ilości krystaloidów organicznych o charakterze wyciągowych związków azotowych. Związki te nie są identyczne w tkankach przedstawicieli różnych grup zwierzęcych: "dla ryb spodoustych tym związkiem charakterystycznym jest mocznik, dla mięczaków i skorupiaków — tauryna. Z pośród szeregu zapewne ważnych, a w chwili obecnej nieznanych nam zadań, jakie spełniają one w organizmie, niezawodnie przypada im w udziale rola ciał, regulujących ciśnienie osmotyczne komórki.

#### IV. Omówienie wyników.

Na specjalną uwagę zasługują dwie kwestje, które w pracy niniejszej staraliśmy się wyświetlić: pierwsza z nich dotyczy stężenia elektrolitów w komórkach jajowych, drugą zaś jest zagadnienie składu chemicznego cieczy międzycząstkowej tych komórek.

Kwestja „hipotonji mineralnej“ tkanek u zwierząt, odznaczających się dużą zawartością substancyj osmotycznie czynnych w cieczach odżywczych, nie jest zagadnieniem zupełnie nowem, stwierdzone zaś przez nas słabe stężenie soli mineralnych w jajach tych zwierząt nie jest faktem odosobnionym, odnoszącym się wyłącznie do będącego w mowie typu histologicznego elementów komórkowych.

Zasługę zwrócenia poraz pierwszy uwagi na to zagadnienie i przeprowadzenie pierwszych w tym kierunku badań należy przypisać fizjologowi belgijskiemu, FREDERICQ'OWI ('84, '01). Punktem wyjścia uogólnień tego autora było stwierdzenie faktu, że w tkankach (głównie — w mięśniach) wielu zwierząt morskich (robaki, mięczaki, skorupiaki, ryby spodouste) zawartość rozpuszczalnych w wodzie składników popiołu jest znacznie mniejsza, niż w wodzie morskiej. Opierając się na analizach tych składników w popiele tkanek i we krwi wielu gatunków zwierzęcych, FREDERICQ wyróżnia: 1<sup>o</sup>, tkanki o identycznej z wodą morską zawartości soli nieorganicznych (zwierzęta pelagiczne); 2<sup>o</sup>, tkanki, wykazujące jednakowe z wodą morską obniżenie punktu zamar-

zania, lecz zawierające znacznie mniejsze ilości składników mineralnych (większa część zwierząt morskich), i wreszcie — 3<sup>o</sup>, tkanki o zredukowanym w porównaniu z wodą morską stężeniu ciał osmotycznie czynnych, zawierające składniki mineralne w stężeniu prawie tem samym, co w cieczach ciała (większość zwierząt kręgowych, włącznie z grupą ryb kostnoszkieletowych).

Badania nasze stanowią dalszy przyczynek do tego ciekawego i ważnego zagadnienia, któremu od czasu ogłoszenia pierwszych prac FREDERICQA tak mało poświęcano uwagi.

W pracy niniejszej posługiwaliśmy się odmienną metodą badań. Polegała ona na oznaczaniu ilościowo najważniejszych składników mineralnych, znajdujących się w protoplazmie komórkowej w stanie właściwego roztworu, t. j. pod postacią, w jakiej składniki te posiadają największą aktywność osmotyczną. W ten sposób zostały uzyskane dane, określające ogólne stężenie związków nieorganicznych w cieczy, która wypełnia przestrzeń między zawieszonymi cząstkami fazy rozdrobnionej komórki.

O ile można sądzić na podstawie naszych analiz, które zostały przeprowadzone na materiale komórkowym wielu gatunków zwierzęcych, przynależnych do bardzo od siebie odległych pod względem stopnia organizacji grup układu zoologicznego, możemy przyjąć za regułę, że stężenie soli nieorganicznych w cieczy międzycząstkowej ooplazmy jest zawsze mniejsze, niż w bezpośrednim środowisku komórki, i że różnica między temi stężeniami jest tem większa, im większe stężenie osmolarne wykazuje to środowisko.

W myśl powyższego, stan rozmieszczenia soli mineralnych przedstawialibyśmy sobie w ten sposób, że tkanki zwierzęce charakteryzuje pewne, w przybliżeniu prawie jednakowe u różnych zwierząt, stężenie związków nieorganicznych, których zawartość w protoplazmie komórkowej jest w znacznym stopniu niezależna od zawartości tych związków w cieczach międzykomórkowych.

U zwierząt niższych, żyjących w morzu i pozbawionych zdolności osmoregulacyjnych, stężenie elektrolitów w komórkach organizmu jest kilkakrotnie mniejsze, niż w cieczach ciała. Tkanki tych zwierząt cechuje obecność bardzo znacznych ilości przesączalnych związków organicznych, będących swoistemi produktami przemiany białkowej, które w cieczy międzycząstkowej

występują w stężeniach, wyrównywujących izotonję elementów komórkowych w stosunku do osocza krwi.

Drugą grupę krańcową stanowią wyższe zwierzęta kręgowce o zredukowanej zawartości elektrolitów w osoczu i o bardzo słabo wyrażonej hipotonji mineralnej tkanek w stosunku do cieczy międzykomórkowych. W związku z tem tkanki tych zwierząt zawierają stosunkowo bardzo nieznaczne ilości wyciągowych związków azotowych.

Należałoby przypuszczać, że stadja pośrednie tego procesu, przebiegającego w związku z przejściem organizmów ze środowiska słonego do słodkowodnego, polegałyby na stopniowym ubożeniu cieczy ustrojowych w związki mineralne i na współcześnie i równolegle odbywającym się obniżaniu zawartości krystaloidów organicznych w elementach komórkowych. I odwrotnie, przejście organizmu pojkilosmotycznego lub homojosmotycznego z osmoregulacją niedoskonałą (DAKIN '08) ze środowiska słodkowodnego lub słabo słonego do środowiska o większej koncentracji elektrolitów, winno pociągnąć za sobą zwiększenie się w elementach komórkowych zawartości krystaloidów organicznych, powstających pod wpływem podniety osmotycznej.

Bardzo ciekawą pod tym względem grupę przejściową reprezentowałyby żyjące w morzu i nie posiadające zdolności osmoregulacyjnych ryby spodouste, u których stwierdzamy poraz pierwszy właściwą wyższym kręgowcom redukcję ogólnego stężenia elektrolitów w cieczach ciała. Rolę krystaloidu organicznego, kompensującego różnicę stężeń elektrolitycznych między organizmem i otoczeniem, pełni w danym przypadku głównie mocznik (VON SCHROEDER '90), który rozmieszcza się równomiernie pomiędzy fazą wodną osocza a cieczą międzycząstkową tkanek.

Inne stadja przejściowe omawianego powyżej zjawiska, polegającego, z jednej strony, na redukcji stężenia składników mineralnych w cieczach ciała, z drugiej zaś — na ubożeniu tych cieczy oraz tkanek ustroju w krystaloidy organiczne, zjawiska, niezawodnie związanego ze stopniowym wykształcaniem się funkcji osmoregulacyjnej, nie są nam, niestety, znane.

Pozostaje również nierozstrzygniętą kwestja, czy hipotonja mineralna jest zjawiskiem pierwotnem i powszechnem, właściwem również i najniżej organizowanym, żyjącym w morzu, ustrojom zwierzęcym, czy też — jest zjawiskiem wtórnem, występującem

dopiero w tkankach przedstawicieli wyższych grup bezkręgowców morskich? Jak już wiemy, ostatni z tych poglądów został wypowiedziany przez FREDERICQA, który przyjmuje, że tkanki zwierząt pelagicznych zawierają składniki mineralne w tem samym stężeniu, co woda morska. Pierwsza natomiast hipoteza jest wysuwana w tych rozważaniach, które biorą pod uwagę związek przyczynowy, jaki rzekomo ma zachodzić między hipotonją mineralną tkanek obecnie żyjących organizmów morskich a małą słonością oceanu pierwotnego, w którym powstało życie (por. MACALLUM '10, '26). W sprawie tej, nie pozbawionej zresztą znaczenia ogólnego, nie posiadamy jednak danych, któreby zagadnienie to mogły rozstrzygnąć ostatecznie<sup>1)</sup>. Przeprowadzenie odpowiednich poszukiwań nad zawartością elektrolitów przesączalnych w cytoplazmie morskich zwierząt jednokomórkowych dałoby niezawodnie ciekawe i definitywnie rozstrzygające w tym kierunku wyniki.

Jakkolwiekby zagadnienie to zostanie w przyszłości rozstrzygnięte, jest faktem nie ulegającym wątpliwości, że ogólne stężenie elektrolitów w tkankach zwierzęcych nie przekracza w większości przypadków pewnej, dosyć niskiej, wartości. Jakie znaczenie może mieć to zjawisko dla przebiegu procesów życiowych w komórce?

Do zagadnienia tego istnieją obecnie, zdaniem naszym, dwie drogi podejścia: mianowicie, możemy zagadnienie to traktować, 1<sup>o</sup>, z punktu widzenia wpływu, jaki stężenie elektrolitów w cieczy międzycząstkowej może wywierać na stopień dyspersji koloidów komórkowych i 2<sup>o</sup>, od strony związku, jaki ewentualnie zachodzi pomiędzy stężeniem, wzgl. zależnym od niego stopniem dysocjacji elektrolitów ośrodka dyspersyjnego protoplazmy, a przepuszczalnością dla tych elektrolitów żywej błony komórkowej. Możliwe, mianowicie, przypuszczać, że stężenie elektrolitów, które w większości przypadków stwierdzamy, a które zwykle nie przekracza granic  $\Delta = 0.5 - 0.8^{\circ}$ , jest tą koncentracją, w której stopień rozdrobnienia koloidów białkowych, warunkujący wielkość powierzchni ich zetknięcia się z ośrodkiem dyspersyjnym, osiąga wartość optymalną dla przebiegu procesów biochemicznych w ko-

<sup>1)</sup> Wykonane przez nas poprzednio ('26) analizy popiołu w jajach niektórych pierścienic (*Arenicola Claparedii* Lev., *Sipunculus nudus* L) wykazały, podobnie jak i u innych bezkręgowców morskich, bardzo małą zawartość składników mineralnych.

mórcze. Za takim pojmowaniem przemawiają, między innymi, spostrzeżenia, stwierdzające, iż wszelka zmiana w stężeniu elektrolitów w komórce, wywołana działaniem płynów hipo- i hipertonicznych, sprowadza zwolnienie tempa procesów życiowych (BIAŁASZEWICZ '21). Z drugiej zaś strony, opierając się na badaniach OSTERHOUTA ('25, '26), który przyjmuje nieprzepuszczalność żywej błony komórkowej dla soli całkowicie zdysocjowanych, możnaby sądzić, że słabe stężenie elektrolitów w komórce stwarza najbardziej pomyślne dla retencji tych składników warunki.

Nie mniejsze znaczenie ogólnofizjologiczne może posiadać kwestja składu chemicznego cieczy międzycząstkowej, tego właściwego środowiska wewnętrznego komórki, które jest terenem nigdy nie ustającej wymiany krystaloidów pomiędzy rozdrobnionymi składnikami cytoplazmy a jej otoczeniem. Badania nasze wykazały, że stosunek, w jakim główne składniki mineralne występują w tej cieczy, jest wszędzie prawie jeden i ten sam, i—o ile można sądzić na podstawie naszych analiz—jest on zupełnie niezależny zarówno od stopnia organizacji zwierzęcia, jak też od składu chemicznego i ogólnego stężenia elektrolitów w cieczach odżywczych ustroju. Jedną z cech charakterystycznych składu chemicznego tej cieczy jest bardzo wybitna przewaga chlorku potasu nad innymi solami alkalicznymi i ziem alkalicznych.

Jak wiemy, stosunek ilościowy tych składników mineralnych w ośrodku dyspersyjnym cieczy odżywczych ciała jest zgoła odmienny. Należałoby więc przypuszczać, że duża zawartość soli potasowych w elementach komórkowych organizmu jest czynnikiem pierwszorzędного znaczenia dla tych reakcyj biochemicznych, które w nich przebiegają.

Zdaje się, że sole potasowe stanowią główny składnik mineralny ośrodka dyspersyjnego również i innych komórek ustroju zwierzęcego. W tym kierunku przemawiają przede wszystkim badania VAN SLYKE'A, HASTINGSA, HEIDELBERGA i NEILLA ('22), którzy wykazali, że w warunkach normalnego stężenia jonów wodorowych w surowicy ( $\text{pH} = \text{ca. } 7.4$ ) więcej niż 50% potasu, zawartego w czerwonych ciałkach krwi, znajduje się w formie niezwiązanej z hemoglobina. Również i badania RINGERA ('23, '25) przemawiają za małą zdolnością soli potasowych wiązania się z białkami. Poza to istnieje w piśmiennictwie cały szereg da-

nych, które wskazują na bardzo znaczną zawartość potasu przesączalnego w komórkach mięśniowych: wymienić tutaj wypada przede wszystkim prace MITCHELA i WILSONA ('22), STANSONA ('23) i WOJTCZAKA ('27) nad przepuszczalnością mięśni dla soli potasowych, oraz badania RAABA ('27), który, wbrew otrzymanym przez NEUSCHLOSZA ('23 — '26) wynikom, wykazał w mięśniach obecność znikomo małych ilości potasu niedyfundującego. W tym też kierunku należy interpretować wyniki prac nad przewodnictwem elektrolitycznym komórek i tkanek żyjących (HÖBER '12, '13, HARTREE i HILL '21, BROOKS '23, '25, GELFAN '27).

Wreszcie wypada nam zwrócić uwagę na bardzo bliski związek wyników naszych poszukiwań z rezultatami analiz soku komórkowego roślin. Ciekawe są zwłaszcza rezultaty, otrzymane przez MAYERA ('91, '92), HANSENA ('93, '96) i OSTERHOUTA ('23, '25) w badaniach nad niektórymi wodorostami morskimi. Przytaczamy poniżej — w celu porównania — nasze dane, dotyczące zawartości czterech zasad mineralnych (K, Na, Ca i Mg) w cieczy międzycząstkowej komórek jajowych, oraz wyniki, uzyskane przez OSTERHOUTA ('23) w pracy nad składem mineralnym soku wodniczkowego u *Valonia macrophysa* (w obliczeniu na 100 g potasu):

	K	Na	Ca	Mg
Ciecz międzycząstkowa jaj	100	3—16	2—14	1—13
Sok wodniczek <i>Valonia macrophysa</i>	100	10.3	3.4	ślady

Zgodność tych dwu szeregów cyfr mogłaby stanowić bardzo interesujący punkt wyjścia do badań nad rozmieszczeniem elektrolitów w protoplazmie komórek roślinnych.

#### V. Streszczenie wyników.

Wyniki naszych poszukiwań dadzą się streścić w następujących punktach zasadniczych:

1°. Popiół jaj badanych gatunków zwierzęcych cechuje ogólnie bardzo duży procent potasu, wielokrotnie mniejsze ilości sodu, wapnia i magnezu, oraz zawartość chloru, która nie pokrywa równoważnie sumy rodników zasadowych. Najbardziej zmiennymi składnikami popiołu są metale ziem alkalicznych, zwłaszcza — wapń. Składniki mineralne są rozmieszczone mię-



dzy fazą rozdrobnioną a ośrodkiem dyspersyjnym komórek jajowych w sposób bardzo charakterystyczny.

2°. Substancje organiczne, stanowiące fazę rozdrobnioną komórek i występujące pod postacią mieszaniny koloidów, kropelek emulsyj i zawiesin deutoplazmatycznych, zajmują znaczną część (20 — 63%) objętości ooplazmy, ograniczając przez to w znacznym stopniu przestrzeń międzycząstkową, wypełnioną przez roztwór wodny ciał dializujących.

3°. Składniki popiołu komórek jajowych są związane z substancjami fazy rozdrobnionej w stopniu niejednakowym. Przeważna część metali alkalicznych i chloru występuje w protoplazmie pod postacią związków przesączalnych. Natomiast stosunkowo największy procent związków niedializujących tworzą metale dwuwartościowe oraz fosfor.

4°. Uwzględniając specyficzne różnice zarówno w składzie popiołu, jak i w stosunku jego składników do zmiennej zawartości substancyj rozdrobnionych w jajach różnych gatunków zwierzęcych, stwierdzamy w rozmieszczeniu związków mineralnych w ooplazmie wyraźną prawidłowość. Prawidłowość ta zaznacza się w tem, że poszczególne składniki ujawniają na granicy podziału cząstek rozdrobnionych i ośrodka dyspersyjnego stałe i charakterystyczne różnice stężeń: ujemną w stosunku do rozpuszczalnika różnicę wykazują pierwiastki jednowartościowe (potas, sód i chlor), które są typowymi składnikami cieczy międzycząstkowej, dodatnią natomiast — jony dwuwartościowe (wapń, magnez), występujące w komórkach jajowych przeważnie pod postacią związków nieprzesączalnych.

5°. Ostatnio wymieniona grupa składników mineralnych (Ca, Mg) różni się od pierwszej (K, Na, Cl) również i pod tym względem, że ich połączenia niedyfundujące łatwiej ulegają rozszczepieniu pod wpływem rozcieńczania cieczy międzycząstkowej. Krzywe, wyrażające zależność stopnia wiązania się tych ciał z fazą rozdrobnioną od ich stężenia w ośrodku dyspersyjnym, posiadają w pierwszym przybliżeniu charakter izoterm adsorbcyjnych.

6°. Jest rzeczą uderzającą, że pomimo różnorodności czynników, które wpływają na rozmieszczenie składników nieorganicznych w jajach, skład mineralny cieczy międzycząstkowej ooplazmy jest prawie jednakowy u zwierząt, należących nawet do bardzo odległych grup układu zoologicznego. Ogólnie można

powiedzieć, że ciecz międzycząstkowa komórek jajowych jest roztworem soli alkaliów i ziem alkalicznych ze znaczną przewagą chlorku potasu nad związkami sodu, wapnia i magnezu, które znajdują się w roztworze w ilościach mniej więcej do siebie zbliżonych. Przeciętnie na 100 części wagowych potasu przypada w cieczy międzycząstkowej komórek jajowych około 10 części sodu i po 7 — wapnia i magnezu.

7°. Ciecz międzycząstkowa ooplazmy stanowi więc roztwór o swoistym i wybitnie różniącym się od cieczy ciała składzie mineralnym. W stosunku do tych cieczy cechuje ją znacznie większe stężenie soli potasowych i wielokrotnie mniejsza koncentracja związków sodowych, wobec prawie jednakowego stężenia wapnia w obu wspomnianych roztworach wodnych.

8°. Uniezależnienie się ośrodka dyspersyjnego komórek jajowych od ich środowiska zewnętrznego zaznacza się również i w całkowitem stężeniu związków mineralnych, koncentracja bowiem tych związków w elementach komórkowych zwierząt wyższych, żyjących na lądzie, nie o wiele różni się od stężenia tych związków w tkankach niższych organizmów morskich. Wskutek tego w komórkach zwierząt o znacznym stężeniu ciał osmotycznie czynnych, na związki mineralne przypada bardzo niewielka, wynosząca niespełna 25%, część całkowitego stężenia osmolarnego protoplazmy.

9°. Różnicę między całkowitem stężeniem osmolarnem ooplazmy a stężeniem w niej dyfundujących związków nieorganicznych kompensują związki organiczne o charakterze produktów przemiany białkowej (mocznik, tauryna, glikokol). Metabolity te występują w szczególnie dużej koncentracji w jajach morskich zwierząt pojkilosmotycznych, odznaczających się znacznym ciśnieniem osmotycznym tkanek i cieczy ciała.

10°. Substancjom tym przypada w udziale rola ciał, regulujących w stosunku do cieczy międzykomórkowych wysokość ciśnienia osmotycznego protoplazmy.

Tabela XI.

Tabela ogólna. Wartości obliczone na podstawie danych liczbowych tabel XII—XV:  $d_0$  — objętość (w  $\text{cm}^3$ ) cieczy międzycząstkowej w jajach;  $\delta_0$  — iloraz rozmieszczenia składników mineralnych;  $u_0$  — stężenie ich (mg w  $1 \text{ cm}^3$ ) w cieczy międzycząstkowej;  $c_0$  — stężenie ich (mg w  $1 \text{ cm}^3$ ) w ooplazmie.

Tableau général des données, concernant le volume (en  $\text{cm}^3$ ) du liquide intermicellaire dans les oeufs ( $d_0$ ), le quotient de la répartition des composants minéraux ( $\delta_0$ ) et leur concentration (mgr./ $1 \text{ cm}^3$ ) dans le liquide intermicellaire ( $u_0$ ) et dans l'ooplazme ( $c_0$ ) des diverses espèces animales. Les valeurs ont été calculées d'après les données des tableaux-protocoles XII—XV.

№ doświad. de l'expér.		12	13	16	15	32	43	21/22	37	41	34	24
	Gatunek zwierzęcia Espèce animale	<i>Gallus domesticus</i>	<i>Gallus domesticus</i>	<i>Rana temporaria</i>	<i>Salmo fontinalis</i>	<i>Labrax lupus</i>	<i>Torpedo ocellata</i>	<i>Scyllium canicula</i>	<i>Maja verrucosa</i>	<i>Arbacia pustulosa</i>	<i>Paracentrotus li-vidus</i>	<i>Septia officinalis</i>
	$d_0$	0.549	0.289	0.601	0.792	0.728	0.410	0.830	0.368	0.822	0.793	0.500
K	$c_0$	2.246	1.580	2.528	2.848	3.232	2.300	2.466	1.677	5.235	7.928	0.299
	$\delta_0$	0.637	0.722	1.000	0.890	0.768	1.000	0.870	0.967	1.000	0.945	0.800
	$u_0$	2.606	3.947	4.206	3.200	3.411	5.610	2.585	4.407	6.368	9.448	0.478
Na	$c_0$	0.249	0.200	0.468	0.690	0.055	1.352	0.383	0.655	5.329	0.469	0.059
	$\delta_0$	0.953	0.942	0.567	0.509	0.331	0.051	—	0.080	0.728	1.000	1.000
	$u_0$	0.432	0.655	0.441	0.443	0.025	0.168	—	0.142	4.719	0.591	0.118
Ca	$c_0$	1.342	1.722	0.212	0.550	0.219	0.332	0.327	0.400	0.518	0.468	0.160
	$\delta_0$	0.131	0.093	0.391	0.274	0.169	0.321	0.760	0.474	0.696	0.505	1.000
	$u_0$	0.320	0.554	0.136	0.190	0.051	0.260	0.299	0.515	0.438	0.296	0.320
Mg	$c_0$	0.212	0.216	0.720	0.780	0.090	0.073	0.176	0.176	0.816	0.568	0.101
	$\delta_0$	0.519	0.295	0.460	0.321	0.380	0.157	0.410	0.707	0.631	0.272	0.491
	$u_0$	0.201	0.220	0.551	0.316	0.047	0.028	0.087	0.338	0.626	0.195	0.099
P	$c_0$	4.281	3.770	6.334	3.348	1.148	5.070	3.471	6.610	3.118	3.355	3.545
	$\delta_0$	0.027	0.025	0.244	0.100	0.275	0	0	0.040	0.318	0.186	0
	$u_0$	0.212	0.331	2.572	0.423	0.436	0	0	0.716	1.207	0.787	0
Cl	$c_0$	—	2.844	1.752	2.272	2.574	3.190	3.010	1.543	11.292	10.91	2.346
	$\delta_0$	—	0.555	0.905	1.000	0.567	0.943	1.000	0.970	1.000	1.000	0.766
	$u_0$	—	5.461	2.641	2.868	2.006	7.330	3.626	4.067	13.73	13.75	3.594

Tabele XII—XV.

Protokóły doświadczeń.

Znaczenie symbolów:

$u_1, u_2 \dots$  stężenie składników w ultraprzesączkach rozcieńczonych roztworów ooplazmy (mg w  $1 \text{ cm}^3$ );

$n_1, n_2 \dots$  stopień rozcieńczenia ooplazmy w tych roztworach;

$c_1 \dots$  stężenie całkowite składników w roztworze najmniej rozcieńczonym (mg w  $1 \text{ cm}^3$ ).

*Protocoles d'expériences.*

*Signification des symboles:*

- $u_1, u_2 \dots$  concentrations des composants dans les liquides ultrafiltrés des solutions diluées de l'ooplasmе (mgr. dans 1 cm<sup>3</sup>);  
 $n_1, n_2 \dots$  degré de dilution de l'ooplasmе dans ces solutions;  
 $c_1 \dots$  concentration totale des composants dans la solution la moins diluée (mgr. dans 1 cm<sup>3</sup>).

Tabela XII.

Gatunek zwierzęcia i charakterystyka materiału <i>Espèce animale et caractéristique du matériel</i>		<i>Gallus domesticus L.</i> <i>Żółtko jaj z niesionych Jau ne d'oeufs pondus</i>										
№ doświadczenia i data de l'expérience et date		№ 12. — 21.XII.25					№ 13. — 30.XII.25					
Ciecz rozcieńczająca <i>Liquide employé à la dilution</i>		0.7% Li <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>					0.7% LiNO <sub>3</sub>					
Stożenie rozcieńczenia ooplasmę <i>Degré de dilution de l'ooplasmę</i>		$n_1 = 2.08$	$n_2 = 4.17$	$n_3 = 6.25$	$n_4 = 8.33$	$n_5 = 10.4$	$n_1 = 2$	$n_2 = 4$	$n_3 = 6$	$n_4 = 10$		
Stężenie składników w mieszaninach i w ultrafiltrach <i>Concentration des composants dans les solutions et dans les liquides ultrafiltrés</i>		$c_1$	$u_1$	$u_2$	$u_3$	$u_4$	$u_5$	$c_1$	$u_1$	$u_2$	$u_3$	$u_4$
K		1.080	0.869	0.356	0.235	0.180	0.134	0.790	0.870	0.327	0.201	—
Na		0.120	0.146	—	—	—	—	0.100	0.146	—	—	—
Ca		0.645	0.144	0.088	0.088	0.069	0.068	0.861	0.152	0.088	0.061	0.048
Mg		0.102	0.070	0.028	0.026	0.019	—	0.108	0.058	0.029	0.023	—
P		2.058	0.079	0.044	0.032	—	0.017	1.885	0.078	0.034	0.023	0.013
Cl		—	1.080	0.472	0.306	0.222	—	1.422	1.225	0.493	0.296	0.165

Tabela XIII.

Składniki oznaczone <i>Composants dosés</i>	<i>Rana temporaria L.</i> Miazga jaj z jajnika <i>Oeufs ovariens broyés</i>			<i>Salmo fontinalis L.</i> Jaja dojrzałe z jamy ciała <i>Oeufs mûres, tirés de la cavité du corps</i>				
	№ 16. — 13.I.26			№ 15. — 5.I.26				
	0.7% LiNO <sub>3</sub>			0.7% LiNO <sub>3</sub>				
	$n = 2$		$n_2 = 4$	$n_1 = 2$		$n_2 = 4$	$n_3 = 8$	
	$c_1$	$u_1$	$u_2$	$c_1$	$u_2$	$u_2$	$u_3$	
K	1.264	1.940	0.786	1.424	1.436	0.686	0.333	
Na	0.234	0.165	0.072	0.345	0.196	—	—	
Ca	0.106	—	0.042	0.275	0.095	0.055	0.036	
Mg	0.360	—	0.138	0.390	0.142	—	0.042	
P	3.167	—	0.508	1.674	0.194	0.098	0.052	
Cl	0.877	0.992	0.441	1.136	1.290	0.608	0.298	

Tabela XIV.

Składniki oznaczone Composants dosés	<i>Labrax lupus</i> Cuv. Jaja w stadjum 2—8 blastomerów <i>Oeufs au stade de 2—8 blastomères</i>			<i>Torpedo ocellata</i> Raf. Jaja z macicy <i>Oeufs tirés de l'utérus</i>			<i>Maja verrucosa</i> M. Edw. Jaja z odwłoka, wczesne stadja <i>Oeufs tirés de l'abdomen, premières stades</i>		
	№ 32. — 10.III.26			№ 43. — 25.IV.26			№ 37. — 26.III.26		
	1% LiNO <sub>3</sub>			H <sub>2</sub> O			1% LiNO <sub>3</sub>		
	n <sub>0</sub> = 1		n <sub>1</sub> = 2	n <sub>1</sub> = 2		n <sub>2</sub> = 4	n <sub>1</sub> = 3		n <sub>2</sub> = 6
	c <sub>0</sub>	u <sub>0</sub>	u <sub>1</sub>	c <sub>1</sub>	u <sub>1</sub>	u <sub>2</sub>	c <sub>1</sub>	u <sub>1</sub>	u <sub>2</sub>
K	3.232	3.411	1.438	1.150	—	0.676	0.559	0.703	0.316
Na	0.055	0.025	0.007	0.675	0.863	—	0.218	0.022	—
Ca	0.219	0.051	0.027	0.166	0.081	0.038	0.133	0.110	0.064
Mg	0.090	0.047	0.022	0.036	0.012	0.009	0.059	0.156	0.025
P	1.148	0.434	0.163	2.535	0	0	2.203	0.149	0.085
Cl	2.574	2.006	0.976	1.595	2.099	0.838	0.771	0.569	0.251

Tabela XV.

Składniki oznaczone Composants dosés	<i>Paracentrotus lividus</i> Lm. Jaja dojrzałe, niezapłod- nione. <i>Oeufs mûres, non fécon- dés</i>			<i>Arbacia pustulosa</i> Gray Jaja dojrzałe, niezapłod- nione <i>Oeufs mûres, non fécon- dés</i>			<i>Sepia officinalis</i> L. Jaja z jajowodów <i>Oeufs de l'oviducte</i>		
	№ 34. — 13.III.26			№ 41. — 9.IV.26			№ 24. — 22.II.26		
	H <sub>2</sub> O			H <sub>2</sub> O			1% LiNO <sub>3</sub>		
	n <sub>1</sub> = 5		n <sub>2</sub> = 10	n <sub>1</sub> = 3		n <sub>2</sub> = 6	n <sub>1</sub> = 5		n <sub>2</sub> = 10
	c <sub>1</sub>	u <sub>1</sub>	u <sub>2</sub>	c <sub>1</sub>	u <sub>1</sub>	u <sub>2</sub>	c <sub>1</sub>	u <sub>1</sub>	u <sub>2</sub>
K	1.585	1.563	0.766	1.745	1.842	0.871	0.060	0.053	0.025
Na	0.094	—	—	1.815	1.405	—	0.018	0.019	0.009
Ca	0.094	0.057	0.033	0.176	0.124	0.055	0.045	0.049	0.023
Mg	0.114	0.057	0.043	0.277	0.186	0.089	0.020	0.016	0.010
P	0.671	0.199	0.139	1.060	0.423	—	0.709	0	0
Cl	2.334	2.276	1.218	3.764	3.610	1.750	0.469	0.399	0.189

## Piśmiennictwo.

- Asher L. und R. Rosenfeld.** 1907. Über die physikalisch-chemischen Bindungsverhältnisse verschiedener Stoffe im Blute. *Bioch. Zeitschr.* **3** (335). **Ausberger A.** 1925. Ultrafiltration und Kompensationsdialyse. Ein Beitrag zur Frage der Ionenbindung im Blutserum. *Erg. d. Physiol.* **24** (618). **Backman L. und J. Runnström.** 1909. Physikalisch-chemische Faktoren bei Embryonalentwicklung. Der osmotische Druck bei der Entwicklung von *Rana temporaria*. *Bioch. Zeitschr.* **22**. **Baglioni S.** 1905. Die Bedeutung des Harnstoffs bei den Selachiern. *Zentr. f. Physiol.* **19** (385). **Baglioni S.** 1906. Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels der Fische. *Zentr. f. Physiol.* **20** (105). **Baglioni S.** 1906-07. Einige Daten zur Kenntnis der quantitativen Zusammensetzung verschiedener Flüssigkeiten von Seetieren (Fischen und einigen Wirbellosen). *Hofmeister's Beiträge.* **9** (50). **Bálint M.** 1924. Jodometrische Mikrobestimmung des Natriums. *Bioch. Zeitschr.* **150** (424). **Bell R. D. and E. A. Doisy.** 1920. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. of biol. Chem.* **44** (55). **Białaszewicz K.** 1908. Beiträge zur Kenntnis der Wachstumsvorgänge bei Amphibienembryonen. *Bull. Acad. des Sc. de Cracovie.* **Białaszewicz K.** 1912. Untersuchungen über die osmotischen Verhältnisse bei der Entwicklung der Frosch- und Hühnerembryonen. *Bull. Acad. des Sc. de Cracovie* (1). **Białaszewicz K.** 1912. Über das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltierembryonen. *Arch. f. Entw. Mech.* **34** (489). **Białaszewicz K.** 1921. O wpływie ciśnienia osmotycznego na szybkość rozwoju zarodków. (Influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons). *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)*. **1**. **Białaszewicz K.** 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. (Sur la composition minérale des oeufs). *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)*. **3**, № 52. **Białaszewicz K.** 1927. O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie. (Sur l'emploi de l'ultrafiltration pour l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme). *Trav. Inst. Nencki (Varsovie)*. **4**, № 57. **Białaszewicz K.** 1928a. Sur la composition minérale des cellules-oeufs. *Publicaz. della Stazione Zool. di Napoli.* **Białaszewicz K.** 1928b. L'ultrafiltration appliquée à l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme. *Ann. de Physiologie.* **4**. **Bottazzi F.** 1897. La pression osmotique du sang des animaux marins. *Arch. ital. de Biol.* **28** (72). **Bottazzi F.** 1905. Sulla regolazione della pressione osmotica negli organismi animali. *Arch. di Fisiol.* **2** (420). **Bottazzi F. et G. Quagliariello.** 1912. Recherches sur la constitution physique et les propriétés chimico-physiques du suc des muscles lisses et des muscles striés. *Arch. intern. de Physiol.* **12** (305). **Bogucki M.** 1926. Z badań nad dzieworódtwem doświadczalnym. (Recherches sur la parthénogénèse expérimentale). *Trav. Institut. Nencki (Varsovie)*. **3** (1—25). **Bogucki M.** 1928. Badania nad przepuszczalnością błon oraz ciśnieniem osmotycznym jaj ryb łososiowatych. (Recherches sur

la perméabilité des membranes et sur la pression osmotique des oeufs des Salmonides). Acta Biol. Experim. 2 (w druku). Briggs A. P. 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. Journ. of biol. Chem. 53 (13). Brooks S. C. 1923. Conductivity as a mesure of vitality and death. Journ. of gen. Physiol. 5 (365). Brooks S. C. 1925. The electrical conductivity of pure protoplasme. Journ. of gen. Physiol. 7 (327). Bunge G. 1885. Analyse der organischen Bestandteile des Muskels. Zeitschr. f. physiol. Chem. 9 (60). Chittenden R. H. 1875. Über Glykogen und Glikokol im Muskelgewebe von *Pecten irradians*. Ann. d. Chem. u. Pharm. 178 (266). Collip J. B. 1920. Osmotic pressure of serum and erythrocytes in various vertebrate types as determined by the cryoscopic method. Journ. of biol. Chem. 42 (209). Collip J. B. 1920. Osmotic pressure of tissue as determined by the cryoscopic method. Journ. of biol. Chem. 42 (221). Collip J. B. 1920. Maintenance of osmotic pressure within the nucleus. Journ. of biol. Chem. 42 (227). Constantino A. 1911. Über den Gehalt der (weissen und roten) quergestreiften und glatten Muskeln verschiedenen Tiere an Kalium, Natrium und Chlor. Bioch. Zeitschr. 37 (52). Csápo J. und J. Faubl. 1924. Calciumgehalt der Serumweißfraktionen. Bioch. Zeitschr. 150 (509). Cushny A. R. 1920. The colloid-free filtrate of serum. Journ. of Physiol. 53 (391). Dakin H. D. 1908. Variations in the osmotic concentration of the blood and coelomic fluids of aquatic animals, caused by changes in the external medium. Bioch. Journ. 3 (473). Dhéré Ch. 1904. Présence de cuivre et de fer dans l'oeuf de la sèche. Compt. Rend. Soc. Biol. 57 (209). Diamare V. 1909. Sulla compositione dell'uovo in rapporto a questione biologiche. Rend. R. Accad. di Scienze fis. e matem. Napoli. Fasc. 8—12. Diamare V. 1910. Ulteriori ricerche sul glucosio dell'uovo ed il suo significato biologico. Rend. R. Accad. di Scienze fis. e matem. Napoli. Fasc. 7—9. Diamare V. 1911. Die Biologie des Eies, als eine chemisch-anatomische Koordination. Anat. Anz. 40 (205). Diamare V. 1916. Ancora sul glucosio nell'uovo. Comportamento nel corso dello sviluppo embrionale. Rend. R. Accad. di Scienze fis. e matem. Napoli. Fasc. 3—4. Dubois R. 1900. Sur le cuivre normal dans la série animale. C. R. Soc. Biol. 52 (392). Duval M. 1924. Relation entre la concentration moléculaire du sang des Crustacés et celle du milieu extérieur. C. R. Acad. Sc. 178 (1754). Duval M. 1925. Recherches physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques. Ann. Inst. Océanogr. 2 (233). Duval M. et P. Portier. 1922. Variation de la pression osmotique du sang des Sélaciens sous l'influence de la modification de la salinité d'eau de mer environante. C. R. Acad. Sc. 174 (№ 23). Duval M. et P. Portier. 1923. Imperméabilité à l'urée de divers tissus des poissons Sélaciens. C. R. Acad. Sc. 176 (920). Fahr G. 1908. Über den Natriumgehalt der Skelettmuskeln des Frosches. Zeitschr. f. Biol. 52 (72). Fahr G. F. and W. W. Swanson. 1926. The „effective“ osmotic pressure of the plasma proteins. Amer. Journ. of Physiol. 76 (201). Fauré-Frémiet E. 1925. La cinétique du développement. Multiplication cellulaire et croissance. Paris. Fauré-Frémiet E. et H. Garrault. 1922. Constitution de l'oeuf de Truite (*Trutta fario*). C. R. Acad. Sc. 174 (1375). Fauré-Frémiet E. et H. Garrault. 1922. Étude des substances grasses et lipoides de l'oeuf de Truite. Bull.

Soc. Chim. Biol. 4 (378). **Forchhammer G.** 1865. On the composition of sea-water in the different parts of the ocean. *Philos. Trans.* 155 (203). **Fosse R.** 1913. Sur l'identification de l'urée et sa précipitation des solutions extrêmement dilués. *C. R. Acad. Sc.* 157 (948). **Fosse R.** 1914. Analyse quantitative gravimétrique de l'urée. *C. R. Acad. Sc.* 158 (1076). **Fosse R.** 1914. Analyse quantitative gravimétrique de l'urée dans l'urine. *C. R. Acad. Sc.* 158 (1588). **Fredericq L.** 1878. Recherches sur la physiologie du poulpe commun. *Arch. Zool. expér. et gén.* 7 (533). **Fredericq L.** 1884. Composition saline du sang et des tissus des animaux marins. *Liv. jubil. Soc. Méd. Gand* (271). **Cytowane wedl. Duvala** (?25). **Fredericq L.** 1885. Influence du milieu ambiant sur la composition du sang des animaux aquatiques. *Arch. Zool. expér et gén. (II sér.)* 3 (34). **Fredericq L.** 1901. Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. *Acad. Roy. de Belgique. Bull. de la Classe des Sc.* (428). **Fredericq L.** 1911. Sur la concentration moléculaire des tissus solides chez les animaux aquatiques. *Arch. intern. Physiol.* 11 (24). **Fredericq L.** 1922. Action du milieu marin sur les Invertébrés. *Arch. intern. Physiol.* 19 (309). **Gadaskin J. D.** 1926. Über den Gehalt an ungebundenen Zucker in dem Weissen und Dotter der Hühnereier bei Ontogenese. *Bioch. Zeitschr.* 172 (447). **Gelfan S.** 1927. The electrical conductivity of protoplasm and a new method of its determination. *Univ. of California Publ. in Zoology.* 29, № 17 (453). **Gori G.** 1919. Sulla questione del glucosio e il suo stato nelle uove dei vertebrati. *R. Accad. dei Fisiocritici in Siena.* **Gori G.** 1920. Ricerche ulteriori sul glucosio nelle uova dei vertebrati. *R. Accad. dei Fisiocritici in Siena.* **Greene Ch. W.** 1904. Physiological studies of the chinook salmon. *Bull. of the Bur. of Fisheries.* 24 (431). **Greene Ch. W.** 1921. Chemical development of the ovaries of the king salmon during the spawning migration. *Journ. of biol. Chem.* 48 (59). **Greene Ch. W.** 1921. Carbohydrate content of the king salmon during the spawning migration. *Journ. of biol. Chem.* 48 (429). **Griffiths A. B.** 1892. The physiology of the invertebrata. London. **Griffiths A. B.** 1892. On the blood of invertebrata. *Proc. Roy. Soc. Edingb.* 19 (117). **Gueylard F.** 1922. Variations de poids de l'Épinoche passant de l'eau douce dans les solutions de chlorure de sodium à différentes concentrations. *C. R. Soc. Biol.* 87 (869). **Gueylard F.** 1922. Résistance des Épinoches aux variations de salinité. *C. R. Soc. Biol.* 89 (78). **Hansen A.** 1893—95. Über Stoffbildung bei den Meeresalgen. *Mitt. Zool. Stat. Neapel.* 11 (255). **Hartree W. and A. V. Hill.** 1921. The specific electrical resistance of frog's muscle. *Bioch. Journ.* 15 (379). **Hecht G.** 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. *Bioch. Zeitschr.* 143 (342). **Henderson J. L.** 1908. A note of the union of the proteins of serum with alkali. *Amer. Journ. of Physiol.* 21 (169). **Henze M.** 1904-05. Beiträge zur Muskelchemie der Octopoden. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 43 (477). **Henze M.** 1908. Chemische Untersuchungen an Octopoden. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 55 (433). **Hirth et C. Tschimble.** 1924. Technique de l'ultrafiltration; détermination du pH et du calcium, du magnésium, du sodium et du phosphore dans l'ultrafiltrat. *C. R. Soc. Biol.* 91 (592). **Höber R.** 1912. Ein zweites Verfahren die Leitfähigkeit im Innern von Zellen zu messen. *Arch. f. ges. Physiol* 148 (189). **Jansen B. C. P.** 1913.



Extraktivstoffe aus den Schliessmuskeln von *Mytilus edulis*. Zeitschr. f. physiol. Chem. 85 (231). **Japelli A.** 1906. Rôle du tissu musculaire dans la régulation de la pression osmotique du sang. Arch. intern. Physiol. 4 (369). **Katz J.** 1896. Die mineralische Bestandteile des Muskelfleisches. Arch. f. ges. Physiol. 63 (1). **Kelly A.** 1904. Beobachtungen über das Vorkommen von Taurin und Glycin bei niederen Tieren. Hofmeister's Beitr. 5 (377). **Kojo K.** 1911. Zur Chemie des Hühnereies. Zeitschr. f. physiol. Chem. 75 (1). **Kolb H.** 1901. Chemische Untersuchungen der Eier von *Rana temporaria* und ihrer Entwicklung. Inaug. Diss. Zürich. **Kossel A.** und **S. Eldbacher.** 1915. Beiträge zur chemischen Kenntnis der Echinodermen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 91 (264). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921a. A simple method for the direct quantitative determination of sodium in small amounts of serum. Journ. of. biol. Chem. 46 (467). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921b. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. 46 (339). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921c. The direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in small amounts of blood. Journ. of biol. Chem. 48 (223). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1921d. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. 47 (475). **Kramer B.** and **F. F. Tisdall.** 1922. The distribution of sodium, potassium, calcium and magnesium between the corpuscles and serum of human blood. Journ. of. biol. Chem. 53 (241). **Krüger v. F.** 1925. Die Chemie des Blutes. Handb. d. vergl. Physiol. Bd. 1. Th. 1 (1117). **Kutscher Fr.** und **D. Ackermann.** 1926. Vergleichend-physiologische Untersuchungen von Extrakten verschiedener Tierklassen auf tierische Alkaloide, eine Zusammenfassung. Zeitschr. f. Biol. 84 (180). **Libermann L.** und **S. Bugarszky.** 1898. Über das Bindungsvermögen eiweissartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydroxyd und Kochsalz. Arch. f. ges. Physiol. 72 (51). **Loeb J.** 1913. Artificial parthenogenesis and fertilisation. **Loeb J.** 1920. Influence of the concentration of electrolytes on some physical properties of colloids and crystalloids. Journ. of gen. Physiol. 2 (273). **Loewy A.** und **N. Zuntz.** 1894. Über die Bindung der Alkalien in Serum und Blutkörperchen. Ein Beitrag zur Theorie der Athmung. Arch. f. ges. Physiol. 58 (511). **Macallum A. B.** 1910. The inorganic composition of the blood in vertebrates and invertebrates, and its origin. Proc. Roy. Soc., B, 82 (602). **Macallum A. B.** 1926. The paleochemistry of the body fluids and tissues. Physiol. Rev. 6 (316). **Mendel L. B.** 1904. Über das Vorkommen von Taurin in den Muskeln von Weichtieren. Hofmeister's Beitr. 5 (582). **Meyer A.** 1891-92. Notiz über die Zusammensetzung des Zellsaftes von *Valonia utricularis*. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 9 (77). **Michaelis L.** und **S. Kawai.** 1925. Die Aktivität des Natriums im Blutserum. Bioch. Zeitschr. 163 (1). **Michaelis L.** und **P. Rona.** 1908. Untersuchungen über den Blutzucker. IV. Die Methode der osmotischen Kompensation. Bioch. Zeitschr. 14 (476). **Mitchel Ph.** und **W. Wilson.** 1922. The selective absorption of potassium by animal cells. I. Condition controlling absorption and retention of potassium. Journ. of gen. Physiol. 4 (45). **Neuhausen B. S.** 1922. Free and bound water in the blood. Journ. of biol. Chem. 51 (435). **Neuhausen B. S.** and **E. K. Marshall.** 1922. An electroche-

mical study of the concentration of several electrolytes in the blood. Journ. of biol. Chem. **53** (365). Neuhausen B. S. and J. B. Pincus. 1923. A study of the condition of several inorganic constituents of serum by means of ultrafiltration. Journ. of biol. Chem. **57** (99). Neuschlosz S. M. 1923. Über die Bedeutung des K-Jonen für den Tonus des quergestreiften Skelettmuskulatur. Arch. f. ges. Physiol. **199** (410). Neuschlosz S. M. 1925. Die Beziehungen der Erregungscontractur zum Gehalte der Muskeln an gebundenen Kalium. Arch. f. ges. Physiol. **207** (27). Neuschlosz S. M. 1926. Über den Einfluss der Elektrolyten der Spülflüssigkeit auf den Gehalt der Muskeln an gebundenem Kalium. Arch. ges. Physiol. **213** (47). Neuschlosz S. M. 1926. Über die physico-chemischen Bedingungen der Ionenbindung an hydrophile Gele. Arch. ges. Physiol. **213** (58). Neuschlosz S. M. 1926. Untersuchungen über die Kaliumbindung in der Kammermuskulatur und ihre Bedeutung für die Herzfunktion. Arch. f. ges. Physiol. **213** (19). Neuschlosz S. M. und R. A. Trelles. 1924. Über die Menge und die Bindungsweise des Kaliums in quergestreiften Muskeln unter normalen und pathologischen Bedingungen. Arch. f. ges. Physiol. **204** (374). Nicloux N. et G. Weiter. 1921. Micro-analyse quantitative gravimétrique de l'urée. Application au dosage de l'urée dans 1 cm<sup>3</sup> de sang. C. R. Acad. Sc. **173** (1490). Nitscke A. 1925. Über die Zustandsform des Calciums im Serum. Bioch. Zeitschr. **165** (229). Nitscke A. und H. J. Freyschmidt. 1926. Über die Zustandsform des Calciums im Serum. Bioch. Zeitschr. **174** (287). Osterhout W. J. V. 1923. Some aspects of selective absorption. Journ. of gen. Physiol. **5** (225). Osterhout W. J. V. 1925. On the importance of maintaining certain differences between cell sap and external medium. Journ. of gen. Physiol. **7** (561); Stud. Rockefeller Inst. **7** (311). Osterhout W. J. V. 1926. Is living protoplasm permeable to ions? Journ. of gen. Physiol. **8** (131). Parnas J. K. 1926. Allgemeines und Vergleichendes des Wasseraushaltes. Handb. d. norm. u. path. Physiol. **17** (137). Polányi M. 1920. Studien über Leitfähigkeitserniedrigung und Adsorption durch lyophile Kolloide. Bioch. Zeitschr. **104** (237). Przyłęcki St. J. 1917. Warunki powstawania periwitelinu w jajach niezaplodnionych żaby płowej. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. Przyłęcki St. J. 1917. Spadek ciśnienia osmotycznego i rola periwitelinu w jajach płazów. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. Przyłęcki St. J. 1921. Zmiany ciśnienia osmotycznego w czasie rozwoju dzieworodnego zarodków rozwielitek (Recherches sur la pression osmotique chez les embryons de Cladocères, provenant des oeufs parthénogénétiques). Trav. Inst. Nencki. **1** (1—31). Przyłęcki St. J. 1921. Zmiany ciśnienia osmotycznego w czasie rozwoju zapłodnionych jaj rozwielitek. (Recherches sur la pression osmotique chez les embryons de Cladocères, provenant des oeufs fécondés). Trav. Inst. Nencki. **1** (1—16). Quinton R. 1912. L'eau de mer, milieu organique. Constante du milieu marin original, comme milieu vital des cellules, à travers la série animale. 2-me édition. Paris. Raab E. 1927. Über die Bindung des Kaliums im Muskel. Arch. f. ges. Physiol. **216** (540). Richter-Quitner M. 1924. Le potassium dans l'ultrafiltration du sérum sanguin. C. R. Soc. Biol. **91** (594). Ringer W. E. 1923. Eiweiss und Natrium- und Kaliumionen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **130** (270). Ringer W. E. 1925. Eiweiss und Kaliumionen.

Zeitschr. f. physiol. Chem. **144** (85). **Rodier R.** 1900. Sur la pression osmotique du sang et des liquides internes des poissons Sélaciens. C. R. Acad. Sc. (1008). **Rona P.** und **P. György.** 1913. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Bioch. Zeitschr. **56** (416). **Rona P., Haurowitz F.** und **H. Petow.** 1924. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Bioch. Zeitschr. **149** (393). **Rona P.** und **G. Melii.** 1925. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Bioch. Zeitschr. **166** (242). **Rona P.** und **H. Petow.** 1923. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. Bioch. Zeitschr. **137** (356). **Rona P., H. Petow** und **E. Wittkower.** 1924. Beitrag zur Ionenverteilung im Blut. Bioch. Zeitschr. **150** (468). **Rona P.** und **D. Takahashi.** 1911. Über des Verhalten des Calciums im Serum und über den Gehalt der Blutkörperchen an Calcium. Bioch. Zeitschr. **31** (336). **Rona P.** und **D. Takahashi.** 1913. Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum. Bioch. Zeitschr. **49** (370). **Runnström J.** 1920. Über osmotischen Druck und Eimembranfunktion bei den Lachsfischen. Acta Zoologica. **Runnström J.** 1925. Über den Einfluss des Kaliummangel auf das Seegelei. Publ. della Staz. Zool. di Napoli. **6** (1). **Salkowski E.** 1911. Über das Vorkommen von Traubenzucker und Kreatinin im Hühnerei. Bioch. Zeitschr. **Schmidt C. L. A.** and **T. Watson.** 1918. A method for the preparation of taurin in large quantities. Journ. biol. Chem. **33** (499). **Schroeder von W.** 1890. Über die Harnstoffbildung der Haifische. Zeitschr. f. physiol. Chem. **14** (576). **Van Slyke D. D., A. B. Hastings, M. Heidelberger** and **J. M. Neill.** 1922. The alkali-binding and buffer values of oxyhemoglobin and reduced hemoglobin. Journ. of biol. Chem. **54** (481). **Van Slyke D. D., H. Wu** and **F. C. Mc. Lean.** 1923. Factors controlling the electrolytes and water distribution in the blood. Journ. of biol. Chem. **56** (765). **Van Slyke D. D.** 1926. Factors affecting the distribution of electrolytes, water and gases in the animal body. Philadelphia—London. **Sörensen S. P. L.** 1915-17. Studies on proteins. Compt. Rend. Labor. Carlsberg. **12.** **Sörensen S. P. L.** 1919. Proteinstudien. V. Über den osmotischen Druck der Eialbuminlösungen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **106** (1). **Ssobkiewitsch A. J.** 1913. Analysen des Vogelblutes. Arb. aus d. med.-chem. Labor d. Univ. Tomsk. **2** (111). **Cyt. wdt. Krügera** (1925). **Staedler G.** und **Fr. Th. Frerichs.** 1858. Über das Vorkommen von Harnstoff, Taurin und Scyllit in den Organen der Plagiostomen. Journ. f. prakt. Chem. **73** (48). **Stanson R. E.** 1923. The selective absorption of potassium by animal cells. Journ. of gen. Physiol. **5** (461). **Starling E. H.** 1895. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. Journ. of Physiol. **19** (312). **Terroine E.** et **H. Barthélemy.** 1923. La composition des oeufs et des organismes producteurs au cours de l'ovogénèse chez la grenouille russe (*Rana fusca*). Arch. intern. Physiol. **21** (250). **Tisdall F. F.** and **B. Kramer.** 1921. Methods for the direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in urine and stools. Journ. of biol. Chem. **48** (1). **Tschimbler H.** et **C.** 1923. Technique de l'ultrafiltration du plasma; détermination du pH et du calcium, du magnésium, du sodium et du phosphore dans l'ultrafiltrat. C. R. Soc. Biol. **91** (592). **Urano F.** 1907. Neue Versuche über die Salze des Muskels. Zeitschr. f. Biol. **50** (217). **Valenciennes A.** et **Frémy.** 1854. Recherches sur la com-

position des oeufs dans la série des animaux. C. R. Acad. Sc. **38** (469, 525, 570). **Valenciennes A. et Frémy**. 1855. Recherches sur la composition des muscles dans la série animale. C. R. Acad. Sc. **41** (735). **De Waard D. J.** 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. Bioch. Zeitschr. **97** (176). **Warburg O.** 1908. Beobachtungen über die Oxydationsvorgänge im Seeigelei. Zeitschr. f. physiol. Chem. **57** (1). **Wetzel G.** 1907. Die chemische Zusammensetzung der Eier des Seeigels, der Seespinne, des Tintenfisches und des Hundhaies. Arch. f. (Anat. u.) Physiol (507). **Wha Ch.** 1924. Beitrag zum Verhalten von Calcium, Kalium, Chlor und Phosphor in der Milch und zur Technik der Ultrafiltration. Bioch. Zeitschr. **144** (278). **Whitehorn J. C.** 1921. A system of blood analysis. Simplified method for the determination of chlorides in blood plasma. Journ. of biol. Chem. **45** (449). **Wojtczak A.** 1927. Badania nad przepuszczalnością mięśni dla elektrolitów w stanie pracy i spoczynku. (Recherches sur la perméabilité des muscles pour les électrolytes pendant le travail et le repos). Trav. Inst. Nencki. **4**, № 58. **Zdarek E.** 1904. Untersuchung der Eier von *Acanthias vulgaris* Risso. Zeitschr. f. physiol. Chem. **41** (524). **Zsigmondy R.** 1926. Über feinporige Filter und neue Ultrafilter. Bioch. Zeitschr. **171** (198). **Zsigmondy R. und W. Bachmann.** 1918. Über neue Filter. Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem. **103** (1).

BIBLIOGRAPHIA POLONICA. \*)

- BIAŁASZEWICZ K. 1927.—O zastosowaniu ultrafiltracji w badaniach nad rozmieszczeniem elektrolitów w cytoplazmie. (Sur l'emploi de l'ultrafiltration pour l'étude de la répartition des électrolytes dans le cytoplasme). Travaux de l'Institut Nencki. 4, 2, № 57 (1—26).
- BIEDERMAN S. 1927.—Zmysł i pamięć kształtów przedmiotu u żab. (Le sens et la mémoire des formes d'un objet chez les Anoures). Travaux de l'Institut Nencki. Varsovie. 4, 1 № 56 (1—31).
- BROWICZ T. 1927.—Weitere Bemerkungen über die biologische Bedeutung des Wurmfortsatzes. Bull. intern. Acad. Polon. Cracovie. 1—2B. (145—147).
- CRZĄSZCZ T. und GÓRALÓWNA. 1927.—Einfluss der Fütterung auf die Enzymenmenge der Kuhmilch. Biochem. Zeitschr. 180 (247—262).
- CYTRONBERG S. 1927.—Przyczynek do metod zakładania przetoki żółciowej u psów. (Sur une modification technique concernant l'établissement des fistules biliaires externes chez le Chien). Medycyna doświadczalna i społeczna. 8 (129—142).
- CZUBALSKI FR. 1927.—L'influence de l'alimentation sur la concentration en ions hydrogène (pH) du suc pancréatique. C. R. Soc. de Biol. 97 (964—966).
- DADLER J. et W. KOSKOWSKI. 1927.—Le rôle des hydrates de carbone dans la fièvre d'origine périphérique. C. R. Soc. de Biol. 96 (576—580).
- DEMANT P. 1927.—Układ siateczkowo-śródbłonkowy a przemiana węglowodanowa. (Le système réticulo-endothélial et le métabolisme des hydrates de carbone). Medycyna Doświadczalna i Społeczna 7 (59—73).
- DOBZAŃSKI A. 1927.—Action de la nicotine sur les mouvements des cils épithéliaux. C. R. Soc. de Biol. 96 (53—55).
- DRZEWICKI S. 1927.—Examen histologique des Lézards thyroïdectomisés (*Lacerta agilis L.*). C. R. Soc. de Biol. 97 (925—926).
- DZWONKOWSKA J. 1927.—Badania nad fagocytozą. (Etude expérimentale de la phagocytose). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. 7 (245—260).

\*) W opracowaniu S. DEMBOWSKIEJ.

- FEGLER J. 1927. — O wpływie nukleinyanu sodowego na zachowanie się płytek krwi. (Sur la réaction postnucléinique des plaquettes du sang humain). *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 5 (9 — 18).
- FEGLER G. 1927. — Etude sur le rôle de la rate dans la régénération des globules blancs. *C. R. Soc. de Biol.* 97 (949 — 952).
- FEGLER G. 1927. — Etude expérimentale sur le mécanisme de la réaction leucocytaire adrénalinique. *C. R. Soc. de Biol.* 97 (966 — 969).
- FEGLER G. 1927. — La cellule de Ferrata, sa formation et ses propriétés. *C. R. Soc. de Biol.* 96 (347 — 349).
- FILIŃSKI W. et W. MARKERT. 1927. — Digestion gastrique sous l'influence des graisses. *C. R. Soc. de Biol.* 96 (344 — 347).
- FILIŃSKI W. et C. ROSTKOWSKI. 1927. — Influence de l'extrait du lobe postérieur d'hypophyse sur la contractilité de la vésicule biliaire. *C. R. Soc. de Biol.* 96 (1506 — 1508).
- FILIŃSKI W. et C. ROSTKOWSKI. 1927. — Influence de la pilocarpine sur la sécrétion du suc pancréatique chez l'Homme. *C. R. Soc. de Biol.* 96 (1504 — 1506).
- FILIŃSKI W. C. et ROSTKOWSKI. 1927. — L'influence de la génésérine sur la sécrétion du suc gastrique chez l'Homme. *C. R. Soc. de Biol.* 97 (952 — 954).
- FUNK C. 1927. — Über eine neue Reihe von Reagenzien zur chemischen Fraktionierung von biologisch wirksamen Ausgangsmaterial. *Biochem. Zeitschr.* 191 (181 — 186).
- GNOIŃSKI H. 1927. — Le taux du sucre chez les Chiens néphrectomisés. *C. R. Soc. de Biol.* 97 (942 — 943).
- GOEBEL F. 1927. — O zasobie zasad krwi. (De la réserve alcaline du sang). *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 5 (593 — 600).
- GOEBEL F. 1927. — Dootrzewne działanie insuliny. (Action intrapéritoneal de l'insuline). *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 5 (601 — 607).
- GOEBEL F. i H. GNOIŃSKI. 1927. — Przemiana cholesterynowa a układ siateczkowo-śródbłonkowy. (Cholesterinstoffwechsel und reticulo-endotheliales System). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. 8 (113 — 120) i *Biochem. Zeitschr.* 185 (414 — 419).
- GRABOWSKA Z. 1927. — L'appareil de Golgi dans les spermatozoïdes des Crustacés (*Astacus fluviatilis* et *Astacus leptodactylus*). *C. R. Soc. de Biol.* 97 (3 — 5).
- GROTT J. V. 1927. — Action mutuelle de la trypsine et de l'insuline sur la teneur du sang en sucre. *C. R. Soc. de Biol.* 96 (1484 — 1485).
- HELLER J. und E. L. MEISELS. 1927. — Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten. VI Mitteilung: Röntgenographische Untersuchungen über den Entwicklungsvorgang. *Biol. Zentralblatt*. 47 (257 — 264).
- HIRSZFELD L. 1927. — O istocie zakaźności. (Sur la nature de l'infectiosité). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. 7 (279 — 298).

- HORNUNG S. 1927. — Recherches expérimentales sur le traitement prolongé des animaux normaux par l'insuline. C. R. Soc. de Biol. **97** (1500 — 1503).
- KAUFMAN L. 1927. — Recherches sur la croissance du corps et des organes du Pigeon. *Biologia Generalis*. **3** (105 — 128).
- KĄCZKOWSKI B. 1927. — Die Vererbung der biochemischen Bluteigenschaften bei Schafen nebst einem Beitrage zur Blutuntersuchung des wilden Mufflones (*Ovis musimon d.*). *Biologia Generalis*. **3**.
- KLISIECKI A., W. MOZŁOWSKI und M. TAUBENHAUS. 1927. — Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VII Mitteilung. Über die Ammoniakbildung im physiologisch stagnierenden Blute. *Biochem. Zeitschr.* **181** (80 — 84).
- KOŁODZIEJSKA S. und C. FUNK. 1927. — Beitrag zur Chemie des Trypsins (Tryptase). *Biochem. Zeitschr.* **182** (264 — 272).
- KON S. 1927. — O samorzutnem chwilowem ustępowaniu typowych objawów „Beri-Beri“ u gołębi, karmionych pożywieniami syntetycznymi, nie zawierającymi witaminy B. (L'influence des aliments synthétiques sans vitamine B sur la symptomatologie de Beri-Beri). *Medycyna doświadczalna i społeczna* **8** (199 — 206).
- KON S. 1927. — Badania nad awitaminozą B. (Recherches sur l'avitaminose B). *Medycyna Doświadczalna i Społeczna*. **8** (81 — 113).
- KONOPACKI M. 1927. — Sur le comportement des mitochondries au cours du développement de la grenouille. *Bull. d'histologie appliquée*. **4** (39 — 51).
- KOPEĆ S. 1927. — A contribution to the knowledge of the hydrostatic rôle of the airbladder during swimming of fish. *Biologia Generalis*. **3** (253 — 258).
- KOPEĆ S. 1927. — A case of spotting in Himalayan doe and its presumptive explanation. *Biologia Generalis*. **3**.
- KOPEĆ S. 1927. — Über die Entwicklung der Insekten unter dem Einfluss der Vitaminzugabe. *Biologia Generalis*. **3**.
- KOPEĆ S. 1927. — Einige Experimente über die Vererbung der Schalenfarbe der Hühnereier. *Arch. f. Geflügelkunde*. **1** (181 — 193).
- KOPEĆ S. 1927. — Experiments on the dependence of the nuptial hue on the gonads in fishs. *Biologia Generalis*. **3** (259 — 280).
- KOSKOWSKI W. 1927. — Les excitants physiologiques de la sécrétion gastrique et intestinale. C. R. Soc. de Biol. **97** (926 — 930).
- KOSKOWSKI W. et A. ZAKRZEWSKI. 1927. — Recherches sur les globules blancs du sang au cours du choc hémoclastique et peptonique. C. R. Soc. de Biol. **96**. (56 — 60).
- KOTOWSKI F. 1927. — Temperature alternation and germination of vegetable seed. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. **5** (71 — 78).
- KUBIKOWSKI P. 1927. — Influence de certains corps parasymphaticomimétiques sur la sécrétion et les propriétés du suc intestinal chez le Chien. C. R. Soc. de Biol. **97** (930 — 933).

- KUCHARSKI T. 1927. — Działanie wyciągów z tylnej części przysadki mózgowej na ustrój ludzki. (L'action de l'extrait de la partie postérieure de l'hypophyse sur l'organisme humain). Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej. **5** (52 — 68).
- KUCHARSKI T. 1927. — L'influence diurétique de l'extrait de lobe postérieur d'hypophyse chez l'Homme. Presse med. **35**, № 46 (726 — 727).
- KUNTZE R. 1927. — Studja biostatystyczne nad zmiennością geograficzną biegacza, *Carabus arvensis* Hrbst. (Col.), na ziemiach polskich. (Biostatistische Studien über die geographische Variabilität des *Carabus arvensis* Hrbst (Coleoptera) in Polen). Kosmos. **52** Lwów. (19 — 72).
- KWIECIŃSKI L. und L. MARCHLEWSKI. 1927. — Spektrographische Untersuchungen an Kohlenhydraten im Ultraviolett. Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. **169** (300 — 301).
- LEYKO E. 1927. — Fizjologja i farmakologja wyciętej tęczówki. Cz. I. (Physiologie et pharmacologie de l'iris isolée. Première partie). Medycyna Doświadczalna i Społeczna. **7** (311 — 353).
- ŁOPIEŃSKA H. 1927. — Badania nad chondriomem, wakuolami i tłuszczami w ciągu rozwoju osobnikowego *Pilobolus crystallinus* Bref. (Observations sur le chondriome, les vacuoles et les graisses au cours de l'ontogénie du *Pilobolus cristallinus* Bref.). Acta Societatis Botanicorum Poloniae. **4** (97 — 105).
- MALINOWSKI E. 1927. — The hypothesis of chromosome affinity and the phenomenon of suppression of characters in crossing. Journal of Genetics. **17** (223-231).
- MINKIEWICZ R. 1927. — Doświadczenie wzrokowe plazów. I. Wstęp ogólny. (L'expérience optique des Batraciens. I. Introduction générale). Travaux de l'Institut Nencki. Varsovie. **4**, 1, № 55 (1 — 19).
- MINKIEWICZ R. 1927. — Potentialité autochromatique de l'oeil humain. Chromatentopsie autogène, endogène et exogène. I-e partie: Au seuil de la „perceptibilité“. Travaux de l'Institut Nencki. Varsovie. **4**, 3, № 61 (1 — 64).
- MONNÉ L. 1927. — Untersuchungen zur Genetik der Raupenzeichnung des Schwammspinners (*Lymantria dispar* L.). Bull. intern. Acad. Polon. Cracovie. **4** — 5B (403 — 415).
- MOZOŁOWSKI W. und M. TAUBENHAUS. 1927. — Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VIII Mitteilung. Hängt die Ammoniakbildung im Blute mit der Anwesenheit von Cyanaten zusammen? Biochem. Zeitschr. **181** (85 — 95).
- ORŁOWSKI W. 1927. — Recherches sur l'influence des sucs de légumes sur le secrétion gastrique. C. R. Soc. de Biol. **96** (352 — 354).
- OSZACKI A. 1927. — O znaczeniu fizjologicznem i klinicznem kwasicy, jako zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej w ustroju. (Sur le rôle de l'équilibre acido-basique dans la physiologie et pathologie et sur la cétose au cours du diabète). Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej. **5** (483 — 537).



- OSZACKI A. 1927. — Carbohydrate tolerance and its relation to the endo- and exogenic hyperglycaemic curves. *Acta med. scandinav.* **66** (311—336).
- OZIEMLOWSKI J. 1927. — A propos de la pression intrapleurale, sous-cutanée et intramusculaire. *C. R. Soc. de Biol.* **96** (1474—1475).
- PARNAS J. K. 1927. — O kwasicy (L'acidose). *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej.* **5** (397—482).
- PARNAS J. K. 1927. — Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang circulant? *Bull. de la Soc. de Chimie Biol.* **9** (76—90).
- PARNAS J. K. und W. MOZOŁOWSKI. 1927. — Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. I. *Biochem. Zeitschr.* **184** (399—441).
- PARNAS J. K., W. MOZOŁOWSKI und W. LEWIŃSKI. 1927. — Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. IX Mitteilung: Der Zusammenhang des Blutammoniaks mit der Muskelarbeit. *Biochem. Zeitschr.* **188** (15—24).
- PIECH K. und K. MOLDENHAWER. 1927. — Zytologische Untersuchungen an Bastarden zwischen *Raphanus* und *Brassica*. *Bull. intern. Acad. Polon. Cracovie.* 1—2 B (27—38).
- POHORECKA-LELESZ B. 1927. — Dosage microvolumétrique du soufre dans les liquides biologiques. *Bull. Soc. Chimie Biol.* **9** (263—277).
- PRZESMYCKI F. 1927. — Untersuchungen über die Biochemie der Antigene. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie.* **51** (408—420).
- PRZYBOROWSKI J. 1927. — Moment rozszczepienia czynników genetycznych u *Epilobium hirsutum* L. (On the moment of Mendelian segregation in *Epilobium hirsutum* L.). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae.* **4** (114—124).
- PRZYŁĘCKI S. 1927. — La réversibilité des réactions enzymatiques. I. Dégradation et synthèse de l'acide urique. *Ann. de Physiol.* **3** (381—422).
- PRZYŁĘCKI S. 1927. — La réversibilité des réactions enzymatiques. II. Dégradation et synthèse de l'urée. Discussion générale. *Ann. de Physiol.* **3** (519—556).
- PRZYŁĘCKI S. 1927. — Les synthèses enzymatiques in vitro. *C. R. Soc. de Biol.* **96** (335—337).
- PRZYŁĘCKI S. 1927. — Les réactions enzymatiques dans un milieu macroscopiquement hétérogène. *C. R. Soc. de Biol.* **97** (935—937).
- PRZYŁĘCKI S., H. NIEDZWIEDZKA and T. MAJEWSKI. 1927. — Structure and enzyme reactions. Parts I and II. The systems urease-charcoal and polysaccharide-amylase-charcoal. *Bioch. Journ.* **21** (1025—1039).
- PRZYŁĘCKI S., J. NIEDZWIEDZKA et J. MAJEWSKI. 1927. — Les réactions enzymatiques dans un milieu macroscopiquement hétérogène. *C. R. Soc. de Biol.* **97** (937—939).
- PRZYŁĘCKI S. et L. ROGALSKI. 1927. — La loi biogénétique et les fonctions des organismes vivants. I-e partie: La présence de l'uricase chez les embryons des oiseaux. *Arch. intern. Physiol.* **29** (423—431).

- PTASZEK L. 1927. — Sur la réserve alcaline et les corps aromatiques du sang et du liquide cephalo-rachidien chez les Chiens nephrectomisés. C. R. Soc. de Biol. **96** (567 — 569).
- RAMULT M. 1927. — The influence of certain salts upon the development of young Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). Bull. intern. Acad. Polon. Cracovie. 1—2 B. (63 — 65).
- RAMULT M. 1927. — The influence of certain salts upon the hatching and development of Salmon larvae. Bull. intern. Acad. Polon. Cracovie. 1—2 B. (45 — 62).
- RAZWIŁOWSKA S. 1927. — Zmysł i pamięć wymiarów przedmiotu u żab. (Le sens et la mémoire des dimensions d'un objet chez les Anoures). Travaux de l'Institut Nencki. **4**, 2, № 60 (1 — 24).
- SEMBRAT K. 1927. — Influence de la glande thyroïde des Sélaciens (*Scyllium canicula* Cuv. et *Sc. stellare* Gthr.) et des Téléostéens (*Cyprinus carpio* L.) sur la métamorphose des têtards des Anoures (*Rana temporaria* L.). C. R. Soc. de Biol. **97** (1508 — 1510).
- SKALIŃSKA M. 1927. — Sur les causes d'une disjonction non typique des hybrides entre différentes espèces du genre *Aquilegia*. C. R. Soc. de Biol. **96** (1485 — 1487).
- SŁONIMSKI P. 1927. — Sur une modification de l' „ultra-microméthode“ de Wu-Hsien et son application à la recherche de l'hémoglobine dans les disques germinatifs des Oiseaux. C. R. Soc. de Biol. **96** (1496—1498).
- SŁONIMSKI P. 1927. — Sur l'apparition de l'hémoglobine dans l'aire vasculaire chez le poulet. C. R. Soc. de de Biol. **96** (1498 — 1500).
- SOKÓLSKA J. 1927. — O składnikach lipidowych plazmy pasorzytowego pierwotniaka *Opalina ranarum* Purk. i Val. (Sur les composants lipidifères du plasma du Protozoaire parasite *Opalina ranarum* Purk. et Val.). Kosmos, Lwów, **52**, 1—II (167—182) et C. R. Soc. de Biol. **96** (570—572).
- SUPNIEWSKI J. V. 1927. — L'action de la lumière sur les ferments sensibilisés par l'hématoporphyrine. C. R. Sec. de Biol. **97** (959 — 960).
- SZANIAWSKI W. 1927. — Badania nad morfogenezą zawiązka sercowego u ptaków. II. Serie u zarodków platyneurycznych. (Recherches sur la morphogénèse de l'ébauche cardiaque chez les Oiseaux II. Le coeur des embryons platyneuriques). Kosmos. Lwów, **52**, 1—2 (1—18).
- SZWEJKOWSKA G. 1927. — Z badań fizjologicznych nad dojrzewaniem jaj *Ascaris*. (Recherches sur la physiologie de la maturation de l'oeuf d'*Ascaris*). Travaux de l'Institut Nencki. Varsovie **4**, I. № 54 (1—42).
- SZYMANOWSKI Z. i B. WACHLERÓWNA. 1927. — W sprawie izoaglutyn odpornościowych we krwi świńskiej. (Immunoisoagglutinines du serum du porc). Medycyna Doświadczalna i Społeczna **7** (275 — 278).
- TARGOŃSKI H. 1927. — O przemianie azotowej zarodków ptaków (Contribution à l'étude du métabolisme azoté des embryons des oiseaux). Travaux de l'Institut Nencki. **4**, 2 № 59 (1 — 24).
- TRUSZKOWSKI R. 1927. — Existe-t-il une dépendance entre la quantité de protéines, de bases puriques ou le rapport nucléo-plasmatique et le

- métabolisme de base chez les différents Mammifères? C. R. Soc. Biol. **97** (939 — 940).
- TRUSZKOWSKI R. 1927.— Studies in purine metabolism. IV. The nuclear-plasmic ratio in carbohydrate and protein feeding, and in starvation. *Biochem. Journ.* **21** (1047 — 1053).
- TRUSZKOWSKI R. 1927.— Studies in purine metabolism. III. Basal metabolism and purine content. *Biochem. Journ.* **21** (1040 — 1046).
- TUR J. 1927.— Sur la synergie embryonnaire dans les systèmes polygéniques. C. R. Soc. de Biol. **97** (473 — 474).
- TUR J. 1927.— W sprawie „oddziaływania na odległość“ w układach zarodkowych wielotwórczych. (Sur „l'action à distance“ dans les monstres doubles embryonnaires). C. R. Soc. Sc. et Lettres Varsovie. **20** (566—571).
- URBANOWICZ K. 1927.— Gurwitsch's mitogenetische Strahlung, an Paramäcienteilungen geprüft. *Arch. f. Entw.—Mech.* **110** (417 — 426).
- WIERZUCHOWSKI M. 1927.— Intermediary carbohydrate metabolism III. Vital action of glucose in phlorhizin diabetes. *Journ. biol. Chem.* **73** (445 — 459).
- WIERZUCHOWSKI M. 1927.— Intermediary carbohydrate metabolism. II. Ketosis in phlorhizin diabetes. *Journ. biol. Chem.* **73** (417 — 444).
- WIERZUCHOWSKI M. und GADOMSKA H. 1927.— Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. V Mitteilung. Einfluss der Amytal-Narkose auf die verschiedenen Reaktionsformen des Hundes bei intravenöser Dauerinjektion des Traubenzuckers. *Biochem. Zeitschr.* **191** (398 — 411).
- WIERZUCHOWSKI M. und H. GADOMSKA. 1927.— Intermediärer Kohlenhydratstoffwechsel. IV Mitteilung: Die Reaktionsformen des normalen Hundes bei intravenöser Dauerinjektion des Traubenzuckers. *Biochem. Zeitschr.* **191** (198 — 220).
- WILEŃCZYK A. 1927.— Sur la formation d'asques dans le trichophyton (deuxième mémoire). *Ann. de l'Inst. Pasteur.* **41** (1351 — 1356).
- WOJCIECHOWSKI A. 1927.— Badania nad rozwojem sieci ludzkiej. (Untersuchungen über die Entwicklung des grossen Netzes beim Menschen). *Kosmos. Lwów.* **52**, 1 — 2 (73 — 140).
- WOJTCZAK A. 1927.— Badania nad przepuszczalnością mięśni dla elektrolitów w stanie pracy i spoczynku. (Recherches sur la perméabilité des muscles pour les électrolytes pendant le travail et le repos). **4**, 2, № 58 (1 — 23).
- WÓJCICKI S. 1927.— Studja genetyczne nad kształtami strąków u fasoli. (Genetische Studien über die Hülsenformen bei den Bohnen). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae.* **5** (20 — 51).
- WYSOCKI G. 1927.— Sur les voies réciproques de la dynamogénie des centres psychomoteurs. C. R. Soc. de Biol. **97** (1506 — 1508).
- WYSOCKI G. 1927.— Influence des excitations thermiques sur l'action réciproque des deux hémisphères cérébraux. C. R. Soc. de Biol. **97** (1504 — 1506).
- WYSOCKI G. 1927.— Contribution à la question de l'influence réciproque des hémisphères cérébraux. C. R. Soc. de Biol. **96** (572 — 576).

- VENULET F. 1927. — Układ siateczkowo-śródbłonkowy a przemiana węglowodanowa. (Le système réticulo-endothelial et métabolisme hydrocarboné). Polska gazeta lekarska. № 43 (904 — 905).
- VORBRODT W. 1927. — O przeróbcę azotu w grzybni kropidlaka (*Aspergillus niger*). (Sur l'élaboration de l'azote dans le mycélium de l'Aspergille (*Aspergillus niger*). Kosmos. Lwów. 52, 1 — 2 (433 — 447).
- ZARSKI E. 1927. — La glande thyroïde des Mammifères produit-elle des changements dans la structure histologique de la peau des Téléostéens. (*Misgurnus fossilis et Tinca vulgaris*)? C. R. Soc. de Biol. 97 (1683 — 1684).





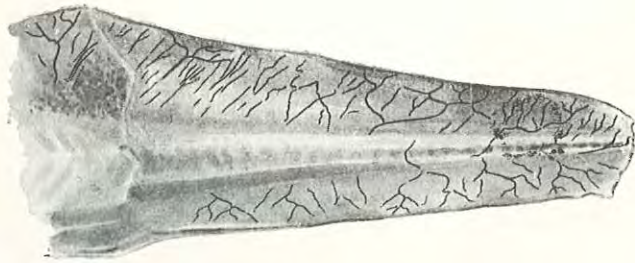
1



2



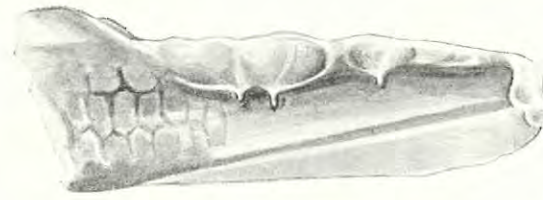
4



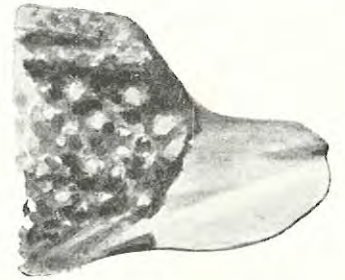
3



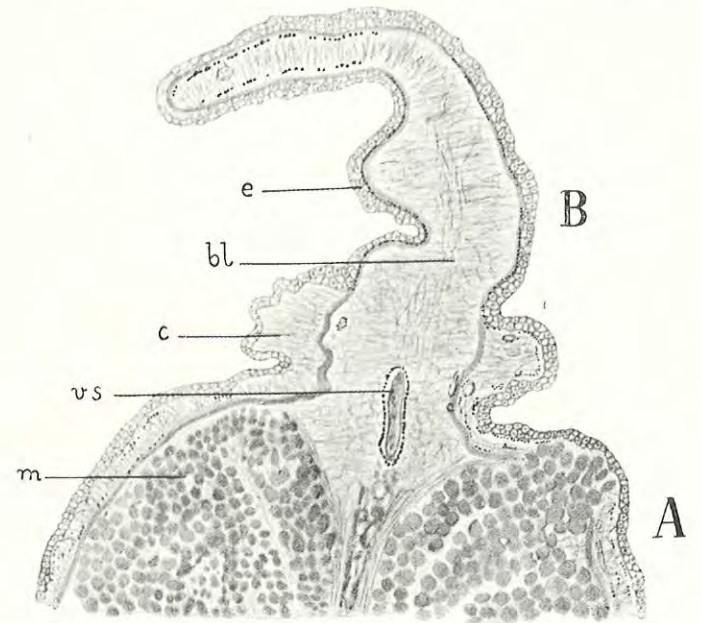
7



5



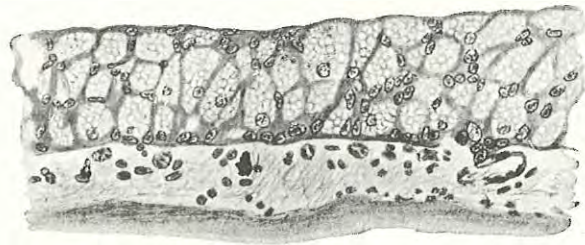
8



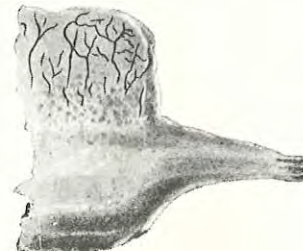
6



9



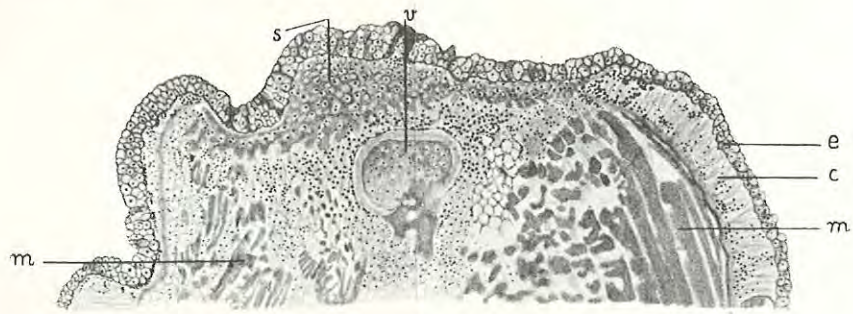
11



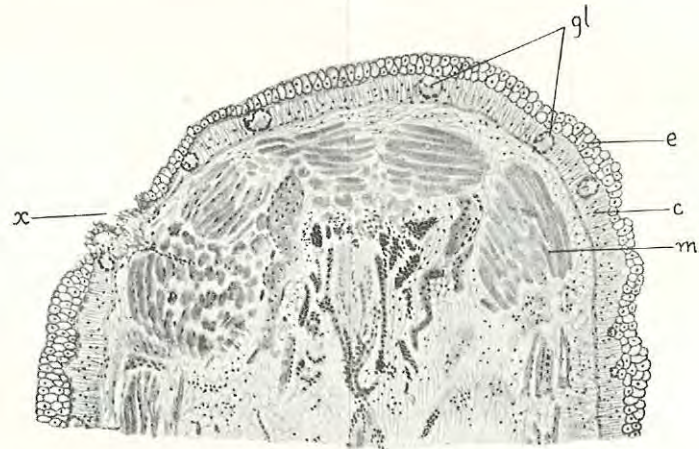
10



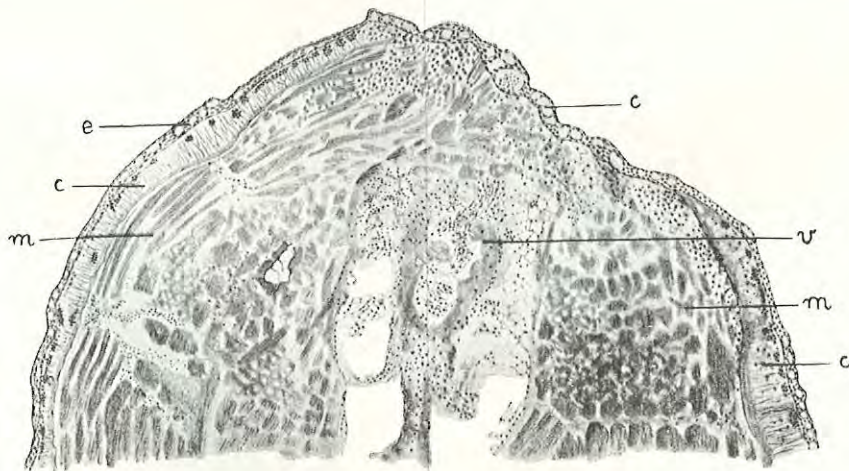
12



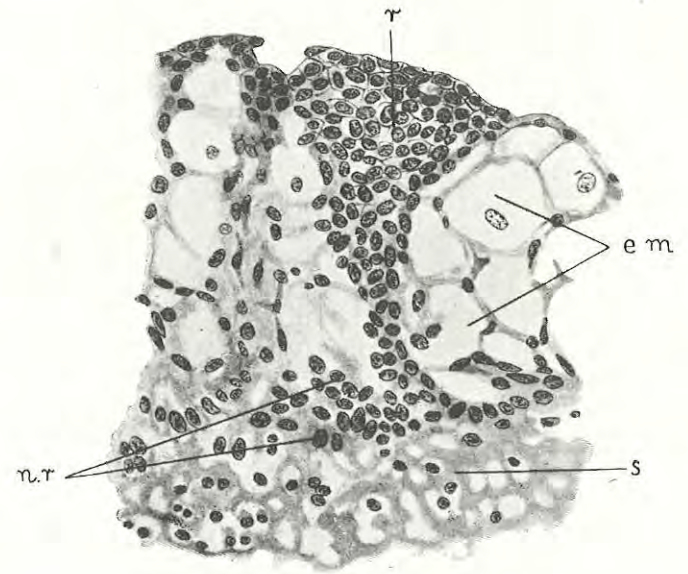
13



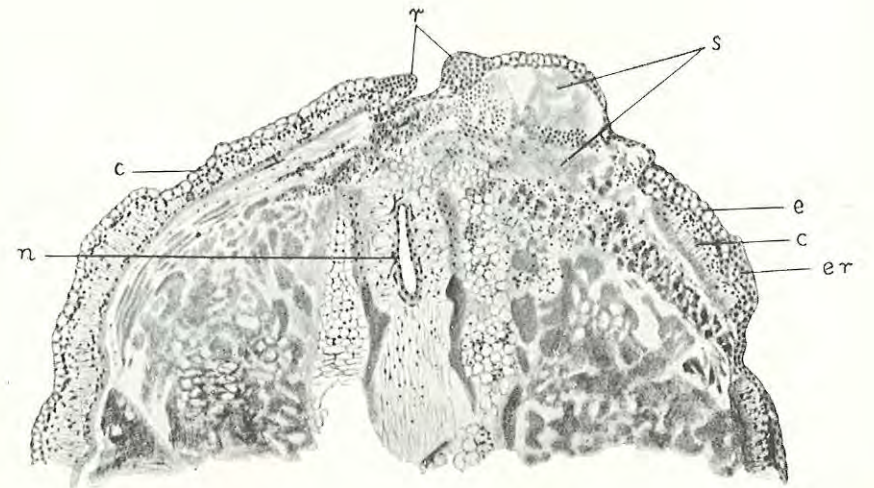
15



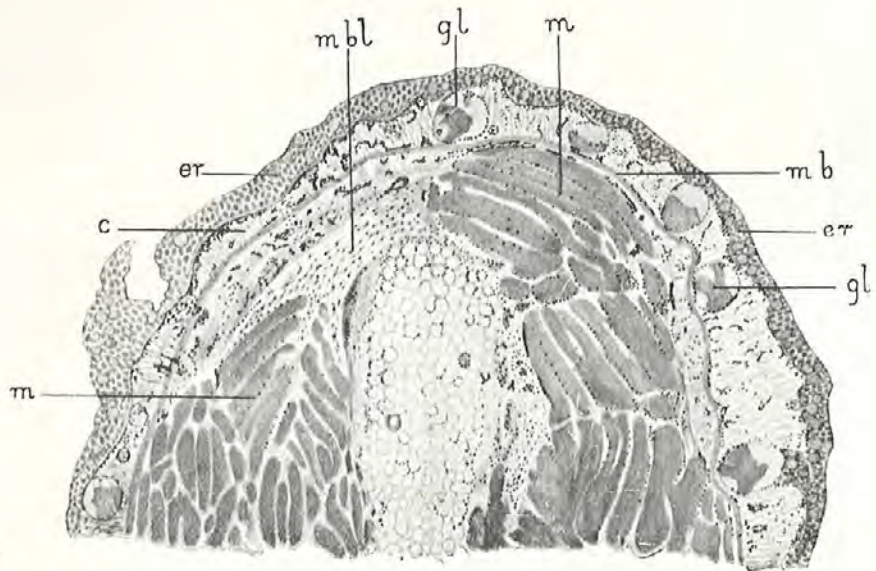
16



14



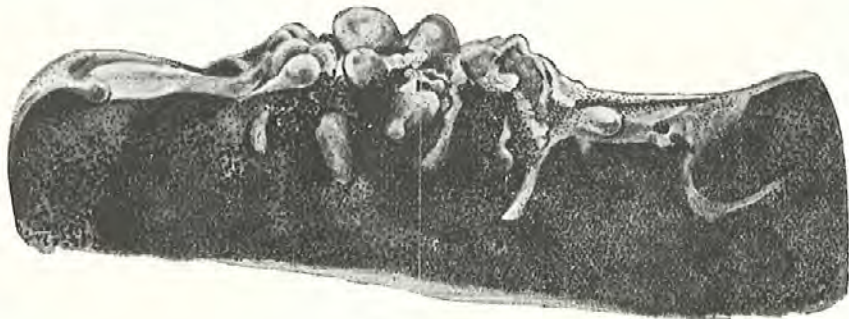
17



18



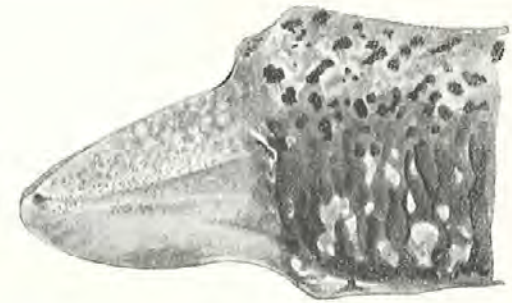
21



22



20



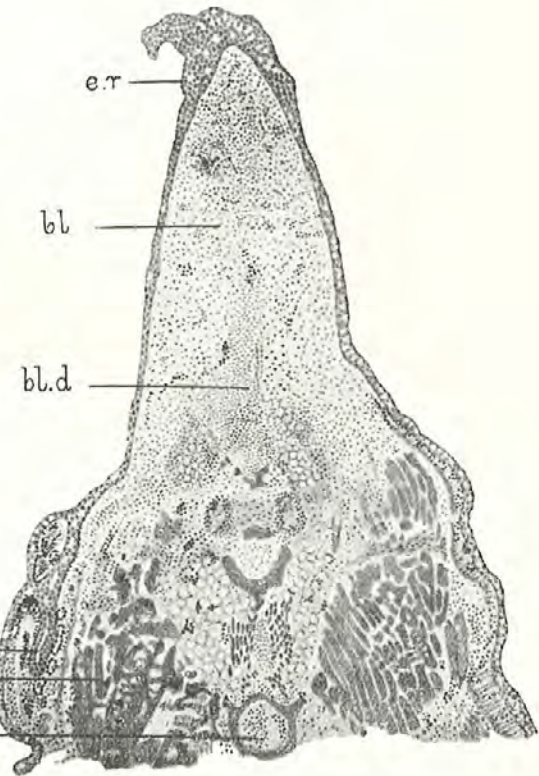
24



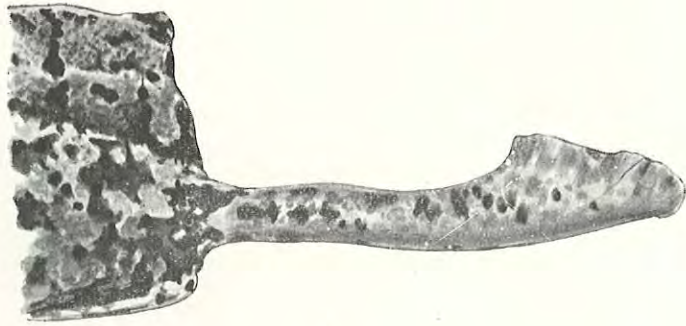
19



23



25



26



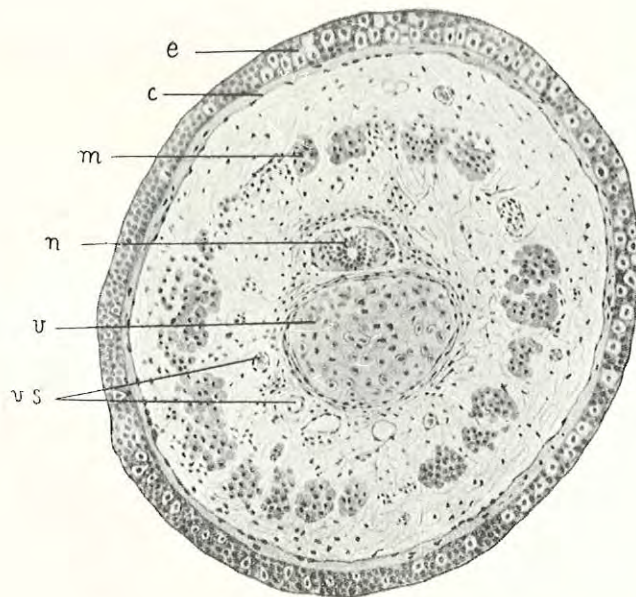
28



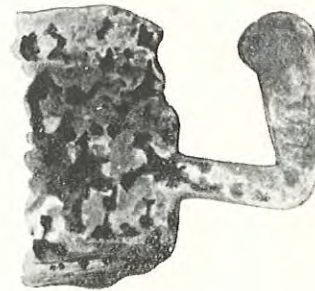
30



31



29

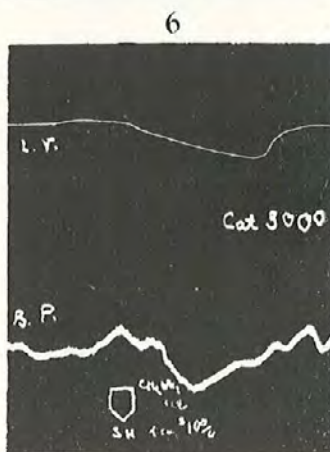
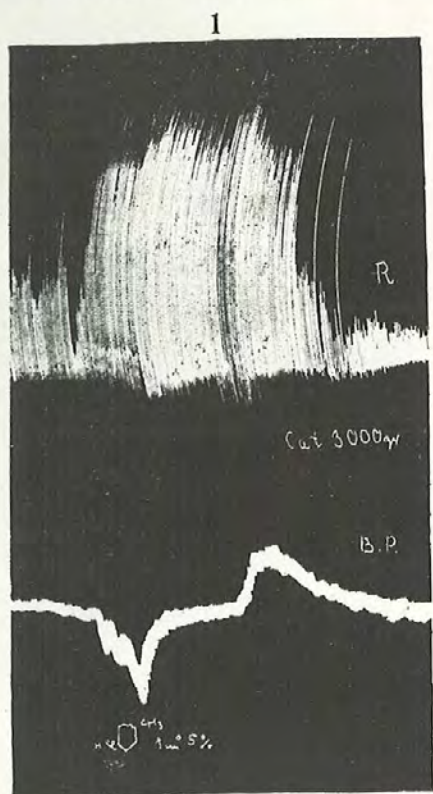


27



32





# Acta Biologiae Experimentalis

## Wskazówki dla autorów:

Do druku są przyjmowane nieogłoszone dotychczas w obcych czasopismach naukowych prace, wykonane w polskich lub zagranicznych zakładach badawczych. Rękoписы (pisane po polsku, ze streszczeniem w jednym z czterech języków kongresowych, nie przekraczającym 10% tekstu polskiego, lub też pisane w języku obcym, z odpowiednim streszczeniem polskim) nie powinny w zasadzie przekraczać objętości jednego arkusza druku. Rękoписы winny być pisane możliwie zwięźle, zupełnie czytelnie (lepiej — maszynowo na interlinji, zaś tekst obcojęzyczny obowiązkowo na maszynie), z marginesem, na jednej stronie kartek (jednakowej wielkości), z zakreśleniem ustępów mniej ważnych (historja zagadnienia, kwestje metodyczne i techniczne, protokoły doświadczeń, spis piśmiennictwa), które będą drukowane *petitem*.

Autorowie są proszeni o nadsyłanie rękopisów w redakcji ostatecznej, wyłączającej poważniejsze zmiany lub uzupełnienia tekstu w czasie korekty.

Uprasza się o przestrzeganie w układzie rękopisu następującej kolejności: 1<sup>o</sup>, nazwa zakładu, w którym praca została wykonana; 2<sup>o</sup>, imię (lub lepiej—tylko inicjały) i nazwisko autora; 3<sup>o</sup>, tytuł pracy możliwie krótki i ściśle odpowiadający treści w języku polskim i poniżej—w języku obcym; 4<sup>o</sup>, streszczenie w jednym z języków kongresowych (jako wzór — komunikaty w C. R. Soc. de Biol.); 5<sup>o</sup>, tekst polski; 6<sup>o</sup>, polskie streszczenie głównych wyników, o charakterze obiektywnym i w formie, dającej się bezpośrednio zużytkować w czasopismach bibliograficznych; 7<sup>o</sup>, piśmiennictwo; 8<sup>o</sup>, objaśnienie rysunków w tablicach pozatekstowych (w dwu językach).

**Podkreślenia:** 1<sup>o</sup>, rozdziały pracy — trzema linjami ciągłymi (*petit tłusty*); 2<sup>o</sup>, NAZWISKA AUTORÓW W TEKŚCIE — dwiema linjami ciągłymi (kapitałiki); 3<sup>o</sup>, ustępy tekstu o charakterze wniosków — jedną linią przerywaną (tekst spacjowany); 4<sup>o</sup>, nazwy *tacińskie* w tekście (rodzaje i gatunki zwierząt i roślin, nazwy anatomiczne) oraz *tekst obcojęzyczny w tabelach liczbowych, w objaśnieniach rysunków* w tekście i do tabel pozatekstowych—jedną linią falistą (*kursywa*).

**Cytaty:** po nazwisku, autora cytowanego w tekście, należy umieścić w nawiasach dwie ostatnie cyfry roku wydania pracy, poprzedzone przecinkiem u góry; np.: GODLEWSKI ('91).

**Tabele liczbowe:** na oddzielnych kartkach (tego samego formatu, co rękopis), z nagłówkami ogólnymi i kolumnowymi w dwu językach, ułożone oszczędnie (należy unikać kolumn mało wypełnionych), numeracja rzymska.

**Rysunki:** reprodukcja wyłącznie cynkofotograficzna (kreskowa lub siatkowa), jednobarwna; liczba rysunków możliwie ograniczona; wielkość nieprzekraczająca—po zmniejszeniu (najlepiej do  $\frac{2}{3}$ )—50 cm<sup>2</sup>. Objaśnienia do rysunków w tekście (dwujęzyczne) na oddzielnych kartkach—wklejonych w odpowiednie miejsca rękopisu.

**Piśmiennictwo,** ułożone w porządku alfabetycznym, nazwisk autorów, w formie, przyjętej w bibliografji: 1<sup>o</sup>, nazwisko i inicjały imion autora (potrójne podkreślenie); 2<sup>o</sup>, rok wydania pracy lub książki (cyfra pełna); 3<sup>o</sup>, pełny tytuł publikacji; 4<sup>o</sup>, skrócony tytuł czasopisma; 5<sup>o</sup>, tom (cyfry arabskie, potrójne podkreślenie); 6<sup>o</sup>, pierwsza strona pracy (w nawiasie). Np.: Nenekl M. und J. Zaleski. 1901. Über die Bestimmung des Ammoniaks in tierischen Flüssigkeiten und Geweben. Zeitschr. physiol. Chem. 33 (193), Opera Omnia. 2 (806).

Autorowie otrzymują 60 odbitek pracy gratis. Odbitki nadliczbowe można nabyć w cenie kosztu (arkusz druku—ok. 45 gr., okładka—10 gr.) za uprzednim zamówieniem, które należy nadesłać wraz z pierwszym arkuszem korekty.



Drukarnia i Litografja  
p. f. „JAN COTTY“  
w Warszawie, Kapucyńska 7.